PROYECTO FIPA N°2015-04

"Monitoreo de la especie plaga *Didymosphenia geminata* en cuerpos de agua de la zona centro sur austral"

INFORME FINAL

Elaborado para:

Fondo de Investigación Pesquera y Acuicultura
Ministerio de Economía, Fomento y Turismo
Gobierno de Chile

Presentado por:

Carolina Díaz P, Flavia Salcedo D, Silvana Muñoz T, Daniel Bozo R, Carmen Santibáñez O, Carolina Fernández A, Felipe Aguilar M, Fabio Labra R, Rodrigo Moreno M, Bernardita Cayupe R y Nicole Ehrenfeld S.

Mayo 2017

INDICE GENERAL

INDICE GENERAL **1**

INDICE DE TABLAS **4**

INDICE FIGURAS **8**

INDICE DE ANEXOS **18**

1. DESCRIPCIÓN DEL PROGRAMA **19**

2. EQUIPO DE TRABAJO **21**

3. RESUMEN EJECUTIVO **23**

4. ABSTRACT **28**

5. INTRODUCCIÓN ..... ¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.

6. OBJETIVOS **35**

6.1 OBJETIVO GENERAL 35

6.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS 35

6.3 OBJETIVOS EXTRAS 35

7. ÁREA DE ESTUDIO **36**

7.1 CAMPAÑAS DE MUESTREO 37

7.2 SELECCIÓN DE RÍOS Y ESTACIONES DE MUESTREO 37

8. METODOLOGÍAS ..... ¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.

8.1 PROSPECCIÓN Y SEGUIMIENTO DE LA PLAGA *D. GEMINATA* 42

8.2 RECOLECCIÓN DE ANTECEDENTES HISTÓRICOS 62

8.3 ANÁLISIS DE FACTORES BIÓTICOS Y ABIÓTICOS QUE INCIDEN EN LA DISPERSIÓN, COLONIZACIÓN Y PROLIFERACIÓN DE *DIDYMOSPHENIA GEMINATA* 66

8.3.1 RECOPILACIÓN DE ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS SOBRE *D. GEMINATA* 66

8.4 DESARROLLO DE ACTIVIDADES DE DIFUSIÓN 74

8.5 DIVERSIDAD GENÉTICA POBLACIONAL DE *D. GEMINATA* E INTERACCIÓN CON LA COMUNIDAD DE BACTERIAS ASOCIADAS 75

8.6 TALLER TEÓRICO-PRÁCTICO SOBRE GESTIÓN DE LA PLAGA *D. GEMINATA* Y BIOSEGURIDAD EN CHILE 91

8.7 PUBLICACIONES CIENTÍFICAS 93

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

9. RESULTADOS 94

9.1 PROSPECCIÓN Y SEGUIMIENTO DE LA ESPECIE PLAGA *D. GEMINATA* 94

9.1.1 CAMPAÑAS DE MUESTREO Y ESTACIONES EXTRAS 105

9.1.2 PARÁMETROS FÍSICOS Y QUÍMICOS *IN SITU*, VARIABLES QUÍMICAS DE LABORATORIO E HIDRAULICAS 105

9.1.2.1 PARAMETROS *IN SITU* 106

9.1.2.2 VARIABLES QUÍMICAS DE LABORATORIO 111

9.1.2.3 VARIABLES HIDRÁULICAS 119

9.1.2.4 ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES 121

9.1.3 GRUPOS BIOLÓGICOS 125

9.1.3.1 MICROALGAS BENTÓNICAS O PERIFITON 125

9.1.3.2 DIATOMEAS BENTÓNICAS 137

9.1.3.3 MESOHÁBITAT 153

9.1.3.4 MACROINVERTEBRADOS BENTÓNICOS 166

9.2 ANÁLISIS HISTÓRICO DE *DIDYMOSPHENIA GEMINATA* 183

9.2.1 COMPENDIO DE INFORMES TÉCNICOS Y CIENTÍFICOS REALIZADOS EN EL TERRITORIO NACIONAL DESDE EL AÑO 2011 AL 2015 183

9.2.1.1 AVANCE DE LA PLAGA 186

9.2.1.2 PARAMETROS FÍSICOS Y QUÍMICOS 194

9.2.2 BASE DE DATOS (BS) 196

9.3 ANÁLISIS DE FACTORES QUE INCIDEN EN LA DISPERSIÓN, COLONIZACIÓN Y PROLIFERACIÓN DE *DIDYMOSPHENIA GEMINATA* 201

9.3.1 RECOPILACIÓN DE INFORMACIÓN SOBRE *D. GEMINATA* 201

9.3.1.1 REVISIÓN SISTEMÁTICA 201

9.3.1.2 ENTREVISTAS 203

9.3.1.3 NORMATIVA INTERNACIONAL DE *DIDYMPOSPHENIA GEMINATA* 203

9.3.2 DETERMINACIÓN DE FACTORES BIÓTICOS Y ABIÓTICOS QUE INCIDEN EN *D. GEMINATA* . 206

9.3.2.1 ANTECEDENTES GENERALES 206

9.3.2.2 ANÁLISIS MULTIVARIADOS 207

9.3.3 POTENCIALES VECTORES DE DISPERSIÓN DE LA PLAGA 223

9.3.4 EVALUACIÓN DEL PROGRAMA DE MONITOREO REALIZADO EN CHILE 241

9.4 DESARROLLO DE ACTIVIDADES DE DIFUSIÓN 242

9.4.1 DESARROLLO DE MATERIAL GRÁFICO Y AUDIOVISUAL 242

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

9.4.2 CHARLAS INFORMATIVAS 245
9.5 DIVERSIDAD GENÉTICA POBLACIONAL DE *D. GEMINATA* E INTERACCIÓN CON LA COMUNIDAD DE BACTERIAS ASOCIADAS 250
9.5.1 ANTECEDENTES GENERALES 250
9.5.1.1 ANÁLISIS DE DIVERSIDAD GENÉTICA 251
9.5.2 DIVERSIDAD BACTERIANA 265
9.6 TALLER TEÓRICO-PRÁCTICO SOBRE GESTIÓN DE LA ESPECIE PLAGA *D. GEMINATA* Y BIOSEGURIDAD EN CHILE 275
9.7 PUBLICACIONES CIENTÍFICAS 276

10. DISCUSIÓN 277

10.1 PROSPECCIÓN Y SEGUIMIENTO DE LA ESPECIE PLAGA *D. GEMINATA* 277
10.2 ANÁLISIS HISTÓRICO DE *DIDYMOSPHENIA GEMINATA* 281
10.3 ANÁLISIS DE FACTORES QUE INCIDEN EN LA DISPERSIÓN, COLONIZACIÓN Y PROLIFERACIÓN DE *D. GEMINATA* 284
10.3.1 RECOPILACIÓN DE INFORMACIÓN SOBRE *D. GEMINATA* 284
10.3.2 POTENCIALES VECTORES DE DISPERSIÓN DE LA PLAGA 289
10.3.3 FACTORES BIÓTICOS Y ABIÓTICOS QUE INCIDEN EN LA COLONIZACIÓN, PROLIFERACIÓN Y DISPERSIÓN DE *D. GEMINATA* 284
10.4 DIVERSIDAD GENÉTICA POBLACIONAL DE *D. GEMINATA* E INTERACCIÓN CON LA COMUNIDAD DE BACTERIAS ASOCIADAS 292
10.4.1 DIVERSIDAD GENÉTICA 292
10.4.2 RELACIONES FILOGENÉTICAS 293
10.4.3 DIVERSIDAD BACTERIANA 295

11. CONCLUSIONES 297

12. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS 301

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

INDICE DE TABLAS

TABLA 2-1. ACTIVIDAD DESARROLLADA POR EL PERSONAL DE LABORATORIO EN LA EJECUCIÓN DEL PROYECTO FIPA N°2015-04. 21
TABLA 2-2.ACTIVIDAD DESARROLLADA POR EL PERSONAL DE GABINETE EN LA EJECUCIÓN DEL PROYECTO FIPA N°2015-04. 22
TABLA 7-1. REGIÓN, CUENCA, RÍO Y COORDENADAS UTM DE CADA ESTACIÓN DE MUESTREO COMPRENDIDA EN EL ÁREA DE ESTUDIO DEL PROYECTO FIPA N°2015-04. 39
TABLA 8-1. PARÁMETROS FÍSICOS Y QUÍMICOS DE LABORATORIO ESTIMADOS PARA CARACTERIZAR AGUAS SUPERFICIALES DE LAS ESTACIONES DE MUESTREO. 45
TABLA 8-2. CLASIFICACIÓN DE SEDIMENTOS POR TAMAÑO, SEGÚN LA AMERICAN GEOPHYSICAL UNION. 47
TABLA 8-3. DESCRIPCIÓN DE DISTINTOS TIPOS DE MESOHÁBITAT. 55
TABLA 8-4. ESPESOR Y COBERTURA CUALITATIVA PARA DE LA CUBIERTA MUCOSA. 56
TABLA 8-5. RESUMEN METODOLOGÍA PARA LA GENERACIÓN DE METADATA. 65
TABLA 8-6. ESTACIONES DE MUESTREO DE FAUNA ÍCTICA. 68
TABLA 8-7. ESTACIONES DE MUESTREO CONSIDERADAS PARA ANÁLISIS FILOGENÉTICO DE *D. GEMINATA.* SE ORDENARON LAS MUESTRAS EN NÚMEROS CORRELATIVOS DE 1 A 22, PARA SU IDENTIFICACIÓN EN LABORATORIO. 75
TABLA 8-8. CUANTIFICACIÓN DEL PRODUCTO OBTENIDO DE LA EXTRACCIÓN DE DNA PARA CADA UNA DE LAS ESTACIONES DE MUESTREO. 77
TABLA 8-9. SECUENCIA 5'–3' DE PARTIDORES PARA ENZIMA RBCL. 78
TABLA 8-10. SE MUESTRAN EL NÚMERO DE SUSTITUCIONES DE BASES POR SITIO DE ENTRE LAS SECUENCIAS. LOS ANÁLISIS SE REALIZARON UTILIZANDO EL MODELO DE MÁXIMA VEROSIMILITUD COMPUESTO. 82
TABLA 8-11. CUANTIFICACIÓN DEL PRODUCTO OBTENIDO DE LA EXTRACCIÓN DE GDNA PARA CADA UNA DE LAS LOCALIDADES. CIAB: CENTRO DE INVESTIGACIÓN AUSTRAL BIOTECH. 86
TABLA 8-12.PARTIDORES UTILIZADOS PARA AMPLIFICAR LAS REGIONES VARIABLES V3 Y V4 DEL 16S RDNA. 87
TABLA 8-13. CONTROL DE CALIDAD (QC, QUALITY CONTROL) DE LAS LIBRERÍAS OBTENIDAS PARA 16S RDNA, SE INDICA EL N° CIAB (CENTRO DE INVESTIGACIÓN AUSTRAL BIOTECH), NOMBRE DE LAS LIBRERÍAS, TIPO DE LIBRERÍA, CONCENTRACIÓN DNA (NG/ML) Y TAMAÑO EN PARES DE BASES (PB). 88

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

TABLA 8-14 MUESTRAS INGRESADAS EN MOTHUR, SE INDICA EL NOMBRE DE LA MUESTRA, DONDE LOS NÚMEROS 1 A 22, INDICA EL NÚMERO CIAB DE LA MUESTRA. 90
TABLA 9-1. NÚMERO DE ESTACIONES CON PRESENCIA Y/O AUSENCIA DE *D. GEMINATA* DURANTE MUESTREO DE PRIMAVERA-VERANO. 96
TABLA 9-2. NÚMERO DE ESTACIONES CON PRESENCIA Y/O AUSENCIA DE *D. GEMINATA* DURANTE MUESTREO DE OTOÑO. 96
TABLA 9-3. ESTACIONES DE MUESTREO CON PRESENCIA (SI) Y/O AUSENCIA (NO) DE *D. GEMINATA* EN EL BENTOS Y EN EL PLANCTON DE AMBAS CAMPAÑAS DE MONITOREO. PRESENCIA BOOMS ALGAL (SI*)..... 97
TABLA 9-4. ESTACIONES EXTRAS REALIZADAS EN LAS CAMPAÑAS PRIMAVERA VERANO (P-V) Y OTOÑO (O). 105
TABLA 9-5. GÉNEROS DETECTADOS EN LAS CINCO REGIONES EN ESTUDIO. X: INDICA PRESENCIA DEL GÉNERO CORRESPONDIENTE EN LA REGIÓN INDICADA. 126
TABLA 9-6. GÉNEROS DE PERIFITON SEGÚN PRESENCIA Y AUSENCIA DE *D. GEMINATA*. 128
TABLA 9-7. PARÁMETROS COMUNITARIOS DEL PERIFITON, A NIVEL DE REGIÓN Y SEGÚN PRESENCIA Y AUSENCIA DE *D. GEMINATA*. LOS VALORES INDICAN EL PROMEDIO Y EL ERROR ESTÁNDAR. 130
TABLA 9-8. LISTADO DE ESPECIES DE DIATOMEAS BENTÓNICAS SEGÚN REGIÓN DE ANÁLISIS. LETRA X INDICA PRESENCIA DE LA ESPECIE CORRESPONDIENTE EN LA REGIÓN INDICADA. 137
TABLA 9-9. LISTADO DE ESPECIES DE DIATOMEAS SEGÚN PRESENCIA Y AUSENCIA DE *D. GEMINATA*. LETRA X INDICA PRESENCIA DE LA ESPECIE CORRESPONDIENTE EN LA CONDICIÓN INDICADA. 142
TABLA 9-10. PARÁMETROS COMUNITARIOS DE LAS DIATOMEAS BENTÓNICAS, A NIVEL DE REGIÓN Y SEGÚN PRESENCIA Y AUSENCIA DE *D. GEMINATA*. LOS VALORES INDICAN EL PROMEDIO Y EL ERROR ESTÁNDAR. 146
TABLA 9-11. GÉNEROS DE PERIFITON PRESENTES SEGÚN TIPO DE MESOHÁBITAT. LETRA X INDICA PRESENCIA DE DICHO GÉNERO EN EL TIPO DE MESOHÁBITAT SEÑALADO. 155
TABLA 9-12. GÉNEROS DE PERIFITON PRESENTES SEGÚN BLOOM Y NO BLOOM DE DIDYMO. LETRA X INDICA PRESENCIA DE DICHO GÉNERO EN EL TIPO DE CONDICIÓN SEÑALADA. 157
TABLA 9-13. MACROINVERTEBRADOS BENTÓNICOS QUE NO FUERON IDENTIFICADOS HASTA NIVEL TAXONÓMICO DE FAMILIA. 167
TABLA 9-14. LISTADO DE *TAXA* DE MACROINVERTEBRADOS SEGÚN REGIÓN DE ANÁLISIS. LETRA X INDICA PRESENCIA DEL *TAXA* CORRESPONDIENTE EN LA REGIÓN INDICADA. 167
TABLA 9-15. LISTADO DE *TAXA* DE MACROINVERTEBRADOS SEGÚN PRESENCIA Y AUSENCIA DE *D. GEMINATA*. LETRA X INDICA PRESENCIA DEL *TAXA* CORRESPONDIENTE EN LA CONDICIÓN INDICADA. 170

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

TABLA 9-16. PARÁMETROS COMUNITARIOS DE LAS MACROINVERTEBRADOS BENTÓNICAS, A NIVEL DE REGIÓN Y SEGÚN PRESENCIA Y AUSENCIA DE *D. GEMINATA*. LOS VALORES INDICAN EL PROMEDIO Y EL ERROR ESTÁNDAR..... 171
TABLA 9-17. PROYECTOS DE PROSPECCIÓN, VIGILANCIA Y MONITOREO DE LA PRESENCIA DE LA ESPECIE *D. GEMINATA* FINANCIADOS POR SUBPESCA, SERNAPESCA Y FIP REALIZADOS EN EL TERRITORIO NACIONAL ENTRE LOS AÑOS 2010-2015. 184
TABLA 9-18. MUESTREOS BIOLÓGICOS, FÍSICOS Y QUÍMICOS *IN SITU, NUTRIENTES Y OTROS* OBTENIDOS EN CADA PROYECTO EVALUADO. 185
TABLA 9-19. AVANCE DE LA PLAGA *D. GEMINATA* EN LAS REGIONES IX, XIV, X, XI DESDE EL AÑO 2010-2015..... 189
TABLA 9-20. DICCIONARIO DE ENTIDADES Y ATRIBUTOS ESTABLECIDOS PARA LA BASE DE DATOS HISTÓRICA *D. GEMINATA*..... 196
TABLA 9-21.ESTACIONES MONITOREADAS, CUENCA A LA QUE PERTENECEN Y PRESENCIA DE *D. GEMINATA* EN CADA UNA DE ELLAS (PRESENCIA HISTÓRICA Y EN LAS COMUNIDADES DE PERIFITON Y FITOPLANCTON) 223
TABLA 9-22. MUESTREO DE FAUNA ÍCTICA, ESTACIÓN CISNES_060..... 224
TABLA 9-23. MUESTREO DE FAUNA ÍCTICA, ESTACIÓN GRANDE_O_010 225
TABLA 9-24. MUESTREO DE FAUNA ÍCTICA, ESTACIÓN RODRÍGUEZ_010 226
TABLA 9-25. MUESTREO DE FAUNA ÍCTICA, ESTACIÓN GRANDE_E_010..... 227
TABLA 9-26. MUESTREO DE FAUNA ÍCTICA, ESTACIÓN NIREHUAO_020 228
TABLA 9-27. MUESTREO DE FAUNA ÍCTICA, ESTACIÓN POLLUX_010 229
TABLA 9-28. MONITOREO DE FAUNA ÍCTICA ESTACIÓN COYHAIQUE_010 230
TABLA 9-29. MUESTREO DE FAUNA ÍCTICA, ESTACIÓN NORTE_010 231
TABLA 9-30. ESPECIES DE AVES OBSERVADAS DURANTE EL CENSO EN LAS REGIONES DE LA ARAUCANÍA Y LOS RÍOS 234
TABLA 9-31. PROMEDIO DE PARÁMETROS COMUNITARIOS DE ESTACIONES CON PRESENCIA Y AUSENCIA DE *D. GEMINATA* 236
TABLA 9-32. RESULTADOS DE VESTIGIOS Y/O AVISTAMIENTOS DE HUILLÍN Y VISÓN REGISTRADOS EN ESTACIONES PROSPECTADAS EN LA REGIÓN DE LOS RÍOS, DE ACUERDO A PRESENCIA O AUSENCIA DE *D. GEMINATA* 237
TABLA 9-33. FRECUENCIA RELATIVA DE ALTERACIONES ANTRÓPICAS EN ESTACIONES CON PRESENCIA/AUSENCIA DE *D GEMINATA* 239
TABLA 9-34. FRECUENCIA RELATIVA DE ACTIVIDADES DEL ENTORNO RESPECTO A ESTACIONES CON PRESENCIA Y AUSENCIA DE *D. GEMINATA*..... 240

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

TABLA 9-35. DETALLE DE LOS MEDIOS UTILIZADOS EN LA ESTRATEGIA DE DIFUSIÓN. 244
TABLA 9-36. DESCRIPCIÓN TÉCNICA DE LOS MEDIOS DE DIFUSIÓN. 244
TABLA 9-37. CIUDAD Y FECHA DE LAS CHARLAS INFORMATIVAS EN TORNO AL ESTADO DE LA PAGA DIDYMO EN EL TERRITORIO NACIONAL. 248
TABLA 9-38. BLASTN PARA SECUENCIAS OBTENIDAS A PARTIR DEL FRAGMENTO AMPLIFICADO CON LOS PARTIDORES *RBCL* (JARAMILLO *ET AL*., 2015) PARA 19 LOCALIDADES. 252
TABLA 9-39. SE MUESTRAN EL NÚMERO DE SUSTITUCIONES DE BASES POR SITIO DE ENTRE LAS SECUENCIAS. LOS ANÁLISIS SE REALIZARON UTILIZANDO EL MODELO DE MÁXIMA VEROSIMILITUD COMPUESTO. 254
TABLA 9-40. UBICACIÓN DE LAS MUESTRAS DE SECUENCIAS GENÉTICAS UTILIZADAS PARA CARACTERIZAR LA DIVERSIDAD GENÉTICA DE *D. GEMINATA* EN CHILE. 261
TABLA 9-41. DATOS CRUDOS OBTENIDOS DE LA SECUENCIACIÓN MISEQ. SE ENTREGAN LOS VALORES DEL TOTAL DE BASES OBTENIDAS EN CADA SITIO DE MUESTREO, EL RECUENTO DE LECTURAS, %GC Y %AT, Q20 Y Q30. 265
TABLA 9-42. SITIO DE MUESTREO PARA LA OBTENCIÓN DE GDNA. SE INDICA REGIÓN, RÍO Y NOMBRE DE CADA UNA DE LAS MUESTRAS. SE ORDENAN LA LATITUD (°S) EN SENTIDO SUR A NORTE. 267
TABLA 9-43. TOP 10 DE OTUS MÁS ABUNDANTES EN LAS 20 ESTACIONES DE MUESTREO, ES POSIBLE DISTINGUIR EN LA MAYORÍA DE LOS CASOS SE DETERMINÓ HASTA EN NIVEL TAXONÓMICO DE FAMILIA. 268
TABLA 9-44. *PHYLA* MÁS ABUNDANTES, REPRESENTADOS EN 10 OTUS CON MAYORES LECTURAS. SE ENTREGA EL VALOR EN % DE ABUNDANCIA DENTRO DE LAS LECTURAS TOTALES OBTENIDAS PARA LOS 10 OTUS PRINCIPALES. *PHYLUM* VERRUCOMICROBIA Y PROTEOBACTERIA SON AQUELLOS QUE PRESENTAN MAYOR ABUNDANCIA RELATIVA EN LAS MUESTRAS. SE ORDENAN GEOGRÁFICAMENTE DE SUR A NORTE. 268
TABLA 9-45. CLASES MÁS ABUNDANTES, REPRESENTADAS EN 10 OTUS CON MAYORES LECTURAS. SE ENTREGA EL VALOR EN % DE ABUNDANCIA DENTRO DE LAS LECTURAS TOTALES OBTENIDAS PARA LOS 10 OTUS PRINCIPALES. LAS MUESTRAS SE ORDENAN GEOGRÁFICAMENTE DE SUR A NORTE. 269
TABLA 9-46. TABLA DE ABUNDANCIA RELATIVA DE 10 OTUS PRINCIPALES EN LOS 20 PUNTOS DE MUESTREO. SE INDICA EL NÚMERO DE LECTURAS PARA CADA UNO DE LOS OTUS. 273

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

INDICE FIGURAS

FIGURA 7-1. ÁREA DE ESTUDIO PROYECTO FIPA N°2015-04. 36
FIGURA 8-1. ETAPAS DEL MUESTREO PARA EL MONITOREO, VIGILANCIA Y PROSPECCIÓN DE *D. GEMINATA*..... 43
FIGURA 8-2. TOMA DE MUESTRAS DE MICROALGAS BENTÓNICAS. IMAGEN (01): ELECCIÓN DE 5 ROCAS AL AZAR DEL LECHO DEL RÍO; IMAGEN (02): RASPADO DE ROCAS EN CM^2; IMAGEN (03): OBTENCIÓN DE MUESTRA INTEGRADA DE MICROALGAS; IMAGEN (04): OBTENCIÓN DE VOLUMEN PARA AQUELLOS CASOS DONDE SE OBSERVÓ MUCOSIDAD. 51
FIGURA 8-3. IMAGEN (01): CÉLULA VIABLE DE *D. GEMINATA*; IMAGEN (02): CÉLULA INVIABLE DE *D. GEMINATA*..... 53
FIGURA 8-4. TOMA DE MUESTRAS *IN SITU* MICROALGAS BENTÓNICAS FIJADAS CON SOLUCIÓN LUGOL, DIATOMEAS BENTÓNICAS FIJADAS CON FORMALDEHIDO AL 4%. 53
FIGURA 8-5. SISTEMA DE OBTENCIÓN DE MUESTRAS DE *D. GEMINATA* EN EL PLANCTON. 54
FIGURA 8-6. MUESTREO DE MACROINVERTEBRADOS BENTÓNICOS CON RED SURBER. 57
FIGURA 8-7. MONITOREO DE FAUNA ÍCTICA. 01) UNA VEZ IDENTIFICADOS Y ESTUDIADOS, LOS ORGANISMOS CAPTURADOS FUERON DEVUELTOS AL RÍO DE ORIGEN. 02) PESCA MEDIANTE ESPINELES..... 69
FIGURA 8-8. ZONAS DE OBTENCIÓN DE MUESTRAS DE MUCOSA EN PECES. 70
FIGURA 8-9. TRANSECTO DE OBSERVACIÓN. REPRESENTACIÓN GRÁFICA DE LOS TRANSECTOS IMAGINARIOS (1 Y 2) PARA LA OBSERVACIÓN DE AVES, TRAZADOS A PARTIR DEL INICIO (1) Y FINAL DEL TRANSECTO (2) A PARTIR DEL CUAL SE REALIZA EL MUESTREO DE *DIDYMOSPHENIA GEMINATA* (TRANSECTO *D. GEMINATA*). 71
FIGURA 8-10. ELECTROFORESIS EN GEL DE AGAROSA (1%) TEÑIDO CON GELRED™. 76
FIGURA 8-11. ELECTROFORESIS EN GEL DE AGAROSA (1%) TEÑIDO CON GEL RED™ DONDE SE PRESENTA LA INTEGRIDAD DEL DNA GENÓMICO EXTRAÍDO. A) MUESTRAS 1 A 5, 8 A 11 Y 13. B) MUESTRAS DE 14 A 22. ESTÁNDAR 1KB PARA A Y B. 76
FIGURA 8-12. ELECTROFORESIS EN GEL DE AGAROSA (2%) CON TINCIÓN GELRED™. AMPLIFICACIÓN DEL GEN RBCL. 79
FIGURA 8-13. ELECTROFORESIS EN GEL DE AGAROSA (2%) CON TINCIÓN GELRED™. PRODUCTO OBTENIDO DE LA PURIFICACIÓN DEL PRODUCTO PCR DE RBCL, CON KIT E.Z.N.A ®CYCLE PURE PCR PURIFICATION KIT (OMEGA BIO-TEK). 80
FIGURA 8-14. IMAGEN REPRESENTATIVA DEL ALINEAMIENTO MÚLTIPLE CLUSTAL W EN BIOEDIT. ... 82
FIGURA 8-15. GDNA. ELECTROFORESIS EN GEL DE AGAROSA (1%) TEÑIDO CON GELRED™..... 85

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

FIGURA 8-16. ELECTROFORESIS EN GEL DE AGAROSA (1%) TEÑIDO CON GEL RED™ DONDE SE PRESENTA LA INTEGRIDAD DEL GDNA EXTRAÍDO. A. MUESTRAS 1 A 5, 8 A 11 Y 13. B. MUESTRAS DE 14 A 22. ESTÁNDAR 1KB PARA A Y B. 85
FIGURA 8-17. ESQUEMA DE TRABAJO DE AMPLIFICACIÓN DE REGIÓN V3 Y V4 Y PREPARACIÓN DE LIBRERÍAS CON ADAPTADORES DE SECUENCIACIÓN ILLUMINA, USANDO NEXTERA® XT INDEX KIT. 87
FIGURA 8-18. PIPELINE REALIZADO EN SOFTWARE MOTHUR. SE INDICAN LOS PASOS A SEGUIR EN EL ANÁLISIS DE LAS SECUENCIAS. 89
FIGURA 9-1. PRESENCIA DE *D. GEMINATA* (PUNTOS COLOR ROJO), AUSENCIA (PUNTOS VERDES) EN LA REGIÓN DE AYSÉN. 100
FIGURA 9-2. PRESENCIA DE *D. GEMINATA* (PUNTOS COLOR ROJO), AUSENCIA (PUNTOS VERDES) EN LA REGIÓN DE LOS LAGOS. 101
FIGURA 9-3. PRESENCIA DE *D. GEMINATA* (PUNTOS COLOR ROJO), AUSENCIA (PUNTOS VERDES) EN LA REGIÓN DE LOS RÍOS. 102
FIGURA 9-4. PRESENCIA DE *D. GEMINATA* (PUNTOS COLOR ROJO), AUSENCIA (PUNTOS VERDES) EN LA REGIÓN DE ARAUCANÍA. 103
FIGURA 9-5. PRESENCIA DE *D. GEMINATA* (PUNTOS COLOR ROJO), AUSENCIA (PUNTOS VERDES) EN LA REGIÓN DE BIOBÍO. 104
FIGURA 9-6. BOXPLOTS DE TEMPERATURA; ANÁLISIS POR PERIODOS PRIMAVERA-VERANO Y OTOÑO; ENTRE REGIÓNES Y EN PRESENCIA Y AUSENCIA DE *D. GEMINATA*. 106
FIGURA 9-7. BOXPLOTS DE PH; ANÁLISIS POR PERIODOS PRIMAVERA-VERANO Y OTOÑO; ENTRE REGIÓNES Y EN PRESENCIA Y AUSENCIA DE *D. GEMINATA*. 107
FIGURA 9-8. BOXPLOTS DE CONDUCTIVIDAD; ANÁLISIS POR PERIODOS PRIMAVERA-VERANO Y OTOÑO; ENTRE REGIÓNES Y EN PRESENCIA Y AUSENCIA DE *D. GEMINATA*. 108
FIGURA 9-9.BOXPLOTS DE OXÍGENO DISUELTO; ANÁLISIS POR PERIODOS PRIMAVERA-VERANO Y OTOÑO; ENTRE REGIÓNES Y EN PRESENCIA Y AUSENCIA DE *D. GEMINATA*. 108
FIGURA 9-10. BOXPLOTS DE SATURACIÓN DE OXÍGENO; ANÁLISIS POR PERIODOS PRIMAVERA-VERANO Y OTOÑO; ENTRE REGIÓNES Y EN PRESENCIA Y AUSENCIA DE *D. GEMINATA*. 109
FIGURA 9-11. BOXPLOTS DE TURBIDEZ; ANÁLISIS POR PERIODOS PRIMAVERA-VERANO Y OTOÑO; ENTRE REGIÓNES Y EN PRESENCIA Y AUSENCIA DE *D. GEMINATA*. 110
FIGURA 9-12. BOXPLOTS DE ALTITUD; ANÁLISIS POR REGIÓN Y PRESENCIA Y AUSENCIA DE *D. GEMINATA*. 111
FIGURA 9-13. BOXPLOTS DE NITRATO; ANÁLISIS POR PERIODOS PRIMAVERA-VERANO Y OTOÑO; ENTRE REGIÓNES Y EN PRESENCIA Y AUSENCIA DE *D. GEMINATA*. 111

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

FIGURA 9-14. BOXPLOTS DE NITRITO; ANÁLISIS POR PERIODOS PRIMAVERA-VERANO Y OTOÑO; ENTRE REGIÓNES Y EN PRESENCIA Y AUSENCIA DE *D. GEMINATA*. 112
FIGURA 9-15. BOXPLOTS DE NITRÓGENO AMONIACAL; ANÁLISIS POR PERIODOS PRIMAVERA-VERANO Y OTOÑO; ENTRE REGIÓNES Y EN PRESENCIA Y AUSENCIA DE *D. GEMINATA*. 113
FIGURA 9-16. BOXPLOTS DE NITRÓGENO ORGÁNICO; ANÁLISIS POR PERIODOS PRIMAVERA-VERANO Y OTOÑO; ENTRE REGIÓNES Y EN PRESENCIA Y AUSENCIA DE *D. GEMINATA*. 113
FIGURA 9-17. BOXPLOTS DE NITRÓGENO TOTAL; ANÁLISIS POR PERIODOS PRIMAVERA-VERANO Y OTOÑO; ENTRE REGIÓNES Y EN PRESENCIA Y AUSENCIA DE *D. GEMINATA*. 114
FIGURA 9-18. BOXPLOTS RELACIÓN NITRATO+NITRITO; ANÁLISIS POR PERIODOS PRIMAVERA-VERANO Y OTOÑO; ENTRE REGIÓNES Y EN PRESENCIA Y AUSENCIA DE *D. GEMINATA*. 115
FIGURA 9-19. BOXPLOTS DE FOSFATO; ANÁLISIS POR CAMPAÑA PRIMAVERA-VERANO Y OTOÑO; ANÁLISIS POR REGIÓN Y ANÁLISIS POR PRESENCIA Y AUSENCIA DE *D. GEMINATA*. 115
FIGURA 9-20. BOXPLOTS DE FOSFATO DISUELTO; ANÁLISIS POR CAMPAÑA PRIMAVERA-VERANO Y OTOÑO; ANÁLISIS POR REGIÓN Y ANÁLISIS POR PRESENCIA Y AUSENCIA DE *D. GEMINATA*..... 116
FIGURA 9-21. BOXPLOTS DE FÓSFORO; ANÁLISIS POR CAMPAÑA PRIMAVERA-VERANO Y OTOÑO; ANÁLISIS POR REGIÓN Y ANÁLISIS POR PRESENCIA Y AUSENCIA DE *D. GEMINATA*. 117
FIGURA 9-22. BOXPLOTS DE SILICIO; ANÁLISIS POR PERIODOS PRIMAVERA-VERANO Y OTOÑO; ENTRE REGIÓNES Y EN PRESENCIA Y AUSENCIA DE *D. GEMINATA*. 118
FIGURA 9-23. BOXPLOTS DE CALCIO; ANÁLISIS POR CAMPAÑA PRIMAVERA-VERANO Y OTOÑO; ANÁLISIS POR REGIÓN Y ANÁLISIS POR PRESENCIA Y AUSENCIA DE *D. GEMINATA*. 118
FIGURA 9-24. BOXPLOTS DE HIERRO; ANÁLISIS POR CAMPAÑA PRIMAVERA-VERANO Y OTOÑO; ANÁLISIS POR REGIÓN Y ANÁLISIS POR PRESENCIA Y AUSENCIA DE *D. GEMINATA*. 119
FIGURA 9-25. BOXPLOTS DE PROFUNDIDAD; ANÁLISIS POR PERIODOS PRIMAVERA-VERANO Y OTOÑO; ENTRE REGIÓNES Y EN PRESENCIA Y AUSENCIA DE *D. GEMINATA*. 120
FIGURA 9-26. BOXPLOTS DE VELOCIDAD DE LA CORRIENTE; ANÁLISIS POR PERIODOS PRIMAVERA-VERANO Y OTOÑO; ENTRE REGIÓNES Y EN PRESENCIA Y AUSENCIA DE *D. GEMINATA*. 120
FIGURA 9-27. ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES EN PRESENCIA Y AUSENCIA DE *D. GEMINATA* RESPECTO AL TAMAÑO DEL SUSTRATO. 121
FIGURA 9-28. RELACIÓN ENTRE PRESENCIA/AUSENCIA DE *D. GEMINATA* Y COBERTURA DEL SUSTRATO. 122
FIGURA 9-29. ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES ENTRE PARÁMETROS *IN SITU* Y ESTACIONES CON PRESENCIA Y AUSENCIA DE *D. GEMINATA*. 122
FIGURA 9-30. ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES ENTRE PARÁMETROS *IN SITU* Y ESTACIONES CON BLOOM Y SIN BLOOM DE *D. GEMINATA*. 123

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

FIGURA 9-31. ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES ENTRE NUTRIENTES Y ESTACIONES CON PRESENCIA Y AUSENCIA DE *D. GEMINATA*. 124
FIGURA 9-32. ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES ENTRE NUTRIENTES Y ESTACIONES CON BLOOM Y SIN BLOOM DE *D. GEMINATA*. 125
FIGURA 9-33. ABUNDANCIA RELATIVA DEL PERIFITON DETECTADO EN LAS REGIONES ESTUDIADAS. 127
FIGURA 9-34. ABUNDANCIA RELATIVA DEL PERIFITON DETECTADO EN PRESENCIA Y AUSENCIA DE *D. GEMINATA*. 130
FIGURA 9-35. BOXPLOT DE RIQUEZA DE GÉNEROS DE PERIFITON, POR REGIÓN Y EN RÍOS CON AUSENCIA Y PRESENCIA DE *D. GEMINATA*. 132
FIGURA 9-36. BOXPLOT DE DENSIDAD (CEL/MM^2) DE PERIFITON, POR REGIÓN Y EN RÍOS CON AUSENCIA Y PRESENCIA DE *D. GEMINATA*. 133
FIGURA 9-37. BOXPLOT DE ÍNDICE DE DIVERSIDAD DE SHANNON DE PERIFITON, POR REGIÓN Y EN RÍOS CON AUSENCIA Y PRESENCIA DE *D. GEMINATA*. 134
FIGURA 9-38. BOXPLOT DE ÍNDICE DE DIVERSIDAD DE SIMPSON DE PERIFITON, POR REGIÓN Y EN RÍOS CON AUSENCIA Y PRESENCIA DE *D. GEMINATA*. 135
FIGURA 9-39. BOXPLOT DE EQUITATIVIDAD DE PIELOU DE PERIFITON, POR REGIÓN Y EN RÍOS CON AUSENCIA Y PRESENCIA DE *D. GEMINATA*. 136
FIGURA 9-40. ABUNDANCIAS RELATIVAS DE LAS DIATOMEAS BENTÓNICAS POR REGIÓN. 141
FIGURA 9-41. ABUNDANCIAS RELATIVAS DE LAS DIATOMEAS BENTÓNICAS SEGÚN PRESENCIA Y AUSENCIA DE *D. GEMINATA*. 146
FIGURA 9-42. BOXPLOT DE RIQUEZA DE ESPECIES DE DIATOMEAS BENTÓNICAS, POR REGIÓN DE Y EN RÍOS CON AUSENCIA Y PRESENCIA DE *D. GEMINATA*. 148
FIGURA 9-43. BOXPLOT DE DENSIDAD DE DIATOMEAS BENTÓNICAS, POR REGIÓN DE ANÁLISIS Y EN RÍOS CON AUSENCIA Y PRESENCIA DE *D. GEMINATA*. 149
FIGURA 9-44. BOXPLOT DE ÍNDICE DE DIVERSIDAD DE SHANNON DE DIATOMEAS, POR REGIÓN Y EN LOS RÍOS CON AUSENCIA Y PRESENCIA DE *D. GEMINATA*. 150
FIGURA 9-45. BOXPLOT DE ÍNDICE DE DIVERSIDAD DE SIMPSON DE DIATOMEAS, POR REGIÓN Y EN RÍOS CON AUSENCIA Y PRESENCIA DE *D. GEMINATA*. 151
FIGURA 9-46. BOXPLOT DE ÍNDICE DE EQUITATIVIDAD DE PIELOU DE DIATOMEAS, POR REGIÓN Y EN RÍOS CON AUSENCIA Y PRESENCIA DE *D. GEMINATA*. 152
FIGURA 9-47. ESPESOR DEL MOCO DE DIDYMO, EN DISTINTOS MESOHÁBITATS ANALIZADOS. 153
FIGURA 9-48. PROFUNDIDAD ASOCIADA A LOS DISTINTOS MESOHÁBITATS ANALIZADOS. 154
FIGURA 9-49. VELOCIDAD DE FONDO ASOCIADA A LOS DISTINTOS MESOHÁBITATS ANALIZADOS..... 154

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

FIGURA 9-50. ABUNDANCIAS RELATIVAS DEL PERIFITON ASOCIADOS A LOS MESOHÁBITATS ESTUDIADOS. 156
FIGURA 9-51. ABUNDANCIAS RELATIVAS DEL PERIFITON, EN ESTACIONES DE MUESTREO CON BLOOM Y SIN BLOOM. 158
FIGURA 9-52. RIQUEZA DE GÉNEROS DEL PERIFITON, ASOCIADAS A LOS DISTINTOS MESOHÁBITATS. 159
FIGURA 9-53. RIQUEZA DEL PERIFITON, EN ESTACIONES DE MUESTREO CON BLOOM Y SIN BLOOM. 159
FIGURA 9-54. DENSIDAD DEL PERIFITON, ASOCIADAS A LOS DISTINTOS MESOHÁBITATS. 160
FIGURA 9-55. DENSIDAD DEL PERIFITON, EN ESTACIONES DE MUESTREO CON BLOOM Y SIN BLOOM DE DIDYMO. 160
FIGURA 9-56. ÍNDICE DE DIVERSIDAD DE SHANNON DEL PERIFITON, ASOCIADAS A LOS DISTINTOS MESOHÁBITATS. 161
FIGURA 9-57. ÍNDICES DE DIVERSIDAD DE SHANNON DEL PERIFITON, EN ESTACIONES DE MUESTREO CON BLOOM Y SIN BLOOM DE DIDYMO. 161
FIGURA 9-58. ÍNDICE DE SIMPSON DEL PERIFITON, ASOCIADA A LOS DISTINTOS MESOHÁBITATS. 162
FIGURA 9-59. ÍNDICES DE DIVERSIDAD DE SIMPSON DEL PERIFITON, EN ESTACIONES DE MUESTREO CON BLOOM Y SIN BLOOM DE DIDYMO. 162
FIGURA 9-60. ÍNDICE DE EQUITATIVIDAD DEL PERIFITON, ASOCIADA A LOS DISTINTOS MESOHÁBITATS. 163
FIGURA 9-61. ÍNDICES DE EQUITATIVIDAD DEL PERIFITON, EN ESTACIONES DE MUESTREO CON BLOOM Y SIN BLOOM DE DIDYMO. 163
FIGURA 9-62. ANÁLISIS DE CORRELACIONES DE SPEARMAN, ENTRE DIDYMO Y LAS VARIABLES ESPESOR, PROFUNDIDAD Y VELOCIDAD DE FONDO (P>0.05). 164
FIGURA 9-63. ABUNDANCIA RELATIVAS DEL PERIFITON REPRESENTADO A TRAVÉS DE LAS FORMAS DE CRECIMIENTO Y EN LOS RESPECTIVOS TIPOS DE MESOHÁBITATS (ANOSIM; P>0.05)..... 165
FIGURA 9-64. ABUNDANCIA RELATIVAS DEL PERIFITON REPRESENTADO A TRAVÉS DE LAS FORMAS DE CRECIMIENTO Y EN SECTORES CON Y SIN BLOOM (ANOSIM; P>0.05)..... 166
FIGURA 9-65. ABUNDANCIAS RELATIVAS DE *TAXA* DE MACROINVERTEBRADOS SEGÚN REGIÓN. 169
FIGURA 9-66. ABUNDANCIAS RELATIVAS DE *TAXA* DE MACROINVERTEBRADOS SEGÚN PRESENCIA Y AUSENCIA DE *D. GEMINATA*. 171
FIGURA 9-67. BOXPLOT DE RIQUEZA DE *TAXA* DE MACROINVERTEBRADOS, POR REGIÓN DE ANÁLISIS Y AUSENCIA Y PRESENCIA DE *D. GEMINATA*. 172
FIGURA 9-68. BOXPLOT DE DENSIDAD DE TAXA DE MACROINVERTEBRADOS, POR REGIÓN DE ANÁLISIS Y AUSENCIA Y PRESENCIA DE *D. GEMINATA*. 173

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

FIGURA 9-69. BOXPLOT DE ÍNDICE DE DIVERSIDAD DE SHANNON DE MACROINVERTEBRADOS, POR REGIÓN DE ANÁLISIS Y AUSENCIA Y PRESENCIA DE *D. GEMINATA*. 174
FIGURA 9-70. BOXPLOT DE ÍNDICE DE DIVERSIDAD DE SIMPSON DE MACROINVERTEBRADOS, POR REGIÓN DE ANÁLISIS Y AUSENCIA Y PRESENCIA DE *D. GEMINATA*. 175
FIGURA 9-71. BOXPLOT DE ÍNDICE DE EQUITATIVIDAD DE PIELOU DE MACROINVERTEBRADOS, POR REGIÓN DE ANÁLISIS Y AUSENCIA Y PRESENCIA DE *D. GEMINATA*. 176
FIGURA 9-72. ANÁLISIS DE CORRELACIÓN CANÓNICA ENTRE PARÁMETROS *IN SITU* E ÍNDICES COMUNITARIOS DE MACROINVERTEBRADOS EN PRESENCIA DE *D. GEMINATA*. 177
FIGURA 9-73. ANÁLISIS DE CORRELACIÓN CANÓNICA ENTRE PARÁMETROS *IN SITU* E ÍNDICES COMUNITARIOS DE MACROINVERTEBRADOS EN AUSENCIA DE *D. GEMINATA*. 178
FIGURA 9-74. ANÁLISIS DE CORRELACIÓN CANÓNICA ENTRE NUTRIENTES Y PARÁMETROS COMUNITARIOS DE MACROINVERTEBRADOS EN PRESENCIA DE *D. GEMINATA*. 179
FIGURA 9-75. ANÁLISIS DE CORRELACIÓN CANÓNICA ENTRE NUTRIENTES E ÍNDICES COMUNITARIOS DE MACROINVERTEBRADOS EN AUSENCIA DE *D. GEMINATA*. 180
FIGURA 9-76. ANÁLISIS DE CORRELACIÓN CANÓNICA ENTRE VARIABLES HIDRÁULICAS E ÍNDICES COMUNITARIOS DE MACROINVERTEBRADOS EN PRESENCIA DE *D. GEMINATA*. 181
FIGURA 9-77. ANÁLISIS DE CORRELACIÓN CANÓNICA ENTRE VARIABLES HIDRÁULICAS E ÍNDICES COMUNITARIOS DE MACROINVERTEBRADOS EN AUSENCIA DE *D. GEMINATA*. 182
FIGURA 9-78. AVANCE DE LA PLAGA DESDE EL AÑO 2011 A 2016. 192
FIGURA 9-79. CLAVE PARA LA CATEGORIZACIÓN Y CLASIFICACIÓN DE LAS PUBLICACIONES CIENTÍFICAS SISTEMATIZADAS. 202
FIGURA 9-80. ANÁLISIS DE CORRELACIÓN CANÓNICA ENTRE VARIABLES *IN SITU* Y PARÁMETROS COMUNITARIOS DE PERIFITON. 207
FIGURA 9-81. ANÁLISIS DE CORRELACIÓN CANÓNICA ENTRE NUTRIENTES Y PARÁMETROS COMUNITARIOS DE PERIFITON. 208
FIGURA 9-82. ANÁLISIS DE CORRELACIÓN CANÓNICA ENTRE VARIABLES HIDRAÚLICAS Y PARÁMETROS COMUNITARIOS DE PERIFITON. 208
FIGURA 9-83. ANÁLISIS DE CORRELACIÓN CANÓNICA EN SECTORES CON BLOOM, ENTRE VARIABLES *IN SITU* Y PARÁMETROS COMUNITARIOS DE PERIFITON. 209
FIGURA 9-84. ANÁLISIS DE CORRELACIÓN CANÓNICA EN SECTORES CON BLOOM, ENTRE NUTRIENTES Y PARÁMETROS COMUNITARIOS DE PERIFITON. 210
FIGURA 9-85. ANÁLISIS DE CORRELACIÓN CANÓNICA EN SECTORES CON BLOOM, ENTRE VARIABLES HIDRAÚLICAS Y PARÁMETROS COMUNITARIOS DE PERIFITON. 210

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

FIGURA 9-86. ANÁLISIS DE CORRELACIÓN CANÓNICA ENTRE VARIABLES *IN SITU* Y PARÁMETROS COMUNITARIOS DE PERIFITON. 211
FIGURA 9-87. ANÁLISIS DE CORRELACIÓN CANÓNICA ENTRE NUTRIENTES Y PARÁMETROS COMUNITARIOS DE PERIFITON. 212
FIGURA 9-88. ANÁLISIS DE CORRELACIÓN CANÓNICA ENTRE VARIABLES HIDRAÚLICAS Y PARÁMETROS COMUNITARIOS DE PERIFITON. 212
FIGURA 9-89. ANÁLISIS DE CORRELACIÓN CANÓNICA EN SECTORES SIN BLOOM, ENTRE VARIABLES *IN SITU* Y PARÁMETROS COMUNITARIOS DEL PERIFITON. 213
FIGURA 9-90. ANÁLISIS DE CORRELACIÓN CANÓNICA EN SECTORES SIN BLOOM, ENTRE NUTRIENTES Y PARÁMETROS COMUNITARIOS DE PERIFITON. 214
FIGURA 9-91. ANÁLISIS DE CORRELACIÓN CANÓNICA EN SECTORES SIN BLOOM, ENTRE VARIABLES HIDRAÚLICAS Y PARÁMETROS COMUNITARIOS DE PERIFITON. 214
FIGURA 9-92. ANÁLISIS DE CORRELACIÓN CANÓNICA (CCA), ENTRE VARIABLES *IN SITU* Y PARÁMETROS COMUNITARIOS DE LAS DIATOMEAS BENTÓNICAS. 215
FIGURA 9-93. ANÁLISIS DE CORRELACIÓN CANÓNICA ENTRE NUTRIENTES Y PARÁMETROS COMUNITARIOS DE LAS DIATOMEAS BENTÓNICAS. 216
FIGURA 9-94. ANÁLISIS DE CORRELACIÓN CANÓNICA ENTRE VARIABLES HIDRAÚLICAS Y PARÁMETROS COMUNITARIOS DE LAS DIATOMEAS BENTÓNICAS. 216
FIGURA 9-95. ANÁLISIS DE CORRELACIÓN CANÓNICA (CCA), ENTRE VARIABLES *IN SITU* Y PARÁMETROS COMUNITARIOS DE LAS DIATOMEAS BENTÓNICAS. 217
FIGURA 9-96. ANÁLISIS DE CORRELACIÓN CANÓNICA ENTRE NUTRIENTES Y PARÁMETROS COMUNITARIOS DE LAS DIATOMEAS BENTÓNICAS. 218
FIGURA 9-97. ANÁLISIS DE CORRELACIÓN CANÓNICA ENTRE VARIABLES HIDRAÚLICAS Y PARÁMETROS COMUNITARIOS DE LAS DIATOMEAS BENTÓNICAS 218
FIGURA 9-98. ANÁLISIS DE CORRELACIÓN CANÓNICA (CCA), ENTRE VARIABLES *IN SITU* Y PARÁMETROS COMUNITARIOS DE LAS DIATOMEAS BENTÓNICAS EN SECTORES CON BLOOM DE *D. GEMINATA*. 219
FIGURA 9-99. ANÁLISIS DE CORRELACIÓN CANÓNICA ENTRE NUTRIENTES Y PARÁMETROS COMUNITARIOS DE LAS DIATOMEAS BENTÓNICAS EN SECTORES CON BLOOM DE *D. GEMINATA*. 220
FIGURA 9-100. ANÁLISIS DE CORRELACIÓN CANÓNICA ENTRE VARIABLES HIDRAÚLICAS Y PARÁMETROS COMUNITARIOS DE LAS DIATOMEAS BENTÓNICAS EN SECTORES CON BLOOM DE *D. GEMINATA.* 220
FIGURA 9-101. ANÁLISIS DE CORRELACIÓN CANÓNICA (CCA), ENTRE VARIABLES *IN SITU* Y PARÁMETROS COMUNITARIOS DE LAS DIATOMEAS BENTÓNICAS EN SECTORES SIN BLOOM DE *D. GEMINATA*. 221

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

FIGURA 9-102. ANÁLISIS DE CORRELACIÓN CANÓNICA ENTRE NUTRIENTES Y PARÁMETROS COMUNITARIOS DE LAS DIATOMEAS BENTÓNICAS EN SECTORES SIN BLOOM DE *D. GEMINATA*. 222
FIGURA 9-103. ANÁLISIS DE CORRELACIÓN CANÓNICA ENTRE VARIABLES HIDRAÚLICAS Y PARÁMETROS COMUNITARIOS DE LAS DIATOMEAS BENTÓNICAS EN SECTORES SIN BLOOM DE *D. GEMINATA*. 222
FIGURA 9-104. VISTA VALVAR DE UNA CÉLULA DE *D. GEMINATA* (CÍRCULO), OBSERVADA EN MUESTRAS DE ESCAMAS DE *S. TRUTTA*, RÉPLICA CS1, ESTACIÓN CISNES_060 225
FIGURA 9-105. ESCAMA DE *S. TRUTTA*. VISTA CINGULAR (CÍRCULO AZUL), DE UNA CÉLULA DE *D. GEMINATA* OBSERVADA EN LA ESTACIÓN NORTE_010, RÉPLICA NE2..... 231
FIGURA 9-106. ESPECIES CAPTURADAS EN EL MUESTREO DE FAUNA ÍCTICA. A) *SALMO TRUTTA*, B) *ONCORHYNCHUS MYKISS* 232
FIGURA 9-107. DIAGRAMA DE VENN QUE MUESTRA LAS ESPECIES (%) DE AVES OBSERVADAS EN ESTACIONES CON PRESENCIA DE *D. GEMINATA* (COLOR ROJO) Y EN AUSENCIA DE ELLA (COLOR VERDE CLARO). ADEMÁS, SE OBSERVA EL PORCENTAJE DE ESPECIES OBSERVADAS EN AMBAS ESTACIONES (ESFERAS SOLAPADAS, COLOR VERDE OSCURO)..... 235
FIGURA 9-108. ESTRUCTURA COMUNITARIA DE AVIFAUNA EN ESTACIONES CON PRESENCIA DE *D. GEMINATA* (ROJO) Y ESTACIONESS CON AUSENCIA DE ELLA (VERDE). MEDIANTE ESTE ANÁLISIS (NMDS) SE OBSERVÓ QUE NO EXISTEN DIFERENCIAS ENTRE AMBAS ESTRUCTURAS DE DICHAS COMUNIDADES..... 236
FIGURA 9-109. VESTIGIOS HALLADOS EN LA ESTACIÓN CUACUA_010. 01) FECAS DE HUILLÍN; 02) HUELLAS DE VISÓN. (A) Y (B) CORRESPONDEN A HUELLAS DE PERROS. ESTO ÚLTIMO NO FUE PROSPECTADO, LA IMAGEN ES SÓLO PARA ILUSTRAR COMPARACIÓN DE TAMAÑOS 238
FIGURA 9-110. AVISTAMIENTO DE VISÓN EN ESTACIÓN LIQUIÑE_030 (PUNTO NEGATIVO PARA *D. GEMINATA*) 238
FIGURA 9-111. FRECUENCIA DE ALTERACIONES ANTRÓPICAS REGISTRADAS ENTRE ESTACIONES CON AUSENCIA Y PRESENCIA DE *D. GEMINATA*..... 239
FIGURA 9-112. ALTERACIONES ANTRÓPICAS REGISTRADAS EN ESTACIONES CON AUSENCIA Y PRESENCIA DE *D. GEMINATA*..... 240
FIGURA 9-113. PENDONES DESARROLLADOS PARA ACTIVIDADES DE DIFUSIÓN EN EL PROYECTO FIPA 2015-04..... 242
FIGURA 9-114. BOLSA ESTILO MORRAL DESARROLLADOS PARA ACTIVIDADES DE DIFUSIÓN EN EL PROYECTO FIPA 2015-04. 243
FIGURA 9-115. VIDEO DE DUFUSIÓN DEL PROYECTO FIPA 2015-04. 243
FIGURA 9-116. ACTIVIDADES DE DUFISIÓN DEL PROYECTO FIPA 2015-04..... 245
FIGURA 9-117. CAMPAÑA DE DIFUSIÓN COYHAIQUE..... 246

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

FIGURA 9-118. CAMPAÑA DE DIFUSIÓN TEMUCO 246
FIGURA 9-119. CAMPAÑA DE DIFUSIÓN VALDIVIA 247
FIGURA 9-120. CAMPAÑA DE DIFUSIÓN 247
FIGURA 9-121. IMAGEN DE CHARLAS INFORMATIVAS 249
FIGURA 9-122. A. IMAGEN REPRESENTATIVA DE LOS CROMATOGRAMAS OBTENIDOS DE LA SECUENCIACIÓN DE LA LOCALIDAD 15, BIOBIO_020. SE OBSERVAN PEAKS POCO DEFINIDOS, INDICADOS POR FLECHAS AZULES, LAS FLECHAS ROJAS INDICAN LA PRESENCIA DE VARIAS SEÑALES DE LECTURA EN LA MUESTRA. B. IMAGEN REPRESENTATIVA DE CROMATOGRAMA DE MUESTRA 20, CON PEAKS BIEN DEFINIDOS. 253
FIGURA 9-123. IMAGEN REPRESENTATIVA DEL ALINEAMIENTO MÚLTIPLE CLUSTAL W EN BIOEDIT. 254
FIGURA 9-124. RELACIONES FILOGENÉTICAS DE *D. GEMINATA* EN BASE A RBCL, EN LAS RAMAS SE INDICA EL NOMBRE DE LA LOCALIDAD EVALUADA. SE UTILIZÓ COMO OUTGROUP LA ESPECIES DE DIATOMEA *CYMBELLA TUMIDA* (NÚMERO DE ACCESO GENBANK KJ011813) OBTENIDA DE LA BASE DE DATOS GENBANK. SE DISTINGUEN 3 CLADOS PRINCIPALES, CLADO A, CLADO B Y CLADO C. 255
FIGURA 9-125. RELACIÓN FILOGENÉTICA DE *D. GEMINATA* Y OTRAS ESPECIES RELACIONADAS DE DIATOMEAS EN BASE AL GEN RBCL. 257
FIGURA 9-126. RELACIÓN FILOGENÉTICA DE *D. GEMINATA* Y OTRAS ESPECIES RELACIONADAS DE DIATOMEAS EN BASE AL GEN RBCL. 258
FIGURA 9-127. RELACIÓN FILOGENÉTICA DE *D. GEMINATA* Y OTRAS ESPECIES RELACIONADAS DE DIATOMEAS EN BASE AL GEN RBCL. 259
FIGURA 9-128. DIVERSIDAD GENÉTICA POBLACIONAL DE *D. GEMINATA* EN CHILE. SE ILUSTRA LA VARIACIÓN A NIVEL DE CUENCAS PARA LA DIVERSIDAD DE HAPLOTIPOS DEL GEN RBCL DE *DIDYMOSPHENIA GEMINATA* EN CHILE. SE ILUSTRA EL NÚMERO DE HAPLOTIPOS (A) Y LA DIVERSIDAD DE SHANNON (B) PARA LAS 8 CUENCAS ESTUDIADAS. 262
FIGURA 9-129. RED DE UNIÓN MEDIANA DE LOS HAPLOTIPOS DEL GEN RBCL DE *D. GEMINATA* EN CHILE. 263
FIGURA 9-130. VARIACIÓN FILOGEOGRÁFICA DE LA DIVERSIDAD GENETICA DEL GEN RBCL DE *DIDYMOSPHENIA GEMINATA* EN CHILE. SE ILUSTRA LA UBICACIÓN GEOGRÁFICA DE LOS DISTINTOS HAPLOTIPOS DEL GEN RBCL DE *DIDYMOSPHENIA GEMINATA* EN CHILE PARA LAS SECUENCIAS LISTADAS EN LA TABLA 9-40. 264
FIGURA 9-131. HEATMAP O MAPA DE ABUNDANCIA DE LOS OTUS. 270
FIGURA 9-132. CLADROGRAMA, EL CUAL AGRUPA POR SIMILITUDES LAS MUESTRAS. 270

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

FIGURA 9-133. HEATMAP O MAPA DE ABUNDANCIA DE 10 OTUS CON MAYOR ABUNDANCIA RELATIVA EN LECTURAS PRESENTE EN CADA UNO DE LOS SITIOS MUESTREADOS. 271
FIGURA 9-134. ABUNDANCIA RELATIVA DE LECTURAS PARA CUATRO PHYLA PRINCIPALES EN LAS 20 ESTACIONES DE MUESTREO. SE OBSERVAN DIVISIONES ENTRE P*HYLA*, ESTO SE DEBE A LA PRESENCIA DE MÁS DE UN OTU REPRESENTANDO UN *PHYLUM* 272
FIGURA 9-135. ABUNDANCIA RELATIVA DE CLASES DE MICROORGANISMOS PRESENTES EN LOS 10 OTUS, SE REPRESENTAN COMO BARRAS QUE INDICAN UNA PARTE DEL TOTAL EN EL EJE "X" (VALOR TOTAL =1), EN EL EJE "Y" SE ORDENAN LAS MUESTRAS DE SUR A NORTE, SIENDO COCHRANE_010 EL MUESTREO MÁS AUSTRAL Y LONQUIMAY_010 EL PUNTO DE MUESTREO MÁS CERCANO AL °0 DE LATITUD..... 272
FIGURA 9-136. ABUNDANCIA DE *PHYLA* PRESENTES EN LOS 10 OTUS MÁS REPRESENTATIVOS, LAS BARRAS INDICAN UNA PARTE DEL TOTAL EN EL EJE "X" (VALOR TOTAL =1), EN EL EJE "Y" SE ORDENAN LAS MUESTRAS DE SUR A NORTE, SIENDO 273

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

INDICE DE ANEXOS

Anexo 1 Personal participe del proyecto FIPA Nº2015-04

Anexo 2 Acta reunión de coordinación

Anexo 3 Ficha de muestreo digitalizada

Anexo 4 Reportes de terreno

Anexo 5 Resultados de cartografía

Anexo 6 Base de Datos proyecto Fipa-2015-04

Anexo 7 Imágenes utilizadas en la ejecución del informe final FIPA Nº2015-04

Anexo 8 Registro fotográfico de estaciones con presencia de *D. geminata*

Anexo 9 Certificados de análisis químicos emitidos por el laboratorio ANAM

Anexo 10 Resultados químicos de laboratorio

Anexo 11 Resultados microalgas bentónicas

Anexo 12 Registro fotográfico microalgas bentónicas

Anexo 13 Resultados diatomeas bentónicas

Anexo 14 Registro fotográfico diatomeas bentónicas

Anexo 15 Resultados microalgas bentónicas presentes en el mesohábitat

Anexo 16 Resultados macroinvertebrados bentónicos

Anexo 17 Registro fotográfico macroinvertebrados bentónicos

Anexo 18 Base de Datos Histórica

Anexo 19 Protocolo de utilización Base de Datos Histórica

Anexo 20 Revisión sistemática cualitativa

Anexo 21 Lista de asistencia a charlas informativas

Anexo 22 Material de Difusión

Anexo 23 Registro fotográfico y lista de asistencia taller teórico-práctico sobre la gestión de la plaga *D. geminata* y bioseguridad en Chile

Anexo 24 Manuscrito aves

Anexo 25 Manuscrito diversidad genética

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

1. DESCRIPCIÓN DEL PROGRAMA

1.1. Nombre del Proyecto	"Monitoreo de la especie plaga *Didymosphenia geminata* en cuerpos de agua de la zona centro sur austral"
1.2. Ubicación	Región del Biobío, Araucanía, Los Ríos, Los Lagos y Aysén
1.3. Duración del Programa	19 meses
1.4. Fondos Requeridos	$110.000.000
1.5. Unidad Técnica	Fondo de Investigación Pesquera y Acuicultura
1.6. Equipo Consultor	Amakaik Consultoría Ambiental SpA
1.7. Jefe de proyecto	Carolina Díaz
1.8. Equipo de trabajo de gabinete	Carolina Díaz P. Dra (c) en Ciencias c/m Ecología y Biología Evolutiva. Licenciada en Ciencias Ambientales c/m Biología. Especialista en Diatomeas de Aguas Continentales. Gerente general AMAKAIK.
	Flavia Salcedo D. Bióloga Ambiental. Investigador AMAKAIK.
	Silvana Muñoz T. Licenciada en Biología. MSc en Botánica. Especialista en vegetación acuática, ripariana y sistemas acuáticos continentales. Investigador AMAKAIK.
	Carmen Santibáñez O. Químico Laboratorista. Investigador AMAKAIK.
	Carolina Fernández A. Bióloga Ambiental. Investigador AMAKAIK.
	Daniel Bozo R. Ingeniero Forestal. Investigador AMAKAIK.
	Felipe Aguilar M. Ingeniero civil en obras civiles. Investigador AMAKAIK.
	Francisco Gerrero P. Cominicador Audivisual. AMAKAIK.
2.1. Equipo de trabajo de laboratorio	Carolina Díaz P. Dra (c) en Ciencias c/m Ecología y Biología Evolutiva. Licenciada en Ciencias Ambientales c/m Biología. Especialista en Diatomeas de Aguas Continentales. Gerente general AMAKAIK.
	Magaly Olivares O. Especialista en Fitoplancton. Técnico Laboratorio. AMAKAIK.
	Pilar Canelo L. Especialista en Macroinvertebrados bentónicos. Técnico Laboratorio. AMAKAIK.
	Damaris Méndez E. Técnico Laboratorio. AMAKAIK.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

	Flavia Salcedo D. Bióloga Ambiental. Investigador AMAKAIK.
2.2. Equipo de trabajo externo	Cristian Henríquez P. Diseñador gráfico multimedia. Agencia OOPS!!.
	Fabio Labra R. Licenciado en Ciencias Biológicas y Doctor en Ciencias Biológicas, mención Ecología. Asesor Centro de Investigación e Innovación para el Cambio Climático. Universidad Santo Tomás, Santiago, Chile.
	Rodrigo Moreno M. Biólogo Marino. Centro de Investigación e Innovación para el Cambio Climático. Universidad Santo Tomás, Santiago, Chile.
	Bernardita Cayupe R. Biología mención bioprocesos, Ciencias biológicas. Austral Biotech, Universidad Santo Tomás, Santiago, Chile.
	Nicole Ehrenfeld S. Bioquímico y Doctor en Ciencias Biológicas Mención Genética Molecular y Microbiología. Austral Biotech, Universidad Santo Tomás, Santiago, Chile.
	Patricio Acuña G. Biólogo marino. Magister en Ecología y Biología evolutiva Especialista Independiente en Medio Ambiente y Limnología
2.3. Asesores internacionales	Nora I Maidana. Profesora Adjunta; Facultad de Cs. Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires. Especialista en Diatomeas de Aguas Continentales. Asesor Internacional.
	Catherine Kilroy. MAFBNZ Technical Advisory Group for *Didymosphenia geminate*. Especialista en *Didymosphenia geminata.* Asesor internacional.
	Carole-Ann Gillis. Scientific Director at Restigouche River Watershed Management Council (Canada). Asesor Internacional.
	Christina Vieglais. United States Department of Agriculture. Especialista en bioseguridad. Asesor Internacional.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

2. EQUIPO DE TRABAJO

A continuación se presenta el equipo de trabajo y las actividades realizadas por cada uno en la ejecución del proyecto FIPA Nº2015-04.

En la Tabla 2-1 se encuentra el equipo de trabajo de laboratorio que participó específicamente en la identificación y análisis de muestras biológicas. En la Tabla 2-2 se encuentra el equipo de trabajo que participó en la ejecución de informes y la actividad desarrollada por cada integrante del equipo. Esta información también se encuentra disponible en el Anexo 1.

Tabla 2-1. Actividad desarrollada por el personal de laboratorio en la ejecución del proyecto FIPA N°2015-04.

Personal	Actividad desarrollada
Carolina Díaz	Identificación taxónomica de diatomeas bentónicas
Magaly Olivares	Identificación taxónomica de microalgas bentónicas y mesohábitat
Pilar Canelo	Identificación taxónomica de macroinbertebrados bentónicos
Flavia Salcedo	Observación de celulas viables en escamas de peces
Patricio Acuña	Identificación taxonómica peces

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

Tabla 2-2.Actividad desarrollada por el personal de gabinete en la ejecución del proyecto FIPA N°2015-04.

Objetivo	Personal	Actividad desarrollada
Objetivo especifico Nº1	Daniel Bozo	Análisis estadístico e interpretación de resultados químicos y biológicos / Discusión de resultados
	Carmen Santibañez	Interpretación y análisis de resultados quimicos / Discusión de resultados
	Felipe Aguilar	Análisis de resultados de variables hidáulicas (sustrato, velocidad corriente, profundidad y densidad de drenaje)
	Silvana Muñoz	Interpretación de resultados biológicos (Perifiton; Mesohábitat; Formas de crecimiento) / Discusión y conclusión de los resultados
	Carolina Diaz	Interpretación de resultados biológicos (Diatomeas bentónicas) / Discusión y conclusión de los resultados
	Flavia Salcedo	Desarrollo Base de Datos/ Calculo índices comunitarios /Desarrollo mapas/ Interpretación resultados Macroinvertebrados bentónicos
Objetivo especifico Nº2	Flavia Salcedo	Análisis historico de *D. geminata*
Objetivo especifico Nº3	Silvana Muñoz	Revisión sistemática y determinación de factores bióticos y abióticos que inciden en *D. geminata*
	Daniel Bozo	Análisis estadistico en la determinación de factores bioticos y abioticos que inciden en *D. geminata* / Potenciales vectores de disperción de *D. geminata* (Vector antrópico)
	Carolina Díaz	Entrevistas a asesores internacionales / Evaluación del programa de monitoreo realizado en Chile
	Carolina Fernández	Normativa Internaciona de *D. geminata*
	Flavia Salcedo	Potenciales vectores de dispercion de *D. geminata* (Fauna ictica)
	Carolina Fernández	Potenciales vectores de dispercion de *D. geminata* (Avifauna y mamiferos)
Objetivo especifico Nº4	Francisco Guerrero	Desarrollo y generación de material grafico y audivisual
	Cristian Henríquez	Desarrollo y generación de material grafico y audivisual
	Carolina Díaz	Desarrollo de charlas informativas de *D. geminata* en Chile
Objetivo extra Nº1	Bernardita Cayupe	Diversidad genética poblacional de *D. geminata* e Interacción con la comunidad de bacterias asociadas
	Nicole Ehrenfeld	Diversidad genética poblacional de *D. geminata* e Interacción con la comunidad de bacterias asociadas
	Rodrigo Moreno	Diversidad genética poblacional de *D. geminata* e Interacción con la comunidad de bacterias asociadas
	Fabio Labra	Diversidad genética poblacional de *D. geminata* e Interacción con la comunidad de bacterias asociadas
	Silvana Muñoz	Diversidad genética poblacional de *D. geminata* e Interacción con la comunidad de bacterias asociadas
Objetivo extra Nº2	Carolina Díaz	Elaboración de un taller práctico-teórico sobre gestión de la plaga *D. geminata* y bioseguridad en Chile
	Magaly Olivares	Preparación y elaboración de taller práctico-teórico sobre gestión de la plaga D. geminata y bioseguridad en Chile
	Damaris Méndez	Apoyo en la preparación y elaboración de un taller práctico-teórico sobre gestión de la plaga *D. geminata* y bioseguridad en Chile
	Francisco Guerrero	Apoyo en la preparación y elaboración de un taller práctico-teórico sobre gestión de la plaga *D. geminata* y bioseguridad en Chile
Objetivo extra Nº3	Bernardita Cayupe	Elaboración manuscrito genética y diversidad bacteriana
	Nicole Ehrenfeld	Elaboración manuscrito genética y diversidad bacteriana
	Rodrigo Moreno	Elaboración manuscrito genética y diversidad bacteriana
	Fabio Labra	Elaboración manuscrito genética y diversidad bacteriana
	Silvana Muñoz	Colaboración en el manuscrito genética y diversidad bacteriana
	Carolina Fernández	Elaboracion manuscrito vectores de disperción *D. geminata*
	Flavia Salcedo	Colaboración en manuscritos de genética y diversidad bacteriana y vectores de disperción *D. geminata*

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

3. RESUMEN EJECUTIVO

Dentro del programa de prospección, vigilancia y control de la especie *Didymosphenia geminata* de la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura (SUBPESCA) y el Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura (SERNAPESCA), se enmarca el estudio FIPA 2015-04, con financiameniento del Fondo de Investigación Pesquera y Acuicultura (FIPA) de SUBPESCA, denominado "Prospección, seguimiento y monitoreo de la plaga Didymo en ríos de importancia para la acuicultura y pesca recreativa en las regiones del Biobío, La Araucanía, Los Ríos, Los Lagos y Aysén". Para ello, se realizaron dos campañas de terreno, la primera entre diciembre 2015 y enero 2016, y la segunda en abril 2016. En cada campaña se muestrearon 100 estaciones seleccionadas previamente con la contra parte técnica.

En cada estación de muestreo se determinó la calidad del agua, macro y micro nutrientes, temperatura, pH, conductividad eléctrica, oxígeno disuelto y porcentaje de saturación de oxígeno, turbidez y las variables hidráulicas velocidad de la corriente, profundidad y sustrato. Además de identificar y cuantificar microalgas bentónicas, fitoplancton (diagnóstico de presencia y ausencia de *D. geminata*), diatomeas bentónicas, macroinvertebrados bentónicos y mesohábitat. Este último, se efectuó sólo en aquellas estaciones que presentaron Didymo (moco), midiendose el espesor y cobertura cuantitativa del mismo y las formas de crecimiento microalgales. A partir de estas condiciones se identificaron áreas con bloom y no bloom de *D. geminata* (pero sí presencia) y se establecieron relaciones entre *D. geminata* y las variables físicas, químicas y biológicas.

Los resultados del estudio revelaron que un total de 35 ríos presentaron *D. geminata* en la comunidad de microalgas bentónicas. De estos, 18 pertenecen a la Región de Aysén, correspondiendo a los ríos Bravo, Cisnes, Estero pedregoso, Aysén, Nirehuao, Norte, Arroyo Cea, La Paloma, Coyhaique, Pollux, Simpson, Baker, Chacabuco, Cochrane, Jeinimeni, Estero el Bravo, Figueroa y Pico. En la Región de Los Lagos, cinco ríos infectados, precisamente Palena, Puelo, Quebrada sin nombre (DGA), Espolón, Futaleufu. En la Región de Los Ríos, nueve ríos con presencia de la plaga, correspondiendo a los ríos Caunahue, Curriñe, Florin, Pillanleufu, Enco, San Pedro, Fuy, Huahum, Llanquihue. En la Región de la Araucanía tres ríos infectados Biobío, Lonquimay y Cautín. Finalmente en la Región del Biobío, fue detectada *D. geminata* en la estación (estación Biobio_110) perteneciente al río Biobío. En relación a lo anterior, cinco nuevos ríos evidenciaron colonización de Didymo, los que corresponden a: Bravo (Bravo_010),

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

Estero el Bravo (Risopatron_008), Caunahue (Caunahue_020), Liucura (Liucura_Biobio_020) y por último, Cautín (Cautin_010).

Los parámetros *in situ* no evidenciaron diferencias estadísticas significativas entre sitios con presencia y ausencia de *D. geminata*. Tampoco fueron registradas diferencias entre sitios con presencia/bloom y presencia/sin bloom de Didymo. Los ríos presentaron condiciones homogéneas en relación a los parámetros *in situ*, lo que se explica por sus características de ríos precordilleranos, oligotróficos y con altas pendientes, siendo ríos de montaña (ritrales). En este contexto, se confirmaría que esta microalga prefiere hábitats de aguas de bajas temperaturas, oligotróficas y con concentraciones mínimas de iones biodisponibles en la columna de agua.

En relación a los macro y micro nutrientes se registraron diferencias estadísticas significativas, entre estaciones con presencia y ausencia de *D. geminata*. Estas diferencias se deberían a que las estaciones con presencia de *D. geminata,* presentarían una directa relación con la disponibilidad del calcio y una relación inversa entre la densidad de la diatomea y la concentración de sílice.

Respecto de las variables hidráulicas se observó que *D. geminata* presentaría preferencia por sustratos de mayor tamaño (piedras “bolones” y cantos), disminuyendo en sustratos más pequeños (arena y limo/arcilla). Este resultado se condice con lo expresado en la literatura, que indica que *D. geminata* presentaría un óptimo crecimiento en rocas y bolones.

Para los grupos biológicos se obtuvo diferencias significativas al analizar la composición de perifiton y diatomeas bentónicas en ríos con presencia y ausencia de *D. geminata*. Eso significa que las composiciones de géneros y las abundancias fueron distintas en ríos con presencia de *D. geminata* y en ríos con ausencia de ésta. Se observaron mayores riquezas en sitios donde *D. geminata* fue positivo.

Lo mismo se observó con respecto a los macroinvertebrados bentónicos, los que presentaron diferencias significativas en presencia y ausencia de *D. geminata*. Las estaciones de muestreo con presencia de *D. geminata* poseen menor proporción de EPT (Ephemeroptera, Plecoptera y Trichoptera) y mayor número de Chironomidae, lo que coincide con lo descrito en la literatura.

Respecto a la composición de géneros del perifiton según tipo de mesohábitat, no fueron registradas diferencias significativas en sitios con presencia/bloom de Didymo y presencia/sin bloom. A excepción de la densidad que fue mayor en sectores con bloom de Didymo. La riqueza

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

de géneros en el mesohabitat no tuvo diferencias significativas, sin embargo, la riqueza fue levemente mayor en sitios con bloom de Didymo.

Se analizaron también las formas de crecimiento de las microalgas asociadas a los mesohábitat, no encontrándose diferencias entre los distintos tipos de éste. Sin embargo, se encontró una alta correlación de *D. geminata,* con las otras diatomeas de formas pedunculadas.

Entre los objetivos específicos del estudio se encuentra el análisis de información histórica de *D. geminata* en el territorio nacional. Para ello, se reunió información procedente de nueve proyectos desarrollados en el territorio nacional a partir del año 2010 hasta el 2015. Con toda la información recopilada se generó una Base de Datos Histórica. Los resultados indican hasta la fecha la plaga se extiende entre las regiones de Magallanes, Aysén, Los Lagos, Los Ríos, La Araucanía y Biobío.

En todos los proyectos analizados se observó que la comunidad de diatomeas bentónicas se vió beneficiada frente a la presencia de *D. geminata*, aumentando en general la riqueza, diversidad y la abundancia total de individuos.

Hasta el momento no se han encontrado patrones de distribución biológicos, físicos y/o químicos para explicar en parte la distribución de *D. geminata*. Sin embargo, el proyecto FIPA (2013) valorizó la importancia de los factores geográficos, dejando en segundo lugar a variables físicas y químicas, sugiriendo que la ubicación del tramo y la regulación hidrológica se relacionan altamente con la presencia de *D. geminata*. Estos resultados validarían la idea de que las variables hidrográficas/geográficas/físicas determinarían el establecimiento de *D. geminata*, por sobre condiciones físicas y químicas de los ríos.

En este proyecto se evaluaron los factores bióticos y abióticos que inciden en el ciclo de invasión de *D. geminata*. Para lo cual, se realizó una recopilación de información, una revisión sistemática, una investigación de la normativa mundial de *D. geminata* y entrevistas a expertos en el tema Didymo. Para la determinación de los factores bióticos y abióticos que inciden en el ciclo de invasión, colonización y proliferación de *D. geminata* se realizaron análisis multivariados entre las variables ambientales y los parámetros comunitarios de los distintos grupos biológicos, los que son expuestos en el objetivo de prospección y mesohábitat.

En este estudio se determinaron también posibles vectores de dispersión obteniendose muestras de escamas de peces, distribución espacial de aves y de mamíferos. De acuerdo a los resultados, sólo fue posible observar células de *D. geminata* en una cantidad mínima de peces capturados,

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

siendo todas las células inviables (muertas), lo que sugeriría que los peces no estarían favoreciendo la dispersión de *D. geminata*, sin embargo, se necesita hacer mas estudios para aceptar o rechazar la hipótesis que los peces son o no vectores de dipercion de Didymo con respecto a su potencial como vector dado que ambas especies comparten un hábitat en común y el hecho de haber encontrado células de Didymo en espamas de peces. En el caso de las aves se realizo un censo en sitios en presencia y en ausencia de *D. geminata*. No se observaron diferencias entre el ensamble de aves presentes en ambos sitios. En el caso de los mamíferos, no fue posible determinar su potencialidad como dispersores de la plaga.

También se evaluó al ser humano como dispersor de la plaga, evidenciándose que sectores con presencia de *D. geminata* presentó una fuerte incidencia de actividades humanas. Luego al comparar, los distintos sectores con presencia y ausencia de Didymo, no se determinaron diferencias significativas.

Del punto de vista de la invasión y colonización de de *D. geminata,* han sido ampliamente estudiados los aspectos morfológicos, biológicos, ciclo de vida. Sin embargo, factores biológicos como la diversidad genética poblacional de *D. geminata* y las interacciones con su entorno en términos de sus relaciones con la denominada ficósfera y las comunidades bacterianas ha sido muy poco estudiado. Debido a esto, el presente estudio contempló el análisis de la diversidad filogenética y de las bacterias asociadas a *D. geminata*. Para la caracterización filogenética de *D. geminata*, se realizó un muestreo en 21 ríos donde se detectó la presencia de la plaga, específicamente en las regiones de: Aysén, Los Lagos, Los Ríos y la Araucanía. Respecto de la estructura poblacional y su variabilidad genética los resultados indican que, independientemente del método de análisis, se observa un grupo de entre 15 y 18 secuencias de *D. geminata* que se agrupan con una muy baja distancia genética entre ellas. Ello sugiere que hay un grueso de muestras chilenas que comparten secuencias muy parecidas, es decir, que existe un grupo importante de poblaciones que podrían pertenecer a un único linaje. A su vez, las 3 secuencias restantes podrían corresponder a linajes que se originaron por mutación, desde una primera introducción o bien pueden corresponder a nuevos linajes que se han introducido de forma independiente.

Al examinar la diversidad genética para las distintas cuencas, se aprecia una disminución a lo largo del gradiente latitudinal, siendo la cuenca del Biobío la más diversa, con seis haplotipos presentes, mientras que las cuencas de los ríos Puelo y Baker son las menos diversas presentando solamente un único haplotipo. Los resultados de diversidad genética sugieren al

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

menos dos eventos de invasión de la plaga *D. geminata* en Chile, pudiendo alcanzar hasta diez eventos de introducción de distintos linajes.

Respecto de la comunidad bacteriana asociada a *D. geminata,* los datos obtenidos permiten realizar una caracterización general de las comunidades bacterianas presentes en la estructura biológica. Sin embargo, no es posible concluir que la presencia de esta microbiota posea un rol funcional relacionado a la presencia de *D. geminata* en las estaciones de muestreo. De todos modos, es posible concluir que las comunidades bacterianas presentan mayor abundancia relativa sobre las Archeas (no bacterias). Al respecto se observaron cuatro *phyla* dominantes, sin embargo, para poder especular respecto a su relación con la colonización de *D. geminata*, sería necesario evaluar las comunidades bacterianas en el perifiton de los ríos con *D. geminata* en las estaciones de muestreo donde no hay presencia de estructura extracelular de *D. geminata* y/o río sin presencia de esta diatomea. Por último, los resultados de este estudio complementan y aportan al entendimiento de la composición taxonómica de las comunidades bacterianas asociadas a los ensambles microalgales bentónicos y a la presencia de *D. geminata*. Sin embargo, con los datos obtenidos no es aún posible concluir de manera certera si hay una relación entre comunidad bacteriana y ensamble microalgales o si Didymo sólo actúa como un reservorio de diversidad.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

4. ABSTRACT

Under the prospection, monitoring and control program of the *Didymosphenia geminata* species implemented by the Subsecretariat of Fisheries and Aquaculture (SUBPESCA) and the National Fisheries and Aquaculture Service (SERNAPESCA), belonging to the FIPA study 2015-04 and financed by the Fisheries and Aquaculture Research Fund (FIPA) of SUBPESCA, entitled "Prospection, tracking and monitoring of the Didymo pest in rivers where aquaculture and recreational fishing is relevant in the Biobío, Araucanía, Los Ríos, Los Lagos and Aysén regions". To achieve this, two field campaigns were carried out, the first between December 2015 and January 2016, and the second in April 2016. In each campaign 100 stations previously selected with the technical counterpart were sampled.

The water quality, macro and micro nutrients, temperature, pH, electrical conductivity, dissolved oxygen and oxygen saturation percentage, turbidity and hydraulic variables; current speed, depth and substrate were determined at each sampling station. In addition to identifying and quantifying benthic microalgae, phytoplankton (diagnosis of *D. geminata* presence and absence), benthic diatoms, benthic macroinvertebrates and mesohabitat. The latter was performed only in those stations that presented Didymo (mucus), measuring the thickness and quantitative coverage of mucus and microalgal growth forms. From these conditions, *D. geminata* bloom and non-bloom areas of D. (but with presence) were identified and relationships were established between *D. geminata* and the physical, chemical and biological variables.

The results of the study revealed that a total of 35 rivers presented *D. geminata* in the benthic microalgae community. From these outcomes, 18 belong to Aysén Region, corresponding to the rivers: Bravo, Cisnes, Estero stony, Aysén, Nirehuao, Norte, Arroyo Cea, La Paloma, Coyhaique, Pollux, Simpson, Baker, Chacabuco, Cochrane, Jeinimeni, Estero El Bravo, Figueroa and Pico. In the Los Lagos Region, five rivers are infected. The rivers: Palena, Puelo, Quebrada sin nombre (DGA), Espolón, Futaleufu. In Los Ríos Region, nine rivers have the presence of the plague, corresponding to the rivers: Caunahue, Curriñe, Florin, Pillanleufu, Enco, San Pedro, Fuy, Huahum and Llanquihue. In the Araucanía Region, three rivers are infected corresponding to Biobío, Lonquimay and Cautín rivres. Finally, in the Biobío Region, *D. geminata* was detected at the station (Biobio_110 station) belonging to the Biobío river. In relation to the above, five new rivers evidenced the colonization of Didymo, which correspond to: Bravo (Bravo_010), Estero el

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

Bravo (Risopatron_008), Caunahue (Caunahue_020), Liucura (Liucura_Biobio_020) and, finally, Cautin (Cautin_010).

The parameters *in situ* did not show statistically significant differences between sites with presence and absence of *D. geminata*. There were also no differences between sites with presence / bloom and presence / without bloom of Didymo. The rivers presented homogeneous conditions in relation to the parameters *in situ*, which is explained by the pre-Andean rivers characteristics; oligotrophic and with high slopes, being mountain rivers (ritral zone). In this context, it would be confirmed that this microalga prefers water habitats of low temperatures, oligotrophic and with minimum concentrations of bioavailable ions in the water column.

Regarding the macro and micro nutrients, there were significant statistical differences between stations with presence and absence of *D. geminata*. These differences were due to the fact that the stations with presence of D. geminata would be directly related to the availability of calcium and an inverse relationship between the diatom density and the silica concentration.

Regarding the hydraulic variables, it was observed that *D. geminata* presented preference for larger substrates ("quarried stones" and boulders), decreasing in smaller substrates (sand and silt / clay). This result is in agreement with the literature, which indicates that *D. geminata* would present an optimum growth in rocks and quarried stones.

For the biological groups, significant differences were obtained when analyzing the composition of periphyton and benthic diatoms in rivers with *D. geminata* presence and absence. This means that genus and abundance compositions were different in those rivers with *D. geminata* presence in comparison to rivers with absence of this. Greater richness were observed in sites where *D. geminata* was positive.

The same was observed with respect to benthic macroinvertebrates, which showed significant differences in the presence and absence of *D. geminata*. Sampling stations with *D. geminata* presence have a lower proportion of EPT (Ephemeroptera, Plecoptera and Trichoptera) and higher numbers of Chironomidae, which coincides with what was described in the literature.

Regarding the composition of periphyton genera according to the mesohabitat type, no significant differences were observed in sites with presence / Didymo bloom and presence/without bloom. Except for the density that was higher in sectors with Didymo bloom. Genus richness in the mesohabitat did not have significant differences, however, the richness was slightly higher in sites with Didymo bloom.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

We also analyzed the growth forms of the microalgae associated to the mesohabitat, not finding differences among the different types of this one. However, a high correlation of *D. geminata* was found with the other club-shaped (penduculate) diatoms.

Among the specific objectives of the study is the analysis of *D. geminata* historical data in the national territory. Therefore, information was gathered from nine projects developed in the national territory from the year 2010 to 2015. With all the information collected was generated a Historical Database. The results indicate to date the plague extends among the regions of Magallanes, Aysén, Los Lagos, Los Ríos, La Araucanía and Biobío.

In all the projects analyzed it was observed that the community of benthic diatoms benefited from the *D. geminate* presence, generally, increasing the richness, diversity and total abundance of individuals.

So far no biological, physical and / or chemical distribution patterns have been found to explain in part the *D. geminate* distribution. However, the FIPA project (2013) emphasized the importance of geographic factors, leaving physical and chemical variables in the background, suggesting that the location of the stretch and hydrological regulation are highly related to *D. geminata* presence. These results would validate the idea that the hydrographic / geographic / physical variables would determine the establishment of *D. geminata* over the physical and chemical conditions of the rivers.

This project evaluated the biotic and abiotic factors that affect the cycle of invasion of *D. geminata*. Thus, a compilation of information, a systematic review, a global regulation investigation of *D. geminata* and interviews with experts in the Didymo issue were carried out. For the determination of the biotic and abiotic factors that affect the invasion cycle, colonization and proliferation of *D. geminata* multivariate analyzes were carried out between the environmental variables and the community parameters of the different biological groups, which are exposed in the prospecting and mesohabitat objectives.

In this study, possible dispersion vectors were also established by obtaining samples of fish scales, birds and mammals spatial distribution. According to the results, it was only possible to observe *D. geminata* cells in a minimum amount of captured fish, all of which were unviable (dead), suggesting that the fish would not be favoring the dispersion of *D. geminata*, nevertheless, further studies are required to accept or reject the hypothesis that fish are or are not vectors of Didymo dispersion with respect to its potential as vector since both species share a common habitat and the fact of having found cells of Didymo on fish scales. In the case of birds, a census was carried

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

out at sites with *D. germinata* presence and absence. No differences were observed between the assembly of birds present at both sites. In the case of mammals, it was not possible to determine their capability to disperse the pest.

The human being was also evaluated as disperser of the pest, showing evidence that sectors with present of *D. geminate* presented a strong incidence of human activities. Then, when comparing the different sectors with Didymo presence and absence , no significant differences were determined.

From the point of view of *D. geminata* invasion and colonization , the morphological, biological and life cycle aspects have been extensively studied. However, biological factors such as the population genetic diversity of *D. geminata* and interactions with its environment in terms of its relationship with the so-called ficosphere and bacterial communities have been little studied. Due to this, the present study took into account the analysis of the phylogenetic diversity and of the bacteria associated to *D. geminata*. For the phylogenetic characterization of *D. geminata*, a sampling was carried out in 21 rivers where the presence of the pest was detected, specifically in the regions of Aysén, Los Lagos, Los Ríos and Araucanía. Regarding the population structure and its genetic variability, the results indicate that, regardless of the method of analysis, a group of 15 to 18 *D. geminata* sequences are grouped with a very low genetic distance between them. This suggests that there are a large number of Chilean samples that share very similar sequences, that is, there is an important group of populations that could belong to a single lineage. In turn, the 3 remaining sequences could correspond to lineages that were originated by mutation, from a first introduction or might correspond to new lineages that have been introduced independently.

When examining the genetic diversity for the different basins, a decrease along the latitudinal gradient is observed, being the Biobío basin the most diverse, with the presence of six haplotypes whereas the basins of the rivers Puelo and Baker are the less diverse presenting just a single haplotype. The results of genetic diversity suggest at least two invasion events of *D. geminata* plague in Chile, being able to reach up to ten events of introduction of different lineages.

With respect to the bacterial community associated with *D. geminata*, the data obtained allow a general characterization of the bacterial communities present in the biological structure. However, it is not possible to conclude that the presence of this microbiota has a functional role related to the presence of *D. geminata* in the sampling stations. However, it is possible to conclude that bacterial communities present greater relative abundance on the Archeas (non-bacteria). In order to be able to speculate about its relation with the colonization of *D. geminata*, it would be necessary

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

to evaluate the bacterial communities in the periphyton of the rivers with *D. geminata* in the sampling stations where there is no presence of extracellular structure of *D. geminata* and / or river without presence of this diatom. Finally, the results of this study complement and contribute to the understanding of the taxonomic composition of the bacterial communities associated with benthic microalgal assemblages and the presence of *D. geminata*. However, with the data obtained it is not yet possible to accurately conclude whether there is a relationship between bacterial community and microalgal assembly or if Didymo only acts as a reservoir of diversity.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

5. INTRODUCCIÓN

Didymosphenia geminata (Lyngbye) M. Schmidt, también conocido como “Didymo o moco de roca” es una diatomea bentónica de agua dulce considerada como especie invasora (Kilroy *et al*., 2008), que produce gruesos tapices de mucopolisacáridos en ríos oligotróficos (Bothwell & Kilroy, 2011), a partir de un pie de mucílago que genera para adherirse al sustrato (Spaulding & Elwell, 2007).

Se creía que esta microalga era endémica del Hemisferio Norte, describiéndose originalmente en las Islas Faroe (Patrick & Reimer, 1975). Sin embargo, en las últimas décadas, su rango geográfico y las condiciones ambientales en las que prolifera han aumentado (Spaulding & Elwell, 2007; Blanco & Ector, 2009). Actualmente, esta plaga se encuentra en ríos y lagos de Nueva Zelanda, Norteamérica, Europa, Asia y Sudamérica (Spaulding & Elwell, 2007; Reid *et al*., 2012), generando un impacto en los ecosistemas fluviales a nivel mundial.

En Chile, la presencia de *D. geminata* fue documentada por primera vez el año 1962, en el Lago Sarmiento y el Río Cisnes (Asprey *et al*., 1964; Rivera *et al.,* 1990). Posteriormente, en mayo de 2010, se reportó la presencia de esta microalga en el Río Espolón, región de Los Lagos. Este suceso provocó que Didymo fuese considerada plaga hidrobiológica en sectores de la subcuenca Futaleufú (Res. Ex. Nº 3064/2010, SUBPESCA). Durante los últimos años, se han detectado nuevas zonas con presencia de *D. geminata*, los que incluyen cuencas de las regiones del Biobío, La Araucanía, Los Ríos, Los Lagos, Aysén y Magallanes.

El presente proyecto “Monitoreo de la especie plaga *D. geminata* en cuerpos de agua de la zona centro sur austral”, se origina dentro del programa de prospección, vigilancia y control de la especie *D. geminata* de la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura (SUBPESCA) y el Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura (SERNAPESCA). El estudio se enfoca en la prospección, seguimiento y monitoreo de la plaga *D. geminata* entre las regiones de Biobío y Aysén, mediante dos campañas de muestreo, la primera ejecutada en diciembre 2015 y enero 2016, y la segunda en abril 2016.

El estudio cuenta con cuatro objetivos específicos y tres objetivos extras los que se detallarán brevemente a continuación.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

El primer objetivo específico, denominado “Prospección y seguimiento de la plaga *D. geminata*” expone las actividades realizadas en ambas campañas de terreno y los resultados de este estudio.

El segundo objetivo denominado “Análisis de la información histórica de cada río prospectado respecto de la presencia/ausencia de la especie *D. geminata* y de los parámetros físicos y químicos” describe el proceso de recopilación de antecedentes de la plaga de Didymo en Chile a partir del año 2010 hasta la fecha, y la elaboración de una base de datos histórica con la información reunida.

El tercer objetivo corresponde “Análisis de los factores que inciden en la dispersión, colonización y proliferación de la plaga *D. geminata*”. Para responder este objetivo, por una parte se realizó una recopilación de antecedentes bibliográficos de la especie plaga *D. geminata* en Chile y en el mundo, con esta información se elaboró una revisión sistemática, la cual, se complementa con entrevistas a asesores internacionales y con una revisión de la normativa internacional de Didymo. Por otra parte, se analizan los distintos parámetros forzantes que determinan e inciden en el ciclo de invasión de *D. geminata*. Se discuten los potenciales vectores de la plaga, y se realiza una evaluación del programa de monitoreo realizado en Chile.

El cuarto objetivo contempla el desarrollo de actividades de difusión, entre las cuales se encuentra la elaboración de material gráfico y audiovisual, talleres de difusión, por último, jornadas de trabajo dirigida a instituciones del Estado con competencia en el tema.

Este trabajo cuenta también con tres objetivos extras, el primero: “Estudiar la diversidad genética y comunidad bacteriana asociada *D. geminata*”, para ello se realizaró una caracterización filogenética y una determinación de la diversidad bacteriana de las poblaciones asociadas a las regiones y ríos donde se detectó la presencia de la plaga. El segundo, corresponde a la elaboración de un taller teórico práctico sobre la gestión de la plaga *D. geminata* y mecanismos de bioseguridad en Chile. El tercero, corresponde a la elaboración de al menos dos manuscritos con la información obtenida en la ejecución de este proyecto.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

6. OBJETIVOS

6.1 Objetivo general

Realizar seguimiento y prospección de *D. geminata* en ríos de importancia para la acuicultura y pesca recreativa en las regiones del Biobío, La Araucanía, Los Ríos, Los Lagos y Aysén.

6.2 Objetivos específicos

1. Realizar prospección y seguimiento de cuerpos de agua de importancia para la acuicultura y pesca recreativa, respecto de la presencia de *D. geminata* desde la región del Biobío a la región de Aysén.
2. Analizar la información histórica de cada río prospectado respecto a parámetros físicos y químicos y a la presencia/ausencia de la especie, a fin de establecer una asociación con *D. geminata*.
3. Determinar factores bióticos y abióticos que inciden en la diseminación, proliferación o contención de *D. geminata* en las cuencas hídricas del área de estudio.
4. Desarrollar actividades de difusión, material gráfico y audiovisual, orientados a la educación de la comunidad respecto a alcances de la plaga y sus medidas de prevención.

6.3 Objetivos Extras

1. Estudiar la variabilidad genética poblacional de *D. geminata* y la comunidad bacteriana asociada.
2. Elaboración de un taller teórico-práctico sobre gestión de la especie plaga *D. geminata* y bioseguridad en Chile.
3. Envío de al menos dos manuscritos a revistas científicas, elaborados en base a los resultados obtenidos en este proyecto.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

7. ÁREA DE ESTUDIO

De acuerdo a los lineamientos de las Bases Técnicas, el área de estudio abarca cinco regiones de la zona centro, sur y austral de Chile. Estas corresponden a Biobío, Araucanía, Los Ríos, Los Lagos y Aysén, cuya distribución espacial se presenta en la Figura 7-1.

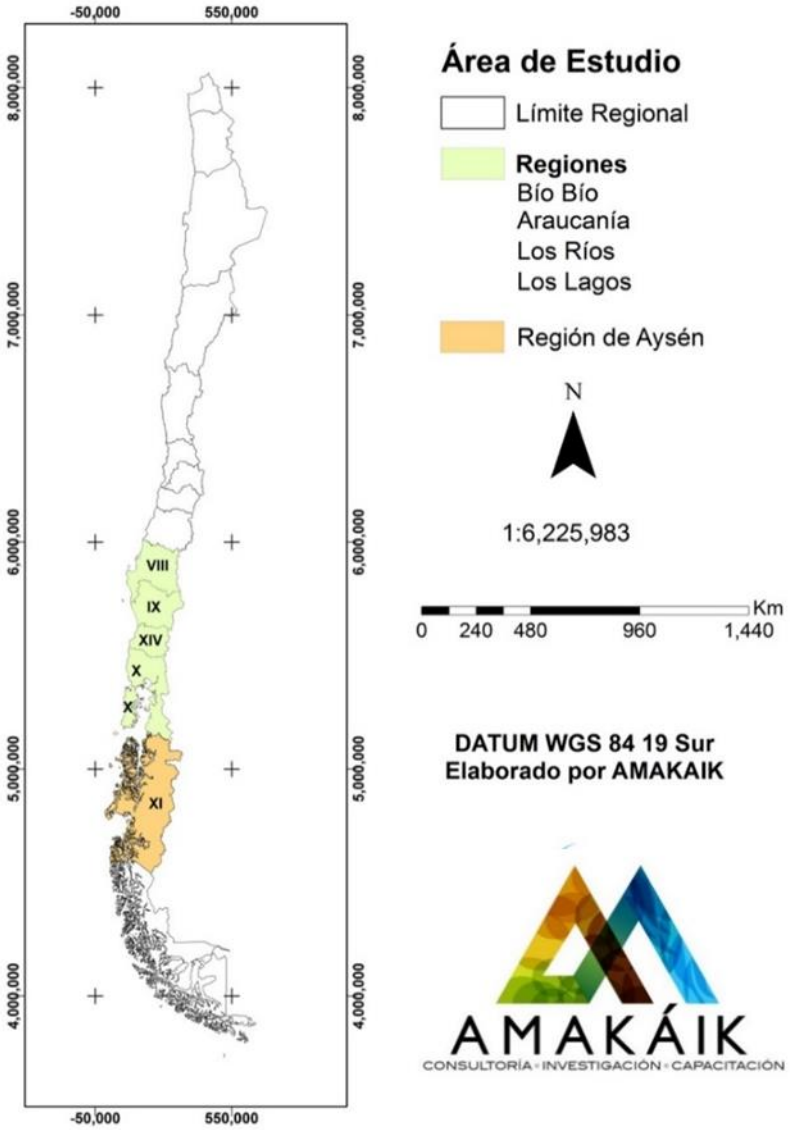


Figura 7-1. Área de estudio proyecto FIPA N°2015-04.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

Cabe mencionar que técnicamente, en toda la región del Biobío no hay subcuencas con registros previo de *D. geminata*, ya que la subcuenca positiva para la plaga (Alto Biobío) pertenece administrativamente a la Región de La Araucanía. Sin embargo, se puede considerar como contaminada la cuenca Biobío, ya que las aguas de la subcuenca de Alto Biobío escurren hacia la cuenca de la octava región. De este modo, en este estudio se propone considerar Alto Biobío como la subcuenca positiva de la región del Biobío (monitoreo de sitios positivos y vigilancia de sitios negativos).

7.1 Campañas de Muestreo

Se realizaron dos campañas de muestreo para evaluar la variabilidad estacional de la plaga. La primera campaña, primavera-verano, se ejecutó entre el 30 de noviembre de 2015 y el 15 de enero de 2016. En tanto, la segunda campaña de muestreo se realizó en otoño entre el 04 y el 26 de abril de 2016.

7.2 Selección de ríos y estaciones de muestreo

Las estaciones de muestreo se diferenciaron en prospección, vigilancia y monitoreo (Resolución Exenta N°1070/2014). **Prospección** corresponde a aquellas estaciones que no han sido muestreadas previamente; **vigilancia** son aquellas que han sido muestreadas y no han presentado *D. geminata*, y por último **monitoreo** que corresponde a estaciones que han sido muestreadas y han presentado *D. geminata*, es decir, corresponden a estaciones infectadas.

La selección de ríos y estaciones de muestreo se determinaron en conjunto con la contraparte técnica, principalmente en base a resultados de prospecciones y monitoreos previos, respetando los lineamientos del Manual Didymo SUBPESCA, (2016). Además de estos lineamientos, la selección de estaciones incluye las siguientes consideraciones:

- Seleccionar estaciones de muestreo con desarrollo de actividades antrópicas, consideradas como posibles vectores de *D. geminata*, tales como las actividades de pesca recreativa, deportiva y turística, deportes acuáticos como kayaking y rafting, etc.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

- Observar características hidráulicas, físicas y químicas que podrían ser críticas para la floración (bloom algal) y proliferación de *D. geminata*.
- Zonas de vulnerabilidad ambiental, como por ejemplo zonas de descargas de residuos.
- Accesibilidad del tramo y estación de muestreo bajo condiciones de seguridad para el equipo de trabajo, como por ejemplo tipo de sustrato (rocoso), profundidad (somera), etc.
- Estaciones de muestreo localizados preferentemente aguas arriba y aguas abajo de afluentes de mayor importancia en cada río, para inferir presencia o ausencia de *D. geminata* en estos afluentes no muestreados.
- Representatividad de los distintos hábitats del río, diferenciando las zonas ritrónicas y potámicas.

A partir de lo anterior, se seleccionaron 100 estaciones de muestreo, las cuales fueron muestreadas en ambas campañas de terreno. La localización geográfica de cada estación se encuentra en la Tabla 7-1.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

Tabla 7-1. Región, cuenca, río y coordenadas UTM de cada estación de muestreo comprendida en el área de estudio del proyecto FIPA N°2015-04.

Región	Cuenca	Río	Estación	Este	Norte
Aysén	Costeras e Islas entre R.Baker y R.Pascua	Bravo	Bravo_010	214541	4662250
		Resbalon	Bravo_020	195432	4674679
	Costeras e Islas entre R.Palena y R.Aysén	Cisnes	Cisnes_020	289035	5054396
			Cisnes_060	212072	5036340
		Grande	Grande_E_010	277049	5050283
			Grande_O_010	239860	5051556
		Rodríguez	Rodriguez_010	253683	5042638
	R.Aysén	Desagüe Laguna La Paloma	D_L_Paloma_020	263577	4916389
		Estero Pedregoso	Pedregoso_Aysen_010	252343	5001852
		Aysén	Aysen_050	229428	4972939
		Coyhaique	Coyhaique_010	272227	4952892
		Río La Paloma	La_Paloma_030	236140	4918387
		Nirehuao	Nirehuao_020	254719	4993925
		Norte	Norte_010	286335	4987453
		Pangal	Pangal_010	213678	4970839
		Pollux	Pollux_010	261979	4935654
		Arrollo_Cea	Arroyo_Cea_010	248576	4937462
		Simpson	Simpson_010	231868	4964174
	R.Baker	Baker	Baker_060	182345	4703951
		Chacabuco	Chacabuco_050	255297	4784125
		Cochrane	Cochrane_010	231548	4760356
			Cochrane_020	228757	4760099
		De los Nadis	De_Los_Nadis_010	210585	4721599
		Jeinemeni	Jeinimeni_010	286386	4815726
	R.Pascua	Desagüe Lago Cisnes	D_L_Cisnes_010	232257	4627461
	R.Palena y Costeras Limite Decima Región	Estero El Bravo	Risopatron_008	221587	5104317
		Figueroa	Figueroa_020	242078	5116726
		Pico	Pico_020	272237	5102113
		Risopatron	Risopatron_019	214255	5119579
		Rosselot	Rosselot_010	234904	5123920
			Rosselot_030	227547	5126846
		Palena	Palena_090	216577	5122575
			Palena_100	197451	5127914

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

Región	Cuenca	Río	Estación	Este	Norte
Los Lagos	R.Palena y Costeras Límite Décima Région	Palena	Palena_050	256323	5162638
	Cuencas e Islas entre R.Bueno y R.Puelo	Cochamo	Cochamo_030	227770	5401186
		Huenu-huenu	Huenu_Huenu_012	208724	5426650
		Patas	Patas_010	209227	5423421
		Petrohue	Petrohue_010	208608	5433740
	R.Bueno	Forrahue	Forrahue_080	144917	5474620
		Rahue	Rahue_010	188661	5478150
	R.Puelo	Estero Correntoso	Est_Correntoso_090	256476	5344188
		Apertura	Apertura_010	233139	5387796
		Puelo	Puelo_020	257351	5353344
			Puelo_040	243868	5376916
	R.Yelcho	Quebrada sin nombre	Futaleufu_010	269104	5213926
		Amarillo	Amarillo_020	216547	5227916
		Espolón	Bellavista_020	265307	5215259
			Espolon_010	266742	5213735
		Futaleufu	Futaleufu_080	249893	5187151
		Yelcho	Yelcho_010	220440	5213890
			Yelcho_030	196422	5235721
Los Ríos	R.Bueno	Bueno	Bueno_020	169539	5529140
		Caunahue	Caunahue_020	222568	5547560
		Curinilahue	Curinilahue_030	232556	5543348
		Curriñe	Currine_010	250027	5546770
			Currine_020	244496	5544181
		Florin	Florin_020	227159	5553896
		Golgol	Golgol_019	225059	5493670
		Pillanleufu	Pillanleufu_010	243990	5546683
			Pillanleufu_020	242022	5540541
	R.Valdivia	Desagüe Lago Neltume	Neltume_020	242938	5588459
		Blanco	Blanco_Enco_020	229907	5577515
		Collileufu	Collileufu_100	173793	5580350
		Cruces	Cruces_010	172341	5622121
		Cuacua	Cuacua_010	251071	5600910
		Enco	Enco_020	229876	5577548
		Estero Quebrada Onda	Fuy_020	250022	5584511

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

Región	Cuenca	Río	Estación	Este	Norte
Los Ríos	R.Valdivia	Fuy	Fuy_030	243530	5587440
		Huahum	Huahum_020	268448	5565002
		Liquiñe	Liquine_030	255772	5597576
		Llancahue	Llancahue_010	245464	5614857
		Llanquihue	Llanquihue_010	239578	5587006
		Llanquihue	Llanquihue_030	235814	5587374
		Río Los Nadis	Huenehue_020	222553	5610281
		Manio	Manio_030	205162	5597794
		Putregal	Putregal_010	169412	5599630
		Quinchilca	Quinchilca_010	194329	5576807
		Quinchilca	Quinchilca_040	178777	5581262
		Remehue	Remehue_020	196079	5573831
		Río San Pedro	San_Pedro_030	181276	5587720
		Zahuil	Zahuil_020	223390	5611456
Araucanía	R.Imperial	Calbuco	Quepe_010	237224	5712839
		Cautín	Cautin_010	246008	5737375
		Quepe	Quepe_009	199080	5697249
	R.Tolten	Allipen	Allipen_030	196099	5675718
		Claro	Claro_010	245916	5648843
		Liucura	Liucura_Tolten_020	250730	5649874
		Pucon	Pucon_020	249767	5648617
		Voipir	Voipir_060	220326	5642271
	R.Biobío	Liucura	Liucura_Biobio_020	318793	5720164
		Lonquimay	Lonquimay_010	302659	5742716
		Mininco	Mininco_090	194929	5811776
		Ranquil	Ranquil_020	304711	5764172
		Renaico	Renaico_070	196990	5812268
		Biobío	Biobio_020	312394	5710703
		Biobío	Biobio_050	307877	5736032
Biobío	R.Biobío	Biobío	Biobio_110	263425	5808885
		Biobío	Biobio_120	238312	5824415
		Laja	Laja_010	265991	5867726
	R.Itata	Chillan	Chillan_040	250046	5929172
		Diguillin	Diguillin_A	250002	5919129

Fuente: Elaboración Propia.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

8. METODOLOGÍAS

A continuación se describen las metodologías utilizadas para dar cumplimiento con cada uno de los objetivos planteados en este estudio.

8.1 Prospección y seguimiento de la plaga *D. geminata*

Para dar cumplimiento al objetivo específico Nº1 se realizaron las siguientes actividades.

8.1.1 Reunión de coordinación

De acuerdo a la Propuesta Técnica de este proyecto, se realizó una reunión de coordinación con la Contraparte técnica en la ciudad de Valparaíso, el día 30 de noviembre de 2015. En esta reunión, a la que asistieron representantes de AMAKAIK y SUBPESCA, se presentaron los componentes que se abordarán en el estudio, la metodología por cada objetivo específico, el plan de trabajo y los productos que se espera generar con el desarrollo del proyecto. Además, en conjunto con el Fondo de Investigación Pesquera y Acuicultura (FIPA), y con otros organismos estatales con competencia en el tema, se determinaron las actividades a realizar en el marco del proyecto, tanto en el ámbito de investigación como de difusión. Se acordó también, en conjunto con la Contraparte técnica, las estaciones de muestreo definitivas y las actividades a realizar en cada una de ellas. Los temas, acuerdos y compromisos tratados en la reunión de coordinación se detallan en el Anexo 2.

Cabe destacar que todas las observaciones y recomendaciones solicitadas por el equipo evaluador han sido incorporadas en el presente informe final.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

8.1.2 Etapas del muestreo

El trabajo realizado en terreno para la obtención de muestras físicas, químicas y biológicas en cada estación de muestreo fue abordado siguiendo lo indicado en el Manual Didymo SUBPESCA, (2016) (Figura 8-1). Estas etapas, en términos generales son tres:

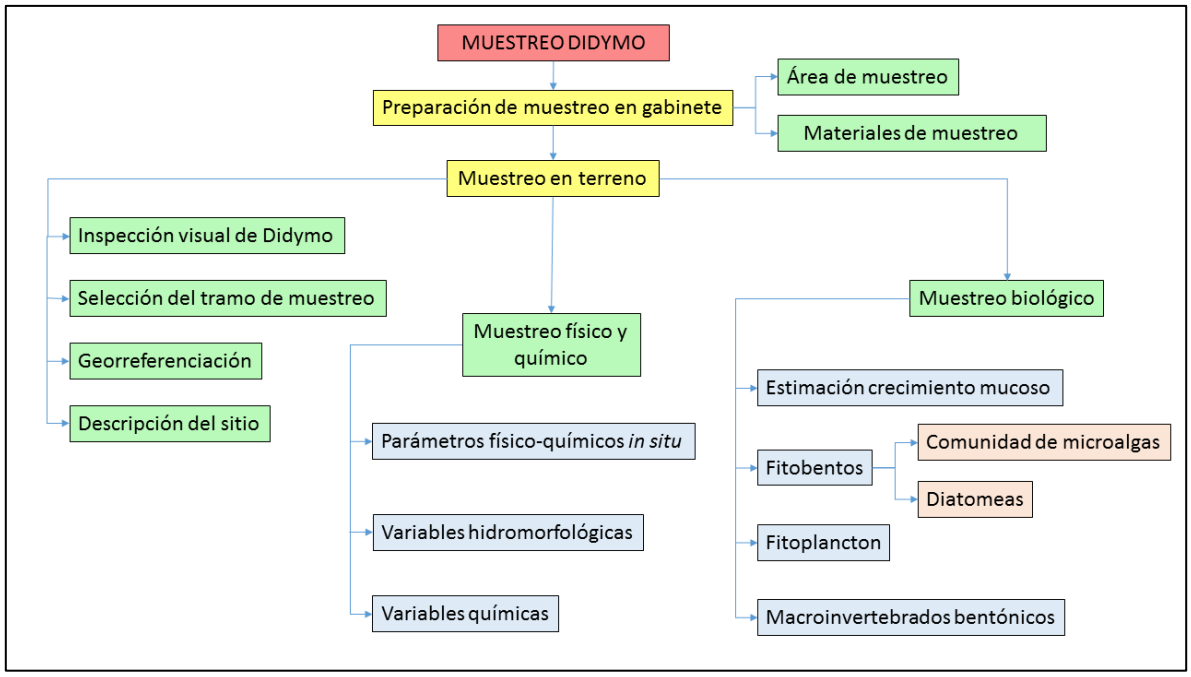
Etapa 1) Inspección visual y descripción del tramo.

Etapa 2) Registro de parámetros *in situ*, variables químicas de laboratorio e hidráulicas.

Etapa 3) Muestreo y análisis de componentes biológicos.

Es importante señalar que las metodología utilizadas para la obtención y análisis de muestras se encuentran descritas detalladamente en el Manual Didymo SUBPESCA, (2016).

Cabe mensionar que a lo largo de este trabajo se hablara de *D. geminta* cuando se haga referencia a la diatomea es su forma unicelular, y de Didymo cuando se señale la producción de mucosidad o floraciones algales "blooms". Debido a que es esta última forma la que en la literatura se a verificado capaz de provocar alteraciones fisicoquímicas y biológicas en los ecosistemas fluviales y no su forma unicelular.



Fuente: SUBPESCA/Amakaik-EcoHyd, 2013.

Figura 8-1. Etapas del muestreo para el monitoreo, vigilancia y prospección de *D. geminata*.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

8.1.2.1 Etapa 1. Inspección visual y descripción del tramo

En cada estación de muestreo se recorrió paralelamente el cauce del río aproximadamente unos 300 metros, con el fin de identificar posibles lugares com presencia de Didymo. Luego, se seleccionó el tramo donde fueron tomadas las muestras, el cual deberia constar de 100 metros paralelos al cauce (50 o 25 metros según factibilidad logística). Paralelamente, se tomó un registro fotográfico georreferenciado de cada estación. Finalmente en una ficha de muestreo de formato estandar Anexo 3 se recogieron las características del hábitat de cada estación.

8.1.2.2 Etapa 2. Registro de parámetros *in situ*, variables químicas de laboratorio e hidráulicas

a) Parámetros *in situ*

En cada una de las estaciones de muestreo, se registraron *in situ* los parámetros temperatura (T°), pH, conductividad eléctrica (C.E.), oxígeno disuelto (O.D.) y porcentaje de saturación de oxígeno disuelto (%OD) y la turbidez (Kilroy, 2007; Manual Didymo SUBPESCA, 2016).

Las mediciones fueron realizadas de acuerdo a lo establecido en Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (APHA, 2005). Los parámetros se obtuvieron por duplicado por medio de un equipo multiparamétrico marca Hanna, modelo HI9829. La turbidez, se estimo por medio de un turbidímetro portátil HANNA HI 98703.

b) Variables químicas de laboratorio

Se colectaron muestras de agua para la estimación de calidad de agua, las que fueron analizadas en el laboratorio certificado ANAM. Este laboratorio cuenta con acreditación según NCh-ISO 17025:2005.

Las muestras de agua se colectaron de acuerdo a las recomendaciones establecidas en el documento “Calidad del agua – Muestreo - Guía para el muestreo de ríos y cursos de agua” (NCh-ISO5667/6:2015) y Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (APHA, 2005). Se utilizaron contenedores específicos para cada análisis, y las muestras se preservaron a una temperatura menor o igual a 4 °C y/o preservación con reactivos químicos para mantener su integridad durante el transporte y antes del análisis de laboratorio. Además, se aplicaron procedimientos formales de trazabilidad de muestras, desde la recolección hasta su llegada al

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

laboratorio (cadena de custodia). Los parámetros físicos y químicos analizados se detallan en la Tabla 8-1.

Tabla 8-1. Parámetros físicos y químicos de laboratorio estimados para caracterizar aguas superficiales de las estaciones de muestreo.

Variables Químicas	Método
Nitrato ($N\text{-}NO_3$)	SM 4110 B (2005)
Nitrito ($N\text{-}NO_2$)	SM 4110 B (2005)
Nitrógeno amoniacal (NH_4^+)	SM 4500-NH3 D (2005)
Nitrógeno orgánico	SM 4500 Norg (2005)
Nitrógeno Total Kjeldhal (NKT)	NCh 2313/28 Of. 98
N-Nitrato +N- Nitrito	SM 4110 B (2005)
Fosfato (PO4)	SM 4500-P E (2005)
Fosfato disuelto (PO_4)	SM 4500-P E (2005)
Fósforo (P)	SM 4500-P E (2005)
Sílicio Total (SiO_2)	SM 3120B (2005)
Calcio Total (Ca^{+2})	SM 3120B (2005)
Hierro Total (Fe^{+3})	SM 3120B (2005)

Fuente: Elaboración Propia.

c) Variables hidráulicas

Las variables hidráulicas estimadas fueron las siguientes: velocidad de la corriente, profundidad y sustrato. Támbien se cálculo la densidad de drenaje.

Velocidad de la corriente y profundidad

La velocidad de corriente (superficial, media y fondo), se midió con un molinete digital modelo FP 101 (precisión 0.1 m/s, rango de medición entre 0.1 y 4.5 m/s). Por otra parte, la profundidad se midió mediante una barra graduada milimétrica que posee el molinete.

En relación, a la velocidad media en la columna del agua fue determinada a partir del método de los puntos, en el cuál se realizan varias mediciones a lo largo de la columna de agua dependiendo de la profundidad. Para profundidades menores a 50 cm, se midió la velocidad a 0.6 veces la profundidad. En este caso, la velocidad media es igual a la medida. Para profundidades comprendidas entre 50 cm y 150 cm se midió la velocidad a dos profundidades distintas, a 0.2 veces la profundidad y a 0.8 veces la profundidad. La velocidad media se determinó mediante la siguiente ecuación:

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

$$V_m = \frac{V_{0.2} + V_{0.8}}{2}$$

Donde:

V_m es la velocidad media en la columna de agua (m/s)

$V_{0,2}$ es la velocidad medida a 0.2 veces la profundidad (m/s)

$V_{0,8}$ es la velocidad medida a 0.8 veces la profundidad (m/s)

Para profundidades mayores a 150 cm se medió la velocidad en tres puntos a 0.2; 0.6 y 0.8 veces la profundidad. Para estos casos, la velocidad media se determinó mediante la siguiente fórmula:

$$V_m = \frac{V_{0.2} + 2 * V_{0.6} + V_{0.8}}{4}$$

Donde:

V_m es la velocidad media en la columna de agua (m/s)

$V_{0,2}$ es la velocidad medida a 0.2 veces la profundidad (m/s)

$V_{0,6}$ es la velocidad medida a 0.6 veces la profundidad (m/s)

$V_{0,8}$ es la velocidad medida a 0.8 veces la profundidad (m/s)

Sustrato

La composición del sustrato se determinó a través de una regla milimetrada, para ello se procedió por recoger en línea recta (transecto) el sustrato inmediato al pie del observador dentro del río, midiendo el sustrato en su lado más largo y registrando la medición correspondiente. Luego, para una elección azarosa del sustrato, el observador colocó su otro pie delante del que usó en la selección previa y realizó nuevamente la medición, realizando este procedimiento a lo menos100 veces en el transecto determinado.

Los sustratos se clasificaron según la *American Geophysical Union* (Tabla 8-2) y se determinaron los porcentajes de cada grupo. Para ello, se calculó el porcentaje en relación al total de muestras medidas en terreno como lo establece la metodología de W*olman Pebble Count*, bajo el supuesto de que la distribución de los sustratos en todos los puntos permanece relativamente estable.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

Tabla 8-2. Clasificación de sedimentos por tamaño, según la American Geophysical Union.

Grupo	Clase	Tamaño (mm)
Piedras (guijarros)	Muy grande	2,048 a 4,096
	Grande	1,024 a 2,048
	Mediana	512 a 1,024
	Pequeña	256 a 512
Cantos (cascajo)	Grande	128 a 256
	Pequeña	64 a 128
Grava	Muy gruesa	32 a 64
	Gruesa	16 a 32
	Mediana	8 a 16
	Fina	4 a 8
	Muy Fina	2 a 4
Arena	Muy gruesa	1.000 a 2.000
	Gruesa	0.500 a 1.000
	Mediana	0.250 a 0.500
	Fina	0.125 a 0.250
	Muy fina	0.062 a 0.125
Limo	Gruesa	0.031 a 0.062
	Mediana	0.016 a 0.031
	Fina	0.008 a 0.016
	Muy fina	0.004 a 0.008
Arcilla	Gruesa	0.002 a 0.004
	Mediana	0.001 a 0.002
	Fina	0.0005 a 0.001
	Muy fina	0.00024 a 0.0005

Fuente: American Geophysical Union.

Densidad de drenaje

La densidad de drenaje (Dd), (Horton, 1945) es una propiedad fundamental de una cuenca, que controla, la eficiencia del drenaje y señala el estado erosivo de la misma (Senciales, 1999).

$$D_d = \frac{L}{A}$$

Donde:

L: Longitud total de los cauces presentes en la cuenca.

A: Superficie de la cuenca.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

Diversos autores han relacionado este parámetro con el clima y más concretamente la precipitación y su efectividad (Melton, 1957; Madduma, 1974). En lo que respecta la respuesta hidrológica a las crecidas, Gregory & Ovenden (1979) utilizaron la red de drenaje para estimar caudales punta, y Day (1978) señaló la fuerte correlación entre el total de la longitud de la red de cauces y el caudal. La densidad de drenaje afecta al tipo de escorrentía, y así en zonas de alta densidad la escorrentía recorre la superficie rápidamente, rebajando el tiempo de concentración e incrementando el pico de crecida, al haber menor infiltración. Al tener una cuenca propensa a crecidas, el lecho del río estará sometidos a mayores efectos de corte (Gibbins, 2007).

Cullis *et al*., (2012), determino que el esfuerzo de corte tenía una influencia sobre la masa algal de *Didymosphenia geminata*, alcanzando una remoción de 25% del total de la biomasa, considerando condiciones similares a la de cauces naturales.

Por estos motivos es que se calculó la densidad de drenaje para los distintos sitios de muestreo, para realizar esta tarea se utilizó un software de sistemas de información geográfica.

El primer paso fue calcular a través de geoprocesos la delimitación de las cuencas para cada estación de muestreo. Una vez delimitada la cuenca para cada estación, se procedió a sumar los cauces pertenecientes a cada cuenca. Con el valor de la suma total de cauces y el área de cada cuenca aportante, se calculó el valor de la densidad de drenaje.

8.1.2.3 Etapa 3. Muestreo y análisis de componentes biológicos

Los componenetes biológicos corresponden a microalgas bentónicas, diatomeas bentónicas, microalgas planctónica, microalgas bentónicas del mesohabitat y macroinvertebrados bentóncos. Finalmente de describe el protocolo de bioseguridad en terreno y el calculo de índices comunitarios.

a) Microalgas bentónicas

Las microalgas bentónicas o perifiton corresponden a microorganismos fotosintéticos que viven asociados a un sustrato en el fondo de los cuerpos de agua (Parra, 2006). Las microalgas abarcan un amplio expectro de clases taxonómicas, de estas, las con mayor riqueza específica conocidas en Chile son las Bacillariophyceae (diatomeas), Chlorophycaeae, Chrysophyceae, Cyanophyceae, Dinophycaeae y Xanthophyceae (Parra, 2006).

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

Las muestras de microalgas bentónicas en terreno se obtuvieron seleccionando 5 rocas al azar del lecho del río, luego, cada una fue raspada con un cepillo en un área de 4 cm^2. Posteriormente, el contenido de las cinco rocas fue lavado en un frasco de 50 mL obteniendo una muestra integrada de microalgas colectadas (Figura 8-2, imágenes 01-02-03).

En las estaciones donde se observo mucosidad de Didymo u otra microalga, de cada roca se obtuvo un volumen de 1 cc con una jeringa, el cual fue depositado en un tubo Falcon obteniendo una muestra integrada de 5 cc en total (Figura 8-2, imagen 04).

Las muestras fueron fijadas *in situ* con solución de lugol evitando la tinción excesiva de cloroplastos, a fin de no entorpecer la posterior identificación de la muestra.

En el laboratorio las muestras de microalgas bentónicas fueron identificadas a nivel taxonómico de género, utilizando un microscopio Axiostar II Plus, Zeiss, con objetivo de microscopía invertida de 400X, el que cuenta con conexión a un sistema de captura (Canon EOS) y análisis digital de imágenes (Axio Vision, Zeiss), para una adecuada determinación taxonómica de los ejemplares.

El recuento e identificación de microalgas perifíticas se realizó utilizando una cámara de Sedgewick-Rafter, con una capacidad de 1 mL de muestra (Díaz *et al*., 2012). Dependiendo de la densidad de microalgas, se optó por contar transectos o cuadrículas realizando recuentos de un mínimo de 150 cuadrículas o los que fuesen necesarios para que la especie más abundante alcance un número de 100 individuos, pero no superando los 300 campos. Por último, los resultados se expresaron en número de células por área o por unidad de volumen de muestra (células/mm^2 o células/mm^3, respectivamente), mediante una ecuación cuyo resultado se multiplica o divide por el factor correspondiente (dilución o concentración).

La metodología utilizando la cámara Sedgewick-Rafter permite al especialista observar al microscopio la comunidad de microalgas bentónicas (Bacillariophyceae, Chlorophycaeae, Chrysophyceae, Cyanophyceae, Dinophycaeae, Xanthophyceae entre otras), observar las células con cloroplastos y otras estructuras, su forma de vida (pedunculadas, filamentosas, coloniales etc). Sin embargo, este método presenta algunas limitaciones, como por ejemplo no permite distinguir células muy pequeñas que estén sobre la resolución de 400X, tampoco proporciona detalles morfológicos necesarios para la identificación de algunas de las microalgas y de este modo impidiendo determinar a nivel de especie, esto especialmente en el caso de las diatomeas cuya taxonomía se basa en la morfología del frústulo. Por otra parte, las diatomeas son buenos indicadores de calidad de agua a nivel de especie, no asi las otras microalgas, bastando solo su identificación a nivel de género.

Debido a la dificultad al utilizar este método para determinar en algunos casos las microalgas a nivel de especies es que se realizó la identificación de las microalgas bentónicas a nivel de género, para ello, se utilizó el apoyo de claves y guías disponibles, entre ellas: Bourrelly 1968; Bourrelly 1970, Patrick & Reimer, 1966, trabajos de Patricio Rivera para Chile, Guillermo Tell para Argentina, (Parra *et al*., 1982; Rivera, 1983; Krammer *et al*., 1986; Lange-Bertalot & Krammer, 1989; Krammer & Lange-Bertalot, 1991; Lange-Bertalot, 1993; Round, 1993; Krammer, 1997a; Krammer, 1997b; Lange-Bertalot, 1999; Lange-Bertalot, 2000; Lange-Bertalot, 2001; Krammer, 2002). Se realizó un registro fotográfico para cada muestra identificada mediante una cámara adosada al microscopio y el software de captura de imágenes.

Cabe señalar que la necesidad de identificar a nivel de especie es para *Didymosphenia geminata*, por lo que esta resolución aplica para el grupo de las diatomeas (Manual Didymo SUBPESCA, 2016).

La identificación de la comunidad de microalgas bentónicas permitirá , por una parte reconocer géneros y clases taxonómicas que se encuentren asociados con *D. geminata* y por otra, permitirá reconocer las estaciones de muestreo, ríos y cuencas que actualmente se encuentran con presencia de *D. geminata*.

El criterio para considerar una estación de muestreo como positiva para *D. geminata*, corresponde a la presencia de la especie en el cuerpo de agua, y que además, ésta posea cloroplastos en su interior, lo que quiere decir que dicha célula estaba viva en el momento en el cual se tomó la muestra.

Es importante dar a conocer que durante la ejecución de cada campaña de terreno se determinó *in situ* la presencia/ausencia de *D. geminata*, con el propósito de informar la evolución de la campaña de muestreo periódicamente al Consejo de Investigación Pesquera y de Acuicultura (CIPA), además de comunicar nuevos sitios infectados con la plaga. Dicha información se adjunta en un reporte de terreno que se encuentra en el Anexo 4.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

Figura 8-2. Toma de muestras de microalgas bentónicas. Imagen (01): Elección de 5 rocas al azar del lecho del río; Imagen (02): Raspado de rocas en cm^2; Imagen (03): Obtención de muestra integrada de microalgas; Imagen (04): Obtención de volumen para aquellos casos donde se observó mucosidad.

b) Diatomeas bentónicas

Las diatomeas bentónicas pertenecen a la clase Bacillariophyceae, son organismos unicelulares eucariontes y se caracterizan por poseer una cubierta pectínica impregnada de sílice, en cantidades variables (*frústulo*). La utilización de sílice implica que este elemento es un factor limitante para su crecimiento y el de sus poblaciones. Los frústulos de las diatomeas presentan una serie de ornamentaciones y prolongaciones cuya forma, número y disposición son las principales características para la determinación de géneros y especies, tales como: estrías, aréolas, costillas, locus o alvéolos, perforaciones, bandas, fíbulas, túbulos, cámaras, setas, espinas, etc. Así, la cubierta celular compuesta de sílice de las Bacillariophyceae y su ornamentación determina que el procedimiento de preparación y análisis de las muestras difiera del de microalgas en general, en el que las diatomeas no pueden ser identificadas a nivel de especie.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

El reconocimiento taxonómico de diatomeas requiere la remoción total de la materia orgánica presente en la muestra, eliminando con esto a todas las otra microalgas (proceso llamado oxidación). Este procedimiento, además, impide discriminar entre las células que se encontraban viables e inviables al momento de recolectar la muestra, condición (viabilidad) que como se mencionó anteriormente es escencial para determinar si una estación es positiva para *Didymosphenia* (Figura 8-3), en tanto, la identificación de la especie *Didymosphenia geminata* se realiza mediante esta metodología descrita para diatomeas bentónicas.

La obtención de muestras de diatomeas en terreno es equivalente al de microalgas bentónicas, sin embargo, en este caso las muestras fueron fijadas *in situ* con formanalina al 4% y recogidas en frascos o tubos por separado de las microalgas bentónicas (Figura 8-4).

La proporción de células viables se obtiene contabilizando al menos 100 ejemplares y registrando su estado de viabilidad, si la muestra exhibe *D. geminata* su viabilidad se registra por separado. Este análisis se realiza con el fin de obtener la proporción de células vivas, permitiendo corregir posteriormente las densidades totales obtenidas del análisis de diatomeas y, específicamente, el porcentaje de células viables de *D. geminata.*

Antes del proceso de oxidación se calcula el volumen de las muestras transvasijando la totalidad de la muestra en un tubo de 15 ml, el que es utilizado para la oxidación de la materia orgánica en pasos posteriores. Ya que usualmente la cantidad de muestra proveniente de terreno excede la capacidad del tubo, se procede a llenar el tubo hasta los 15 ml, centrifugar por 3 minutos a 4000 rpm y eliminar el sobrenadante, para luego rellenar el tubo. La operación se repite hasta trasvasijar la totalidad de la muestra al tubo. En esta etapa es importante registrar cada volumen, tanto de la eliminación del sobrenadante, como del rellenado, para finalmente obtener el volumen total de la muestra.

El tratamiento de oxidación se realiza agregando H_2SO_4 a la muestra, dejando actuar por alrededor de 30 minutos. Finalmente, en continuos lavados se neutraliza la muestra hasta alcanzar el pH del agua destilada utilizada, lo mas cercano al neutro posible.

Con el fin de observar la muestra al microscopio se realizan preparados permanentes, que consisten en la desecación de las muestras oxidadas y montaje utilizando un medio que posee el índice de refracción adecuado para observar diatomeas. En este caso, se utilizo Naphrax ®, cuyo índice es de 1.7.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

La identificación taxonómica se realizó a nivel de especie con un microscopio Axisostar II Plus, Zeiss, que cuenta con conexión a un sistema de captura (Canon EOS) y análisis digital de imágenes (AxioVision, Zeiss) con un aumento de 1000X (Díaz *et al*., 2012). En cada preparado permanente se realizó un recuento mínimo de 200 valvas, criterio estadístico promedio utilizado para el cumplimiento de cualquier objetivo planteado que requiera de un análisis diatomológico (Battarbee, 1986).

Este análisis tiene dos propósitos, el primero ya mencionado, que es corroborar que la especie encontrada efectivamente corresponda a *D. geminata*. De esta manera se puede responder el objetivo general de este estudio que corresponde a la identificación de la plaga Didymo en cuerpos de agua de la zona centro sur y austral de Chile. El segundo propósito corresponde a la identificación de otras microalgas de la clase Bacillariophyceae que puedan encontrarse en asociación con *D. geminata.*

Figura 8-3. Imagen (01): Célula viable de *D. geminata*; Imagen (02): Célula inviable de *D. geminata*.

Figura 8-4. Toma de muestras *in situ* microalgas bentónicas fijadas con solución lugol, diatomeas bentónicas fijadas con formaldehido al 4%.

c) Microalgas planctónicas

Para la obtención de muestras de microalgas planctónicas, se utilizó una red de fitoplancton con un cono y red contenedora de la muestra, de una apertura de malla de 40 µm. Otra red de 250 µm, ubicada en la abertura del cono, evitó que partículas de gran tamaño interfieran en la obtención de la muestra planctónica. La red fue suspendida durante 10 minutos, tiempo sugerido por Kilroy & Dale, 2006 y Díaz *et al*., 2012. La red se fijó a un vástago, quedando a una profundidad que le permitía sumergirse completamente, pero evitando contacto con el fondo, de modo que el sedimento no ingrese a la muestra e interfiera en el proceso de obtención de muestras, y posterior análisis de ellas (Figura 8-5). El material recolectado se vertió en un frasco, el que luego fue debidamente tapado, sellado, etiquetado (etiquetas resistentes al agua) y fijado con lugol, de acuerdo a lo descrito previamente.

Cabe señalar que las muestras de fitoplancton se obtuvieron como diagnóstico de presencia y/o ausencia de *D. geminata* en la comunidad planctónica.

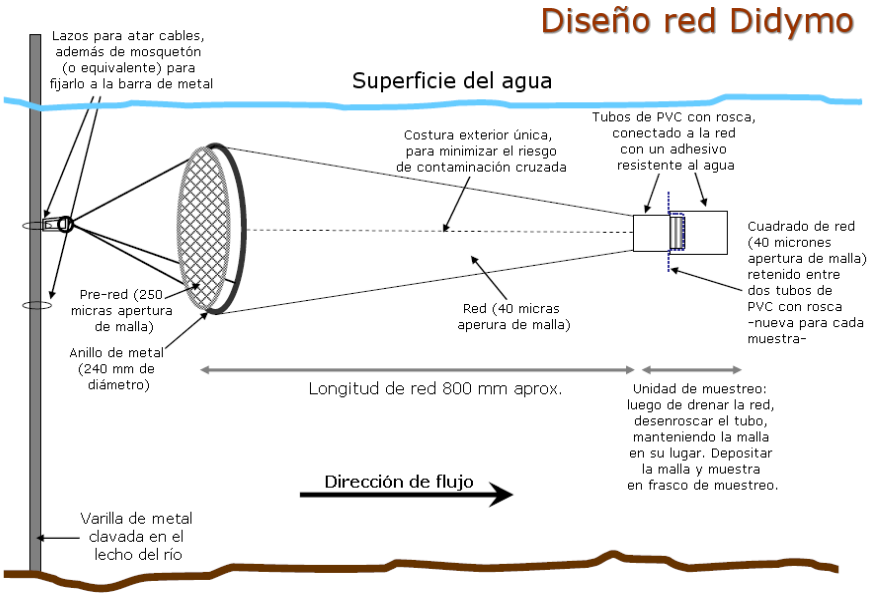


Figura 8-5. Sistema de obtención de muestras de *D. geminata* en el plancton.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

d) Mesohábitat

Se realizó un muestreo adicional denominado “Mesohábitat” en las estaciones con presencia evidente de Didymo u otra microalga que generara mucosidad de aspecto similar.

Este muestreo consistió en identificar en el tramo seleccionado diferentes tipos de mesohábitat siguiendo la descripción de Parasiewicz *et al.,* (2009) (Tabla 8-3). Paralelamente, se registraron variables hidraulicas de cada mesohábitat identificado: velocidad superficial, media y de fondo, y profundidad.

Tabla 8-3. Descripción de distintos tipos de mesohábitat.

UHM	Descripción
Riffle	Zonas someras con velocidad del agua moderada, algo de turbulencia en la superficie y pendiente elevada. Lecho con forma convexa.
Rapid (Rápido)	Zonas de fuerte pendiente, con velocidades más altas, sustrato más grueso y mayor turbulencia en superficie. Lecho con forma convexa.
Cascade (Cascada, salto)	Rápidos escalonados con pequeños saltos de agua y con pozas muy pequeñas detrás de bloques.
Glide (Tabla)	Cauces moderadamente someros, con flujo laminar, sin turbulencias pronunciadas. Lecho plano.
Ruffle	Rápidos con menos caudal, en transición a “Run” o a “Riffle”.
Run (Corriente)	Cauce monótono con un Thalweg (línea de profundidad máxima) bien definido. El lecho es plano longitudinalmente y cóncavo lateralmente.
Fast run (Corriente rápida)	Cauce uniforme y con alta velocidad del agua.
Pool (Poza)	Zonas profundas con poca velocidad del agua, causadas por algún tipo de obstrucción en el cauce. Lecho con forma cóncava.
Plunge Pool (Poza tras cascada)	La corriente principal pasa por encima de una obstrucción total del cauce y cae verticalmente, excavando el lecho del río.
Backwater (Remanso)	Áreas someras y de aguas quietas en los márgenes del cauce, causados por remolinos formados detrás de obstrucciones.
Side arm (Brazo lateral)	Zonas que rodean islotes, de anchura menor que la mitad de la anchura total del cauce, con frecuencia a diferente altura que el cauce principal.

Fuente: Parasiewicz *et al*., 2009.

De cada mesohabitat identificado se escogieron al azar tres rocas, a las que se les midio el espesor de la cubierta mucosa adherida al sustrato. Posteriormente, con el objeto de identificar la composición de la comunidad de microalgas que se asocien a la mucosidad muestreada (Didymo) y diferenciarla de otras microalgas que pudieran estar formando parte, total o parcial, del mucílago detectado, se obtuvo de cada roca una muestra integrada de microalgas bentónicas (1cc de cada réplica), estas fueron fijadas con solución de lugol y luego fueron identificadas a nivel taxonómico de género.

Como uno de los objetivo de este muestreo radica en conocer toda la comunidad de microalgas que se asocien a Didymo (Bacillariophyceae, Chlorophycaeae, Chrysophyceae, Cyanophyceae,

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

Dinophycaeae, Xanthophyceae entre otras es que se realizó la identificación de las microalgas bentónicas a nivel de género (ver metodología de microalgas bentónicas del presente informe).

Bloom Algal

En cada estación donde se realizó el muestreo de mesohabitat anteriormente descrito se distinguieron, zonas de bloom y no bloom de Didymo, con la finalidad de identificar factores forzantes asociados a la plaga.

Para determinar las zonas de bloom, se utilizó como criterio que todas aquellas estaciones que presentaron un espesor y cobertura cualitativa mayor o igual a 3 corresponderían a zonas de bloom, según lo descrito en Tabla 8-4.

Tabla 8-4. Espesor y Cobertura cualitativa para de la cubierta mucosa.

Categoria	Espesor	Cobertura
1. Ausente	Espesor es igual 0	No se observa mucosidad.
2. Inicial	Espesor menor a 0.2 cm	Menor a 20 %
3. Mediano	Espesor mayor o igual a 0.2 cm y no supera 1 cm	Entre 20% y 50%
4. Alto	Espesor mayor o igual a 1 cm y no supera 2 cm	Mayor a 50% menor a 80%
5. Muy Alto	Espersor mayor o igual a 2 cm	Mayor a 80%

Fuente: Manual Didymo SUBPESCA, 2016.

Formas de crecimiento

A modo de complementar el análisis de mesohábitat, se evaluaron las formas de crecimiento del perifiton asociado a la presencia de *D. geminata* y asociadas al moco Didymo, entre ellas, celulas no adheridas, solitarias, forman cadena, filamentosas, prostrada, unicelular, rosetada, redunculada. Se realizaron análisis de correlaciones estadísticas en función de la densidad de las diatomeas asociadas a cada forma de crecimiento y su posible relación con *D. geminata*.

e) Macroinvertebrados bentónicos

Los macroinvertebrados bentónicos corresponden a la fauna de invertebrados que habita sobre el fondo de los sistemas acuáticos, durante todo su ciclo de vida o parte de esta (Alba-Tercedor, 2005).

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

La extracción de muestras de macroinvertebrados bentónicos se realizó mediante un muestreo cuantitativo utilizando una red Surber, de 250 µm de abertura de malla y 0,09 m^2 de área de bastidor. La recolección de los individuos se realizó desde aguas abajo hacia aguas arriba del tramo seleccionado, situando la red en contra de la corriente y lavando el sustrato rocoso dentro del bastidor, de modo que los organismos que se encuentren presentes en dicha área ingresen en el interior de la red (Figura 8-6). Para este muestreo, se consideraron seis réplicas integradas y aleatorias en cada estación de medición.

Cada muestra colectada fue almacenada en un contenedor de plástico, debidamente etiquetado (etiquetas resistentes al agua). Las muestras fueron preservadas en alcohol al 96% para su posterior identificación en el laboratorio, siguiendo el protocolo definido por Pardo *et al*., 2010; Palma , 2013. Los individuos fueron identificados hasta el nivel taxonómico de familia, mediante una lupa estereoscópica Stemi DV4 (Zeiss) de aumento máximo de 40X.

Se ha discutido mucho sobre el nivel taxonómico mas adecuado para estudios de macroinvertebrados bentónicos. Si bien es cierto que el nivel preferible sería el de especie y no de familia, la taxonomía de ciertos grupos a ese nivel hace el trabajo prácticamente inviable por el coste económico que ello comporta (tiempo para el examen de las muestras). Especialmente en los dípteros, como las familias Chironomidae y Tipulidae. El trabajo de preparación e identificación, incluso a nivel de género, admite un tiempo que hace su estudio económicamente muy costoso (Puntí, 2007). Por ello un buen equilibrio entre calidad de los resultados y tiempo requerido para obtenerlos se da utilizando como nivel taxonómico la familia (Domínguez & Fernández, 2009). Además, técnicamente hablando, es a nivel de familia que se utiliza este grupo para evaluar calidad de agua mediante índices bióticos.

Figura 8-6. Muestreo de macroinvertebrados bentónicos con red Surber.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

f) Protocolo de Bioseguridad

En consideración a los conceptos de seguridad laboral de trabajo en terreno, el muestreo se realizó utilizando implementos como salvavidas y/o cuerdas de seguridad, según requerimientos del sitio de muestreo.

Por otra parte, el desarrollo del muestreo biológico de la especie *D. geminata*, se realizó bajo las normas de bioseguridad establecidas en el Manual Didymo SUBPESCA, 2016. En relación a las barreras establecidas, se consideró lo siguiente:

Barrera Primaria: Barrera aplicada directamente sobre el personal. Corresponde básicamente al uso de guantes y vadeadores de PVC, que impiden la contaminación directa del personal y el posterior transporte de células de *D. geminata*.

Barrera de Procedimiento: Hace referencia a la metodología de trabajo utilizada para evitar contaminación cruzada en el proceso de muestreo biológico. Esto corresponde a la generación de dos tipos de equipo de trabajo, de acuerdo a lo siguiente:

Equipo Seco: Profesionales que realizan funciones fuera del cuerpo de agua.

Equipo Húmedo: Profesionales que realizan funciones dentro del cuerpo de agua.

Además, en esta barrera se indica la generación de set de muestreos diferenciados y separados para cada punto de muestreo.

Barrera Microbiológica: Esta se desarrolla al final de cada muestreo. Antes de abandonar el sitio, se realiza la desinfección de la barrera primaria e instrumentos de medición.

Estas medidas se aplicaron a todos los implementos que estuvieron en contacto con el agua, después del muestreo de cada punto, e incluso entre puntos de muestreo de un mismo río. Luego de cada actividad, se chequeó la ausencia de restos de mucílago en los implementos, vestimenta, botes, etc. Luego, todo el material que estuvo en contacto con el agua se sumergió en alguna de las soluciones de limpieza y desinfección propuestas en el protocolo Manual Didymo SUBPESCA, (2016).

Finalmente, los implementos sometidos al procedimiento de limpieza fueron secados durante al menos 48 horas. En el caso del desarrollo de muestreos extensivos en corto plazo, se consideró varios sets de implementos y trajes para muestreo en agua, pudiendo intercalar su uso y dando tiempo así para que el material se seque completamente.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

g) Calculo de índices comunitarios

Las comunidades biológicas, específicamente, perifiton, diatomeas bentónicas y macroinvertebrados fueron descritas y analizadas a través de los siguientes parámetros comunitarios:

Riqueza de *taxa* (S): Número de *taxa* presentes en cada estación de muestreo.

Densidad: Parámetro que cuantifica el número de individuos en un área determinada.

La densidad de microalgas bentónicas. (cel/mm^2) se obtiene mediante la siguiente ecuación:

$$Densidad = N\ x\ dil$$

Donde:

N: Células contadas en tdo la cámara.

dil: Factor de dilución.

Para el calculo de la densidad de los macroinvertebrados bentónicos, es necesario contar con el número de réplicas realizadas por estación de muestreo (en este caso el número de réplicas es de 5 áreas, aunque existen algunas excepciones), la abundancia de individuos y el área del bastidor (en este caso es de 0.09 m^2). Con este cálculo se obtiene la densidad de individuos por m^2. El cálculo de la densidad se realizará según la siguiente ecuación:

$$Densidad = \frac{individuos\ de\ cada\ taxa\ (abundancia)}{cantidad\ de\ réplicas\ x\ área\ barrida\ por\ réplica}$$

Índice de diversidad de Shannon Wiener (Shannon & Weaver, 1963): Este índice refleja la heterogeneidad de una comunidad sobre la base de dos factores: El número de *taxa* presentes y su abundancia relativa. Valores más altos de este índice muestran que existe una mayor biodiversidad en el ecosistema, es decir, distribuciones homogénea de *taxa*. Por el contrario, valores más bajos de este índice indican dominancia de alguna *taxa*, y por lo tanto, una menor diversidad. Para el cálculo del índice de Shannon se utilizará la siguiente ecuación:

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

$$\text{Índice de Shannon} - \text{Wiener } (H) = -\sum Pi \ln(Pi)$$

Donde:

P_i: corresponde a la proporción de individuos de cada *taxa* (*i*) con respecto al total (n_i/N).

Índice de diversidad de Simpson: Manifiesta la probabilidad de que dos individuos tomados al azar de una muestra sean de la misma especie (Magurran, 1988; Peet, 1975).

$$\text{Índice de diversidad de Simpson} = 1 - \sum \left(\frac{n}{N}\right) 2$$

Índice de equitatividad de Pielou: Representa la proporción de la diversidad observada en relación a la máxima diversidad esperada. Los valores de éste índice se encuentran entre 0 y 1, de forma que 1 corresponde a situaciones donde todos los *taxa* son igualmente abundantes (Magurran, 1988).

$$\text{Índice de equitatividad de Pielou } (J) = \frac{H}{\ln S}$$

Donde:

H: Índice de diversidad de Shannon Wiener.

S: Riqueza de *taxa*.

8.1.3 Análisis de datos

Fue realizado un análisis de similitud (Anosim) utilizando los datos de las variables medidas *in situ*, los parámetros químicos de laboratorio y características hidráulicas de los ríos, con el fin de observar posibles diferencias significativas entre los períodos primavera-verano respecto del muestreo de otoño, diferencias entre regiones y la presencia y ausencia de *D. geminata*. Se utilizó un nivel de confianza del 95%.

Posteriormente fueron realizados boxplots de las variables físicoquímicas registradas *in situ* (temperatura, pH, CE, oxígeno disuelto, saturación de oxígeno y altitud), parámetros químicos de laboratorio (nitrato, nitrito, nitrógeno amoniacal, nitrógeno orgánico disuelto, fosfato disuelto, fósforo total, sílice, calcio, hierro) e hidráulicas (profundidad, velocidad de la corriente y sustrato).

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

El boxplot, representa la mediana y los cuartiles considerando el 25% de los datos. En este trabajo se consideraron los promedios y el error estándar para representar la dispersión de los datos. Los análisis se realizaron para observar gráficamente variaciones entre los parámetros y variables nombradas por periodo de muestreo (primavera-verano y otoño), por región, y en presencia y/o ausencia de *D. geminata;* a través de un análisis de varianza (ANOVA) de una vía (Anderson & Legendre, 1999). Previo a este análisis, se evaluó la parametricidad de los datos mediante el test de Shapiro (normalidad de los datos) y el test de Barlett (homocedasticidad), utilizando el software R Project 3.1.2, con un nivel confianza del 95%.

Respecto a las comunidades biológicas, se analizó cada parámetro comunitario utilizando promedios y error estándar, seguidos de boxplot y análisis de varianza como se realizó con los datos físicoquímicos, de laboratorio y los hidraúlicos. Por otro lado, se realizó un análisis multivariado Análisis de similitud (Anosim), el cual permitió verificar si existían diferencias estadísticas entre condiciones, como la presencia y ausencia de *D. geminata*, sitios con y sin Bloom de *D. geminata*, diferencias entre regiones, entre otros respecto a la composición de taxa de los grupos biológicos diatomeas bentónicas, microalgas y macroinvertebrados bentónicos.

Finzalmente, para ilustrar los resultados del Anosim y relacionar la matriz de datos biológicos con abióticos, se realizó un Análisis de Correspondencia Canónica (CCA); para correlacionar las variables ambientales (*in situ*, nutrientes e hidráulicas) con las comunidades biológicas.

8.1.4 Cartografía

Los resultados de los muestreos de *D. geminata* se visualizaron en cartografías realizadas con el Software de Información Geográfica ArcGis 10.2.2, específicamente ArcMap. Se mapearon las estaciones muestreadas por región, diferenciando entre estaciones con presencia de *D. geminata* y estaciones con ausencia de la misma. Se identificaron los límites regionales, de cuencas y subsubcuencas, además de ríos y cuerpos de agua, con la finalidad de orientar la navegación por la cartografía. Las cartografías se obtuvieron del Sistema Integrado de Información Territorial (SIIT) de la Biblioteca del Congreso Nacional de Chile (BCN) y de la información geográfica de la Dirección General de Aguas (DGA).

Se trabajó con el *Datum World Geodetic System* 1984 (WGS84) y el Huso 19 Sur para todo el territorio nacional, con la finalidad de simplificar la lectura de la base de datos y el traspaso de información. Con esta misma finalidad, en el Anexo 5 se incluyen los mapas en formato *PNG junto al proyecto de mapa en formato *.mxd, compatible con versiones 10.x de ArcGis.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

8.2 Recolección de antecedentes históricos

A continuación se describe la metodología utilizada para el cumplimiento del objetivo específico Nº2.

8.2.1 Compendio de informes técnicos y científicos realizados en el territorio nacional desde el año 2010 al 2015

Se realizo una revisión bibliográfica de proyectos técnicos y científicos desarrollados en el territorio nacional a partir del año 2010 hasta el 2015. Con esta información se realizó un análisis de la información histórica de cada río prospectado, respecto de la presencia y ausencia de la especie Didymo en ríos del sur de Chile.

La revisión reune información respecto de la presencia y/o ausencia de *D. geminata* en el territorio nacional y resultados de comunidades biológicas y parámetros físicos y químicos relevantes para comprender el fénomeno Didymo.

8.2.2 Elaboración de la base de datos (BD)

Con la información recopilada respecto de la ubicación espacial de estaciones de muestreo, parámetros físicos, químicos y biológicos, así como, variables de calidad del agua se generó una base de datos histórica, la cual corresponde a una actualización y mejora de la base datos creada en el proyecto “Análisis Multidisciplinario de la especie *D. geminata*” ejecutado por Amakaik (AMAKAIK/Ecohyd/SERNAPESCA, 2014).

8.2.2.1 Estructura de la base de datos

La base de datos propuesta constó de entidades metodológicas, geográficas, biológicas, químicas y físicas, compuestas por atributos (columnas), que a través de los registros o sitios de muestreos (filas), caracterizan una unidad espacio-temporal en un río, relacionadas en una tabla de doble entrada. Para esto, se reunieron las bases de datos generadas por cada entidad ejecutora, estructurando una base de datos relacional única, en donde todos los datos se agrupen luego de un proceso de normalización, lo que implicó una revisión, estandarización y validación de la información. Además, se realizó un protocolo por el que se regirá su uso y actualización.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

Toda la información se reunió en una sola tabla utilizando la plataforma Excel para el tratamiento de los datos. Se determinaron las entidades y sus atributos a través de un catastro y descripción de toda la información presente en cada estudio, determinando la utilidad de los datos obtenidos en los respectivos muestreos de *D. geminata*.

Las entidades detectadas fueron: ubicación espacial, fecha, fuente de la información, ubicación temporal, situación *D. geminata*, ficha técnica de muestreo, físico-química *in situ*, físico-química de laboratorio, caracterización hidromorfológica, condiciones ambientales, información hidrológica REC-Chile (Peredo-Parada, 2010), diatomeas bentónicas, microalgas bentónicas y macroinvertebrados bentónicos. Atributos que sólo forman parte de un único estudio y cuya metodología utilizada es poco clara, no fueron incluidos en la BD. Si al obtener la información por proyecto, no se contó con los requisitos requeridos, la información fue excluida de la BD.

Para integrar la información en la BD fue requisito contar con claridad respecto de:

- Coordenadas y fecha de muestreo.
- El proyecto que se realizó el muestreo.
- La entidad ejecutora del muestreo/proyecto.
- La institución que financió el muestreo/proyecto.
- La metodología utilizada en la campaña de muestreo.
- No se incluyen los proyectos realizados en la región de Magallanes.
- No se tomaron en cuenta proyectos que no contuvieran como mínimo los datos de parámetros físicos y químicas *in situ.*

8.2.2.2 Normalización BD

La información se reunió en un mismo archivo y cada dato fue ingresado dentro del atributo correspondiente. Luego, se estandarizaron los formatos que describen la información en cada atributo. Por ejemplo, en el atributo región, cada región cuenta con un único nombre (i.e."Los_Lagos").

Durante este proceso, se eliminaron caracteres que dificulten su utilización por otros softwares. Así, de la BD fueron extraídos todos los tildes, todas las letras "ñ", y todos los espacios entre

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

caracteres. Las letras con tildes fueron reemplazadas por letras sin tilde, las "ñ" por "n" y los espacios por guión bajo "_".

La información que no se encontró en los archivos fue categorizada en dos tipos: No aplica (N/A), lo que indica que la información no fue obtenida debido a que ese atributo/entidad no se consideró en aquella campaña o proyecto; Sin información (S/I), indicando que la información debiese existir pero no hay registro de ésta. No se consideró la causa de la falta de información en esta categorización, por lo que para aclarar estas dudas se deberá consultar el estudio de origen o unidad ejecutora. Dada esta nomenclatura, todas las celdas de la BD presentan información sin espacios vacíos.

8.2.2.3 Generación de metadata y diccionario de datos

Para facilitar la utilización de la BD, se generó información respecto de la fuente y ubicación espacial de los datos no presentes de manera literal en la fuente original de información, pero si obtenible a partir de ésta (metadata). Por ejemplo, se rellenaron atributos de nombre del proyecto, unidad ejecutora, contraparte, año de muestreo, etc. Más específicamente, las entidades de “Ubicación espacial” y “Fuente de información” integran atributos de metadata que fueron obtenidos para la generación de esta BD, mientras que el resto de las entidades reúne información obtenida en terreno o gabinete durante la ejecución de cada proyecto, cuya metodología de muestreo se encuentra descrita en profundidad en cada estudio al que hacen referencia. La metodología por la cual se obtuvieron los atributos se detalla en la Tabla 8-5.

Se generó un diccionario de datos en donde se especifica de manera general que representa cada atributo, en las unidades que se presenta y la metodología por la cual se obtuvo. En caso de requerir más detalles, se hizo referencia al documento en los que se encuentra esta información.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

Tabla 8-5. Resumen metodología para la generación de metadata.

Entidad	Atributo	Descripción	Metodología
ID	Id	Número de identificación.	Número entero, correlativo y único por registro (sitio de muestreo), asignado en función al orden de ingreso a la BD.
	nom_sit	Nombre del sitio según ubicación espacial.	Agrupa sitios de muestreo en función de la ubicación espacial del muestreo. Su nombre involucra el nombre del río y un número que representa la ubicación espacial en el río. Por ejemplo, se asignó el número 10 a sitios cercanos a la cabecera del río, mientras que sitios que se acercaban a la desembocadura se les asignaron números más altos. En caso de nombres que se repiten entre ríos, se les diferenció con la cuenca o el río al que desemboca. Cualquier sitio nuevo en futuras prospecciones se integrará con el nombre del río y un número intermedio entre el sitio aguas arriba y el sitio aguas abajo.
	cod_sit	Código del nombre según ubicación espacial.	Resumen de nom_sit. Reúne código de cuenca (cod_cuen), el nombre del río (se resume en 4 caracteres) y número de sitio por río.
Fuente de información	periodo_muest	Fecha de realización de campaña de muestreo.	Se toma como referencia el mes y año durante el cual se realizó la mayor parte del muestreo. En situaciones equivalentes, se escogió el último mes.
	cod_proy	Código abreviado por proyecto.	Código que reúne código de contraparte, código de unidad ejecutora, intervalo de regiones muestreadas y año de informe final.
	cod_muest	Código abreviado por proyecto y muestreo.	Código que reúne código de proyecto y estación del año del muestreo.
	cod_contr	Código abreviado para contraparte.	Tres o cuatro caracteres que resumen nombre de contraparte.
	cod_ej	Código abreviado para ejecutor.	Tres o cuatro caracteres que resumen nombre de unidad ejecutora.

Fuente: (AMAKAIK/Ecohyd/SERNAPESCA, 2014).

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

8.3 Análisis de factores bióticos y abióticos que inciden en la dispersión, colonización y proliferación de *Didymosphenia geminata*

A continuación se detallan la metodología para dar cumplimiento con el objetivo específico 3. En este ítem se abordaron los siguientes aspectos: recopilación de antecedentes bibliográficos de la especie plaga *D. geminata* en Chile y en el mundo, la determinación de los factores bióticos y abióticos que inciden en *D. geminata*, los potenciales vectores de dispersión de la plaga y la evaluación del programa de monitoreo realizado en Chile.

8.3.1 Recopilación de antecedentes bibliográficos sobre *D. geminata*

La recopilación de antecedentes bibliográficos comprende la generación de una revisión sistematica, entrevistas a profesionales expertos en el la plaga Didymo y la revisión de la normativa internacional de *D. geminata.*

8.3.1.1 Revisión sistemática

Se realizó la revisión sistemática de la información bibliográfica cualitativa y se desarrolló una base de datos con las principales publicaciones encontradas en revistas científicas nacionales e internacionales que presentan factor de impacto y que han sido indexadas de preferencia en el ranking ISI (por sus siglas en inglés Institute for Scientific Information). No se incorporó en esta sistematización tesis, revistas no científicas, entrevistas, etc. Esto con la finalidad de elaborar una revisión robusta y validada a nivel mundial.

Se realizó una búsqueda en internet utilizando palabras o términos claves como "*Didymosphenia geminata* y/o *D. geminata*" la plataformas digitales de redes universitarias, revistas científicas, ISI Web, Google Academic y similares. A partir de esto, se generó una base de datos con la información encontrada por temática. En esta BD se registraron el(los) autor(es) de la publicación, año de publicación, título, nombre de la revista donde se publicó, volumen y número de páginas. Por último, toda la información recopilada y sistematizada fue utilizada para el desarrollo de este estudio.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

8.3.1.2 Entrevistas

Las entrevistas fueron realizadas a las asesoras internacionales Cathy Kilroy, Carole Anne Gillis, Nora Maidana y Cristina Vieglais, quienes han realizado importantes aportes en lo que respecta a la plaga Didymo.

8.3.1.3 Normativa internacional de *Didymposphenia geminata*

Se efectuo una revisión de la Normativa internacional respecto de la plaga Didymo.

8.3.2 Determinación de factores bióticos y abióticos que inciden en *D. geminata*

8.3.2.1 Multivariados perifiton y diatomeas bentónicas considerando ausencia y presencia de *D. geminata*

Para realizar correlaciones entre las variables ambientales y los parámetros comunitarios de los distintos grupos biológicos se realizaron análisis multivariados, entre ellos, análisis Spearman, análisis de correspondencia canonica (CCA), utilizando el software R Project 3.1.2.

8.3.3 Potenciales vectores de dispersión de la plaga

Durante la campaña de muestreo realizada en primavera-verano (2015-2016) se obtuvieron muestras de perifiton y fitoplancton, según lo descrito en la sección 5.1.2 “Muestreo y análisis de componentes biológicos”. El objetivo de este análisis fue determinar la presencia o ausencia de *D. geminata* en las estaciones muestreadas, con el fín de estudiar la relación entre la presencia de la plaga y cada potencial vector de transmisión (peces, aves, mamíferos y humanos).

8.3.3.1 Fauna Íctica

Área de estudio y muestreo de Fauna Íctica

La fauna íctica fue muestreada en dos cuencas hidrográficas emplazadas en la región de Aysén. La primera corresponde a la cuenca Costeras e Islas, entre río Palena y río Aysén. En este lugar se seleccionó cuatro estaciones de muestreo, en las cuales a la fecha no se ha reportado la presencia de la plaga *D. geminata*. La segunda cuenca corresponde al río Aysén, en la cual también se seleccionó cuatro estaciones de muestreo, pero en este caso las estaciones cuentan con registro previo de presencia de la plaga, el cual se mantuvo a la fecha de realización del muestreo (Tabla 8-6).

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

Tabla 8-6. Estaciones de muestreo de fauna íctica.

Estación	Cuenca
Cisnes_060	Costeras e Islas entre río Palena y río Aysén
Grande_O_010	Costeras e Islas entre río Palena y río Aysén
Rodriguez_010	Costeras e Islas entre río Palena y río Aysén
Grande_E_010	Costeras e Islas entre río Palena y río Aysén
Nirehuao_020	Río Aysén
Pollux_010	Río Aysén
Coyhaique_010	Río Aysén
Norte_010	Río Aysén

Fuente: Elaboración Propia.

El objetivo del muestreo, fue determinar cualitativa y cuantitativamente la abundancia de fauna íctica, riqueza de especies y el índice de diversidad de Shannon-Wiener.

Se utilizaron dos métodos o arte de pesca, pesca eléctrica y espineles. La pesca eléctrica fue realizada con un equipo marca SAMUS Modelo 725M. El esfuerzo de muestreo aplicado fue de 60 minutos (CPUE ind/hora) en cada estación. Los ejemplares obtenidos mediante pesca eléctrica fueron identificados *in situ* y mantenidos en agua fresca. Una vez finalizado el muestreo, todos los organismos capturados fueron devueltos al río, en el mismo sitio donde fueron capturados. (Figura 8-7 01). Adicionalmente, en cada estación se utilizaron espineles como método de pesca complementario a la pesca eléctrica. El espinel constó con 10 anzuelos (todos sin rebarbas) por línea de pesca, y se utilizó carnada viva (tebo). En todas las estaciones monitoreadas, el espinel se caló en lugares estratégicos del río (sectores remanso), durante toda la noche (Figura 8-7 02).

Dada la variabilidad esperada de abundancias ícticas en cada estación de muestreo propuesta, el número máximo de peces a analizar por especie fue de 10 individuos; en sitios con menor abundancia se obtuvieron muestras de un mínimo de 5 organismos de la especie más abundante. En aquellos casos en donde no fue posible capturar estos 5 ejemplares, se aplicó un esfuerzo de muestreo de 120 minutos (CPUE ind/hora), hasta capturar al menos 5 individuos de una especie íctica.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

Figura 8-7. Monitoreo de fauna íctica. 01) Una vez identificados y estudiados, los organismos capturados fueron devueltos al río de origen. 02) Pesca mediante espineles.

Posterior a la identificación de los individuos capturados, se estimó las variables morfométricas peso total (g) y longitud (cm), a partir de las cuales se calculó el factor de condición (K) de cada individuo (medida para establecer el estado nutricional de la fauna ictica). El peso total fue estimado mediante una balanza electrónica portátil de 0.1 g de precisión, en tanto que la longitud fue estimada mediante un ictiómetro de 0.1 cm de precisión.

Estado de conservación

El estado de conservación de las especies de fauna íctica presente en el área de estudio se determinó de acuerdo al Reglamento de Clasificación de Especies DS 29/2012 (MMA), utilizando los siguientes decretos: D.S. Nº 51/2008 del MINSEGPRES, D.S. N° 33/2011, D.S. N° 41/2011, D.S. N° 19/2012, D.S. N° 52/2014 y D.S. N°38/2015 del Ministerio del Medio Ambiente.

Detección de células de *D. geminata* en fauna íctica

Para la detección de células de *D. geminata* sobre la fuana íctica, se procedió a examinar la superficie de la epidermis de los ejemplares de peces capturados durante el muestreo, específicamente, en escamas o en la mucosa protectora que recubre su cuerpo, secretada por la epidermis. Para ello, se realizó un raspado en cada individuo capturado, mediante una espátula de madera. Las áreas de raspado fueron aleta pectoral, abdominal y anal, obteniendo así una muestra compuesta a partir de estas áreas (Figura 8-8). Cabe destacar que el raspado de peces se efectuó solo en individuos adultos y/o juveniles.

Cada muestra de mucosa de peces fue almacenada en tubos Falcon de 15 ml y preservada con una solución de Lugol y posteriormente llevada al laboratorio para su análisis.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

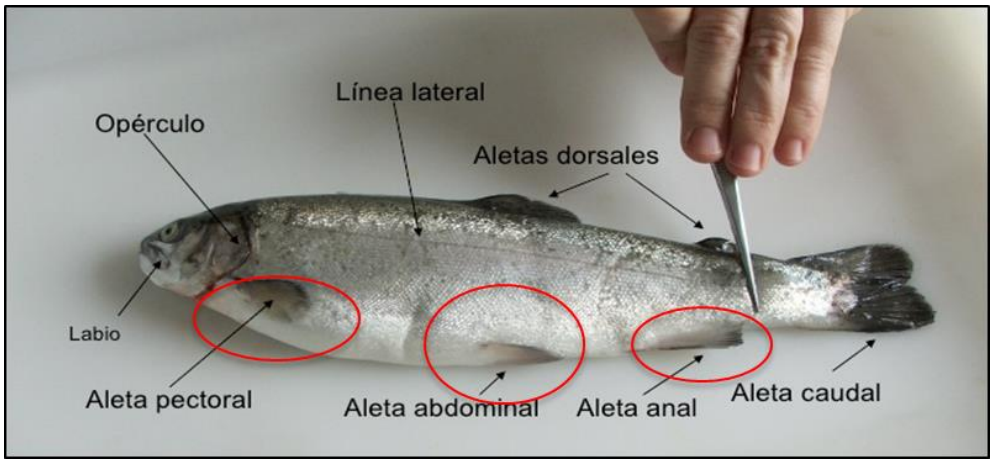


Figura 8-8. Zonas de obtención de muestras de mucosa en peces.

8.3.3.2 Avifauna

Área de estudio y muestreo

El muestreo de avifauna se llevó a cabo en 20 estaciones, con presencia y ausencia de *D. geminata*. Estas estaciones están distribuidas entre la región de la Araucanía y la región de Los Ríos, son principalmente cordilleranas, y con características similares de hábitat.

Censo de aves

Se realizó un censo de la avifauna presente en cada estación de muestreo por un periodo de una hora. Se entiende como “censo” el conteo realizado de tal manera de identificar prácticamente todos los individuos en un área determinada (De la Maza *et al.,* 2014). Los conteos se realizaron en periodos diurnos entre las 8:00 y las 20:00 horas.

Para maximizar el muestreo fueron evitados días con lluvia, niebla o viento, ya que en estas condiciones se limita la cantidad de aves a censar (Bibby *et al*., 2000). Las observaciones se realizaron empleando binoculares Nautica (8x40 mm), apoyo fotográfico y guías de campo para la identificación de especies (Araya & Millie, 2005; Jaramillo, 2005). Los conteos se realizaron a partir de un punto de observación, utilizando un distanciómetro Simmons, trazando una línea imaginaria 100 m aguas abajo desde el inicio del transecto *D. geminata* y 100 m aguas arriba desde el final del transecto *D. geminata* (Figura 8-9). Se consideró además 25 m adicionales para cada uno de los puntos de observación, desde el punto de observación hasta el punto medio del transecto *D. geminata*. De esta manera, cada transecto de observación constaba de 125 m, abarcando un largo total de 250 m.

El equipo encargado del censo se ubicó 30 minutos en el punto de inicio del transecto, registrando los individuos que fueron observados entre la línea imaginaria de 100 m, el ancho del río (considerando la rivera del frente) y los 25 m restantes, correspondientes al transecto *D. geminata* (Figura 8-9). Una vez transcurrido este tiempo, lo mismo se realizó en el otro transecto de observación. Se tuvo especial cuidado en no contabilizar más de una vez a los individuos, no incluyendo nuevamente a aquellas aves que cruzaban desde un transecto de observación al otro, registrándose únicamente en el primero. De este modo, se evitó la sobreestimación de la abundancia (Sutherland, 2006).

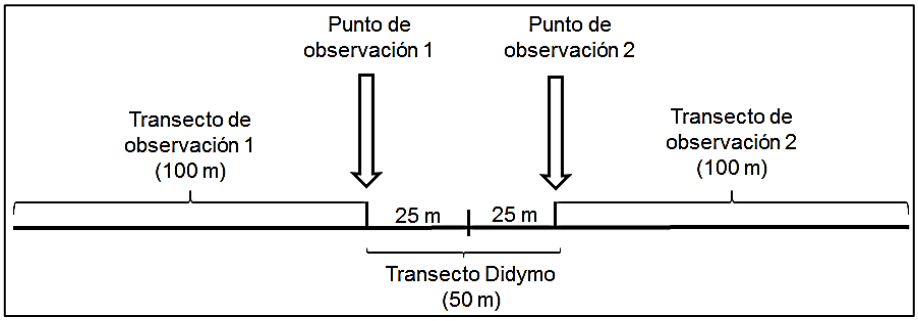


Figura 8-9. Transecto de observación. Representación gráfica de los transectos imaginarios (1 y 2) para la observación de aves, trazados a partir del inicio (1) y final del transecto (2) a partir del cual se realiza el muestreo de *Didymosphenia geminata* (transecto *D. geminata*).

Es importante mencionar que si la visibilidad en el tramo no permitía situar dos puntos de observación, tal como se indicó anteriormente, el equipo encargado de realizar el censo trazó desde un único punto de observación (el cual debía ubicarse al comienzo o al final del transecto *D. geminata*) un transecto de 250 m (incluyendo al transecto *D. geminata*), en la dirección que permitiera una mayor visibilidad a modo de maximizar la observación de aves.

Por cada estación de muestreo, la información obtenida de los individuos a partir del censo fue registrada en una ficha.

Comparación de la estructura comunitaria de avifauna en relación con la presencia-ausencia de *D. geminata*

Se realizó una comparación de la estructura de la comunidad de avifauna entre sitios que presentaron presencia y ausencia de *D. geminata*, independiente de la región a la que pertenezca

la estación muestreada. Para comparar las comunidades de aves se estimó los parámetros comunitarios abundancia, riqueza, índice de Shannon, índice de diversidad de Simpson y equitatividad. Para visualizar la distribución de las especies observadas en relación a la presencia y ausencia de *D. geminata*, como también la cantidad de especies comunes entre ambos tipos de estaciones, se realizó un diagrama de Venn, utilizando el software BioVenn.

Finalmente, para evaluar la existencia de similitud entre las estaciones con presencia y ausencia de *D. geminata*, se realizó un análisis multivariante en el software PAST 3, donde se hizo una ordenación de los datos a partir de un NMDS (escalamiento multidimensional, por sus siglas en inglés). Para evaluar la existencia de variabilidad entre los grupos, se realizó un test de ANOSIM, utilizando el índice de similitud de Bray-Curtis.

8.3.3.3 Mamíferos acuáticos

El muestreo de mamíferos se llevó a cabo en 30 estaciones, con presencia y ausencia de *D. geminata*. Todas las estaciones se encontraron localizadas en la región de Los Ríos.

Para ello, se realizó la búsqueda de avistamientos y/o vestigios (huellas, restos alimentarios y fecas) de los mustélidos huillín (*Lontra provocax*) y visón (*Neovison vison*). Este último se realizó de manera complementaria, debido a que su distribución coincide con la de *D. geminata*. Además, fueron realizados recorridos ribereños en transectos lineales de 200 m, a lo largo del curso fluvial. Se exploró meticulosamente el encuentro de troncos y riberas, en busca de avistamientos y/o vestigios, cabe señalar que se consideró como vestigios la presencia de huellas, fecas y/o rastros de madrigueras.

8.3.3.4 Alteraciones antrópicas

El análisis antrópico fue realizado en el total de estaciones monitoreadas para el proyecto y definidas en la sección denominada área de estudio, considerando presencia y/o ausencia de *D. geminata*. En cada punto de muestreo, se realizó una caracterización de las alteraciones antrópicas de la ribera y de las actividades del entorno, con la finalidad de determinar si estas alteraciones y/o actividades tenían relación con el transporte de *D. geminata*.

Las siguientes alteraciones de las riberas fueron consideradas como antrópicas: Bajada peatonal, bajada de vehículos y/o vadeo, bebedero de animales, extracción de áridos y otros. Mientras que como actividades del entorno se consideró lo siguiente: Agrícola, urbano, embalse, ganadero, servicios, ductos, poblados, industrial, recreativo, acuicultura, desagües y otros.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

8.3.4 Evaluación del programa de monitoreo realizado en Chile

A partir de los resultados obtenidos en el presente proyecto, en conjunto con el análisis de los factores bióticos y abióticos que inciden en la dispersión, colonización y proliferación de *D. geminata*, se evaluó el programa de vigilancia y control de la especie a través de una jormanada de trabajo realizada en conjunto con entidades especialistas en el tema Didymo.

La metodología de la jornada de trabajo se baso en dos premisas. Primero, en la construcción de conocimientos a partir de una estructura horizontal de transferencia de conocimientos; y segundo, la reflexión como punto de partida para el desarrollo de una estrategia de gestión de *D. geminata*. En base a esto, se pretendió llegar de una manera más precisa a las problemáticas de los actores involucrados en la gestión e investigación de la plaga, realizando un diagnóstico en conjunto de la situación actual en Chile.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

8.4 Desarrollo de actividades de difusión

Para el cumplimiento del objetivo específico Nº4 se desarrollaron actividades de difusión que comprendieron; la elaboración de material gráfico y audiovisual, ejecución de charlas informativas en distintas ciudades del país, y finalmente la realización de un taller de discusión perpetrado en Valparaiso, este último fue descrito anteriormente en la "Evaluación del programa de monitoreo realizado en Chile".

El Material gráfico y audiovisual, así como las charlas informativas estuvieron orientadas a el conocimiento de la distribución y estado actual de *D. geminata* en Chile, con énfasis en la zona Centro Sur y Austral, estado actual de la plaga Didymo en el territorio nacional, al desarrollo de actividades turísticas y pesqueras sustentables, y a medidas de prevención, limpieza y bioseguridad.

8.4.1 Desarrollo de material gráfico y audiovisual

El material de difusión en relación a su contenido, diseño y cantidad, fue discutido y posteriormente aprobado por la contraparte técnica. Todo el material generado a partir del presente proyecto fue entregado a las autoridades, y utilizado en cada una de las charlas, talleres y jornadas de trabajo que se realizaron en el marco del proyecto FIPA 2015-04.

8.4.2 Charlas informativas de la paga Didymo en el territorio nacional

Se realizarón charlas informativas en 5 ciudades del país: Concepción, Temuco, Valdivia, Coyhaique y Puerto Montt. Las charlas estuvieron dirijidas a autoridades de servicios públicos con competencia, usuarios relacionados con actividades turisticas y publico en general.

En cada ciudad donde se efectuaron los talleres se desarrollo una intensa campaña de difusión en las redes sociales, en medios escritos y radiales. Asi como también, se enviaron mail masivos a más de 2000 personas vinculadas con tema Didymo.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

8.5 Diversidad genética poblacional de *D. geminata* e Interacción con la comunidad de bacterias asociadas

A continuación se describe la metodología para el cumplimiento del objetivo extra Nº1.

8.5.1 Diversidad Genética

Para la caracterización filogenética de *D. geminata*, se realizó un muestreo en ríos donde se detectó la presencia de la plaga, específicamente en las regiones de: Aysen, Los Lagos, Los Ríos y la Araucanía (Tabla 8-7). Las muestras fueron almacenadas en tubos falcon estériles de 50 mL, y conservadas en etanol al 70% de concentración final.

Tabla 8-7. Estaciones de muestreo consideradas para análisis filogenético de *D. geminata.* Se ordenaron las muestras en números correlativos de 1 a 22, para su identificación en laboratorio.

n° CIAB	Estación	Río	Región
1	Arroyo_Cea_010	Arroyo Cea	Aysén
2	Aysen_050	Aysén	Aysén
3	Pollux_010	Pollux	Aysén
4	Cochrane_010	Cochrane	Aysén
5	Norte_010	Norte	Aysén
8	Espolon_010	Espolón	Los Lagos
9	Pico_020	Pico	Aysén
10	Palena_050	Palena	Los Lagos
11	Puelo_040	Puelo	Los Lagos
12	Puelo_020	Puelo	Los Lagos
13	Bellavista_020	Espolón	Los Lagos
14	Biobio_050	Biobío	Araucanía
15	Biobio_020	Biobío	Araucanía
16	Lonquimay_010	Lonquimay	Araucanía
17	Llanquihue_030	Llanquihue	Los Ríos
18	Huahum_020	Huahum	Los Ríos
19	Florin_020	Florin	Los Ríos
20	Currine_020	Curriñe	Los Ríos
21	Fuy_030	Fuy	Los Ríos
22	Coyhaique_010	Coyhaique	Aysén

Fuente: Elaboración Propia.

Para la extracción de DNA se utilizó el kit PowerSoil® de MoBio Laboratories, siguiendo las indicaciones del fabricante. En primera instancia se realizó un ensayo con una muestra escogida al azar, la que correspondio a la estación Puelo_020, número 12 (Tabla 8-7), de la cual se extrajo DNA en duplicado.

En la Figura 8-10 se muestra el DNA genómico extraído desde la estación Puelo_020 (carril A y B), además del estándar de 1Kb (marca) en el primer carril. Se observa en el carril A y B bandas

de DNA genómico poco definidas, esto indica que el DNA genómico obtenido de la extracción se encuentra parcialmente fragmentado.

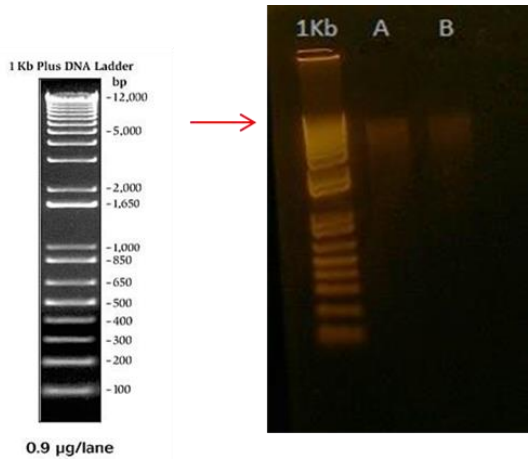


Figura 8-10. Electroforesis en gel de agarosa (1%) teñido con GelRed™.

Luego de obtener resultados positivos de extracción de DNA, se procedió con la extracción de las muestras restantes.

La Figura 8-11 exibe que la extracción de DNA fue exitosa en todas las muestras, sin embargo la muestra número 4 presenta una banda muy débil de DNA genómico, muestras 1, 3, 5, 8, 10, 14 y 16 a 22 se observan fragmentadas, muestra 2, 9, 11, 13 y 15 con poca fragmentación.

En la Figura 8-11 A), se observa la integridad del DNA genómico extraído de las muestras 1 a 5, 8 a 11 y 13, en la Figura 8-11 B) se presentan las muestras 14 a 22. Las muestras 6 y 7 no se analizaron debido a que la misma localidad se encuentra en duplicado, así como la muestra 12, la cual se utilizó previamente (Tabla 8-8).

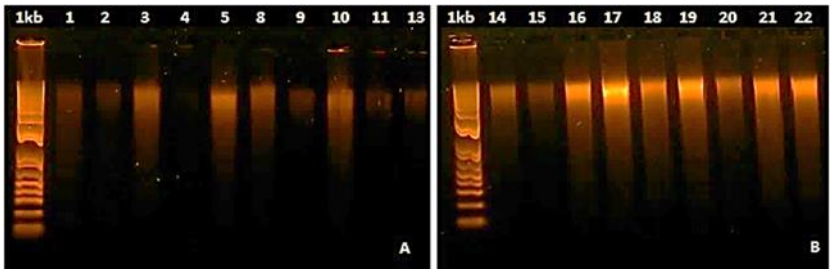


Figura 8-11. Electroforesis en gel de agarosa (1%) teñido con Gel Red™ donde se presenta la integridad del DNA genómico extraído. A) Muestras 1 a 5, 8 a 11 y 13. B) Muestras de 14 a 22. Estándar 1kb para A y B.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

El DNA fue cuantificado por espectrofotometría en el equipo Bio_fotómetro Eppendorf® (Tabla 8-8). Para la cuantificación las muestras fueron diluidas en 1/20, la concentración de DNA se obtuvo a partir de la siguiente ecuación:

$$DNA\ (\frac{\mu g}{mL}) = OD260 * 50 * \text{factor de dilución}$$

Tabla 8-8. Cuantificación del producto obtenido de la extracción de DNA para cada una de las estaciones de muestreo.

n° CIAB	Estación	OD260	Concentración DNA (µg/mL)
1	Arroyo_Cea_010	0.017	17
2	Aysen_050	0.019	19
3	Pollux_010	0.035	35
4	Cochrane_010	0.026	26
5	Norte_010	0.054	54
8	Espolon_010	0.027	27
9	Pico_020	0.082	82
10	Palena_050	0.048	48
11	Puelo_040	0.058	58
12	Puelo_020	0.038	38
13	Bellavista_020	0.035	35
14	Biobio_050	0.053	53
15	Biobio_020	0.034	34
16	Lonquimay_010	0.048	48
17	Llanquihue_030	0.065	65
18	Huahum_020	0.038	38
19	Florin_020	0.045	45
20	Currine_020	0.038	38
21	Fuy_030	0.046	46
22	Coyhaique_010	0.050	50

Fuente: Elaboración Propia.

8.5.1.1 Estandarización de PCR para gen rbcL

Se realizó PCR, por sus siglas en inglés Polymerase Chain Reaction, con partidores diseñados para *D. geminata* (Jaramillo *et al*., 2015), para el gen de la subunidad mayor de la enzima rubisco (rbcL)-(Tabla 8-9). Para la reacción, se utilizó la enzima GoTaq® G2 Flexi DNA polimerasa. El volumen final de reacción fue de 20 µL, utilizando para el mix las concentraciones sugeridas por el fabricante de la enzima, buffer 1X, $MgCl_2$ 4mM, dNTP 10 mM c/u, DNA polimerasa 0.5 U, primers 10 µM y 1 µL de DNA.

Tabla 8-9. Secuencia 5'–3' de partidores para enzima rbcl.

Primer	Secuencia (5'–3')	Referencia
rbcl-F	ACCAACAACTGTACCAGCGT	Jaramillo *et al.,* 2015
rbcl-R	TGGGATGCTTCATACGCAGT	Jaramillo *et al*., 2015

Fuente: Elaboración Propia.

8.5.1.2 Amplificación rbcL

Se estandarizó la reacción y la PCR de todas las muestras, la que se realizó bajo las siguientes condiciones: denaturación inicial 94°Cx 2 min, 35 ciclos de 94°C por 30 segundos, alineamiento a 57°C durante 30 segundos, extensión a 72°C por 90 segundos, extensión final 72°C durante 5 minutos. En el gel (Figura 8-12) se observan 3 bandas, la banda más marcada corresponde a un producto cercano a las 850 pb, el producto esperado con los partidores es de 924pb.

Se purificó el producto PCR con el kit E.Z.N.A ®Cycle Pure PCR Purification Kit (Omega Bio-tek), al realizar la purificación se obtuvo sólo una banda definida (Figura 8-13). Finalmente, se cuantificó el producto de la purificación con espectrofotometría y las muestras purificadas fueron enviadas a secuenciar a Macrogen (http://dna.macrogen.com/eng/).

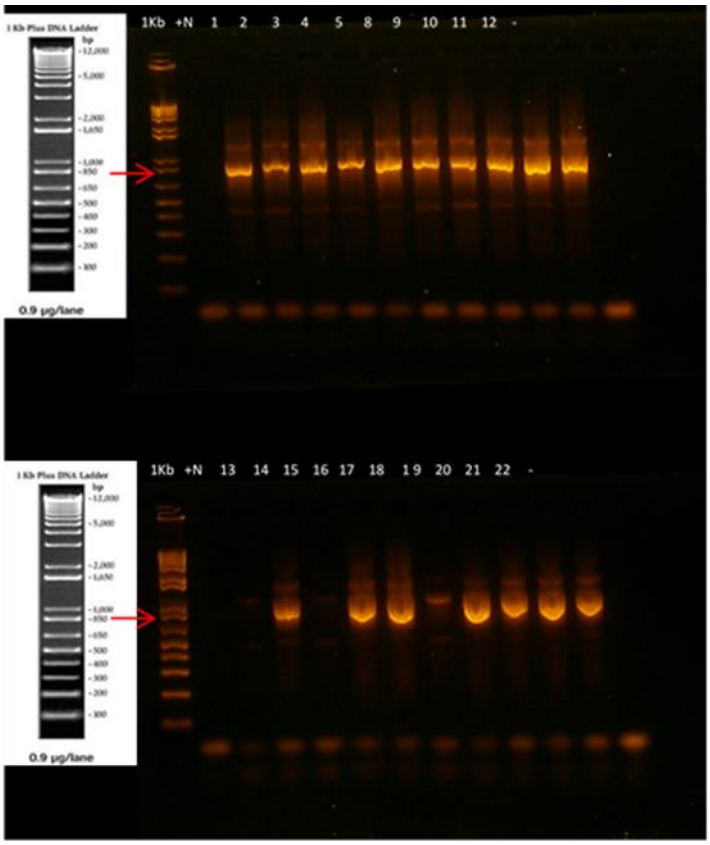


Figura 8-12. Electroforesis en gel de agarosa (2%) con tinción GelRed™. Amplificación del gen rbcL.

Figura 8-12: A. Carril +N corresponde a Control + (Nannochloropsis salina); 1 (Arroyo_Cea_010); 2 (Aysen_050); 3 (Pollux_010); 4 (Cochrane_010); 5 (Norte_010); 8 (Espolon_010); 9 (Pico_020); 10 (Palena_050); 11 (Puelo_040); 12 (Puelo_020). B. Carril +N corresponde a control + (Nannochloropsis salina); 13 (Bellavista_020); 14 (Biobio_050); 15 (Biobio_020); 16 (Lonquimay_010); 17 (Llanquihue_030); 18 (Huahum_020); 19 (Florin_020); 20 (Currine_020); 21 (Fuy_030); 22 (Coyhaique_010).

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

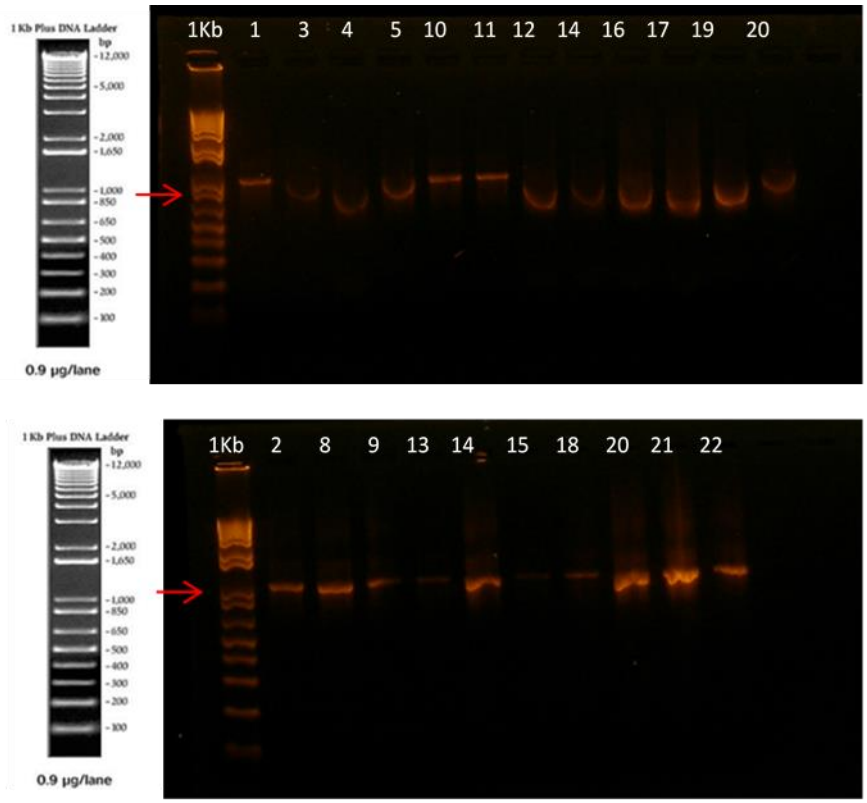


Figura 8-13. Electroforesis en gel de agarosa (2%) con tinción GelRed™. Producto obtenido de la purificación del producto PCR de rbcl, con kit E.Z.N.A ®Cycle Pure PCR Purification Kit (Omega Bio-tek).

Figura 8-13: 1 (Arroyo_Cea_010); 2 (Aysen_050); 3 (Pollux_010); 4 (Cochrane_010); 5 (Norte_010); 8 (Espolon_010); 9 (Pico_020); 10 (Palena_050); 11 (Puelo_040); 12 (Puelo_020); 13 (Bellavista_020); 14 (Biobio_050); 15 (Biobio_020); 16 (Lonquimay_010); 17 (Llanquihue_030); 18 (Huahum_020); 19 (Florin_020); 20 (Currine_020); 21 (Fuy_030); 22 (Coyhaique_010).

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

8.5.1.3 Análisis bioinformático

Las secuencias obtenidas a partir de la secuenciación fueron analizadas con los programas Chromas (http://technelysium.com.au/wp/chromas), Bioedit (http://www.mbio.ncsu.edu/bioedit/page2.html) y MEGA6 (Tamura *et al*., 2004).

El programa Chromas se utilizó para limpiar las secuencias manualmente, el programa Bioedit se utilizó para alinear las secuencias y se realizó un alineamiento múltiple con CLUSTAL W. En el programa MEGA6 se obtuvo la distancia en pares de bases de las secuencias analizadas, los análisis se realizaron utilizando el modelo de Máxima Verosimilitud compuesta (Tamura *et al*., 2004). El análisis incluyó a 21 secuencias de nucleótidos. Se eliminaron todas las posiciones que contienen lagunas y los datos que faltan. Hubo un total de 659 posiciones. Se desarrolló un árbol de Máxima verosimilitud (ML por sus siglas en inglés), con análisis de Bootstrap de 500 repeticiones.

El modelo de Máxima Verosimilitud evalúa la probabilidad de que la hipótesis evolutiva considerada (árbol + modelo evolución) haya generado el alineamiento de secuencias de DNA observado. Es decir, que nuestras secuencias obtenidas se expliquen, en este caso por la divergencia de poblaciones ancestrales.

Este modelo se calcula asumiendo que los N sitios son independientes, multiplicamos las verosimilitudes para cada sitio.

Con las secuencias obtenidas se realizó un alineamiento múltiple en Bioedit y el árbol filogenético de Máxima verosimilitud (Figura 8-14 y Tabla 8-10).

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

Figura 8-14. Imagen representativa del alineamiento múltiple CLUSTAL W en Bioedit.

Didymosphenia_geminata_strain_CH058_ID:Arroyo_CEA																				
Craticula_buderi_strain_D06_069_ID:Esperanza_B	0,061																			
Didymosphenia_geminata_strain_CH058_ID:Pollux	0,000	0,061																		
Didymosphenia_geminata_strain_CH058_ID:Cochrane_010	0,000	0,061	0,000																	
Didymosphenia_geminata_strain_CH058_ID:Norte_010	0,000	0,061	0,000	0,000																
Didymosphenia_geminata_strain_CH058_ID:Espolon_010	0,003	0,057	0,003	0,003	0,003															
Sellaphora_cf._laevissima_ID:Pico_020	0,066	0,038	0,066	0,066	0,066	0,063														
Didymosphenia_geminata_strain_CH058_ID:Palena_050	0,000	0,061	0,000	0,000	0,000	0,003	0,066													
Didymosphenia_geminata_strain_CH058_ID:Puelo_13	0,000	0,061	0,000	0,000	0,000	0,003	0,066	0,000												
Didymosphenia_geminata_strain_CH058_ID:Puelo_020	0,000	0,061	0,000	0,000	0,000	0,003	0,066	0,000	0,000											
Achnanthidium_minutissimum_strain_B448_ID:Bellavista_020	0,048	0,059	0,048	0,048	0,048	0,045	0,068	0,048	0,048	0,048										
Melosira_varians_ID:Biobio_050	0,121	0,118	0,121	0,121	0,121	0,119	0,111	0,121	0,121	0,121	0,127									
Didymosphenia_geminata_strain_CH058_ID:Lonquimay_010	0,000	0,061	0,000	0,000	0,000	0,003	0,066	0,000	0,000	0,000	0,048	0,121								
Didymosphenia_geminata_strain_CH058_ID:Llanquihue_030	0,000	0,061	0,000	0,000	0,000	0,003	0,066	0,000	0,000	0,000	0,048	0,121	0,000							
Didymosphenia_geminata_strain_CH058_ID:Huahum_020	0,008	0,052	0,008	0,008	0,008	0,005	0,064	0,008	0,008	0,008	0,040	0,117	0,008	0,008						
Didymosphenia_geminata_strain_CH058_ID:Florin_020	0,000	0,061	0,000	0,000	0,000	0,003	0,066	0,000	0,000	0,000	0,048	0,121	0,000	0,000	0,008					
Didymosphenia_geminata_strain_DRARU_ID:Currine_010	0,000	0,061	0,000	0,000	0,000	0,003	0,066	0,000	0,000	0,000	0,048	0,121	0,000	0,000	0,008	0,000				
Didymosphenia_geminata_strain_CH058_ID:Fuy_030	0,000	0,061	0,000	0,000	0,000	0,003	0,066	0,000	0,000	0,000	0,048	0,121	0,000	0,000	0,008	0,000	0,000			
Didymosphenia_geminata_strain_CH058_ID:Coyhaique_010	0,000	0,061	0,000	0,000	0,000	0,003	0,066	0,000	0,000	0,000	0,048	0,121	0,000	0,000	0,008	0,000	0,000	0,000		
Cymbella_tumida_|KJ011813|	1,240	1,280	1,240	1,240	1,240	1,236	1,340	1,240	1,240	1,240	1,308	1,430	1,240	1,240	1,230	1,240	1,240	1,240	1,240

Tabla 8-10. Se muestran el número de sustituciones de bases por sitio de entre las secuencias. Los análisis se realizaron utilizando el modelo de Máxima Verosimilitud Compuesto.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

8.5.1.4 Relaciones para la diversidad genética molecular de *D. geminata*

Para evaluar las relaciones para la diversidad genética molecular de *D. geminata*, se emplearon las secuencias correspondientes al gen ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase large subunit (*rbcL*). Estas incluyen tanto secuencias reportadas en trabajos anteriores (Jaramillo *et al*., 2015), así cómo las secuencias correspondientes a las secuencias obtenidas en el marco del presente proyecto. Para examinar la variabilidad genética y determinar las relaciones filogenéticas entre las distintas secuencias de *D. geminata* del gen *rbcL,* se llevó a cabo primero un análisis filogenético con la evidencia total para el grupo. Para ello, se incluyó en el análisis el conjunto de secuencias reportadas por Jaramillo *et al.* (2015), quienes examinaron 7 muestras de secuencias descritas para Chile, en conjunto con las restantes secuencias disponibles en ese momento para *D. geminata* y para un grupo de tres géneros adicionales de diatomeas incluyendo *Gomphonema*, *Cymbella* y *Encyonema*. Esto permitió contar con un total de 48 secuencias correspondientes a 20 especies de diatomeas. Estas secuencias se emplearon para construir árboles de relaciones filogenéticas, utilizando tres aproximaciones. La primera corresponde a un árbol fenético, elaborado mediante neighbour joining, o el agrupamiento de secuencias de acuerdo a su grado de similitud o distancia genética (NJ). Las siguientes dos corresponden a aproximaciones cladistas, que agrupan secuencias en base al grado de similitud de los grupos identificados previamente, siendo estos métodos el de máxima parsimonia (MP) y máxima verosimilitud (ML). Cabe destacar que este último es un método probabilistico, por lo cual se seleccionó para la interpretación final de las relaciones filogenéticas.

Posteriormente a la identificación de las relaciones filogenéticas de esta especie de diatomea, las secuencias correspondientes a muestras obtenidas en los sistemas fluviales en Chile se analizaron para examinar la variabilidad poblacional de *D. geminata*. Se analizaron las siete secuencias de *D. geminata* reportadas por Jaramillo *et al*., (2015), en conjunto con las 19 secuencias reportadas en el presente proyecto, dando como resultado un total de 26 secuencias que abarcan el territorio de la invasión de esta especie en nuestro país. Para realizar el análisis de diversidad o variabilidad genética a nivel poblacional, las secuencias se alinearon utilizando la rutina ClustalW en el paquete de software *Molecular Evolutionary Genetic Analysis version 7.0 for bigger datasets* (MEGA7) (Kumar, Stetcher & Kimura, 2016). Una vez alineadas, las secuencias, se colapsaron en haplotipos utilizando el paquete FaBox (Villesen, 2007) (http: // users-bir-c.au.dk/biopv/php/fabox/).

Esto permitió enumerar la cantidad de haplotipos presentes a nivel de las cuencas muestreadas, y también determinar la diversidad genética poblacional, mediante el cáclulo del índice de

diversidad de Shannon-Wiener a lo largo de todas las cuencas, considerando el índice (i) a lo largo de los haplotipos identificados en la sección anterior.

Para inferir los procesos históricos que dieron origen a las poblaciones de muestra, las relaciones entre haplotipos y geografía se examinaron mediante una red de haplotipos. Esta red se construyó utilizando el módulo R pegas 0.9 (Paradis, 2010), en el programa R (R Development Core (Team, 2014). La red de haplotipos es un grafo bidireccional que conecta los distintos haplotipos identificados, utilizando un modelo de infinitos sitios de secuencias de ADN (es decir, distancia sin corregir o de Hamming), tomando en cuenta la deleción u omisión de pares de datos faltantes (Templeton *et al*., 1992). El tamaño de los nodos en la red resultante es proporcional al número de secuencias para cada haplotipo dado, y se representa mediante colores la identidad de las secuencias presentes en cada haplotipo. Además, se muestra mediante puntos pequeños el número de mutaciones estimadas entre haplotipos vinculados, representándolas mediante el número de puntos sobre un enlace dado. Por último, a fin de examinar la variación geográfica en el haplotipo de identidad y frecuencia, se representó en un mapa que la ubicación geográfica de todas las secuencias, representando mediante un código de colores, la pertenencia de las secuencias a los distintos grupos de haplotipos.

8.5.2 Diversidad Bacteriana asoaciada a *D. geminata*

8.5.2.1 Extracción de DNA

Para extracción de DNA genómico (gDNA) se utilizó el kit PowerSoil® de MoBio Laboratories, siguiendo las indicaciones del fabricante (Figura 8-15).

La Figura 8-15 muestra el DNA genómico extraído desde la muestra Puelo_020 (carril A y B) además del estándar de 1Kb (marca) en el primer carril. Se observa en el carril A y B bandas de DNA genómico poco definidas, esto indica que el DNA genómico obtenido de la extracción se encuentra parcialmente fragmentado.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

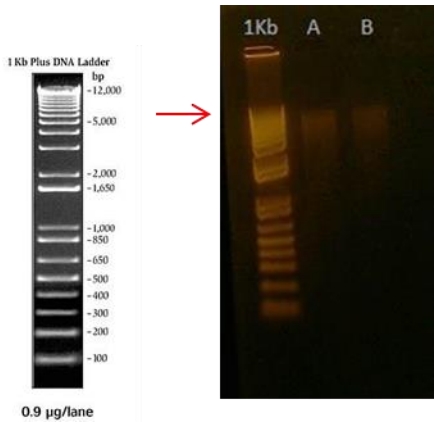


Figura 8-15. gDNA. Electroforesis en gel de agarosa (1%) teñido con GelRed™.

Luego de obtener resultados positivos de extracción de DNA, se procedió con la extracción de las muestras restantes. En la Figura 8-16 A) se presenta la integridad del gDNA extraído de las muestras 1 a 5; 8 a 11 y 13, en la Figura 8-16 B) se presentan las muestras 14 a 22. Las muestras 6 y 7 no se analizaron debido a que la misma localidad se encuentra en duplicado, así como la muestra 12, la cual se utilizó previamente (Figura 8-16).

En la Figura 8-16: Se observa que la extracción de gDNA fue exitosa en todas las muestras, sin embargo la muestra número 4 presenta una banda muy débil de DNA genómico, muestras 1, 3, 5, 8, 10, 14 y 16 a 22 se observan fragmentadas, muestra 2, 9, 11, 13 y 15 con poca fragmentación.

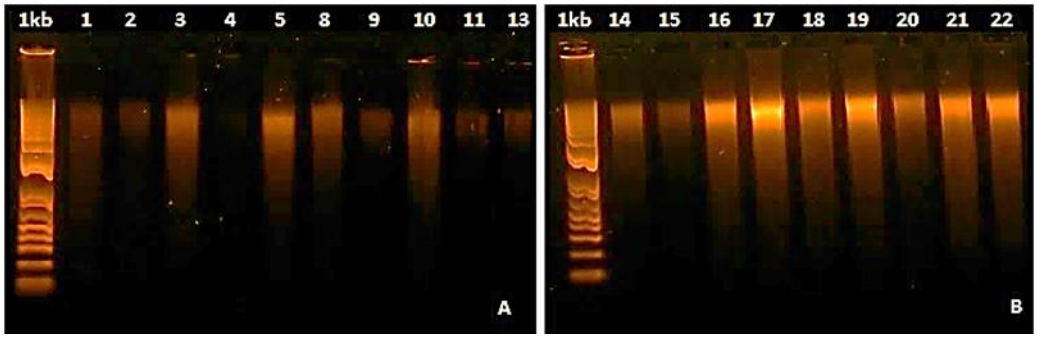


Figura 8-16. Electroforesis en gel de agarosa (1%) teñido con Gel Red™ donde se presenta la integridad del gDNA extraído. A. muestras 1 a 5, 8 a 11 y 13. B. muestras de 14 a 22. Estándar 1kb para A y B.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

El gDNA fue cuantificado por espectrofotometría en el equipo Bio fotómetro eppendorf® (Tabla 8-11), Para la cuantificación las muestras se diluyeron 1/20, la concentración de DNA se obtuvo a partir de la siguiente ecuación:

$$DNA\ (\frac{\mu g}{mL}) = OD260 * 50 * \text{factor de dilución}$$

Tabla 8-11. Cuantificación del producto obtenido de la extracción de gDNA para cada una de las localidades. CIAB: Centro de Investigación Austral Biotech.

n° CIAB	Cod_Estacion	OD260	Concentración DNA (µg/mL)
1	Arroyo_Cea_010	0.012	12
2	Aysen_050	0.018	18
3	Pollux_010	0.025	25
4	Cochrane_010	0.026	26
5	Norte_010	0.033	33
8	Espolon_010	0.022	22
9	Pico_020	0.013	13
10	Palena_050	0.022	22
11	Puelo_040	0.010	10
12a	Puelo_020	0.011	11
12b	Puelo_020	0.012	12
13	Bellavista_020	0.013	13
14	Biobio_050	0.011	11
15	Biobio_020	0.012	12
16	Lonquimay_010	0.026	26
17	Llanquihue_030	0.043	43
18	Huahum_020	0.025	25
19	Florin_020	0.028	28
20	Currine_020	0.026	26
21	Fuy_030	0.029	29
22	Coyhaique_010	0.031	31

Fuente: Elaboración Propia.

El gDNA obtenido fue enviado a Macrogen (dna.macrogen.com, Seúl, Corea del Sur), para la realización de las librerías y la secuenciación de la metagenómica. El procedimiento de preparación de librería consiste en amplificar las regiones variables V3 y V4 del 16s rDNA, para esto se utilizan los primers o partidores descritos en Tabla 8-12.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

Tabla 8-12.Partidores utilizados para amplificar las regiones variables V3 y V4 del 16s rDNA.

16S	Secuencia (5'–3')
Forward Primer	TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGCCTACGGGNGGCWGCAG
Reverse Primer	GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGGACTACHVGGGTATCTAATCC

El producto esperado es de ~ 460 pb. La preparación de librerías fue llevada a cabo con los adaptadores de secuenciación Illumina, usando Nextera® XT index kit (Figura 8-17).

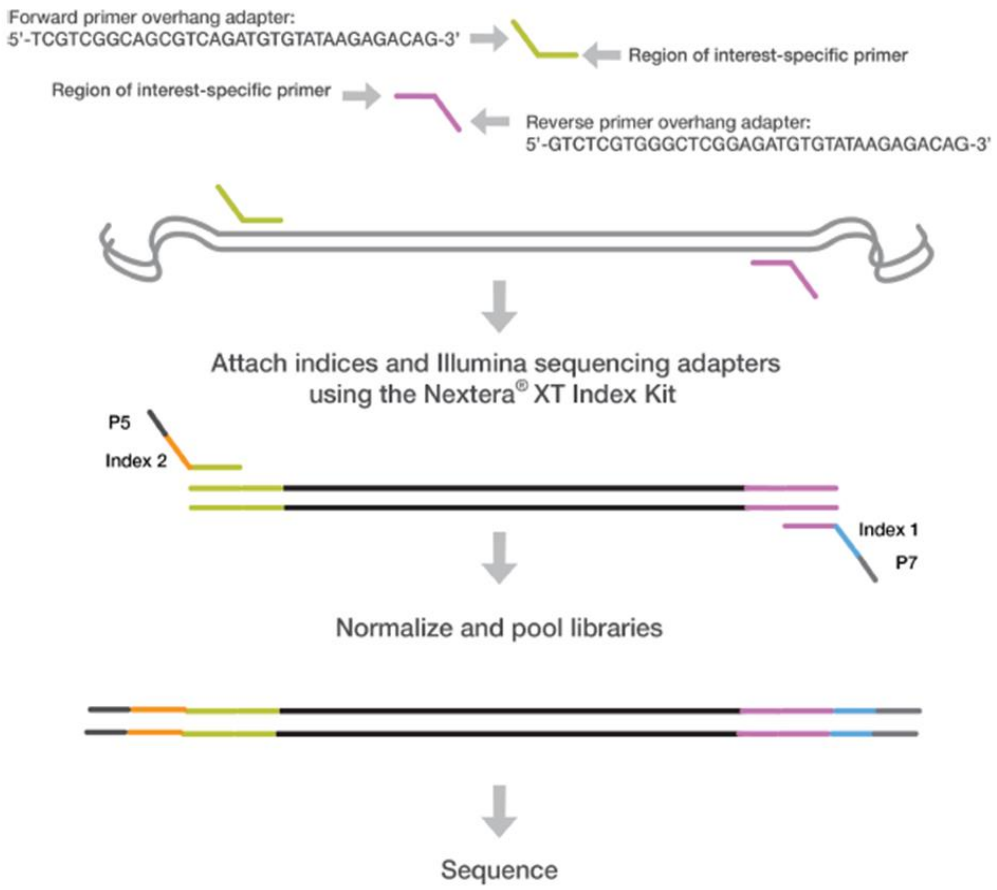


Figura 8-17. Esquema de trabajo de amplificación de región V3 y V4 y preparación de librerías con adaptadores de secuenciación Illumina, usando Nextera® XT index kit.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

En la Tabla 8-13 se indican las concentraciones de DNA obtenidas tras la preparación de las librerías:

Tabla 8-13. Control de calidad (QC, Quality Control) de las librerías obtenidas para 16s rDNA, se indica el N° CIAB (Centro de Investigación Austral Biotech), nombre de las librerías, tipo de librería, concentración DNA (ng/µL) y tamaño en pares de bases (pb).

N° CIAB	Nombre de la librería	Tipo de librería	Concentración DNA (ng/µL)	Tamaño (pb)
1	Arroyo_Cea_010	16s rDNA	92.06	600
2	Aysen_050	16s rDNA	83.74	601
3	Pollux_010	16s rDNA	85.27	604
4	Cochrane_010	16s rDNA	82.84	604
5	Norte_010	16s rDNA	83.92	603
8	Espolon_010	16s rDNA	84.74	601
9	Pico_020	16s rDNA	85.37	606
10	Palena_050	16s rDNA	81.96	606
11	Puelo_040	16s rDNA	91.42	598
12	Puelo_020	16s rDNA	86.18	593
13	Bellavista_020	16s rDNA	88.37	602
14	Biobio_050	16s rDNA	85.36	601
15	Biobio_020	16s rDNA	84.36	600
16	Lonquimay_010	16s rDNA	91.37	599
17	Llanquihue_030	16s rDNA	89.19	593
18	Huahum_020	16s rDNA	80.32	598
19	Florin_020	16s rDNA	92.69	585
20	Currine_020	16s rDNA	86.36	595
21	Fuy_030	16s rDNA	95.72	593
22	Coyhaique_010	16s rDNA	87.64	599

Fuente: Elaboración Propia.

Las muestras fueron secuenciadas a través de la plataforma MiSeq de Illumina. Se obtuvo secuencias en formato FASTQ, las cuales fueron analizadas en el software Mothur (Shloss *et al*., 2009).

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

8.5.2.2 Análisis bioinformático: Pipeline Mothur

Las muestras fueron analizadas con Mothur para el control de calidad (Figura 8-18), bajo los siguientes parámetros:

- Remover adaptadores de secuenciación Illumina (el secuenciador remueve adaptadores).
- Alinear lecturas (*reads*) calidad sobre 25 puntos.
- Si dos lecturas no coinciden entre ellas, en una base nitrogenada, será considerada correcta la con mayor puntaje (siempre y cuando tenga una diferencia mayor a 6 puntos con respecto a la anterior).
- Si las bases no poseen una diferencia mayor a 6 puntos entre sí, es considerada N.

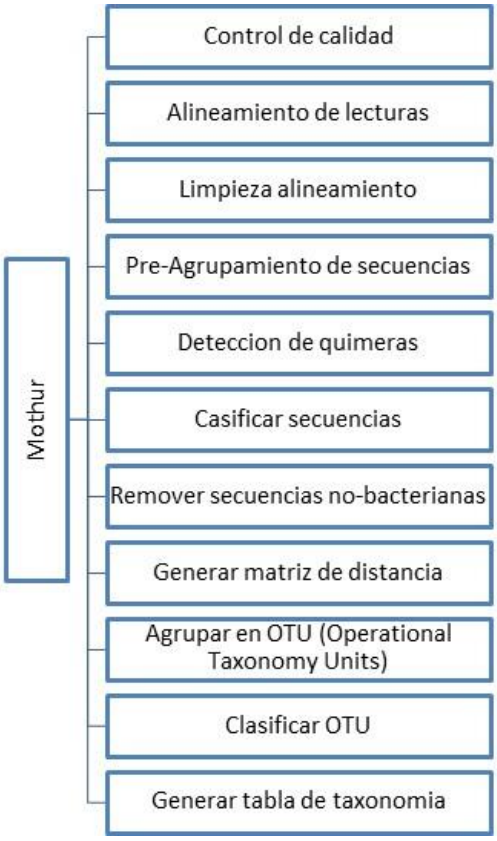


Figura 8-18. Pipeline realizado en software Mothur. Se indican los pasos a seguir en el análisis de las secuencias.

En este proceso se busca alinear las secuencias, generando *contigs* entre las secuencias *Forward* y *Reverse* (Tabla 8-14), luego se debe limpiar las quimeras (*contigs* producido entre

secuencias provenientes de especies distintas, empalme irregular). La clasificación de secuencias se llevará a cabo utilizando la base de datos con secuencias bacterianas Silva SEED v119 (Quast *et al*., 2013) de acuerdo a la región de interés a analizar, en este caso, las regiones variables 16s V3 y V4.

Se procede a remover las secuencias no bacterianas y generar una matriz de distancia y agrupar en Unidades Taxonómicas Operacionales u OTUs (por sus siglas en inglés), las que corresponden agrupaciones de secuencias variantes del gen marcador 16S rDNA. Cada uno de estas agrupaciones está destinado a representar una unidad taxonómica, una especie o género de bacterias en función del umbral de similitud de secuencias. Típicamente, una OTU se define por un umbral de 97% de identidad de los genes 16S variantes de la secuencia, pero también se sugiere el uso de la identidad 99% para la separación de especies. Luego de obtener los OTUs, se genera una tabla de taxonomía con la cual es posible realizar gráficos de diversidad bacteriana utilizando el software R Studio y GraphPad Prism.

Tabla 8-14 Muestras ingresadas en Mothur, se indica el nombre de la muestra, donde los números 1 a 22, indica el número CIAB de la muestra.

N° CIAB	Cod_Estacion	Secuencia Reverse	Secuencia Forward
1	Arroyo_Cea_010	1_1.fastq.gz	1_2.fastq.gz
2	Aysen_050	2_1.fastq.gz	2_2.fastq.gz
3	Pollux_010	3_1.fastq.gz	3_2.fastq.gz
4	Cochrane_010	4_1.fastq.gz	4_2.fastq.gz
5	Norte_010	5_1.fastq.gz	5_2.fastq.gz
8	Espolon_010	8_1.fastq.gz	8_2.fastq.gz
9	Pico_020	9_1.fastq.gz	9_2.fastq.gz
10	Palena_050	10_1.fastq.gz	10_2.fastq.gz
11	Puelo_040	11_1.fastq.gz	11_2.fastq.gz
12	Puelo_020	12_1.fastq.gz	12_2.fastq.gz
13	Bellavista_020	13_1.fastq.gz	13_2.fastq.gz
14	Biobio_050	14_1.fastq.gz	14_2.fastq.gz
15	Biobio_020	15_1.fastq.gz	15_2.fastq.gz
16	Lonquimay_010	16_1.fastq.gz	16_2.fastq.gz
17	Llanquihue_030	17_1.fastq.gz	17_2.fastq.gz
18	Huahum_020	18_1.fastq.gz	18_2.fastq.gz
19	Florin_020	19_1.fastq.gz	19_2.fastq.gz
20	Currine_020	20_1.fastq.gz	20_2.fastq.gz
21	Fuy_030	21_1.fastq.gz	21_2.fastq.gz
22	Coyhaique_010	22_1.fastq.gz	22_2.fastq.gz

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

8.6 Taller teórico-práctico sobre gestión de la plaga *D. geminata* y bioseguridad en Chile

La elaboración del taller práctico teórico corresponde al objetivo extra Nº 2.

El programa del curso es el siguiente:

CURSO "GESTIÓN DE LA PLAGA *D. GEMINATA* Y BIOSEGURIDAD EN CHILE"

PROGRAMA

DÍA 1

Jornada Teórica: 9:00-13:00

09:00-09:15 Inscripciones y entrega de materiales.
09:15-09:30 Bienvenida e Introducción al curso. Universidad Santo Tomás
09:30-10:30 Introducción a sistemas de aguas continentales.
10:30-11:00 Café.
11:00-12:00 Diatomeas de aguas continentales
12:00-13:00 Normativa de plagas hidrobiológicas en Chile. Subsecretaría de Pesca y Acuicultura.
13:00-15:00 Almuerzo.

Jornada Teórica: 15:00-18:00

15:00-16:30 Prospección, vigilancia y monitoreo de *D. geminata* en Chile.
16:30-17:00 Café.
17:00-18:00 Plan de contención y desinfección. Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura.

DÍA 2

Jornada Teórica: 9:00-13:00

09:00-09:45 Muestreo y bioseguridad. Medidas preventivas y de desinfección
09:45-10:30 Desafíos y tareas pendientes. De la consultoría a la Investigación.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

10:30-11:00 Café.

11:00-12:00 Identificación taxonómica de *D. geminata*.

12:00-13:00 Estudio genético de la plaga *D. geminata* y comunidad microbiana asociada. Universidad Santo Tomas

13:00-15:00 Almuerzo.

Jornada Práctica: 15:00-18:00

15:00-16:00 Preparación y análisis de muestras biológicas.

16:00-16:30 Café.

16:30-17:30 Reconocimiento con microscopía óptica de microalgas y específicamente *D. geminata*.

17:30-18:00 Mesa redonda.

EXPOSITORES

Carolina A. Díaz Pardo.

Especialista en Diatomeas de Aguas Continentales.

Licenciada en Ciencias Ambientales cm Biología, Universidad de Chile.

Gerente General AMAKÁIK Consultoría Ambiental.

Fabio Labra R.

Profesor titular Facultad de ciencias Universidad Santo Tomas.

Alejandro Barrientos Puga.

Medico Veterinario.

Encargado Unidad de Gestión Sanitaria y Plagas

División de Acuicultura, Subsecretaría de Pesca y Acuicultura, Dirección Nacional, Valparaíso.

Ricardo Sáez Palma.

Biólogo Marino.

Subdirección de Acuicultura

Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura, Dirección Nacional, Valparaíso.

ASISTENCIA ACTIVIDADES PRÁCTICAS

Magaly Olivares O. Especialista en microalgas, AMAKÁIK Consultoría Ambiental.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

8.7 Publicaciones Científicas

Para dar cumplimeinto con el objetivo extra Nº3 se elaboraron dos manuscritos con los resultados del presente proyecto.

El primer manuscrito se formo con la información obtenida en el objetivo especifico Nº3 “Análisis de factores bióticos y abióticos que inciden en la dispersión, colonización y proliferación de *Didymosphenia geminata*”, específicamente con los resultados de avifauna, el cual, se titula. “Primer censo de aves en presencia de la especie plaga *Didymosphenia geminata* en ríos de la precordillera en las regiones de La Araucanía y Los Ríos”.

El segundo manuscrito se elaboro con los resultados del objetivo extra Nº1 Variabilidad genética y comunidad bacteriana asociada a *D. geminata,* el cual se titula “Phylogenetic and phylogeographic patterns of *Didymosphenia geminata* on invaded sites in Chile”.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

9. RESULTADOS

A continuación se expresan los resultados para el cumplimiento de cada objetivo planteado en este estudio.

Toda la información generada durante la ejecución del proyecto FIPA Nº2015-04 en relación a: parámetros físicos y químicos, variables hidráulicas, componentes biológicos, información espacial de las estaciones de muestreo, entre otros, se encuentra en una base de datos formato Excel en el Anexo 6. La base de datos consta de entidades metodológicas, geográficas, biológicas, químicas y físicas, compuestas por atributos (columnas), que a través de los registros o sitios de muestreos (filas), caracterizan una unidad espacio-temporal en un río, relacionadas en una tabla de doble entrada.

Las imágenes utilizadas en relación a las estacioes con presencia de *D. geminata,* y componentes biológicos de ambas campañas de muestreo, se encuentran en el Anexo 7

9.1 Prospección y seguimiento de la especie plaga *D. geminata*

A continuación se presentan los resultados respecto de la presencia y/o ausencia de *D. geminata* en el área de estudio. Las Tabla 9-1 y Tabla 9-2 exponen el número total de estaciones monitoreadas por región y el número con presencia (+) y/o ausencia (-) de la plaga.

Cabe destacar que para cada estación de muestreo con presencia de *D. geminata* se realizó un registro fotográfico el que se encuentra en el Anexo 8.

Región de Aysén

Se muestreo un total de 33 estaciones en la campaña primavera-verano, de las cuales 16 resultaron positivas para *D. geminata* (Tabla 9-1). Por el contrario, en otoño la región presentó 15 estaciones positivas para la plaga (Tabla 9-2).

Los ríos infectados en esta región son los siguientes: Bravo, Cisnes, Estero Pedregoso, Aysén, Nirehuao, Norte, Arroyo Cea, La Paloma, Coyhaique, Pollux, Simpson, Baker, Chacabuco, Cochrane, Jeinimeni, Estero el Barvo, Figueroa y Pico (Tabla 9-3; Figura 9-1).

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

Región Los Lagos

Se muestreo un total de 18 estaciones en la campaña primavera-verano, de las cuales 7 resultaron positivas para *D. geminata* (Tabla 9-1). En otoño la región presentó el mismo número de estaciones positivas para la plaga (Tabla 9-2).

Los ríos infectados en esta región son los siguientes: Palena, Puelo, Quebrada sin nombre (según DGA) que corresponde a la estación Futaleufu _010, Espolón y Futaleufu (Tabla 9-3; Figura 9-2).

Región Los Ríos

Se muestreo un total de 30 estaciones en la campaña primavera-verano, de las cuales 10 resultaron psoitivas para *D. geminata* (Tabla 9-1). En otoño fueron muestreadas 29 estaciones a consecuencia de que la estación Fuy_20 perteneciente al Estero Quebrada Onda se encontró sin agua (Tabla 9-2). Cabe destacar que la región de Los Ríos presentó una notable disminución de estaciones de muestreo positivas para *D. geminata* durante el muestreo de otoño.

Los ríos infectados en esta región son los siguientes: Caunahue, Currine, Florin, Pillanleufu, Enco, San Pedro, Fuy, Huahum, Llanquihue (Tabla 9-3; Figura 9-3).

Región Araucanía

Se muestreo un total de 15 estaciones en la campaña primavera-verano, de las cuales 3 resultaron positivas para *D. geminata* (Tabla 9-1). Por el contrario, en otoño la región presentó 5 estaciones positivas para la plaga (Tabla 9-2). Se observó un incremento de estaciones con *D. geminata* respecto de la campaña primavera-verano.

Los ríos infectados en esta región son los siguientes: Biobio, Lonquimay y Cautin (Tabla 9-3; Figura 9-4).

Región Biobío

En la campaña de muestreo de primavera-verano la región del Biobío concentró un total de 4 estaciones, de las cuales ninguna presentó *D. geminata*. (Tabla 9-1). En cambio, en la campaña de otoño en el río Biobío (estación Biobio_110) fue detectada *D. geminata* (Tabla 9-3; Figura 9-5).

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

Tabla 9-1. Número de estaciones con presencia y/o ausencia de *D. geminata* durante muestreo de primavera-verano.

Región	(+) *D. geminata*	(-) *D. geminata*	Total
Aysén	16	17	33
Los Lagos	7	11	18
Los Ríos	10	20	30
Araucanía	3	12	15
Biobío	0	4	4
Total	**36**	**64**	**100**

Fuente: Elaboración Propia.

Tabla 9-2. Número de estaciones con presencia y/o ausencia de *D. geminata* durante muestreo de otoño.

Región	(+) *D. geminata*	(-) *D. geminata*	Total
Aysén	15	18	33
Los Lagos	7	11	18
Los Ríos	2	27	29
Araucanía	5	10	15
Biobío	1	4	5
Total	**30**	**70**	**100**

Fuente: Elaboración Propia.

En concreto, 35 ríos exhibieron presencia de *D. geminata* en la comunidad de microalgas bentónicas en ambas o en alguna de las campañas de muestreo ejecutadas. Se identificaron cinco estaciones que no habían evidenciado presencia de la plaga en monitoreos previos. No obstante, en estas cinco estacion *D. geminata* fue hallada solo a nivel celular sin formación de pedúnculo o mucosidad.

1) Río bravo (Bravo_010): estación ubicada en la región de Aysén, presento *D. geminata* solo durante el muestreo de primavera verano, y resulto negativa en el muestreo realizado en otoño.

2) Estero el Bravo (Risopatron_008): estación ubicada en la región de Aysén, presento *D. geminata* solo durante el muestreo de otoño, y resulto negativa en el muestreo realizado en primavera verano.

3) Río Caunahue (Caunahue_020): estación ubicada en la región de Los Ríos, presento *D. geminata* durante el muestreo de primavera verano, y resulto negativa en el muestreo realizado en otoño.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

4) Río Liucura (Liucura_Biobio_020): estación ubicada en la región de la Araucanía, presento *D. geminata* durante el muestreo de otoño, y resulto negativa en el muestreo realizado en primavera verano.

5) Río Cautín (Cautin_010): estación ubicada en la región de la Araucanía, presentó *D. geminata* durante el muestreo de otoño, y resulto negativa en el muestreo realizado en primavera verano.

Tabla 9-3. Estaciones de muestreo con presencia (SI) y/o ausencia (NO) de *D. geminata* en el bentos y en el plancton de ambas campañas de monitoreo. Presencia booms algal (SI*).

Región	Cuenca	Río	Estación	*D. geminata* (P-V)		*D. geminata* (O)	
				D. geminata bentos	*D. geminata* plancton	*D. geminata* bentos	*D. geminata* plancton
Aysén	Costeras e Islas entre R. Baker y R. Pascua	Bravo	Bravo_010	SI	NO	NO	NO
		Resbalón	Bravo_020	NO	NO	NO	NO
	Costeras e Islas entre R. Palena y R. Aysén	Cisnes	Cisnes_020	SI	SI	SI*	SI
			Cisnes_060	NO	SI	SI	NO
		Grande	Grande_E_010	NO	NO	NO	NO
			Grande_O_010	NO	NO	NO	NO
		Rodríguez	Rodriguez_010	NO	NO	NO	NO
	R. Aysén	Pangal	Pangal_010	NO	NO	NO	NO
		Estero Pedregoso	Pedregoso_Aysen_010	SI	SI	SI*	SI
		Aysén	Aysen_050	SI	SI	SI*	SI
		Nirehuao	Nirehuao_020	SI*	SI	SI	SI
		Norte	Norte_010	SI*	SI	NO	SI
		Desagüe Laguna La Paloma	D_L_Paloma_020	NO	NO	NO	NO
		Arroyo Cea	Arroyo_Cea_010	SI*	NO	NO	NO
		La Paloma	La_Paloma_030	NO	SI	SI	NO
		Coyhaique	Coyhaique_010	SI*	SI	SI	SI
		Pollux	Pollux_010	SI*	SI	NO	SI
		Simpson	Simpson_010	SI	SI	SI	SI
	R. Baker	Baker	Baker_060	SI	SI	SI	SI
		Río de los Nadis	De_Los_Nadis_010	NO	NO	NO	NO
		Chacabuco	Chacabuco_050	NO	SI	SI	SI
		Cochrane	Cochrane_010	SI*	SI	SI*	SI
			Cochrane_020	SI	SI	SI	SI
		Jeinimeni	Jeinimeni_010	SI	SI	SI	SI
	R. Palena y Costeras Limite Décima Región	Estero El Bravo	Risopatron_008	NO	NO	SI	SI
		Palena	Palena_090	NO	NO	NO	SI
			Palena_100	NO	NO	NO	NO
		Risopatron	Risopatron_019	NO	NO	NO	SI
		Figueroa	Figueroa_020	SI	SI	NO	SI
		Pico	Pico_020	SI*	SI	SI*	SI
		Rosselot	Rosselot_010	NO	NO	NO	NO
			Rosselot_030	NO	SI	NO	NO
	R.Pascua	Desagüe Lago Cisnes	D_L_Cisnes_010	NO	NO	NO	NO

Región	Cuenca	Río	Estación	*D. geminata* (P-V)		*D. geminata* (O)	
				D. geminata bentos	*D. geminata* plancton	*D. geminata* bentos	*D. geminata* plancton
Los Lagos	Cuencas e Islas entre R. Bueno y R. Puelo	Cochamo	Cochamo_030	NO	NO	NO	NO
		Huenuhuenu	Huenu_Huenu_012	NO	NO	NO	NO
		Patas	Patas_010	NO	NO	NO	NO
		Petrohue	Petrohue_010	NO	NO	NO	NO
	R. Bueno	Forrahue	Forrahue_080	NO	NO	NO	NO
		Rahue	Rahue_010	NO	NO	NO	NO
	R. Palena y Costeras Limite Decima Región	Palena	Palena_050	SI	SI	SI*	SI
	R. Puelo	Estero Correntoso	Est_Correntoso_090	NO	NO	NO	NO
		Puelo	Puelo_020	SI*	SI	SI*	SI
			Puelo_040	SI*	SI	SI*	SI
		Apertura	Apertura_010	NO	NO	NO	NO
	R. Yelcho	Quebrada sin nombre	Futaleufu_010	SI	SI	SI	SI
		Espolón	Bellavista_020	SI*	SI	SI*	SI
			Espolon_010	SI*	SI	SI*	SI
		Futaleufu	Futaleufu_080	SI*	SI	SI*	SI
		Amarillo	Amarillo_020	NO	NO	NO	NO
		Yelcho	Yelcho_010	NO	NO	NO	NO
			Yelcho_030	NO	NO	NO	NO
Los Ríos	R. Bueno	Caunahue	Caunahue_020	SI	SI	NO	SI
		Curinilahue	Curinilahue_030	NO	NO	NO	NO
		Currine	Currine_010	NO	NO	NO	NO
			Currine_020	SI*	SI	SI*	SI
		Florin	Florin_020	SI*	SI	NO	SI
		Pillanleufu	Pillanleufu_010	NO	NO	NO	NO
			Pillanleufu_020	SI	SI	NO	SI
		Bueno	Bueno_020	NO	NO	NO	NO
		Golgol	Golgol_019	NO	NO	NO	NO
	R. Valdivia	Collileufu	Collileufu_100	NO	NO	NO	NO
		Quinchilca	Quinchilca_040	NO	NO	NO	NO
		Cruces	Cruces_010	NO	NO	NO	NO
		Putregal	Putrega_010	NO	NO	NO	NO
		Blanco	Blanco_Enco_020	NO	NO	NO	NO
		Enco	Enco_020	SI	SI	NO	SI

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

Región	Cuenca	Río	Estacion	*D. geminata* (P-V)		*D. geminata* (O)	
				D. geminata bentos	*D. geminata* plancton	*D. geminata* bentos	*D. geminata* plancton
Los Ríos	R.Valdivia	Manio	Manio_030	NO	NO	NO	NO
		Quinchilca	Quinchilca_010	NO	NO	NO	NO
		Remehue	Remehue_020	NO	NO	NO	NO
		San Pedro	San_Pedro_030	SI	SI	NO	NO
		Desagüe Lago Neltume	Neltume_020	NO	NO	NO	NO
		Estero Quebrada Onda	Fuy_020	NO	SI	Sin muestreo	Sin muestreo
		Cuacua	Cuacua_010	NO	NO	NO	NO
		Fuy	Fuy_030	SI*	SI	NO	NO
		Huahum	Huahum_020	SI*	SI	SI*	SI
		Liquine	Liquine_030	NO	NO	NO	NO
		Llancahue	Llancahue_010	NO	NO	NO	NO
		Llanquihue	Llanquihue_010	SI*	SI	NO	NO
			Llanquihue_030	SI*	SI	NO	NO
		Rio Los Nadis	Huenehue_020	NO	NO	NO	NO
		Zahuil	Zahuil_020	NO	NO	NO	NO
Araucanía	R.Biobío	Biobío	Biobio_020	SI*	SI	SI*	SI
			Biobio_050	SI*	SI	SI*	SI
		Liucura	Liucura_Biobio_020	NO	NO	SI	NO
		Lonquimay	Lonquimay_010	SI*	SI	SI*	SI
		Ranquil	Ranquil_020	NO	SI	NO	NO
		Mininco	Mininco_090	NO	NO	NO	NO
		Renaico	Renaico_070	NO	SI	NO	NO
	R.Imperial	Cautín	Cautin_010	NO	SI	SI	SI
		Calbuco	Quepe_010	NO	NO	NO	NO
		Quepe	Quepe_009	NO	NO	NO	NO
	R.Tolten	Voipir	Voipir_060	NO	NO	NO	NO
		Allipen	Allipen_030	NO	SI	NO	NO
		Claro	Claro_010	NO	NO	NO	NO
		Liucura	Liucura_Tolten _020	NO	SI	NO	NO
		Pucón	Pucon_020	NO	NO	NO	SI
Biobío	R. Biobío	Biobío	Biobio_110	NO	SI	SI	SI
			Biobio_120	NO	SI	NO	NO
		Laja	Laja_010	NO	NO	NO	NO
	R.Itata	Diguillin	Diguillin_A	Sin muestreo	Sin muestreo	NO	NO
		Chillan	Chillan_040	NO	NO	NO	NO

Fuente: Elaboración Propia.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

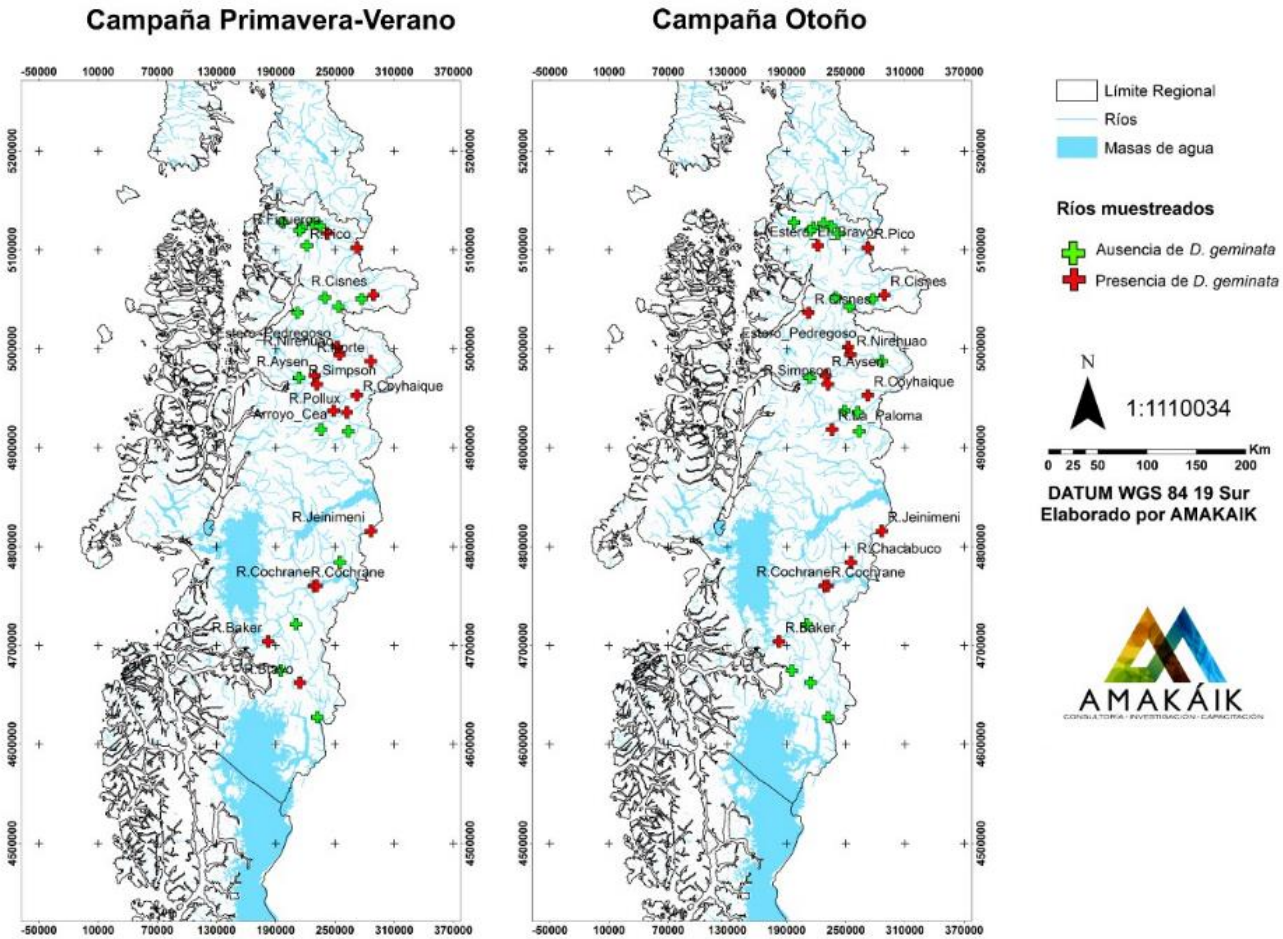


Figura 9-1. Presencia de *D. geminata* (puntos color rojo), ausencia (puntos verdes) en la Región de Aysén.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

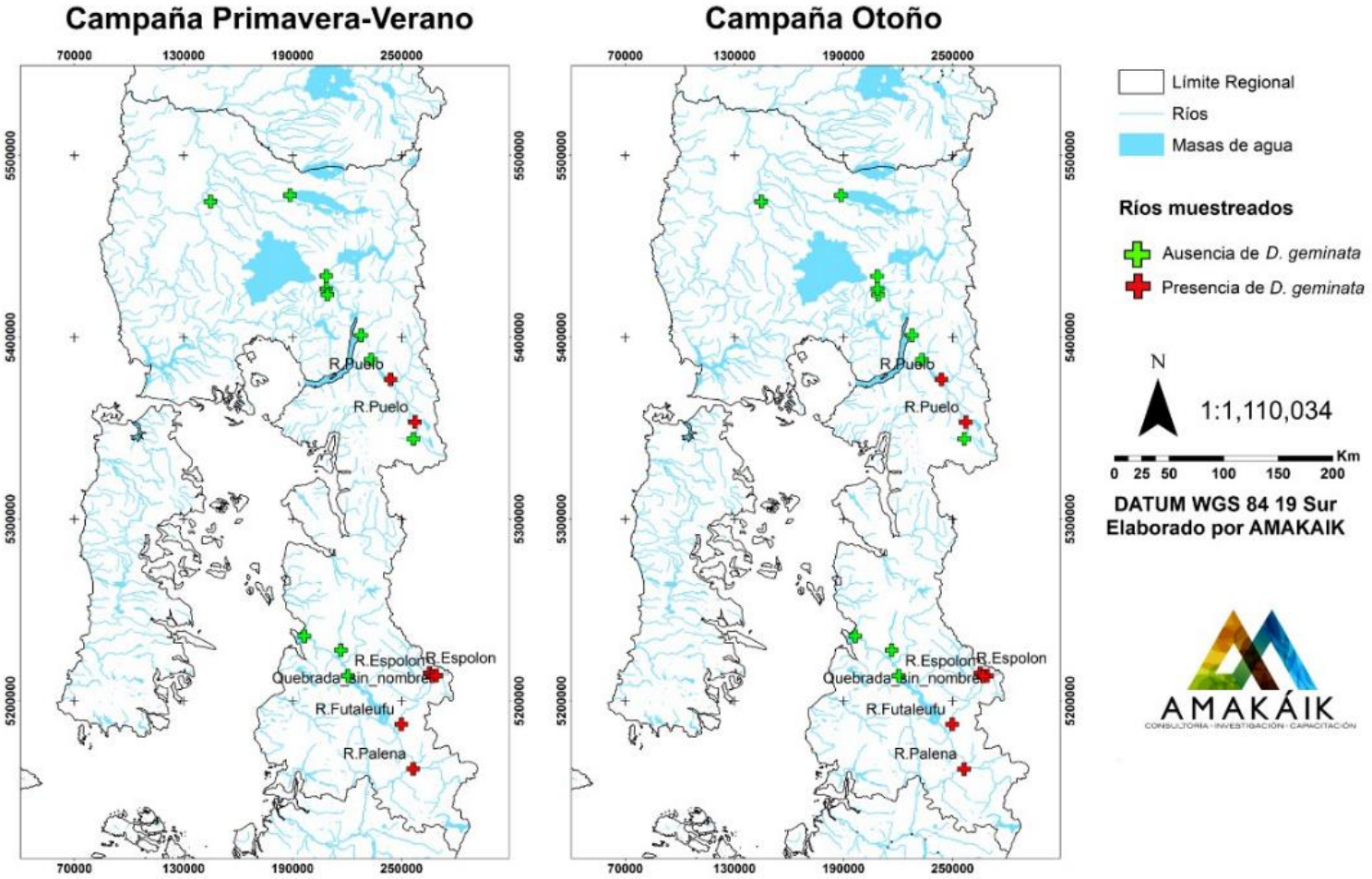


Figura 9-2. Presencia de *D. geminata* (puntos color rojo), ausencia (puntos verdes) en la Región de Los Lagos.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

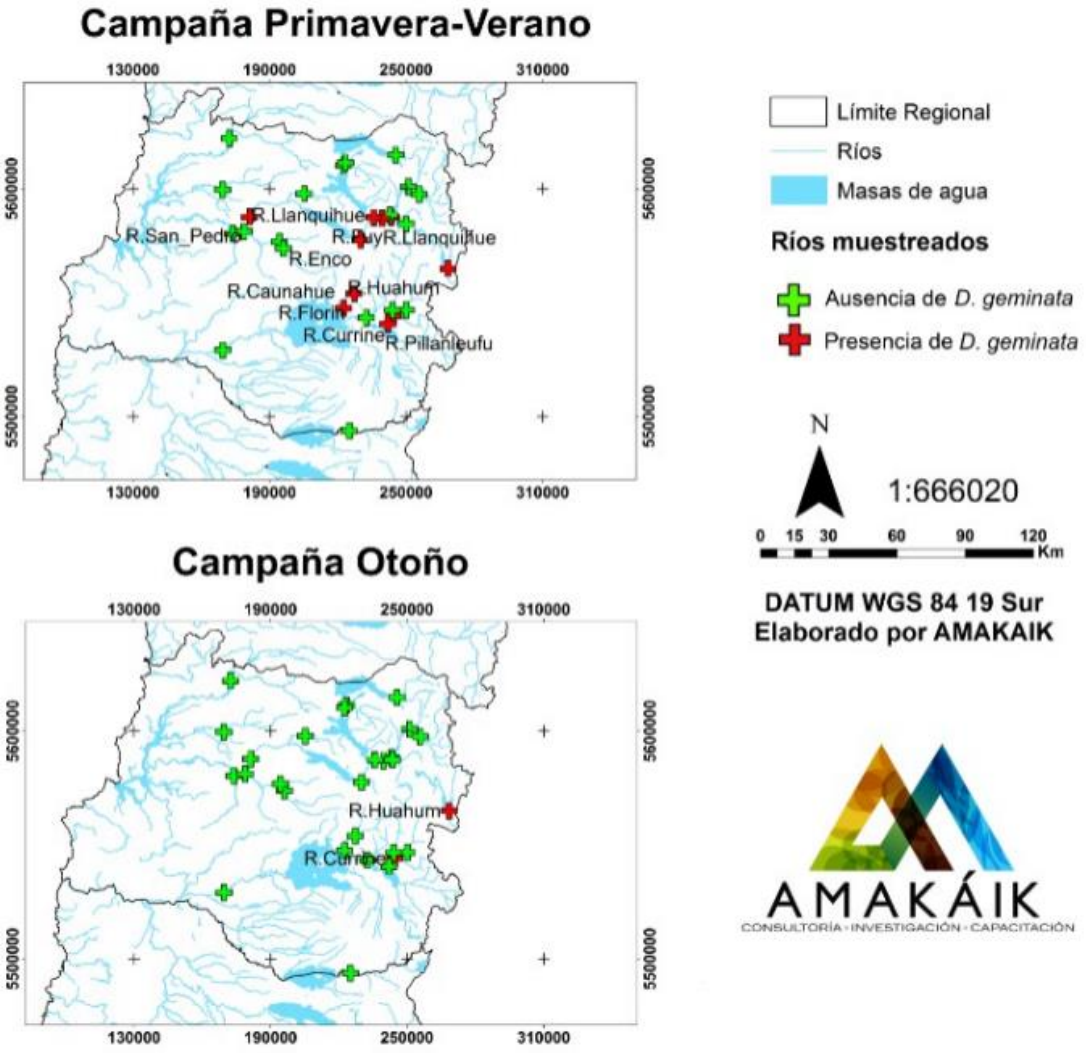


Figura 9-3. Presencia de *D. geminata* (puntos color rojo), ausencia (puntos verdes) en la Región de Los Ríos.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

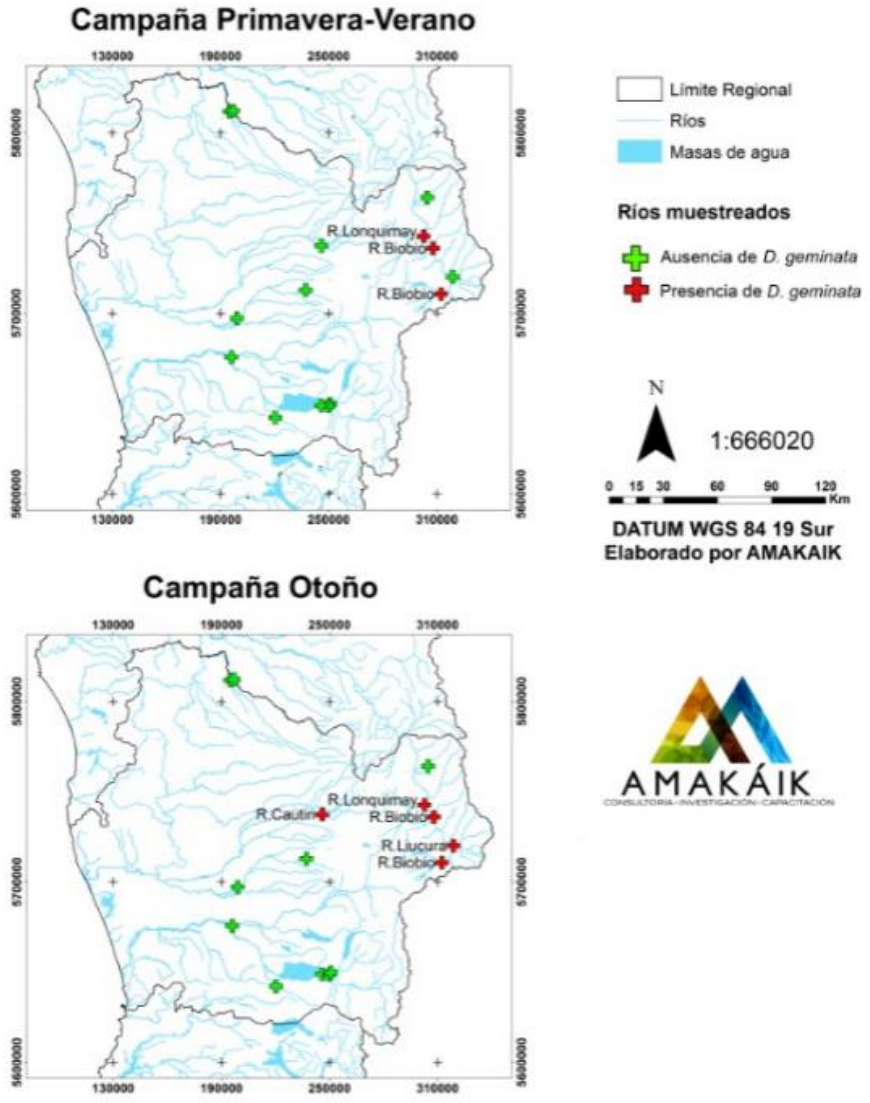


Figura 9-4. Presencia de *D. geminata* (puntos color rojo), ausencia (puntos verdes) en la Región de Araucanía.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

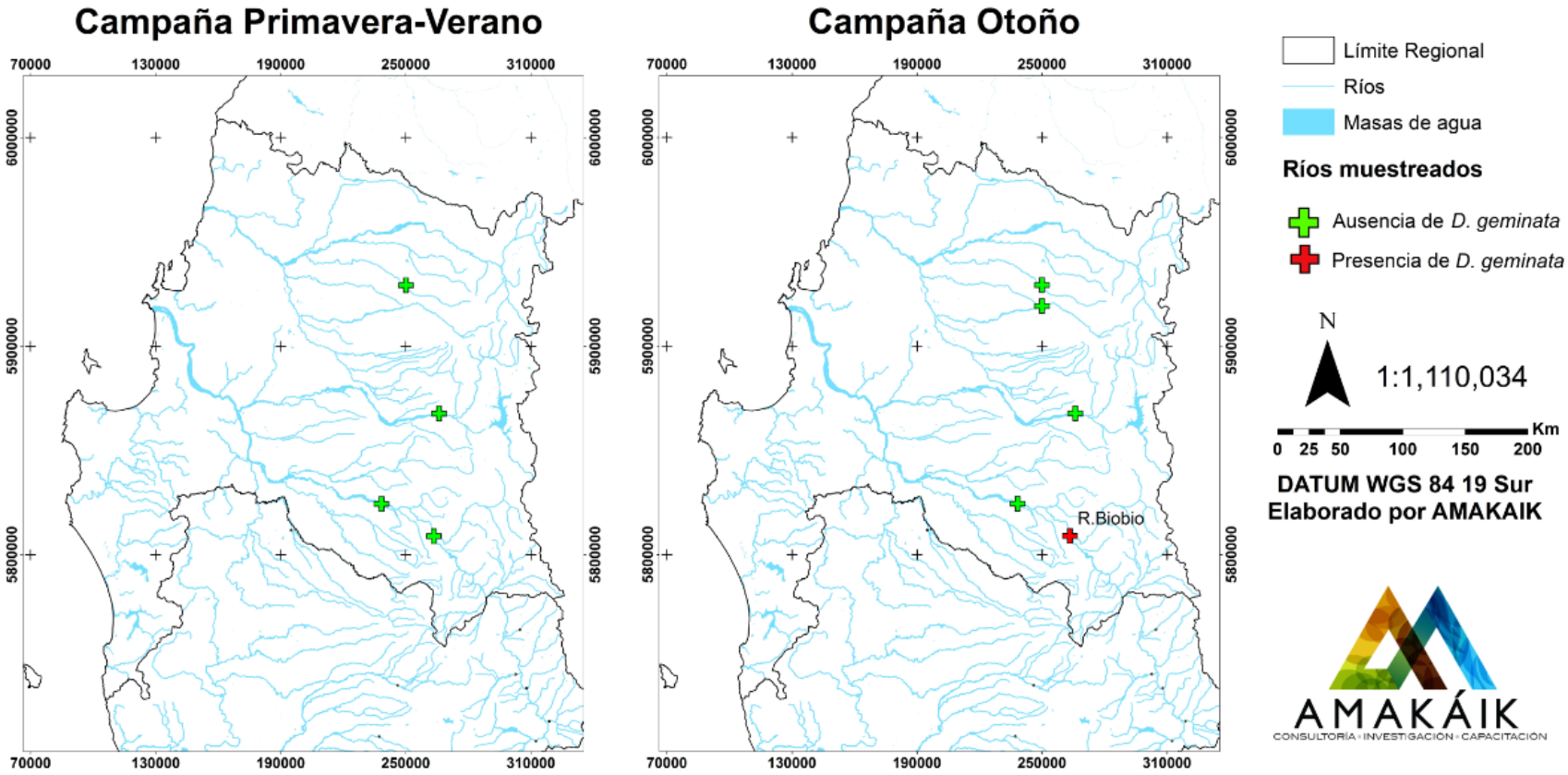


Figura 9-5. Presencia de *D. geminata* (puntos color rojo), ausencia (puntos verdes) en la Región de Biobío.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

9.1.1 Campañas de muestreo y estaciones extras

En la primera campaña ejecutada en el periodo de primavera 2015 y verano 2016 se muestrearon 106 estaciones, 100 de ellas comprometidas con la contraparte técnica, y 6 estaciones adicionales. En la segunda campaña realizada en otoño 2016 se muestrearon 102 estaciones, las 100 estaciones comprometidas y dos estaciones extras.

Las estaciones extras cuentan con información taxonómica de la comunidad perifitica y con la muestra de diagnóstico de fitoplancton, sin embargo, no contienen parámetros fisicoquímicos ni variables hidráulicas y químicas de laboratorio. Su prospección se realizó con el objeto de acotar el área de influencia de la plaga. Sin embargo, debido a que no se muestrearon las mismas estaciones adicionales en ambas campaña se dejaron fuera de los análisis.

En la Tabla 9-4 se observa todas las estaciones adicionales y si presentaron o no *D. geminata* en el bentos.

Tabla 9-4. Estaciones extras realizadas en las campañas primavera verano (p-v) y otoño (o).

Región	Cuenca	Río	Estación	Época muestreo	Tipo de muestreo	Este	Norte	*D. geminata* bentos
Aysén	Aysén	Nirehuao	Nirehuao_T	o	Extra	287418	4983515	SI
	Aysén	Coyhaique	Coyhaique_004	p-v	Extra	286228	4956846	SI
Los Lagos	Yelcho	Espolón	Espolon_T	o	Extra	264545	5214645	SI
Araucanía	Tolten	Allipen	Allipen_012	p-v	Extra	218859	5675419	NO
	Tolten	Liucura	Liucura_Tolten_015	p-v	Extra	256118	5650511	NO
	Imperial	Cautín	Cautin_009	p-v	Extra	253480	5736063	NO
	Biobío	Biobío	Biobio_010	p-v	Extra	307379	5713351	SI
	Biobio	Ranquil	Ranquil_008	p-v	Extra	305312	5765088	NO

Fuente: Elaboración Propia

9.1.2 Parámetros físicos y químicos *in situ*, variables químicas de laboratorio e hidraulicas

A continuación se describen los resultados de los boxplot de: parámetros *in situ*, variables químicas del agua y variables hidráulicas, obtenidas en este estudio. Dentro de los parámetros *in situ* se incorporó la altitud geográfica. Cada parámetro o variable se analizó de tres formas, la primera entre periodos estacionales, luego entre regiones, y por ultimo entre estaciones con presencia y/o ausencia de *D. geminata*.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

Los resultados de los analitos químicos entregados por el laboratorio (ANAM) de ambas campañas de muestreo se encuentran en los Anexo 9 y Anexo 10.

9.1.2.1 Parametros *in situ*

Temperatura

La temperatura del agua presentó diferencias significativas ($p<0.05$), entre los periodos primavera-verano y otoño, con un promedio de 14.71 y 9.88 °C respectivamente.

Entre las regiones Biobío a Los Lagos, no se presentaron diferencias estadísticas entre sí ($p>0.05$). No obstante, se detectaron diferencias estadísticas significativas ($p<0.05$), entre la región de Aysén y el resto de las regiones a excepción de la región de la Araucania.

Las estaciones con presencia y ausencia de *D. geminata*, no se registraron diferencias estadísticas en relación a la temperatura (°C), con un promedio de 12.15 y 12.37 °C respectivamente (Figura 9-6).

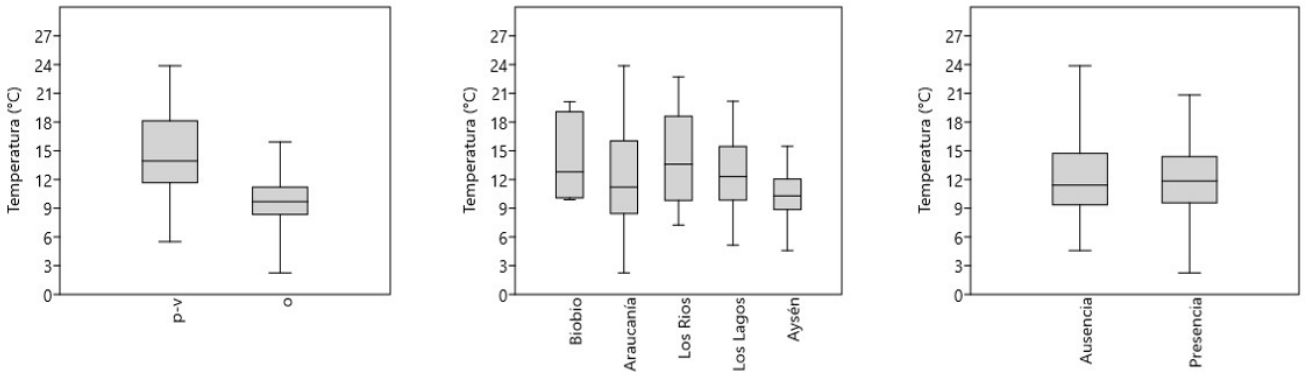


Figura 9-6. Boxplots de Temperatura; análisis por periodos primavera-verano y otoño; entre regiónes y en presencia y ausencia de *D. geminata*.

pH

El pH presentó diferencias estadísticas significativas entre los periodos estacionales ($p<0.05$), con valores en promedio mayores en otoño que en primavera-verano, siendo estos de 7.57 y 7.35 respectivamente.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

Respecto a las regiones, no se evidenciaron diferencias estadísticas significativas (p>0.05), con valores minimo promedio de 7.38 en la región del Biobío, y un máximo promedio de 7.58 en la región de Los Ríos.

Las estaciones con presencia y ausencia de *D. geminata* evidenciaron diferencias estadísticas significativas (p<0.05), con un promedio de 7.59 y 7.39 espectivamente (Figura 9-7).Cabe destacar que en general los valores detectados fueron cercanos a neutros con una leve tendencia a la alcalinidad.

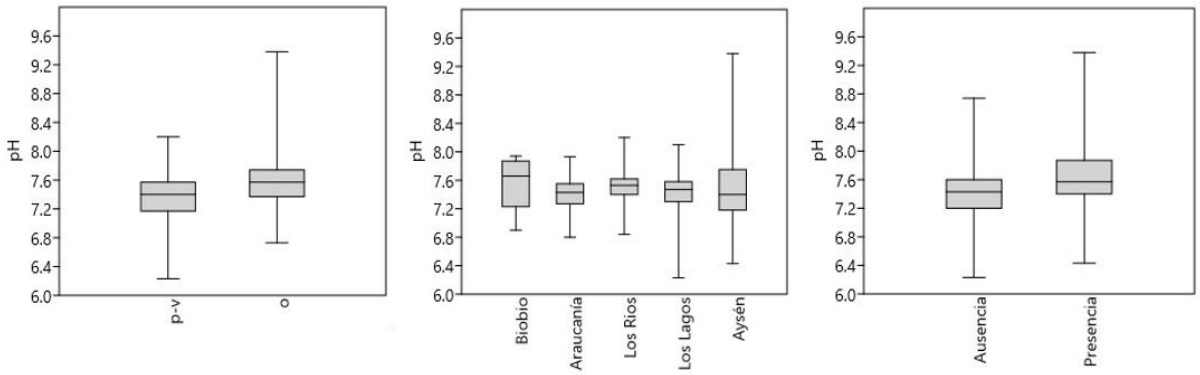


Figura 9-7. Boxplots de pH; análisis por periodos primavera-verano y otoño; entre regiónes y en presencia y ausencia de *D. geminata*.

Conductividad Electrica

La conductividad eléctrica presentó diferencias estadísticas significativas entre los periodos estacionales (p<0.05), con promedios de 103.70 y 69.99 uS/cm respectivamente.

Entre regiones se observó que la región del Biobío evidenció diferencias estadísticas con el resto de regiones, con excepción de la región de Los Lagos (p>0.05). La región del Biobío evidenció la mayor conductividad media (130.33 uS/cm); mientras que la región de Aysén registró la menor conductividad (73.72 uS/cm).

Las estaciones con presencia y ausencia de *D.geminata* no evidenciaron diferencias estadísticas significativas (p>0.05), con promedio de 92.83 y 83.90 uS/cm respectivamente (Figura 9-8).

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

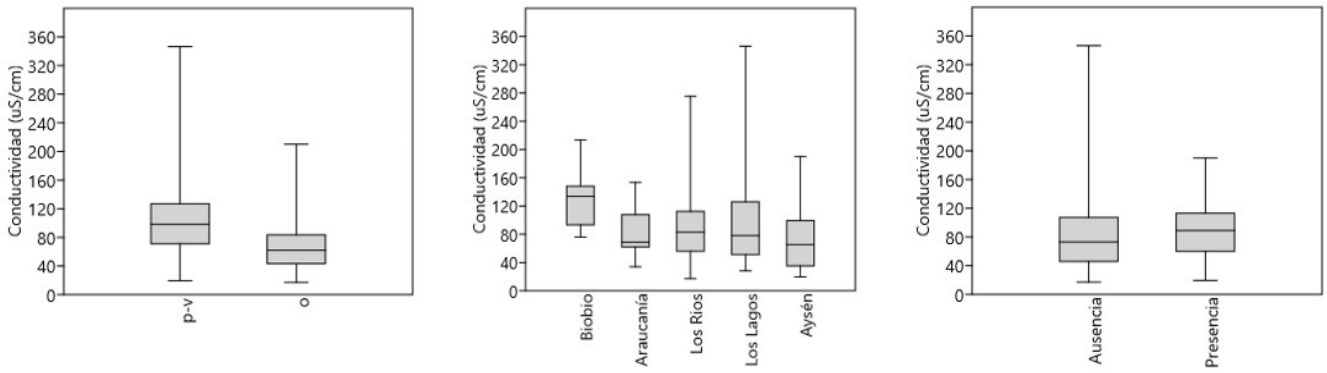


Figura 9-8. Boxplots de Conductividad; análisis por periodos primavera-verano y otoño; entre regiónes y en presencia y ausencia de *D. geminata*.

Oxígeno disuelto

El oxígeno disuelto no evidenció diferencias estadísticas significativas entre los periodos estacionales (p>0.05) con promedios de 8.15 y 8.35 mg/L respectivamente.

El analisis entre las regiones del Biobio, Araucanía, Los Ríos y Los Lagos no se evidenció diferencia estadística (p>0.05), promediando un mínimo de 7,03 mg/L y un máximo de 8.52 mg/L. Por otra parte la región de Aysen presentó diferencia estadística (p<0.05), respecto a las regiones anteriormente mencionadas promediando 8,93 mg/L.

En relación a las estaciones con presencia y ausencia de *D.geminata* no fue evidenciada diferencia estadística para oxígeno disuelto (p>0.05), con un promedio de 8.31 y 8.22 mg/L respectivamente (Figura 9-9). En general los niveles de oxígeno disuelto son óptimos para sostener la vida de organismos acuáticos.

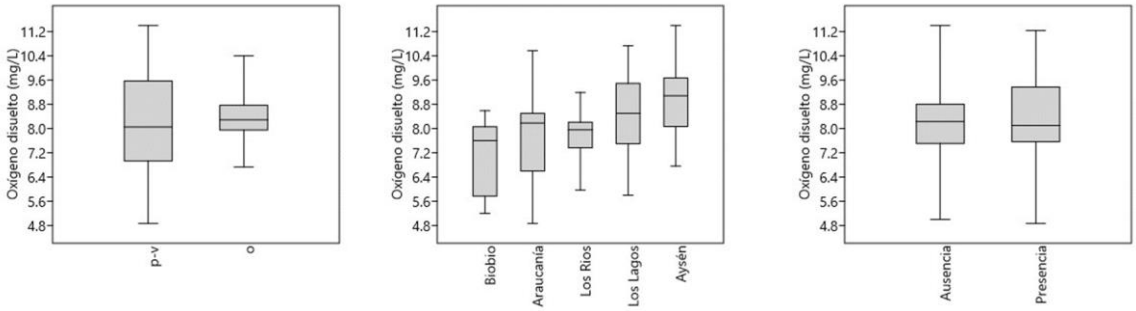


Figura 9-9.Boxplots de Oxígeno Disuelto; análisis por periodos primavera-verano y otoño; entre regiónes y en presencia y ausencia de *D. geminata*.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

Saturación de oxígeno

En relación a la saturación de oxígeno se evidenció diferencias estadísticas entre los periodos estacionales ($p<0.05$), con promedios de 81.13% y 75.59 % respectivamente.

Las regiones del Biobío a Los Lagos no evidenciaron diferencia estadística entre sí para saturación de oxígeno ($p>0.05$), con una mínima media de 70.17 % en Biobío y una máxima media de 80.87 % en Los Lagos. Estas regiones evidenciaron diferencia estadística con la región de Aysén ($p<0.05$), la cual presentó un promedio de 81.96 %.

Respecto a las estaciones con presencia y ausencia de *D.geminata*, no fue evidenciada diferencia estadística para saturación de oxígeno ($p>0.05$), con una media de 79.32 y 77.88 % respectivamente (Figura 9-10). Los niveles de saturación indican aguas de buena calidad para la vida acuática.

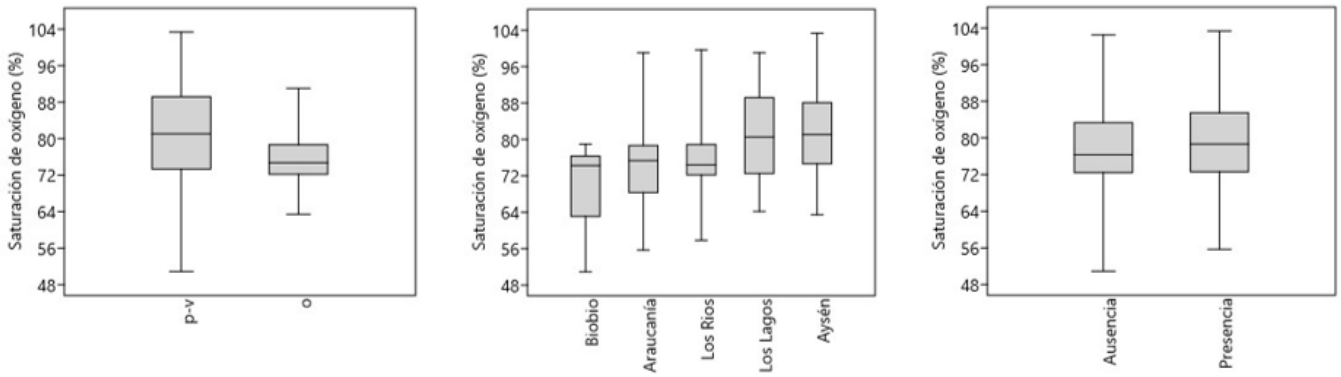


Figura 9-10. Boxplots de Saturación de Oxígeno; análisis por periodos primavera-verano y otoño; entre regiónes y en presencia y ausencia de *D. geminata*.

Turbidez

La turbidez no presentó diferencias estadísticas significativas entre los periodos estacionales ($p>0.05$), con promedios de 6.23 y 8.89 NTU respectivamente.

Las regiones analizadas tampoco presentaron diferencia estadística significativa respecto a turbidez ($p>0.05$), con un promedio mínimo en la región del Biobío con 2.86 NTU y una turbidez media máxima de 15.91 NTU en la región de Los Lagos.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

Respecto a la presencia y ausencia de *D.geminata*, no fue evidenciada diferencia estadística significativa para turbidez (p>0.05), con una media de 3.22 y 9.67 NTU respectivamente (Figura 9-11). Los valores bajo en turbidez indican aguas con baja concentración en sólidos suspendidos indicando aguas de buena calidad.

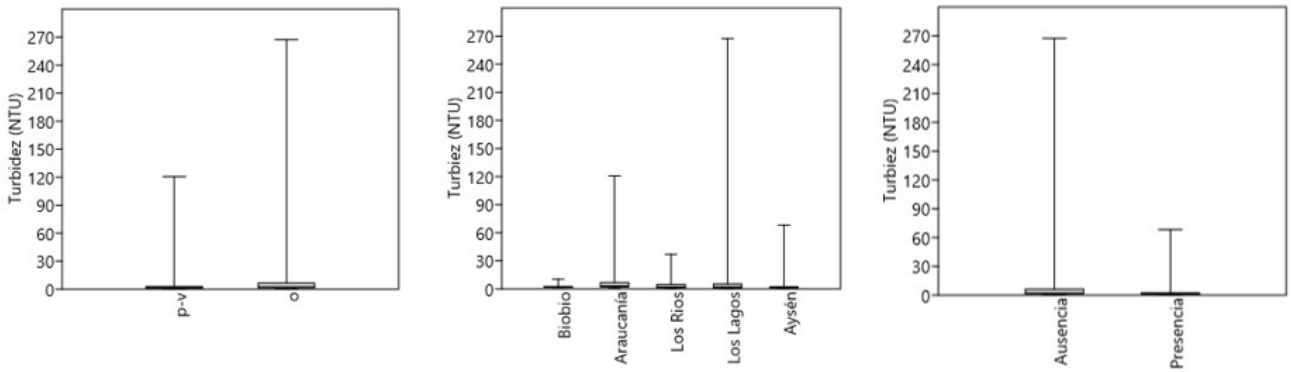


Figura 9-11. Boxplots de Turbidez; análisis por periodos primavera-verano y otoño; entre regiónes y en presencia y ausencia de *D. geminata*.

Altitud

En relación a la altitud se evidenció diferencias estadísticas significativas respecto a regiones de análisis (p<0.05), con valores promedio de altitud de 358.11, 485.20, 159.95, 101.33 y 202.79 msnm para las regiones Biobío, Araucanía, Los Ríos, Los Lagos y Aysén respectivamente. Mientras que para la presencia y ausencia de *D.geminata* se evidenció diferencia estadística significativa respecto a la altitud (p<0.05), con un promedio de 300.30 y 182.29 msnm respectivamente (Figura 9-12).

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

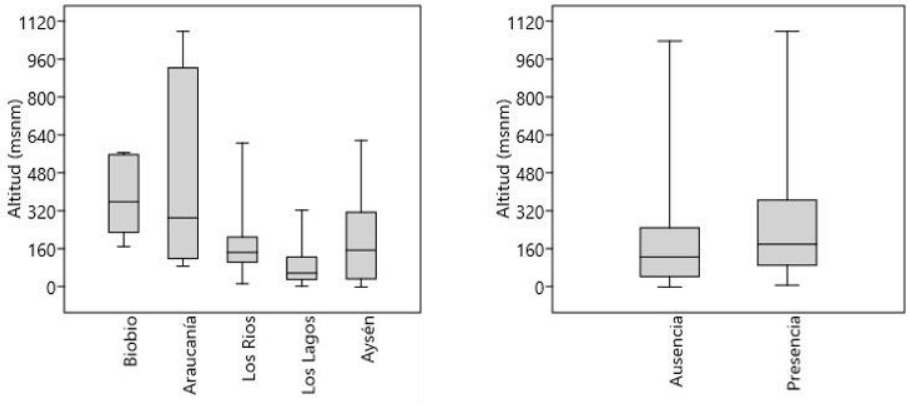


Figura 9-12. Boxplots de altitud; análisis por región y presencia y ausencia de *D. geminata*.

9.1.2.2 Variables químicas de laboratorio

Nitrato (NO3)

En relación a la concentración de nitrato no se observó diferencia estadística significativa entre periodos estacionales (p>0.05), con un promedio de 0.12 y 0.51 mg/L respectivamente.

Entre regiones se observó que la concentración de nitrato no evidenció diferencia estadística significativa (p>0.05), con una concentración promedio mínima de 0.07 mg/L en la región de los Ríos y una concentración promedio máxima en la región del Biobío con 0.69 mg/L.

Respecto a presencia y ausencia de *D.geminata*, no fue evidenciada diferencia estadística (p>0.05), con promedios que fluctuaron entre los 0.19 y 0.38 mg/L respectivamente (Figura 9-13).

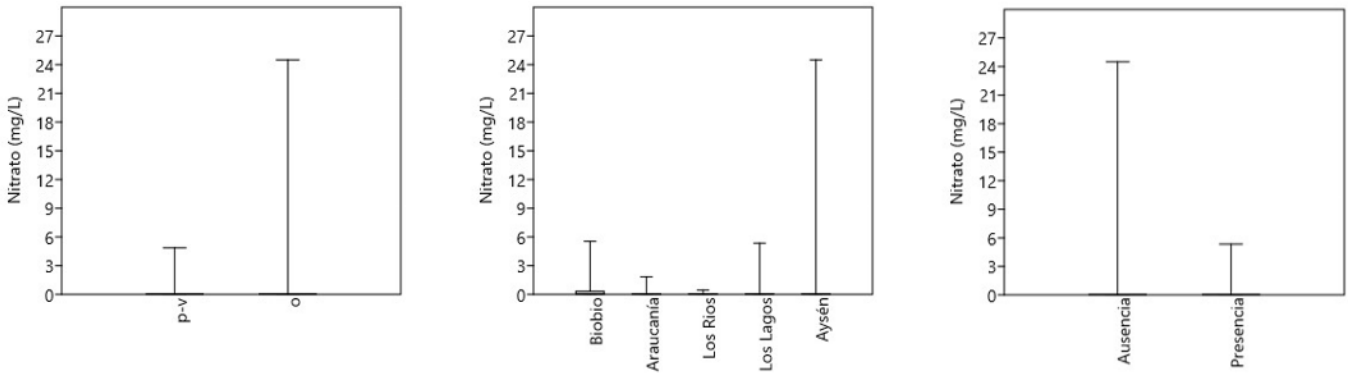


Figura 9-13. Boxplots de Nitrato; análisis por periodos primavera-verano y otoño; entre regiónes y en presencia y ausencia de *D. geminata*.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

Nitrito (NO_2)

Para el nitrito no se evidenció diferencia estadística significativa entre periodos estacionales (p>0.05), con un promedio entre 0.09 y 0.09 mg/L respectivamente.

En relación al análisis por región no se evidenció diferencia estadística significativa (p>0.05), con una concentración media de 0.09 mg/L.

Respecto a la presencia y ausencia de *D.geminata*, no fue registrada diferencia estadística (p>0.05), con un promedio en las concenraciones de 0,09 mg/L (

Figura 9-14).Las bajas concentraciones de nitrito revelaron aguas libres de contaminación, en general aguas de buena calidad.

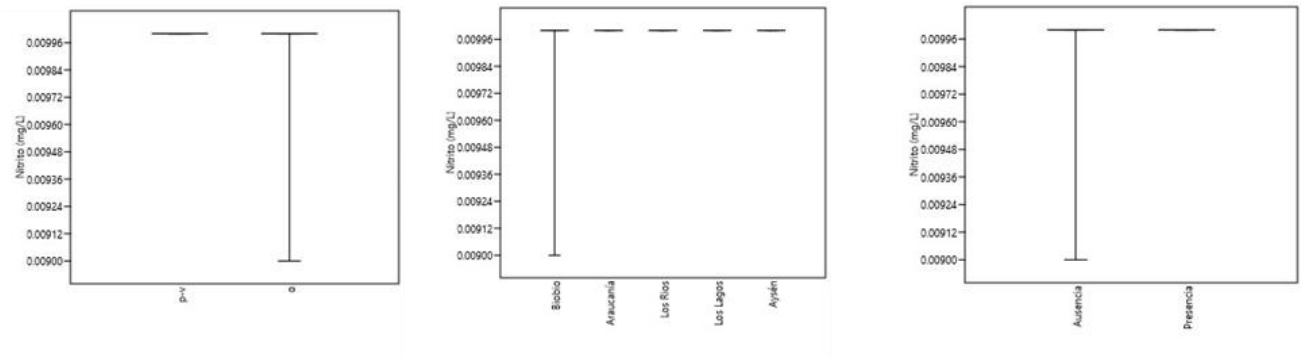


Figura 9-14. Boxplots de Nitrito; análisis por periodos primavera-verano y otoño; entre regiónes y en presencia y ausencia de *D. geminata*.

Nitrógeno amoniacal (NH_4^+)

Para el nitrógeno amoniacal no se evidenció diferencia estadística significativa entre periodos estacionales (p>0.05), un promedio que fluctua entre los 0.02 y 0.03 mg/L respectivamente.

Por otra parte en el análisis por regiones no se evidenció diferencia estadística significativa (p>0.05), con una concentración promedio mínima de 0.02 mg/L en todas las regiones excepto Los Lagos, la cual presentó una concentración de nitrógeno amoniacal promedio de 0.04 mg/L.

Respecto a la presencia y ausencia de *D.geminata*, no fue registrada diferencia estadística (p>0.05), con valores promedios que fluctúan entre los 0.03 y 0.02 mg/L respectivamente (Figura 9-15).

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

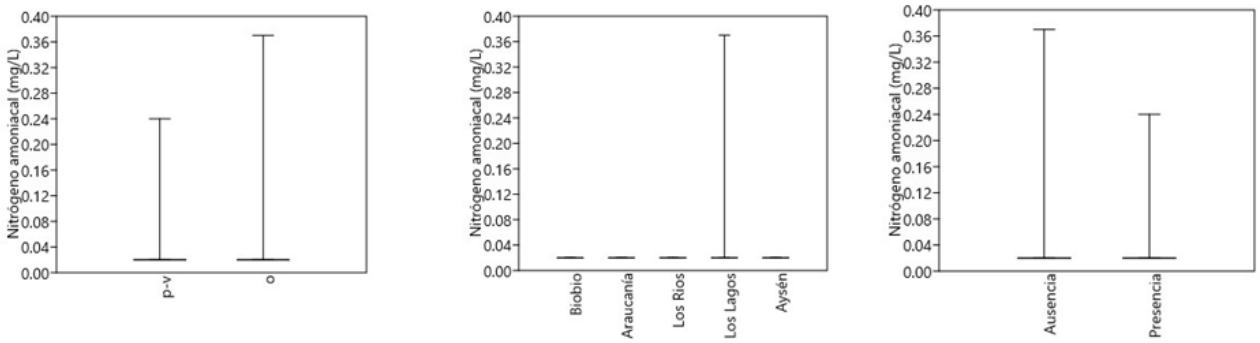


Figura 9-15. Boxplots de Nitrógeno Amoniacal; análisis por periodos primavera-verano y otoño; entre regiónes y en presencia y ausencia de *D. geminata*.

Nitrógeno orgánico disuelto

En relación a la determinación de nitrógeno orgánico presentó diferencia estadística significativa ($p<0.05$), entre los periodos estacionales con una media de 1.97 y 2.25 mg/L respectivamente.

Por otra parte no se evidenció diferencia estadística significativa ($p>0.05$), entre regiones con una concentración promedio mínima de 1.81 mg/L en la región de los Lagos y una concentración promedio máxima en la región de los Ríos con 2.27 mg/L.

Respecto a la presencia y ausencia de *D.geminata*, no fue evidenciada diferencia estadística según concentración de nitrógeno orgánico ($p>0.05$), con promedios que fluctuaron entre los 1.99 y 2.16 mg/L respectivamente (Figura 9-16).

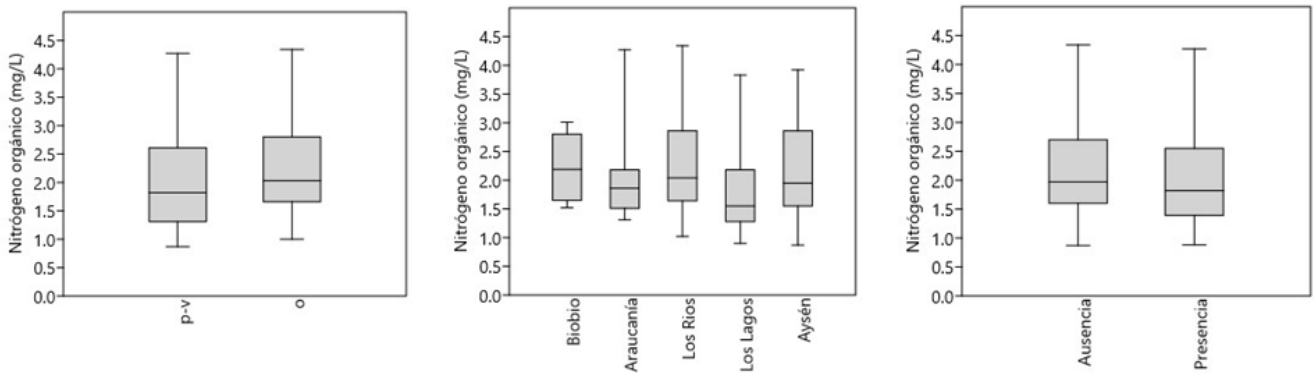


Figura 9-16. Boxplots de Nitrógeno Orgánico; análisis por periodos primavera-verano y otoño; entre regiónes y en presencia y ausencia de *D. geminata*.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

Nitrógeno total

La concentración de nitrógeno total no evidenció diferencia estadística significativa entre periodos estacionales ($p<0.05$), con una media entre 1.97 y 2.25 mg/L respectivamente.

En relación al analisis entre regiones no se observó diferencia estadística significativa ($p>0.05$), con una concentración media mínima de 1.82 mg/L en la región de los Lagos y una concentración media máxima de 2.28 mg/L en la región de los Ríos.

Respecto a presencia y ausencia de *D.geminata*, no fue registrada diferencia estadística según concentración de nitrógeno total ($p>0.05$), con medias de 2.00 y 2.17 mg/L respectivamente (Figura 9-17).

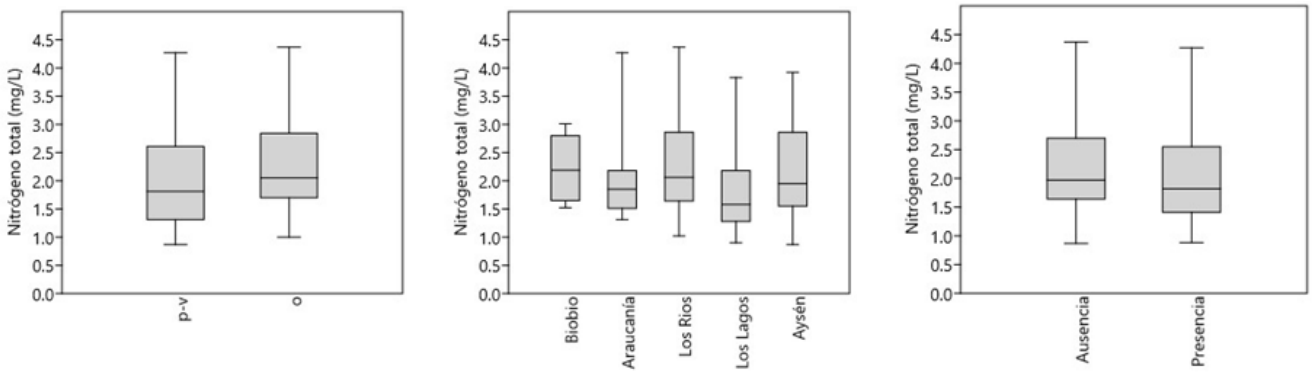


Figura 9-17. Boxplots de Nitrógeno Total; análisis por periodos primavera-verano y otoño; entre regiónes y en presencia y ausencia de *D. geminata*.

Nitrato + Nitrito

La relación nitrato+nitrito no evidenció diferencia estadística significativa entre los periodos estacionales ($p>0.05$), con un promedio que osciló entre los 0.12 y 0.51 mg/L respectivamente.

No se evidenció diferencia estadística significativa ($p>0.05$), para el análisis entre regiones, con un promedio de mínimo de 0.07 mg/L en la región de los Ríos y un promedio máximo de concentración de 0.69 mg/L en la región del Biobío.

Respecto a presencia y ausencia de *D.geminata*, no fue registrada diferencia estadística ($p>0.05$), con un promedio que osciló entre los 0.19 y 0.38 mg/L respectivamente (Figura 9-18).

Las bajas concentraciones en los compuestos nitrogenados en general, evidenciaron una buena calidad en el agua analizada, baja en contaminación orgánica y libre de descargas en los cuerpos de agua.

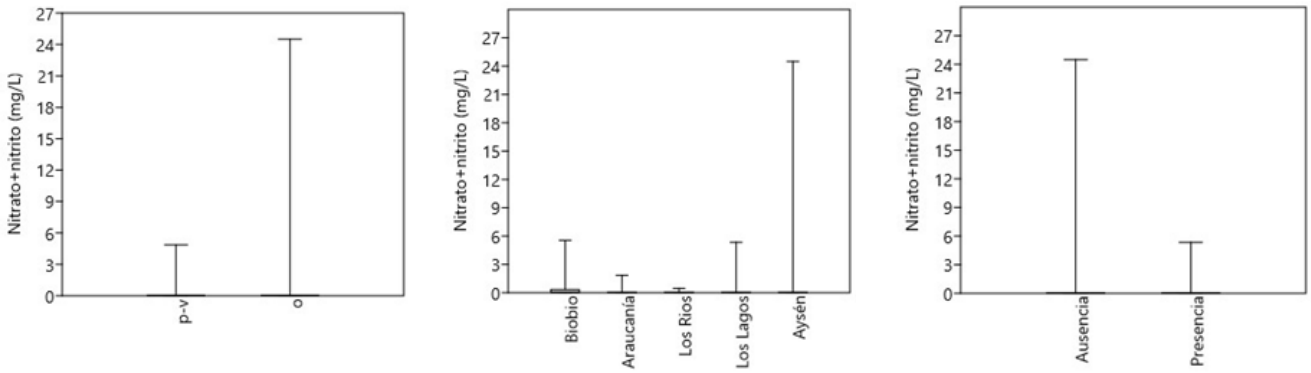


Figura 9-18. Boxplots Relación Nitrato+Nitrito; análisis por periodos primavera-verano y otoño; entre regiónes y en presencia y ausencia de *D. geminata*.

Fosfato

Para el fosfato se evidenció una diferencia estadística significativa entre periodos estacionales ($p<0.05$), con un promedio mínimo de 4.49 mg/L y un máximo de 18.20 mg/L respectivamente.

En relación a los análisis por región los valores de concentración de fosfato no evidenciaron diferencia estadística significativa ($p>0.05$), con una promedio mínimo de 1.08 mg/L en la región del Biobío y un promedio máximo de 6.89 mg/L en la región de Aysén.

En el analisis de presencia y ausencia de *D.geminata*, no se demostró diferencia estadística ($p>0.05$), con un promedio mínimo de 6.66 mg/L y un máximo de 16.04 mg/L respectivamente (Figura 9-19).

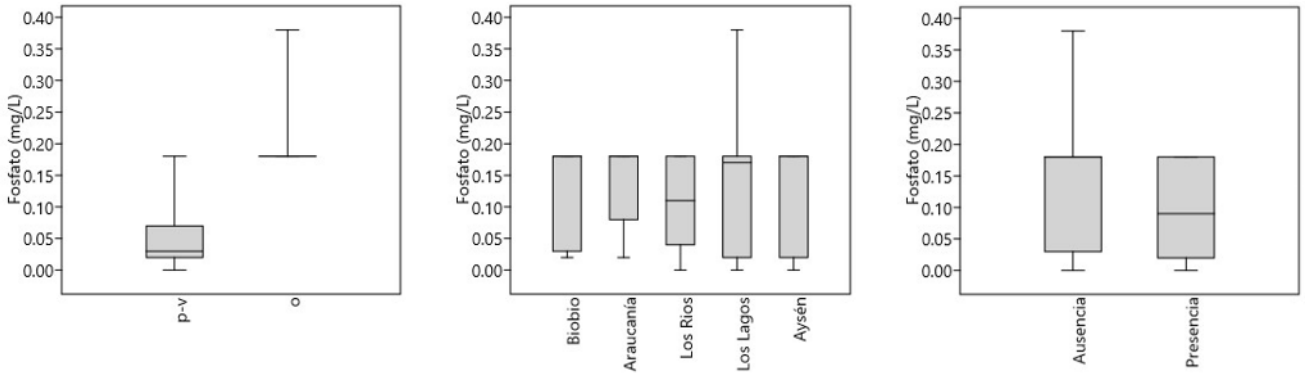


Figura 9-19. Boxplots de Fosfato; análisis por campaña primavera-verano y otoño; análisis por región y análisis por presencia y ausencia de *D. geminata*.

Fosfato disuelto (PO_4)

En relación al fosfato disuelto se evidenció una diferencia estadística significativa entre los periodos de primavera-verano y otoño ($p<0.05$), con un promedio de 0.04 mg/L y 0.18 mg/L respectivamente.

Por otra parte no se observó diferencia estadística significativa entre regiones ($p>0.05$), con una concentración promedio mínima de 0.10 mg/L en la región de Aysén y una concentración promedio máxima de 0.12 mg/L en la región del Biobío.

Respecto al análisis de presencia y ausencia de *D.geminata*, no se demostró diferencia estadística ($p>0.05$), con concentraciones de fosfato disuelto promedio entre 0.09 mg/L y 0.12 mg/L respectivamente (Figura 9-20).

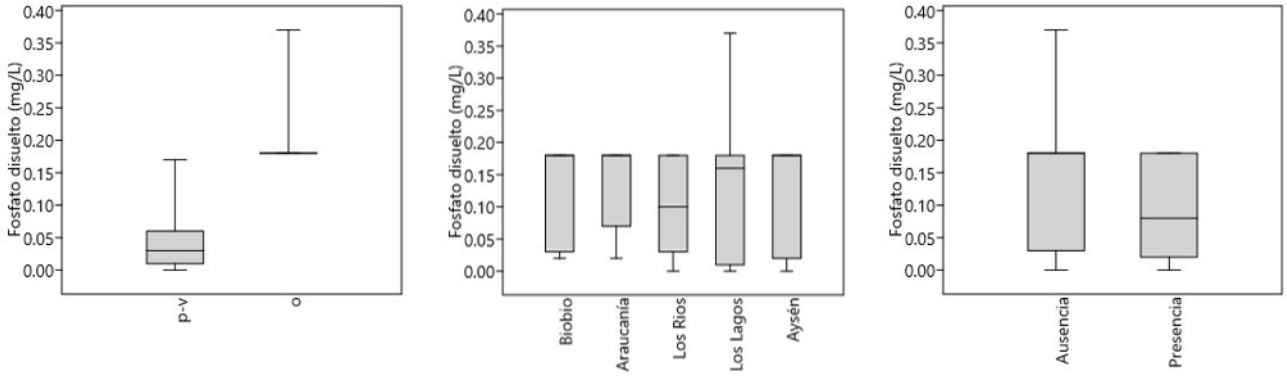


Figura 9-20. Boxplots de Fosfato Disuelto; análisis por campaña primavera-verano y otoño; análisis por región y análisis por presencia y ausencia de *D. geminata*.

Fosforo

Se evidenció una diferencia estadística significativa para las concentraciones de fosforo estacionales entre los periodos ($p<0.05$), con un promedio entre los 0.02 y 0.08 mg/L respectivamente.

Respecto al análisis entre regiones no se observó diferencia estadística significativa ($p>0.05$), con un promedio mínimo de 0,04 mg/L en la región del Biobío y una concentración promedio máxima de 0.07 mg/L en la región de Los Lagos.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

En relación a la presencia y ausencia de *D.geminata*, no se evidenció diferencia estadística (p>0.05), con promedios entre 0.04 y 0.05 mg/L respectivamente (Figura 9-21).

Los bajos niveles de fósforo y fosfatos disueltos (soluble) indican niveles bajos de productividad, generalmente atribuídos a ríos ultra oligotróficos.

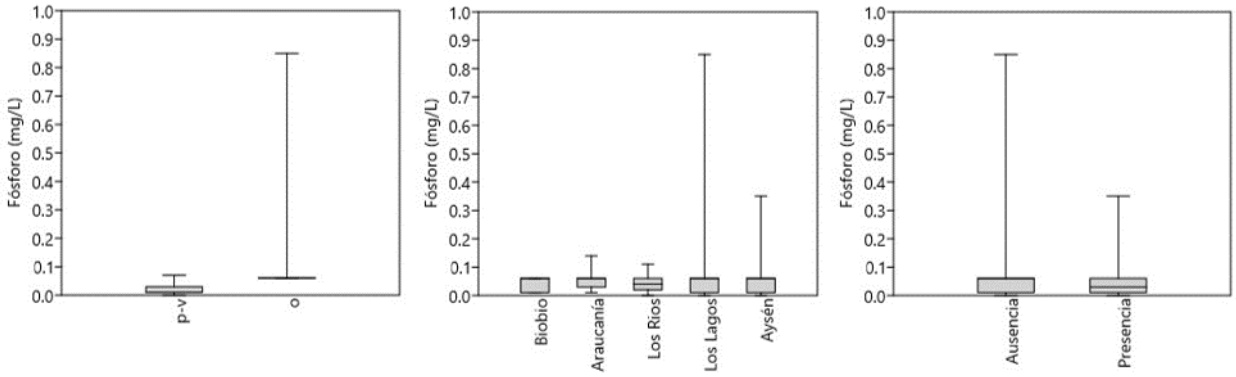


Figura 9-21. Boxplots de Fósforo; análisis por campaña primavera-verano y otoño; análisis por región y análisis por presencia y ausencia de *D. geminata*.

Silice (SiO_2)

La concentración de silicio no evidenció diferencia estadística significativa entre los periodos estacionales de estudio (p>0.05), con un promedio que osciló entre 5.69 y 5.72 mg/L respectivamente.

Se evidenció diferencia estadística significativa (p<0.05), entre las regiones estudiadas con una concentración promedio mínima de 3.05 mg/L en la región de Aysén y una concentración promedio máxima en la región de la Araucanía con 9.67 mg/L.

En relación a la presencia y ausencia de *D.geminata*, fue registrada diferencia estadística (p<0.05), valores promedio que fluctúan entre los 4.77 y 6.17 mg/L respectivamente (Figura 9-22).

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

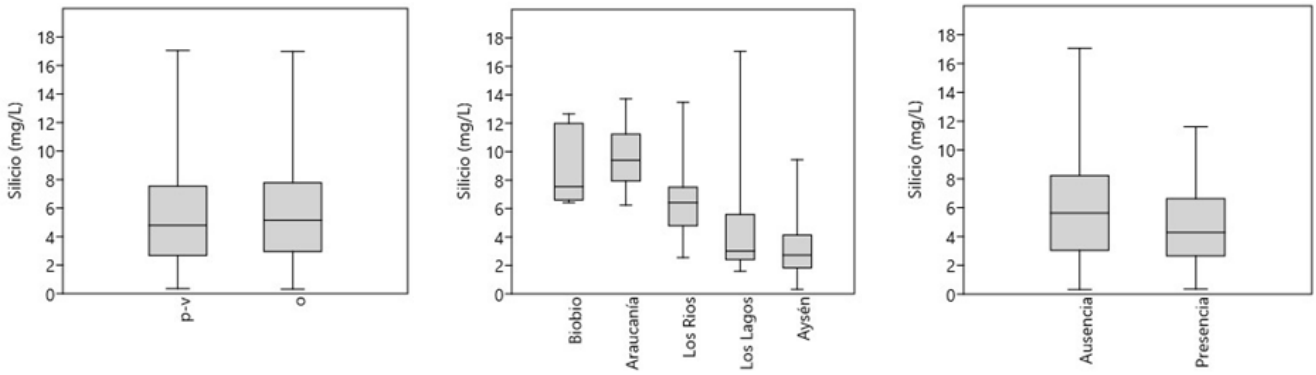


Figura 9-22. Boxplots de Silicio; análisis por periodos primavera-verano y otoño; entre regiónes y en presencia y ausencia de *D. geminata*.

Calcio (Ca)

La concentración de calcio no presentó diferencia estadística significativa entre periodos estacionales (p>0.05), con un promedio que fluctuó entre los 6.15 y 5.66 mg/L respectivamente.

Por otra parte no se evidenció diferencia estadística significativa entre regiones (p>0.05), con una concentración promedio mínima de 5.06 mg/L en la región de la Araucanía y una concentración promedio máxima en la región de Aysén de 6.82 mg/L (Figura 9-23).

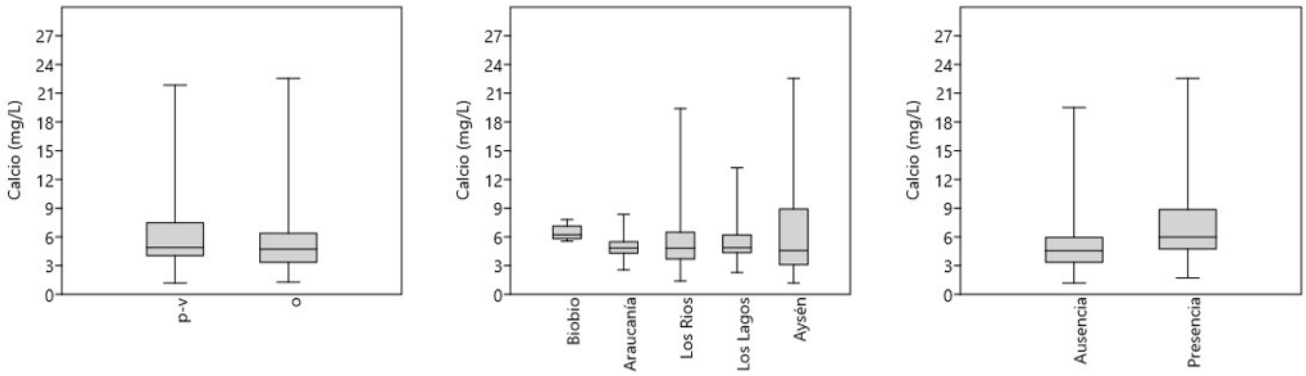


Figura 9-23. Boxplots de Calcio; análisis por campaña primavera-verano y otoño; análisis por región y análisis por presencia y ausencia de *D. geminata*.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

Hierro

Para las concentraciones de hierro no se evidenció diferencia estadística significativa entre entre los periodos estacionales analizados (p>0.05), con promedios entre 0.24 y 0.25 mg/L respectivamente.

En relación a los análisis por región no se evidenció diferencia estadística significativa (p>0.05), con una concentración promedio mínima de 0.16 mg/L en la región del Biobío y una concentración de hierro promedio máxima en la región de Los Lagos con 0.39 mg/L.

Respecto a la presencia y ausencia de *D.geminata*, fue registrada diferencia estadística (p<0.05), con concentraciones promedio que fluctuaron entre los 0.17 y 0.29 mg/L respectivamente (Figura 9-24).

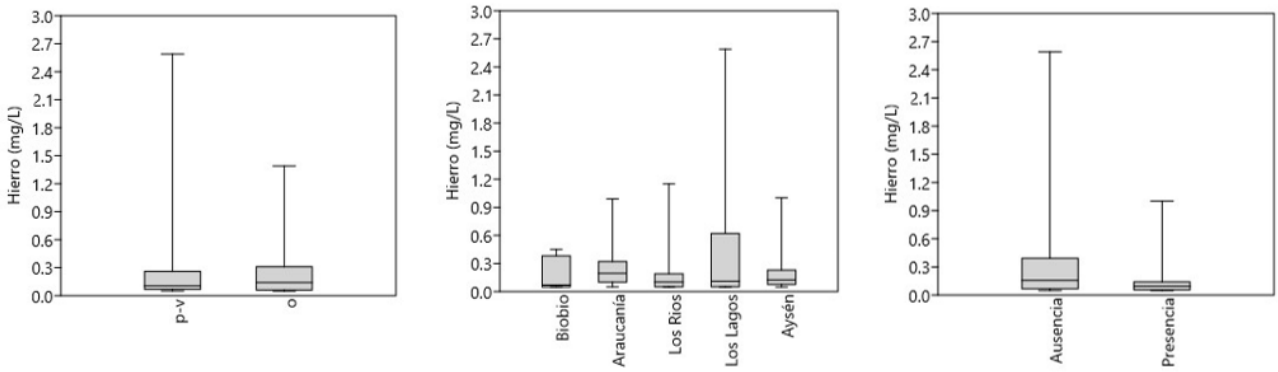


Figura 9-24. Boxplots de Hierro; análisis por campaña primavera-verano y otoño; análisis por región y análisis por presencia y ausencia de *D. geminata*.

9.1.2.3 Variables hidráulicas

Profundidad

La profundidad no presentó diferencias estadísticas significativas entre los periodos de primavera-verano y otoño (p>0.05), con un promedio de 51.48 y 47.69 cm respectivamente.

Entre regiones no se evidenció diferencias estadísticas significativas (p>0.05), presentando una profundidad promedio mínima de 44.84 cm en la región de Los Lagos y una profundidad promedio máxima en la región del Biobío con 54.84 cm.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

Respecto a presencia y ausencia de *D.geminata*, no fueron registrada diferencias estadísticas (p>0.05), con promedios de 48.90 y 49.93 cm respectivamente (Figura 9-25).

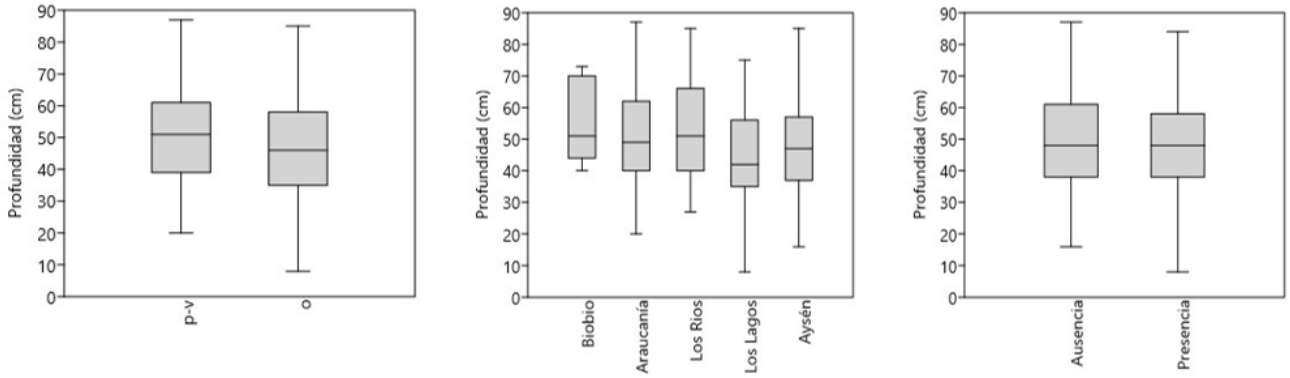


Figura 9-25. Boxplots de Profundidad; análisis por periodos primavera-verano y otoño; entre regiónes y en presencia y ausencia de *D. geminata*.

Velocidad de la corriente

La velocidad de la corriente no presentó diferencias estadísticas significativas entre los periodos de primavera-verano y otoño (p>0.05), con un promedio de 0.50 y 0.47 m/seg respectivamente.

La velocidad de la corriente tampoco evidenció diferencias estadísticas significativas entre regiones (p>0.05), con una velocidad de la corriente promedio mínima de 0.45 m/seg en la región de Aysén y una velocidad de la corriente promedio máxima en la región del Biobío con 0.55 m/seg.

Respecto a presencia y ausencia de *D.geminata*, no fueron registradas diferencias estadísticas (p>0.05), con valores promedio de 0.49 y 0.48 m/seg respectivamente (Figura 9-26).

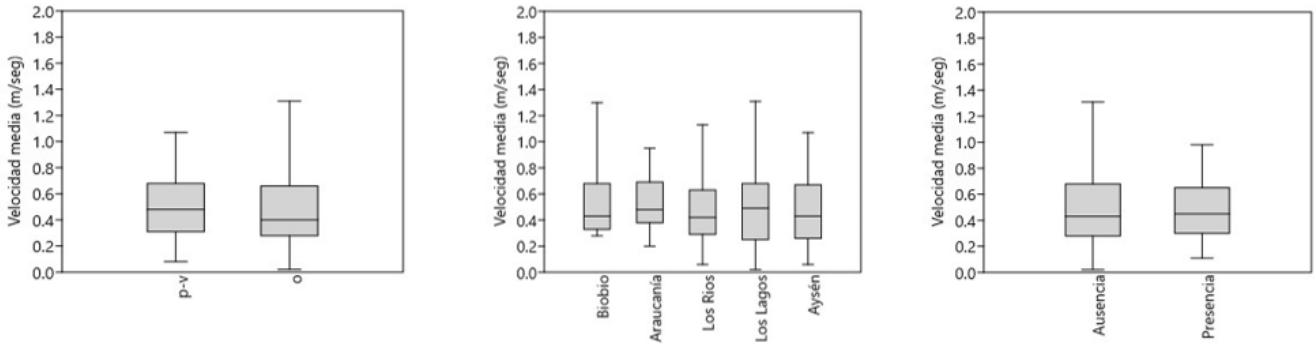


Figura 9-26. Boxplots de velocidad de la corriente; análisis por periodos primavera-verano y otoño; entre regiónes y en presencia y ausencia de *D. geminata*.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

9.1.2.4 Análisis de Componentes Principales

Análisis de Componentes Principales en presencia y ausencia de *D. geminata* respecto al tamaño del sustrato

La composición del sustrato no registro diferencias estadísticas significativas entre períodos primavera-verano y otoño (p>0.05). En relación a la presencia y ausencia de *D. geminata*, un Análisis de Componentes Principales señala que *D. geminata* se relacionó con sustratos más grandes (piedras y cantos) (Figura 9-27). Lo anterior, puede ser visualizado en un gráfico de abundancias de sustrato según presencia y ausencia de *D. geminata*, en que la plaga se presenta preferentemente en sustratos de mayor tamaño (piedras y cantos), disminuyendo a sustratos más pequeños (arena y limo/arcilla) (Figura 9-28).

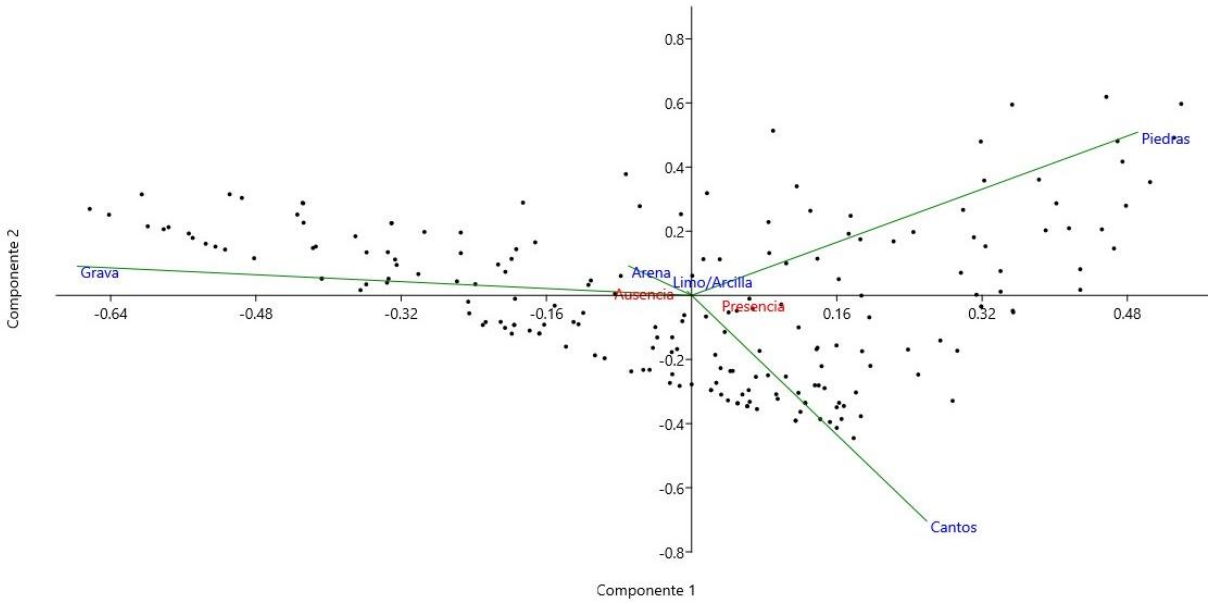


Figura 9-27. Análisis de Componentes Principales en presencia y ausencia de *D. geminata* respecto al tamaño del sustrato.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

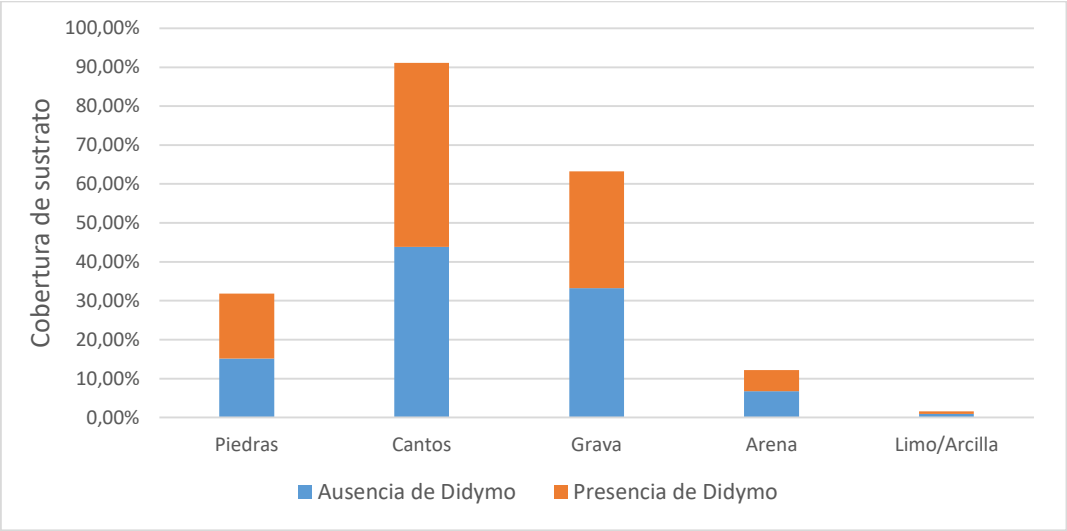


Figura 9-28. Relación entre presencia/ausencia de *D. geminata* y cobertura del sustrato.

Análisis de Componentes Principales entre parámetros fisicoquímicos *in situ* y presencia y/o ausencia de *D. geminata*

Respecto de los parámetros *in situ* (Tº, CE, OD, % Osat, pH, turbidez) se realizó un análisis de similitud (ANOSIM), no evidenciandose diferencias estadísticas significativas entre estaciones con presencia y ausencia de *D. geminata* ($p>0.05$). Esto puede ser comprobado con un Análisis de Componentes Principales, donde no se evidencian correlaciones respecto a la agrupación de estas dos condiciones. La correlación más clara fue la relación de estaciones con ausencia de *D. geminata* respecto de la turbidez (Figura 9-29).

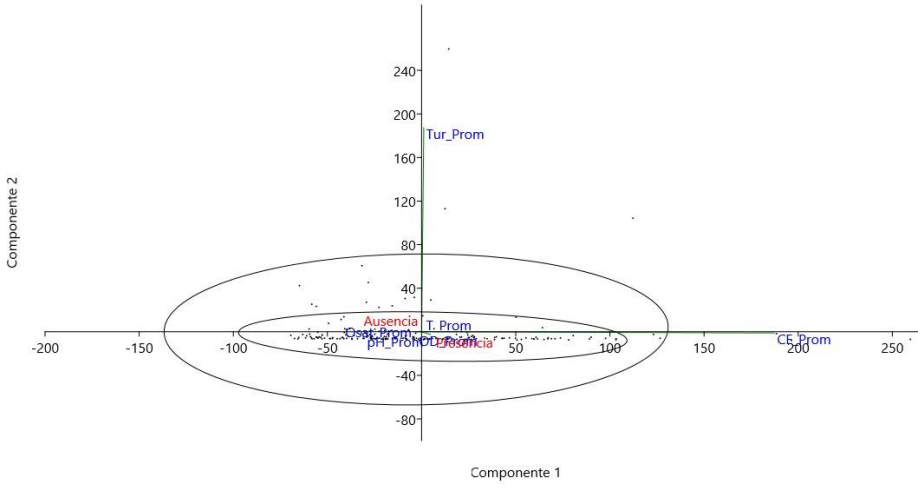


Figura 9-29. Análisis de Componentes Principales entre parámetros *in situ* y estaciones con presencia y ausencia de *D. geminata*.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

Análisis de Componentes Principales entre parámetros *in situ* y estaciones con bloom y sin bloom de *D. geminata*

Respecto de los parámetros *in situ* se realizó un análisis de similitud (ANOSIM), no evidenció diferencias estadísticas significativas entre estaciones con bloom y sin bloom de *D. geminata* ($p>0.05$). Esto puede ser comprobado con un Análisis de Componentes Principales, donde no se evidencian correlaciones respecto a la agrupación de estas dos condiciones (Figura 9-30).

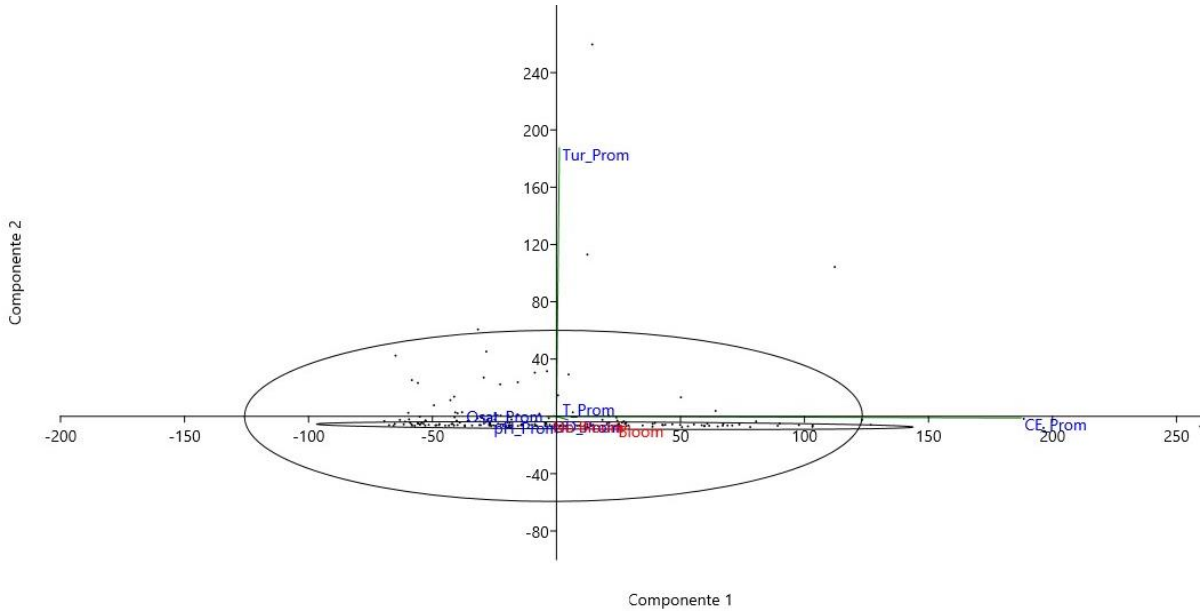


Figura 9-30. Análisis de Componentes Principales entre parámetros *in situ* y estaciones con bloom y sin bloom de *D. geminata*.

Análisis de Componentes Principales entre nutrientes y estaciones con presencia y ausencia de *D. geminata*

En relación a los nutrientes (Compuestos Fosforados, Nitrogenados, Si, Fe y Ca) un análisis de similitud (ANOSIM) evidenció diferencias estadísticas significativas entre estaciones con presencia y ausencia de *D. geminata* ($p<0.05$). Un posterior análisis de componentes principales, explica que la diferencia registrada se debe a que las estaciones con presencia de *D. geminata* están relacionadas a la concentración de calcio, mientras que la ausencia de *D. geminata* con la concentración de silicio. El resto de variables químicas registradas no evidencian una correlación respecto a la presencia y ausencia de la plaga en las estaciones muestreadas (Figura 9-31).

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

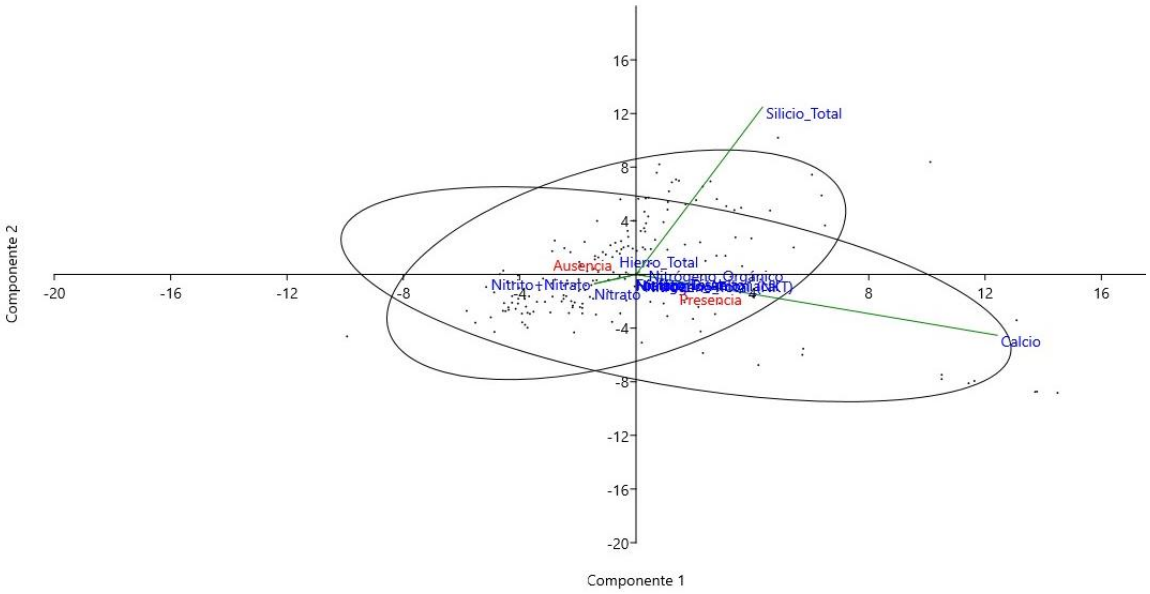


Figura 9-31. Análisis de Componentes Principales entre nutrientes y estaciones con presencia y ausencia de *D. geminata*.

Análisis de Componentes Principales entre nutrientes y estaciones con bloom y sin bloom de *D. geminata*

Respecto a los nutrientes (Compuestos fosforados y Nitrogenados, Si, Fe, Ca), un análisis de similitud (ANOSIM) no evidenció diferencias estadísticas significativas entre estaciones con bloom y sin bloom de *D. geminata* ($p>0.05$). Esto puede ser comprobado con un Análisis de Componentes Principales, en el cual no se evidencian correlaciones respecto a la agrupación de estas dos condiciones (Figura 9-32).

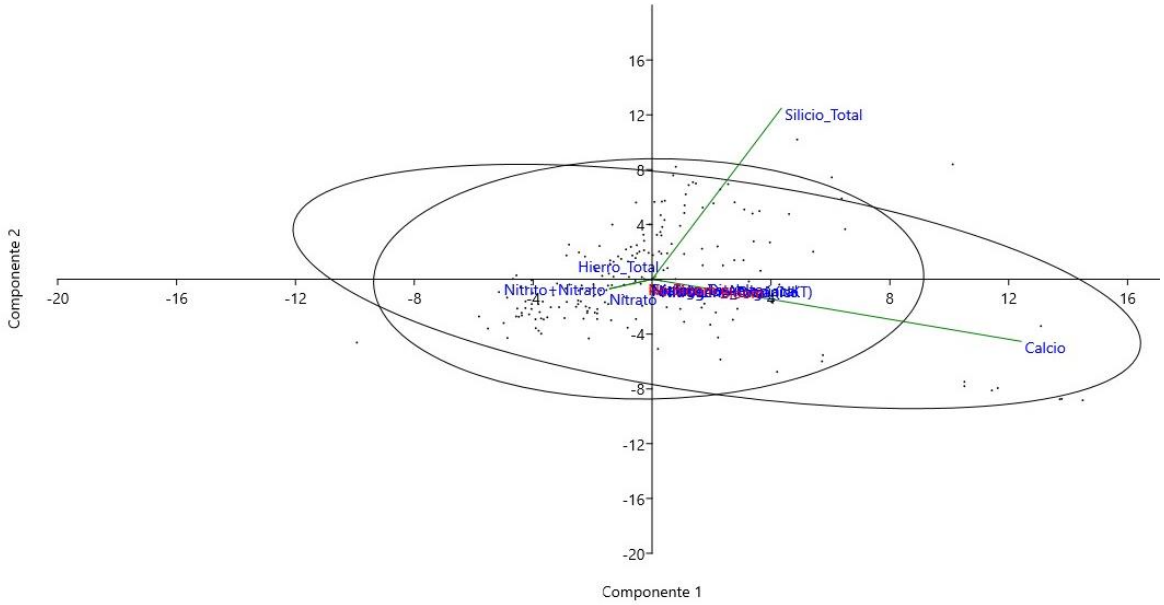


Figura 9-32. Análisis de Componentes Principales entre nutrientes y estaciones con bloom y sin bloom de *D. geminata*.

9.1.3 Grupos biológicos

9.1.3.1 Microalgas bentónicas o perifiton

El resultado taxonómico y los individuos más representativos de cada taxa de perifiton hallado en cada campaña de muestreo se encuentran en el Anexo 11 y Anexo 12 respectivamente.

Un total de 55 géneros de perifiton fueron detectados en las cinco regiones analizadas en este estudio, identificándose microalgas de las clases Bacillariophyceae, Chlorophyceae y Cyanophyceae.

En la región del Biobío, fueron registrados 19 géneros, siendo los géneros más abundantes Nitzschia (35.49%), Cymbella (20.33%) y Diatoma (14.21%). En la Araucanía 28 géneros, siendo lo más abundantes Nitzschia (31.96%), Diatoma (7.76%) y Navicula (7.04%). En Los Ríos fueron registrados 39 géneros, siendo los más abundantes Nitzschia (15.55%), Achnanthidium (13.22%) y Cymbella (11.66%). En Los Lagos fueron registrados 29 géneros, siendo los más abundantes Achnanthidium (61.09%), Nitzschia (11.95%) y Gomphonema (8.56%). Por último, en la región de Aysén fueron registrados 44 géneros, siendo los más abundantes Achnanthidium (28.52%), Nitzschia (19.69%) y Tabellaria (9.06%) (Tabla 9-5).

Tabla 9-5. Géneros detectados en las cinco regiones en estudio. X: indica presencia del género correspondiente en la región indicada.

Géneros/Regiones	Biobío	Araucanía	Los Ríos	Los Lagos	Aysén
Achnanthidium	X	X	X	X	X
Anabaena			X	X	X
Ankistrodesmus		X	X	X	X
Aulacoseira			X	X	
Botryococcus			X		
Brachysira			X		
Calothrix	X		X		
Ceratium			X		
Closterium			X		
Cocconeis		X	X		X
Cosmarium		X	X	X	X
Cyclotella			X		
Cymbella	X	X	X	X	X
Denticula	X	X	X	X	X
Diatoma	X	X	X	X	X
Dichothrix			X	X	X
*D. geminata*sphenia	X	X	X	X	X
Dinobryon					X
Draparnaldia					X
Encyonema		X	X		X
Ephitemia			X		X
Euastrum		X			X
Eudorina					X
Eunotia			X		
Fragilaria	X	X	X	X	X
Frustulia		X	X	X	X
Gomphoneis	X	X	X	X	X
Gomphonema	X	X	X	X	X
Gyrozigma		X			
Hannaea			X	X	X
Lyngbya	X			X	
Mastogloia					X
Melosira	X	X	X	X	X
Micrasterias					X
Monoraphidium		X	X		X
Mougeotia			X	X	X
Navicula	X	X	X	X	X
Nitzschia	X	X	X	X	X
Nostoc					X
Oedogonium					X

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

Géneros/Regiones	Biobío	Araucanía	Los Ríos	Los Lagos	Aysén
Oscillatoria	X	X	X	X	X
Pediastrum		X		X	X
Pennales_indet	X	X	X	X	X
Pinnularia			X		X
Rhoicosphenia	X	X	X	X	X
Rhopalodia	X	X	X	X	X
Scenedesmus		X	X	X	X
Sphaerozosma					X
Spirogyra					X
Staurastrum					X
Stigeoclonium				X	
Tabellaria	X	X	X	X	X
Ulnaria	X	X	X	X	X
Ulothrix			X		X
Zygnema		X			X
55	**19**	**28**	**39**	**29**	**44**

Fuente: Elaboración Propia.

Las microalgas perifíticas más abundantes por región estuvieron mayoritariamente representados por diatomeas (Bacillariophyceae), (Figura 9-33).

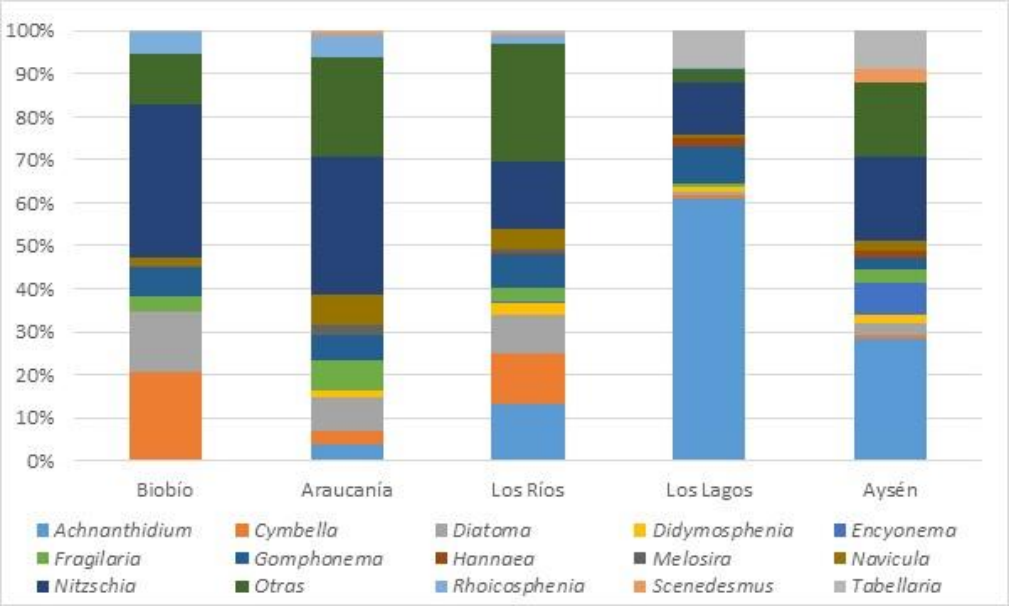


Figura 9-33. Abundancia relativa del perifiton detectado en las regiones estudiadas.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

En relación a los análisis de similitud (ANOSIM), donde la base es comparar la composición y la abundancia obtenida para los géneros del perifiton, se observó que entre los periodos de muestreos realizados en primavera-verano y otoño no se evidenciaron diferencias significativas ($p>0.05$).

En cambio, al analizar la composición y abundancia de microalgas del perifiton entre en ríos con presencia y ausencia de *D. geminata,* se obtuvo diferencias significativas en el perifiton ($p<0.05$). Esto significa que las composiciones de géneros y sus abundancias fueron distintas en ríos con presencia de *D. geminata* y en ríos con ausencia de esta.

Mismo resultado fue obtenido al realizar la comparación entre regiones ($p<0.05$), por lo que los datos fueron analizados en forma separada.

Respecto a las estaciones de muestreo con presencia y ausencia de *D. geminata* estos presentaron una riqueza de géneros similar, aunque difirieron en los géneros dominantes.

En las estaciones ubicadas en ríos donde hubo presencia de *D. geminata* fueron registrados 41 géneros, siendo los más abundantes *Achnanthidium* (38.39%), *Nitzschia* (18.51%) y *Tabellaria* (5.25%). Mientras que, en las estaciones ubicadas en los ríos con ausencia de *D. geminata* se registraron 46 géneros, siendo los más abundantes *Gomphonema* (21.83%), *Nitzschia* (16.46%) y *Achnanthidium* (14.49%) (Tabla 9-6).

Tabla 9-6. Géneros de perifiton según presencia y ausencia de *D. geminata*.

Géneros	Presencia	Ausencia
Achnanthidium	X	X
Anabaena	X	X
Ankistrodesmus	X	X
Aulacoseira		X
Botryococcus	X	
Brachysira		X
Calothrix		X
Ceratium		X
Closterium		X
Cocconeis	X	X
Cosmarium	X	X
Cyclotella		X
Cymbella	X	X
Denticula	X	X
Diatoma	X	X
Dichothrix		X
D. geminata	X	
Dinobryon	X	

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

Géneros	Presencia	Ausencia
Draparnaldia	X	X
Encyonema	X	X
Ephitemia	X	X
Euastrum	X	
Eudorina	X	
Eunotia		X
Fragilaria	X	X
Frustulia	X	X
Gomphoneis	X	X
Gomphonema	X	X
Gyrozigma		X
Hannaea	X	X
Lyngbya		X
Mastogloia	X	
Melosira	X	X
Micrasterias		X
Monoraphidium	X	X
Mougeotia	X	X
Navicula	X	X
Nitzschia	X	X
Nostoc	X	
Oedogonium		X
Oscillatoria	X	X
Pediastrum	X	X
Pennales indet	X	X
Pinnularia		X
Rhoicosphenia	X	X
Rhopalodia	X	X
Scenedesmus	X	X
Sphaerozosma		X
Spirogyra	X	
Staurastrum	X	X
Stigeoclonium	X	
Tabellaria	X	X
Ulnaria	X	X
Ulothrix	X	X
Zygnema	X	X
Total	**41**	**46**

Fuente: Elaboración Propia.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

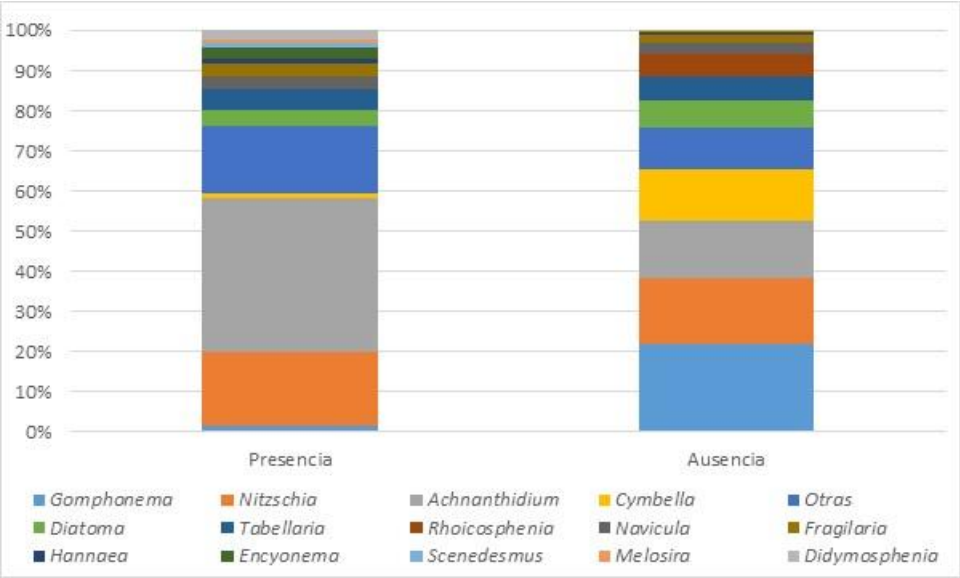


Figura 9-34. Abundancia relativa del perifiton detectado en presencia y ausencia de *D. geminata*.

Parámetros Comunitarios

A continuación se describen los parámetros comunitarios del perifiton, a nivel de región y en ríos con presencia y ausencia de *D. geminata*. En la Tabla 9-7, se presentan los valores promedio y el error estándar asociado por región y en ríos con presencia y ausencia de *D. geminata*.

Tabla 9-7. Parámetros comunitarios del perifiton, a nivel de región y según presencia y ausencia de *D. geminata*. Los valores indican el promedio y el error estándar.

Región/Parámetro	Densidad (cel/mm^2)	Índice de Shannon	Índice de Simpson	Índice de Equitatividad
Región				
Biobío	604.70 ± 242.48	1.30 ± 0.14	0.60 ± 0.06	0.66 ± 0.04
Araucanía	1551.58 ± 377.33	1.40 ± 0.08	0.66 ± 0.03	0.67 ± 0.02
Los Ríos	1302.72 ± 272.23	1.35 ± 0.06	0.62 ± 0.02	0.66 ± 0.02
Los Lagos	3217.00 ± 922.16	1.09 ± 0.08	0.52 ± 0.04	0.57 ± 0.04
Aysén	1273.86 ± 344.37	1.31 ± 0.06	0.60 ± 0.03	0.63 ± 0.03
D. geminata				
Presencia	3742.52 ± 577.09	1.39 ± 0.06	0.62 ± 0.02	0.60 ± 0.02
Ausencia	609.93 ± 109.65	1.25 ± 0.04	0.59 ± 0.02	0.65 ± 0.02
Total general	1643.69 ± 228.44	1.30 ± 0.04	0.60 ± 0.01	0.64 ± 0.01

Fuente: Elaboración Propia.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

Riqueza

La riqueza de géneros entre regiones presentó un promedio de 8,28 géneros/estación, no registrándose diferencias estadísticas significativas entre regiones (p>0,05;Figura 9-35).

Al analizar la riqueza de géneros por región, se observó para la región del Biobío una riqueza promedio de 7.44 géneros/estación, con un máximo de 11 géneros en la estación Laja_010, y un mínimo de 4 géneros en las estaciones Biobío_110, Biobío_120 y Chillán_040. En la región de la Araucanía, en tanto, se registró una riqueza promedio de 8.67 géneros/estación, con un máximo de 16 géneros en la estación Renaico_070 y un mínimo de 2 géneros en la estación Claro_010. En los Ríos, la riqueza promedio fue de 8.66 géneros/estación, con un máximo de 17 géneros en la estación Llanquihue_010, y un mínimo de 2 géneros en las estaciones Cruces_010, Remehue_020 y Blanco_Enco_020. En Los Lagos se registró una riqueza promedio de 6.81 géneros/estación, con un máximo de 13 géneros en la estación Petrohue_010 y un mínimo de 0 géneros en Huenu_Huenu_012. Por último, en la región de Aysén la riqueza promedio fue de 8.68 géneros/estación, con un máximo de 21 géneros en la estación Figueroa_020, y un mínimo de 1 género en las estaciones Bravo_020 y Jeinimeni_010.

Respecto a presencia y ausencia de *D. geminata*, se registró diferencias estadísticas significativas en relación a riqueza (p<0,05; Figura 9-35), los valores promedio de la riqueza fueron mayores en sectores donde *D. geminata* fue positivo. En presencia de *D. geminata* la riqueza promedio fue de 10.00 géneros/estación, con un máximo de 17 géneros en la estación Llanquihue_010 y un mínimo de 1 género en la estación Jeinimeni_010. Mientras que, en ausencia de *D. geminata*, la riqueza promedio fue de 7.43 géneros/estación, con un máximo de 21 géneros en la estación Figueroa_020 y un mínimo de 0 géneros en Huenu_Huenu_012.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

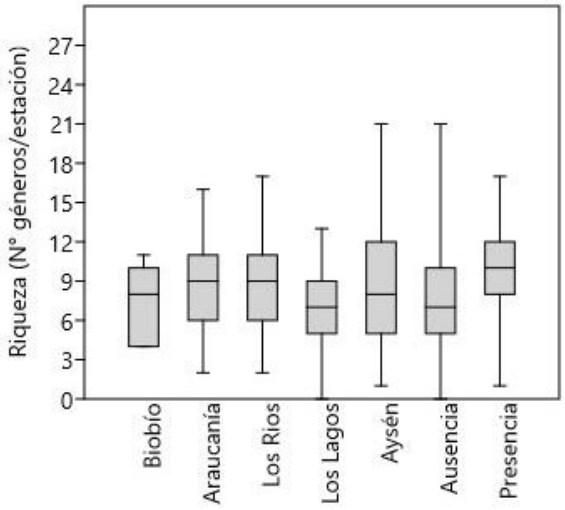


Figura 9-35. Boxplot de riqueza de géneros de perifiton, por región y en ríos con ausencia y presencia de *D. geminata.*

Densidad

Entre regiones se observó una densidad promedio de 1643.69 cel/mm^2, registrándose diferencias estadísticas significativas entre regiones ($p<0,05$; Figura 9-36).

En la región del Biobío, se observó una densidad promedio de 604.70 cel/mm^2, con un máximo de 2149.33 cel/mm^2 en la estación Diguillin_A, y un mínimo de 38.00 cel/mm^2 en la estación Biobío_120. En la región de la Araucanía se registró una densidad promedio de 1551.58 cel/mm^2, con un máximo de 7694.40 cel/mm^2 en la estación Biobio_050 y un mínimo de 0.28 cel/mm^2 en la estación Claro_010. En la región de Los Ríos, la densidad promedio fue de 1302.72 cel/mm^2, con un máximo de 10993.23 cel/mm^2 en la estación Llanquihue_030, y un mínimo de 1.19 cel/mm^2 en la estación Florin_020. En Los Lagos se registró una densidad promedio de 3217.00 cel/mm^2, con un máximo de 24796.80 cel/mm^2 en la estación Bellavista_020 y un mínimo de 0.00 cel/mm^2 en la estación Huenu_Huenu_012. Por último, en la región de Aysén la densidad promedio fue de 1273.86 cel/mm^2, con un máximo de 13834.24 cel/mm^2 en la estación Pedregoso_Aysen_010, y un mínimo de 0.10 cel/mm^2 en la estación Bravo_020.

Respecto a la presencia y ausencia de *D. geminata*, se registraron diferencias estadísticas significativas en relación a la densidad ($p<0,05$; Figura 9-36).

En presencia de *D. geminata* la densidad media fue de 3742.52 cel/mm^2, con un máximo de 24796.80 cel/mm^2 en la estación Bellavista_020 y un mínimo de 0.37 cel/mm^2 en la estación

Bravo_010. Mientras que, en ausencia de *D. geminata*, la densidad promedio fue de 609.93 cel/mm^2, con un máximo de 9660.00 cel/mm^2 en la estación Est_Correntoso_090 y un mínimo de 0.00 cel/mm^2 en la estación Huenu_Huenu_012.

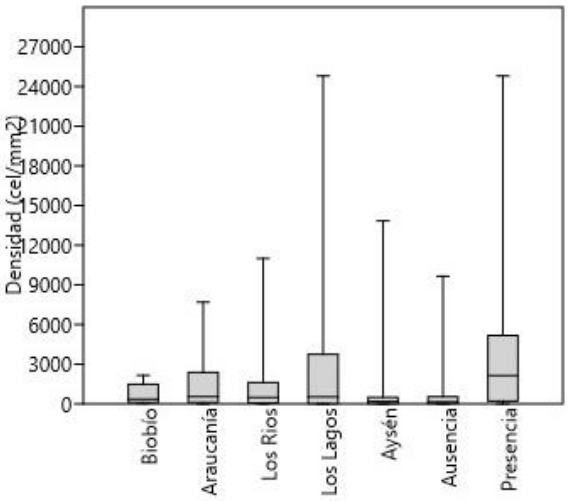


Figura 9-36. Boxplot de Densidad (cel/mm^2) de perifiton, por región y en ríos con ausencia y presencia de *D. geminata.*

Índice de Shannon

La diversidad de Shannon entre regiones no presentó diferencias estadísticas significativas (p>0.05; Figura 9-37).). Esto quiere decir que se observó homogeneidad entre las abundancias relativas y las riquezas entre regiones.

La región del Biobío, presentó una diversidad de Shannon promedio de 1.30, con un máximo de 1.95 en la estación Laja_010, y un mínimo de 0.73 en la estación Biobío_110. En la región de la Araucanía se registró una diversidad promedio de 1.40, con un máximo de 2.10 en la estación Pucon_020 y Renaico_070 y un mínimo de 0.67 en la estación Voipir_060. En Los Ríos, la diversidad promedio fue de 1.35, con un máximo de 2.17 en las estación Currine_020, Enco_020 y San_Pedro_030, y un mínimo de 0.22 en en la estación Golgol_019. En Los Lagos se registró una diversidad promedio de 1.09, con un máximo de 1.98 en la estación Petrohue_010 y un mínimo de 0.00 en la estación Huenu_Huenu_012. Por último, en Aysén la diversidad promedio fue de 1.31, con un máximo de 2.29 en en la estación Figueroa_020, y un mínimo de 0.00 en las estaciones Bravo_020 y Jeinimeni_010.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

Respecto a la presencia y ausencia de *D. geminata*, no se registraron diferencias estadísticas significativas en relación a la diversidad de Shannon (p>0.05; Figura 9-37).

En presencia de *D. geminata* la diversidad promedio fue de 1.39, con un máximo de 2.17 en la estación Currine_020, Enco_020 y San_Pedro_030 y un mínimo de 0.00 en la estación Jeinimeni_010. Mientras que en ausencia de *D. geminata*, la diversidad promedio fue de 1.25, con un máximo de 2.29 en la estación Figueroa_020 y un mínimo de 0.00 en las estación Huenu_Huenu_012 y Bravo_020.

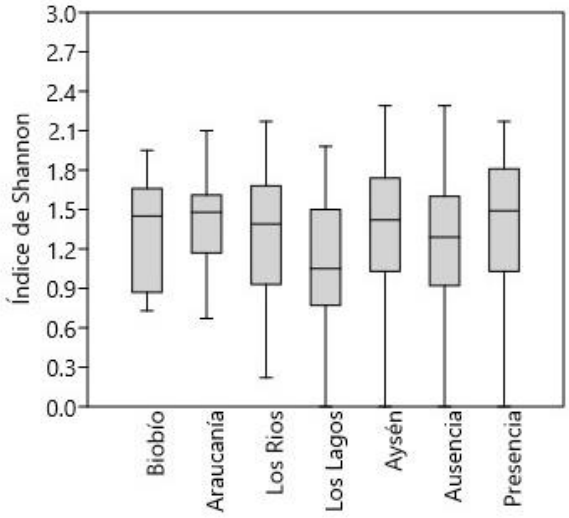


Figura 9-37. Boxplot de Índice de diversidad de Shannon de perifiton, por región y en ríos con ausencia y presencia de *D. geminata*.

Índice de diversidad de Simpson

Las comparaciones de diversidad obtenidas a través del índice de Simpson entre regiones no presentó diferencias estadísticas significativas entre regiones (p>0.05;Figura 9-38).

En la región del Biobío, se obtuvo valores diversidad de Simpson promedio de 0.60, con un máximo de 0.83 en la estación Laja_010, y un mínimo de 0.36 en la estación Biobío_110. En la región de la Araucanía se registró diversidad de Simpson de promedio de 0.66, con un máximo de 0.86 en las estaciones Pucon_020 y Renaico_070 y un mínimo de 0.33 en la estación Voipir_060. En los Ríos, la diversidad de Simpson promedio fue de 0.62, con un máximo de 0.86 en las estaciones Currine_020 y San_Pedro_030, y un mínimo de 0.10 en la estación Golgol_019.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

En Los Lagos se registró una diversidad de Simpson promedio de 0.52, con un máximo de 0.82 en la estación Petrohue_010 y un mínimo de 0.00 en la estación Huenu_Huenu_012. Por último, en la región de Aysén el valor de diversidad de Simpson promedio fue de 0.60, con un máximo de 0.85 en la estación Figueroa_020, y un mínimo de 0.00 en las estaciones Bravo_020 y Jeinimeni_010.

Respecto a los ríos con presencia y ausencia de *D. geminata*, no se registraron diferencias estadísticamente significativas en relación a la diversidad de Simpson (p>0.05;Figura 9-38).

En los ríos con presencia de *D. geminata* la diversidad de Simpson presentaron un promedio de 0.62, con un máximo de 0.86 en las estaciones Currine_020, Enco_020 y San_Pedro_030 y un mínimo de 0.00 en la estación Jeinimeni_010. Mientras que, en los ríos con ausencia de *D. geminata*, diversidad de Simpson promedio fue de 0.59, con un máximo de 0.86 en las estaciones Pucon_020 y Renaico_070, y un mínimo de 0.00 en las estaciones Huenu_Huenu_012 y Bravo_020.

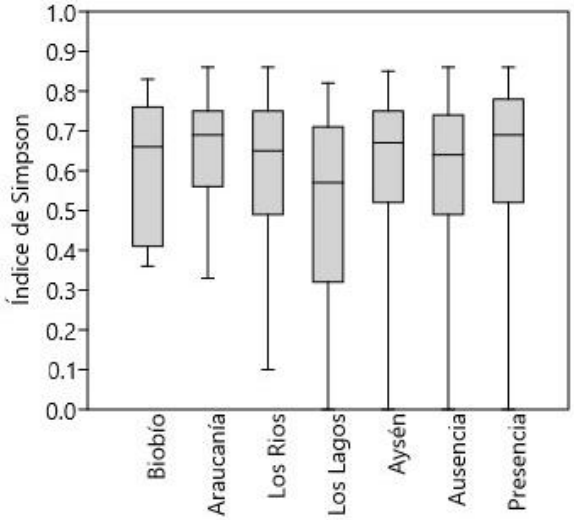


Figura 9-38. Boxplot de Índice de diversidad de Simpson de perifiton, por región y en ríos con ausencia y presencia de *D. geminata*.

Índice de Equitatividad

La equitatividad de Pielou, al considerar el análisis entre regiones no presentó diferencias estadísticas significativas (p>0.05; Figura 9-39).

En la región del Biobío, se presentó una equitatividad promedio de 0.66, con un máximo de 0.85 en las estaciones Laja_010 y Biobio_120, y un mínimo de 0.45 en la estación Diguillin_A. En la región de la Araucanía se registró una equitatividad promedio de 0.67, con un máximo de 1.00 en la estación Claro_010 y un mínimo de 0.42 en la estación Voipir_060. En los Ríos, la equitatividad promedio fue de 0.66, con un máximo de 0.98 en la estación Remehue_020, y un mínimo de 0.20 en la estación Golgol_019. En Los Lagos se registró una equitatividad promedio de 0.57, con un máximo de 0.92 la estación Est_Correntoso_090 y un mínimo de 0.00 en la estación Huenu_Huenu_012. Por último, en la región de Aysén la equitatividad promedio fue de 0.63, con un máximo de 1.00 en la estación Risopatron_019, y un mínimo de 0.00 en las estaciones Bravo_020 y Jeinimeni_010.

Respecto a los ríos con presencia y ausencia de *D. geminata*, no se observaron diferencias estadísticamente significativas en relación a equitatividad ($p>0.05$; Figura 9-39).

En presencia de *D. geminata* la equitatividad promedio fue de 0.60, con un máximo de 0.92 en la estación Baker_060 y un mínimo de 0.00 en la estación Jeinimeni_010. Mientras que, en ausencia de *D. geminata*, la equitatividad promedio fue de 0.65, con un máximo de 1.00 en las estaciones Claro_010 y Risopatron_019, y un mínimo de 0.00 en las estaciones Huenu_Huenu_012 y Bravo_020.

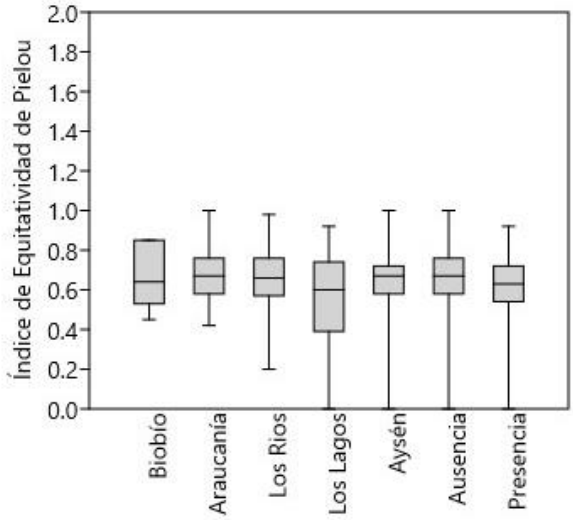


Figura 9-39. Boxplot de Equitatividad de Pielou de perifiton, por región y en ríos con ausencia y presencia de *D. geminata*.

9.1.3.2 Diatomeas bentónicas

El resultado taxonómico y los individuos más representativos de cada especie de diatomeas bentónicas de ambas campañas de muestreo se encuentran en el Anexo 13 y Anexo 14, respectivamente.

Un total de 147 especies de diatomeas bentónicas (Bacillariophyceae), fueron detectadas entre las cinco regiones analizadas.

En la región del Biobío, fueron registradas 41 especies, siendo las más abundantes *Nitzschia fonticola* (25.59%), *Achnanthidium minutissimum* (9.08%) y *Diatoma moniliformis* (8.47%). En la Araucanía 65 especies, siendo las más abundantes *Achnanthidium minutissimum* (24.39%), *Nitzschia spp* (16.89%) y *Nitzschia fonticola* (10.56%). En la región de Los Ríos fueron registradas 80 especies, siendo las más abundantes *Achnanthidium minutissimum* (27.84%), *Encyonema minutiforme* (13.65%) y *Fragilaria capucina* (9.76%). En Los Lagos fueron registradas 82 especies, siendo las más abundantes *Achnanthidium minutissimum* (65.33%), *Encyonema spp* (5.93%) y *Fragilaria capucina* (5.08%) y en la región de Aysén fueron registradas 117 especies, siendo las más abundantes *Achnanthidium minutissimum* (32.11%), *Fragilaria capucina* (12.94%) y *Encyonema* sp. (6.46%) (Tabla 9-8).

Tabla 9-8. Listado de especies de diatomeas bentónicas según región de análisis. Letra X indica presencia de la especie correspondiente en la región indicada.

Especies/Regiones	Biobío	Araucanía	Los Ríos	Los Lagos	Aysén
Achnanthidium exiguum		X			
Achnanthidium minutissimum	X	X	X	X	X
Achnanthidium saprophilum			X		X
Actinella sp.					X
Amphipleura sp.					X
Amphora spp.					X
Asterionella formosa				X	X
Aulacoseira alpigena					X
Aulacoseira distans					X
Aulacoseira granulata		X	X	X	
Brachysira neoexilis		X	X	X	X
Brachysira styriaca					X
Cavinula cocconeiformis f. elliptica					X
Cavinula pseudoscutiformis					X
Centrales indet		X	X		X

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

Especies/Regiones	Biobío	Araucanía	Los Ríos	Los Lagos	Aysén
Chamaepinnularia					X
Cocconeis cf. neothumensis		X			X
Cocconeis placentula var. euglypta	X	X	X	X	X
Craticula sp.					X
Cyclotella meneghiniana	X			X	X
Cyclotella ocellata	X		X	X	X
Cymbella aff. cymbiformis					X
Cymbella affinis				X	X
Cymbella cistula	X				
Cymbella helvetica		X	X		
Cymbella neocistula	X	X	X	X	X
Cymbella simonsenii				X	
Cymbella sp.				X	X
Cymbella tumida		X	X	X	
Denticula kuetzingii					X
Denticula subtilis					X
Diatoma hyemalis				X	
Diatoma mesodon		X	X	X	X
Diatoma moniliformis	X	X	X	X	X
Diatoma sp.				X	
Diatoma vulgaris	X		X	X	X
D. geminata	X	X	X	X	X
Diploneis ovalis			X		
Discostella stelligera			X	X	X
Distrionella germainii	X		X	X	X
Encyonema gracile				X	X
Encyonema minutiforme	X	X	X	X	X
Encyonema minutum	X	X	X	X	X
Encyonema silesiacum		X	X		
Encyonema sp.				X	X
Encyonema spp.	X	X	X	X	X
Encyonopsis cesatii				X	X
Encyonopsis microcephala		X	X	X	X
Eolimna sp.					X
Epithemia adnata	X	X	X	X	X
Epithemia sorex			X		X
Eunotia bilunaris			X	X	X
Eunotia muscicola				X	X
Eunotia sp.			X		X
Eunotia spp.			X		X

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

Especies/Regiones	Biobío	Araucanía	Los Ríos	Los Lagos	Aysén
Eunotia subarcuatoides			X	X	X
Fragilaria capucina	X	X	X	X	X
Fragilaria construens				X	X
Fragilaria crotonensis		X	X	X	
Fragilaria nanana			X	X	X
Fragilaria tenera	X				X
Fragilariaceae		X	X		X
Fragilariforma bicapitata			X		X
Frustulia amphipleuroides		X		X	X
Frustulia crassinervia					X
Frustulia rhomboides					X
Frustulia saxonica			X	X	X
Frustulia vulgaris		X	X	X	X
Geissleria decussis	X		X	X	
Gomphoneis minuta	X	X	X		X
Gomphoneis sp					X
Gomphoneis sp.1	X	X			X
Gomphonema angustum	X	X	X	X	X
Gomphonema auritum				X	X
Gomphonema calcifugum	X		X	X	X
Gomphonema cf. scharfii				X	
Gomphonema clavatum					X
Gomphonema clevei	X	X	X	X	X
Gomphonema gracile		X		X	X
Gomphonema minuta		X	X	X	X
Gomphonema minutum			X	X	X
Gomphonema olivaceum			X		X
Gomphonema parvulum		X	X		X
Gomphonema pumilum	X	X	X	X	X
Gomphonema scharfii		X			X
Gomphonema sp.1					X
Gomphonema spp.	X	X	X	X	X
Hannaea arcus		X	X	X	X
Karayevia clevei		X	X		X
Karayevia oblongella			X		
Luticola mutica			X	X	
Mastogloia smithii					X
Mayamaea atomus		X			
Melosira varians	X	X	X	X	X
Meridion circulare	X	X		X	

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

Especies/Regiones	Biobío	Araucanía	Los Ríos	Los Lagos	Aysén
Navicula capitatoradiata				X	X
Navicula cf. perminuta		X		X	
Navicula cryptocephala		X	X		X
Navicula cryptotenella	X	X	X	X	X
Navicula cryptotenelloides	X	X	X		X
Navicula gregaria		X	X	X	X
Navicula radiosa		X	X	X	X
Navicula rhynchocephala			X		
Navicula sp.					X
Navicula sp. 2					X
Navicula tripunctata	X		X		X
Navicula veneta		X			
Navicula viridula		X	X	X	X
Nitzschia fonticola		X	X		
Nitzschia aff. fonticola			X	X	
Nitzschia bacillum					X
Nitzschia cf. fonticola	X				
Nitzschia dissipata	X	X	X	X	X
Nitzschia fonticola	X	X	X	X	X
Nitzschia frustulum				X	
Nitzschia gracilis	X	X	X	X	X
Nitzschia inconspicua	X	X	X	X	X
Nitzschia liebetruthii	X				
Nitzschia linearis					X
Nitzschia palea					X
Nitzschia spp.	X	X	X	X	X
Nupela chilensis				X	X
Pennales indet	X	X	X	X	X
Pinnularia borealis				X	
Pinnularia divergentissima					X
Pinnularia microstauron					X
Pinnularia sp.					X
Planothidium delicatulum		X			
Planothidium frequentissimun	X	X	X		X
Planothidium lanceolatum	X	X	X	X	X
Psammothidium abundans			X		
Psammothidium incognitum				X	X
Psammothidium subatomoides			X		X
Pseudostaurosira brevistriata		X	X	X	X
Pseudostaurosira subsalina		X	X		X

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

Especies/Regiones	Biobío	Araucanía	Los Ríos	Los Lagos	Aysén
Reimeria sinuata	X	X	X	X	X
Rhoicosphenia abbreviata	X	X	X	X	X
Rhopalodia gibba		X	X	X	X
Rhopalodia sp.				X	
Stauroforma exiguiformis					X
Stauroneis heinii				X	
Staurosira venter					X
Staurosirella pinnata		X	X	X	X
Tabellaria flocculosa			X	X	X
Ulnaria acus			X	X	X
Ulnaria ulna		X	X	X	X
Urosolenia eriensis		X		X	X
147	**41**	**65**	**80**	**82**	**117**

Fuente: Elaboración Propia.

En la Figura 9-40 se ilustran las abundancias relativas detectadas en las regiones estudiadas.

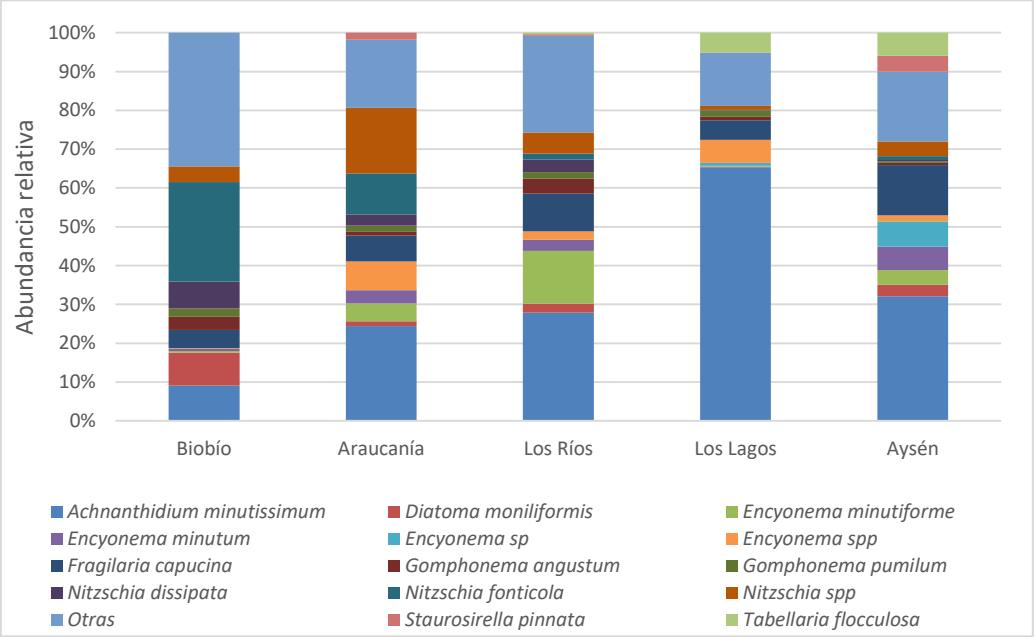


Figura 9-40. Abundancias relativas de las diatomeas bentónicas por región.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

En relación a los análisis de similitud (ANOSIM), donde la base es comparar la composición y la abundancia obtenida para las diatomeas bentónicas, se observó que entre los muestreos realizados en los períodos de primavera-verano y otoño no se evidenciaron diferencias significativas ($p>0.05$).

En cambio, al analizar los grupos asociados a la presencia y ausencia de *D. geminata* se observaron diferencias significativas para diatomeas ($p<0.05$), al igual que la comparación entre regiones ($p<0.05$), por lo que los datos fueron analizados en forma separada, ver Figura 9-40.

Respecto a las estaciones con presencia de *D. geminata*, fueron registrados 110 especies (Tabla 9-9), siendo las más abundantes *Achnanthidium minutissimum* (33.26%), *Nitzschia* spp. (9.40%) y *Fragilaria capucina* (8.10%). Mientras que, las estaciones con ausencia de *D. geminata* se registraron 127 especies, siendo las más abundantes *Achnanthidium minutissimum* (29.54%), *Fragilaria capucina* (11.62%) y *Diatoma moniliformis* (4.81%) (Tabla 9-9; Figura 9-41).

Tabla 9-9. Listado de especies de diatomeas según presencia y ausencia de *D. geminata*. Letra X indica presencia de la especie correspondiente en la condición indicada.

Especies/Regiones	Presencia	Ausencia
Achnanthidium exiguum	X	
Achnanthidium minutissimum	X	X
Achnanthidium saprophilum	X	X
Actinella sp.		X
Amphipleura sp.	X	
Amphora spp.	X	
Asterionella formosa		X
Aulacoseira alpigena	X	
Aulacoseira distans		X
Aulacoseira granulata	X	X
Brachysira neoexilis	X	X
Brachysira styriaca		X
Cavinula cocconeiformis f elliptica		X
Cavinula pseudoscutiformis	X	X
Centrales indet	X	X
Chamaepinnularia		X
Cocconeis cf. neothumensis	X	X
Cocconeis placentula var. euglypta	X	X
Craticula sp.		X
Cyclotella meneghiniana	X	X
Cyclotella ocellata	X	X
Cymbella aff. cymbiformis	X	
Cymbella affinis	X	X
Cymbella cistula		X

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

Especies/Regiones	Presencia	Ausencia
Cymbella helvetica		X
Cymbella neocistula	X	X
Cymbella simonsenii		X
Cymbella sp.	X	X
Cymbella tumida	X	X
Denticula kuetzingii	X	
Denticula subtilis	X	
Diatoma hyemalis	X	
Diatoma mesodon	X	X
Diatoma moniliformis	X	X
Diatoma sp.		X
Diatoma vulgaris	X	X
D. geminata	X	X
Diploneis ovalis	X	
Discostella stelligera	X	X
Distrionella germainii	X	X
Encyonema gracile	X	X
Encyonema minutiforme	X	X
Encyonema minutum	X	X
Encyonema silesiacum	X	X
Encyonema sp.	X	
Encyonema spp.	X	X
Encyonopsis cesatii	X	X
Encyonopsis microcephala	X	X
Eolimna sp.	X	
Epithemia adnata	X	X
Epithemia sorex	X	X
Eunotia bilunaris	X	X
Eunotia muscicola	X	
Eunotia sp.		X
Eunotia spp.	X	X
Eunotia subarcuatoides		X
Fragilaria capucina	X	X
Fragilaria construens		X
Fragilaria crotonensis	X	X
Fragilaria nanana	X	X
Fragilaria tenera		X
Fragilariaceae	X	X
Fragilariforma bicapitata	X	X
Frustulia amphipleuroides	X	X
Frustulia crassinervia		X
Frustulia rhomboides		X
Frustulia saxonica	X	X
Frustulia vulgaris	X	X
Geissleria decussis	X	X

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

Especies/Regiones	Presencia	Ausencia
Gomphoneis minuta	X	X
Gomphoneis sp.	X	X
Gomphoneis sp. 1	X	X
Gomphonema angustum	X	X
Gomphonema auritum		X
Gomphonema calcifugum	X	X
Gomphonema cf scharfii		X
Gomphonema clavatum		X
Gomphonema clevei	X	X
Gomphonema gracile	X	X
Gomphonema minuta	X	X
Gomphonema minutum	X	X
Gomphonema olivaceum	X	X
Gomphonema parvulum	X	X
Gomphonema pumilum	X	X
Gomphonema scharfii	X	X
Gomphonema sp. 1	X	X
Gomphonema spp.	X	X
Hannaea arcus	X	X
Karayevia clevei	X	
Karayevia oblongella		X
Luticola mutica		X
Mastogloia smithii	X	
Mayamaea atomus		X
Melosira varians	X	X
Meridion circulare	X	X
Navicula capitatoradiata	X	X
Navicula cf. perminuta		X
Navicula cryptocephala	X	X
Navicula cryptotenella	X	X
Navicula cryptotenelloides	X	X
Navicula gregaria	X	X
Navicula radiosa	X	X
Navicula rhynchocephala		X
Navicula sp.		X
Navicula sp. 2		X
Navicula tripunctata	X	X
Navicula veneta	X	
Navicula viridula	X	X
Nitzschia fonticola		X
Nitzschia aff. fonticola	X	X
Nitzschia bacillum	X	
Nitzschia cf. fonticola		X
Nitzschia dissipata	X	X
Nitzschia fonticola	X	X

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

Especies/Regiones	Presencia	Ausencia
Nitzschia frustulum	X	X
Nitzschia gracilis	X	X
Nitzschia inconspicua	X	X
Nitzschia liebetruthii		X
Nitzschia linearis	X	
Nitzschia palea	X	X
Nitzschia spp.	X	X
Nupela chilensis	X	X
Pennales indet	X	X
Pinnularia borealis	X	
Pinnularia divergentissima		X
Pinnularia microstauron		X
Pinnularia sp.	X	
Planothidium delicatulum	X	
Planothidium frequentissimun		X
Planothidium lanceolatum	X	X
Psammothidium abundans		X
Psammothidium incognitum	X	X
Psammothidium subatomoides	X	X
Pseudostaurosira brevistriata	X	X
Pseudostaurosira subsalina	X	X
Reimeria sinuata	X	X
Rhoicosphenia abbreviata	X	X
Rhopalodia gibba	X	X
Rhopalodia sp.		X
Stauroforma exiguiformis	X	X
Stauroneis heinii		X
Staurosira venter		X
Staurosirella pinnata	X	X
Tabellaria flocculosa	X	X
Ulnaria acus	X	X
Ulnaria ulna	X	X
Urosolenia eriensis	X	X
Total	**110**	**127**

Fuente: Elaboración Propia.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

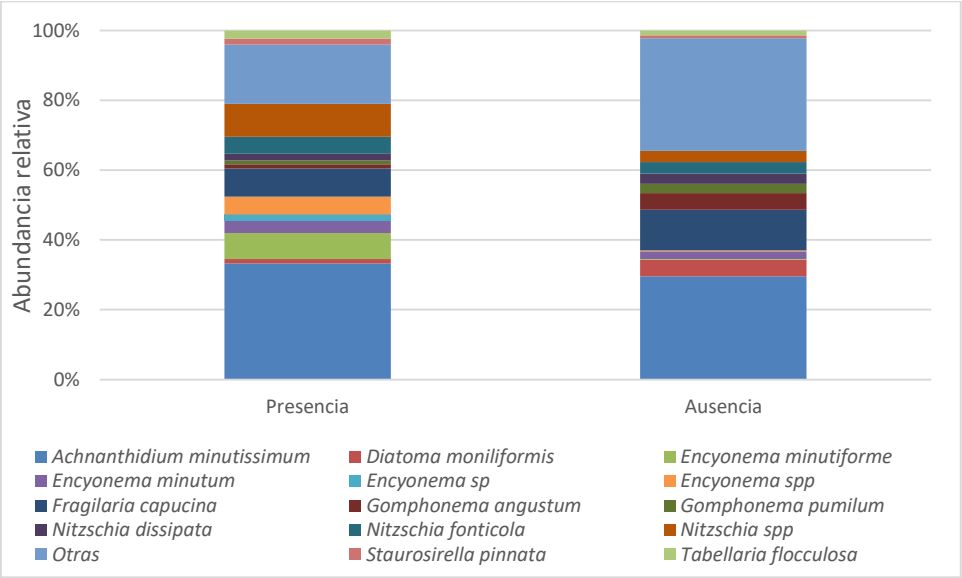


Figura 9-41. Abundancias relativas de las diatomeas bentónicas según presencia y ausencia de *D. geminata*.

Parámetros Comunitarios

A continuación se describen los parámetros comunitarios de las diatomeas bentónicas, a nivel de región y en ríos con presencia y ausencia de *D. geminata*. En la Tabla 9-10, se presentan los valores promedio y el error estándar asociado por región y en ríos con presencia y ausencia de *D. geminata*.

Tabla 9-10. Parámetros comunitarios de las diatomeas bentónicas, a nivel de región y según presencia y ausencia de *D. geminata*. Los valores indican el promedio y el error estándar.

Región/Parámetro	Riqueza N°especies/estación	Densidad (cel/mm^2)	Índice de Shannon	Índice de Simpson	Índice de Equitatividad
Región					
Biobío	13.89 ± 0.99	1859.38 ± 954.61	1.98 ± 0.11	0.79 ± 0.03	0.76 ± 0.04
Araucanía	14.66 ± 0.82	23730.73 ± 8413.16	1.98 ± 0.08	0.78 ± 0.02	0.75 ± 0.02
Los Rios	12.07 ± 0.62	7238.61 ± 1641.89	1.81 ± 0.06	0.75 ± 0.02	0.75 ± 0.02
Los Lagos	10.78 ± 0.82	6510.27 ± 1489.91	1.56 ± 0.12	0.64 ± 0.04	0.65 ± 0.04
Aysén	13.18 ± 0.83	6624.98 ± 2045.62	1.74 ± 0.08	0.71 ± 0.02	0.71 ± 0.02
D. geminata					
Presencia	14.65 ± 0.76	22338.47 ± 4168.26	1.86 ± 0.07	0.73 ± 0.02	0.71 ± 0.02
Ausencia	11.67 ± 0.43	2403.10 ± 378.40	1.73 ± 0.05	0.71 ± 0.02	0.72 ± 0.02
Total general	12.67 ± 0.39	9081.95 ± 1563.73	1.77 ± 0.04	0.72 ± 0.01	0.72 ± 0.01

Fuente: Elaboración Propia.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

Riqueza

La riqueza de especies promedio entre regiones fue de 12.67 especies/estación, las que no registraron diferencias estadísticas significativas ($p>0.05$; Figura 9-42).

En la región del Biobío, se presentó una riqueza promedio de 13.89 especies/estación, con un máximo de 18 especies en la estación Biobio_120, y un mínimo de 9 especies en la estación Biobío_110. En la región de la Araucanía se registró una riqueza promedio de 14.66 especies/estación, con un máximo de 23 especies en la estaciones Biobio_020 y Liucura_Biobio_020; y un mínimo de 7 especies en la estación Voipir_060. En la región de Los Ríos, la riqueza promedio fue de 12.07 especies/estación, con un máximo de 25 especies en las estaciones Enco_020 y San_Pedro_030, y un mínimo de 5 especies en Golgol_019. En Los Lagos se registró una riqueza promedio de 10.78 especies/estación, con un máximo de 22 especies en Futaleufu_080 y un mínimo de 0 especies en la estación Huenu_Huenu_012. Por último, en la región de Aysén la riqueza promedio fue de 12.18 especies/estación, con un máximo de 30 especies en la estación Norte_010, y un mínimo de 0 especies en la estación Risopatron_019.

Respecto a presencia y ausencia de *D. geminata*, se registró diferencias estadísticas significativas en relación a la riqueza ($p<0.05$; Figura 9-42).

En presencia de *D. geminata* la riqueza promedio fue de 14.65 especies/estación, con un máximo de 30 especies en la estación Norte_010 y un mínimo de 5 especies en la estación Pedregoso_Aysen_010. Mientras que, en ausencia de *D. geminata*, la riqueza promedio fue de 11.67 especies/estación, con un máximo de 25 especies en la estación Rosselot_010 y un mínimo de 0 especies en las estaciones Huenu_Huenu_012 y Risopatron_019.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

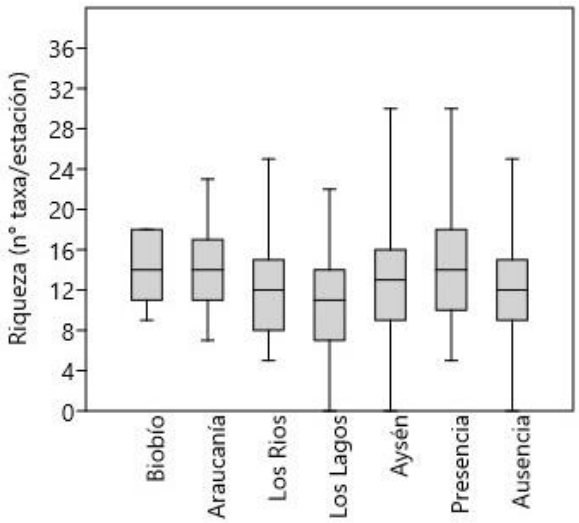


Figura 9-42. Boxplot de riqueza de especies de diatomeas bentónicas, por región de y en ríos con ausencia y presencia de *D. geminata*.

Densidad

La densidad promedio entre regiones fue de 9081.95 cel/mm^2, registrándose diferencias estadísticas significativas entre regiones ($p<0.05$; Figura 9-43).

La región del Biobío, presentó una densidad promedio de 1859.38 cel/mm^2, con un máximo de 9300.22 cel/mm^2 en la estación Diguillin_A, y un mínimo de 222.99 cel/mm^2 en la estación Biobío_120. En la región de la Araucanía se registró una densidad promedio de 23730.73 cel/mm^2, con un máximo de 198653.29 cel/mm^2 en la estación Biobio_020 y un mínimo de 93.71 cel/mm^2 en la estación Liucura_Biobio_020. En los Ríos, la densidad promedio fue de 7238.61 cel/mm^2, con un máximo de 58985.13 cel/mm^2 en la estación Llanquihue_030, y un mínimo de 0.00 cel/mm^2 en la esatción Neltume_020. En Los Lagos se registró una densidad promedio de 6510.27 cel/mm^2, con un máximo de 26734.40 cel/mm^2 en la esatción Puelo_020 y un mínimo de 0.00 cel/mm^2 en la estación Huenu_Huenu_012. Por último, en la región de Aysén la densidad promedio fue de 6624.98 cel/mm^2, con un máximo de 75073.55 cel/mm^2 en la estación Simpson_010, y un mínimo de 0.00 cel/mm^2 en las estaciones Bravo_020, Palena_090 y Risopatron_019.

Respecto a presencia y ausencia de *D. geminata*, fueron registrada diferencias estadísticas significativas en relación a densidad ($p<0.05$; Figura 9-43).

En presencia de *D. geminata* la densidad promedio fue de 22338.47 cel/mm^2, con un máximo de 198653.29 cel/mm^2 en la estación Biobio_020 y un mínimo de 15.17 cel/mm^2 en la estación Aysen_050. Mientras que, en ausencia de *D. geminata*, la densidad promedio fue de 2403.10 cel/mm^2, con un máximo de 198653.29 cel/mm^2 enla estación Biobio_020 y un mínimo de 15.17 cel/mm^2 en la estación Aysen_050.

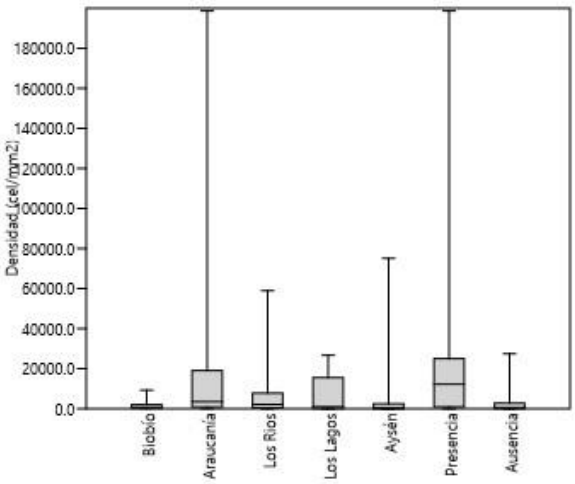


Figura 9-43. Boxplot de densidad de diatomeas bentónicas, por región de análisis y en ríos con ausencia y presencia de *D. geminata*.

Índice de Shannon

La diversidad de Shannon entre regiones registró diferencias estadísticas significativas ($p<0.05$; Figura 9-44).

En la región del Biobío, se presentó una diversidad de Shannon promedio de 1.98, con un máximo de 2.48 en la estación Laja_010, y un mínimo de 1.51 en la estación Chillan_040. En la región de la Araucanía se registró una diversidad promedio de 1.98, con un máximo de 2.87 en la estación Liucura_Biobio_020 y un mínimo de 0.90 en la estación Voipir_060. En los Ríos, la diversidad promedio fue de 1.81, con un máximo de 2.74 en la estación Enco_020 y un mínimo de 0.92 en la estación Golgol_019. En Los Lagos se registró una diversidad promedio de 1.56, con un máximo de 2.67 en la estación Petrohue_010 y un mínimo de 0.00 en la estación Huenu_Huenu_012. Por último, en la región de Aysén la diversidad promedio fue de 1.74, con un máximo de 2.80 en la estación Norte_010, y un mínimo de 0.00 en la estación Risopatron_019.

Respecto a presencia y ausencia de *D. geminata*, no fueron registradas diferencias estadísticas significativas en relación a diversidad de Shannon (p>0.05; Figura 9-44).

En presencia de *D. geminata* la diversidad promedio fue de 1.86, con un máximo de 2.87 en la estación Liucura_Biobio_020 y un mínimo de 0.61 en la estación Puelo_020. Mientras que, en ausencia de *D. geminata*, la diversidad promedio fue de 1.73, con un máximo de 2.73 en la estación Mininco_090 y un mínimo de 0.00 en las estaciones Huenu_Huenu_012 y Risopatron_019.

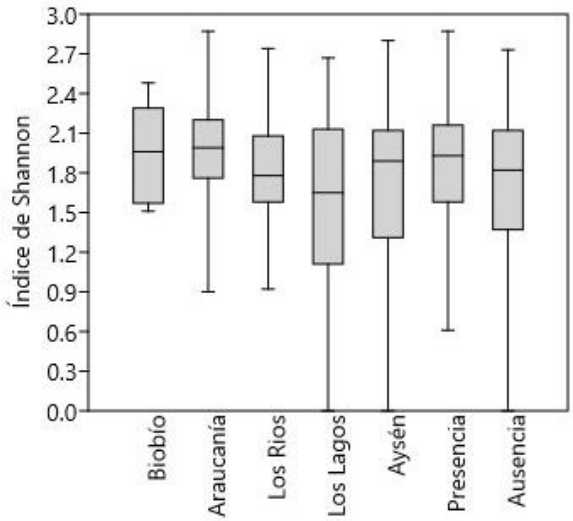


Figura 9-44. Boxplot de índice de diversidad de Shannon de diatomeas, por región y en los ríos con ausencia y presencia de *D. geminata*.

Índice de diversidad de Simpson

La diversidad de Simpson entre regiones presentó diferencias estadísticas significativas (p<0.05; Figura 9-45).

En la región del Biobío, se presentó una diversidad de Simpson promedio de 0.79, con un máximo de 0.91 en la estación Laja_010, y un mínimo de 0.62 en la estación Biobío_120. En la región de la Araucanía se registró una diversidad promedio de 0.78, con un máximo de 0.93 en la estación Liucura_Biobio_020 y un mínimo de 0.40 en la estación Voipir_060. En los Ríos, la diversidad media fue de 0.75, con un máximo de 0.91 en Enco_020 y Neltume_020, y un mínimo de 0.39 en Fuy_030. En Los Lagos se registró una diversidad media de 0.64, con un máximo de 0.91 en Cochamo_030 y Petrohue_010; y un mínimo de 0.00 en Huenu_Huenu_012. Y en Aysén la

diversidad media fue de 0.71, con un máximo de 0.91 en Nirehuao_020, y un mínimo de 0.00 en Risopatron_019.

Respecto a presencia y ausencia de *D. geminata*, no fue registrada diferencias estadísticas significativas en relación a diversidad de Simpson (p>0.05; Figura 9-45).

En presencia de *D. geminata* la diversidad promedio fue de 0.73, con un máximo de 0.93 en la estación Liucura_Biobio_020 y un mínimo de 0.24 en la estación Puelo_020. Mientras que, en ausencia de *D. geminata*, la diversidad promedio fue de 0.71, con un máximo de 0.92 en la estación Mininco_090, y un mínimo de 0.00 en las estaciones Huenu_Huenu_012 y Risopatron_019.

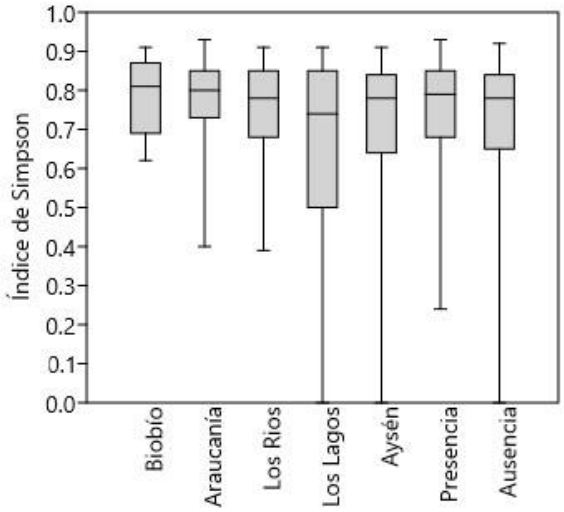


Figura 9-45. Boxplot de índice de diversidad de Simpson de diatomeas, por región y en ríos con ausencia y presencia de *D. geminata*.

Índice de Equitatividad

La equitatividad de Pielou no presentó diferencias estadísticas significativas entre regiones (p>0.05; Figura 9-46).

En la región del Biobío, se observó una equitatividad promedio de 0.76, con un máximo de 0.94 en en la estación Laja_010, y un mínimo de 0.54 en la estación Biobio_120. En la región de la Araucanía se registró una equitatividad promedio de 0.75, con un máximo de 0.92 en la estación Liucura_Biobio_020 y un mínimo de 0.46 en la estación Voipir_060.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

En los Ríos, la equitatividad promedio fue de 0.75, con un máximo de 0.96 en la estación Enco_020, y un mínimo de 0.42 en la estación Caunahue_020. En Los Lagos se registró una equitatividad promedio de 0.65, con un máximo de 0.93 en la estación Est_Correntoso_090 y un mínimo de 0.00 en la estación Huenu_Huenu_012. Por último, en la región de Aysén la equitatividad promedio fue de 0.71, con un máximo de 0.95 en las estaciones Coyhaique_010 y Palena_100, y un mínimo de 0.00 en la estación Risopatron_019.

Respecto a presencia y ausencia de *D. geminata*, no fueron registradas diferencias estadísticas significativas en relación a equitatividad de Pielou ($p>0.05$; Figura 9-46).

En presencia de *D. geminata* la equitatividad promedio fue de 0.71, con un máximo de 0.95 en la estación Coyhaique_010 y un mínimo de 0.31 en la estación Puelo_020. Mientras que, en ausencia de *D. geminata*, la equitatividad promedio fue de 0.72, con un máximo de 0.96 en la estación Enco_020 y un mínimo de 0.00 en las estaciones Huenu_Huenu_012 y Risopatron_019.

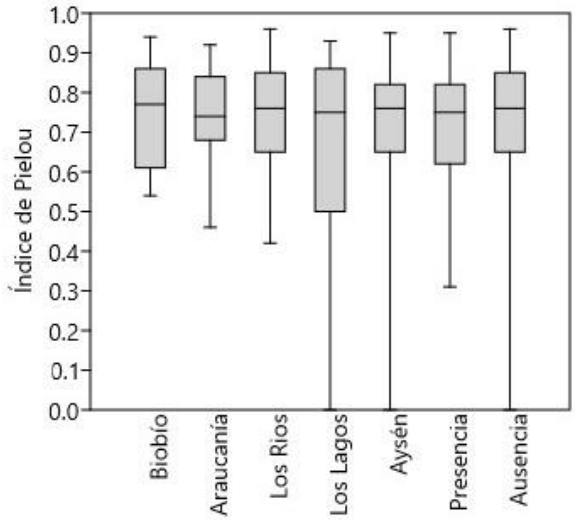


Figura 9-46. Boxplot de índice de Equitatividad de Pielou de diatomeas, por región y en ríos con ausencia y presencia de *D. geminata*.

9.1.3.3 Mesohábitat

El resultado taxonómico de cada género de microalgas bentónicas hallado en el mesohabitat de cada campaña de muestreo se encuentra en el Anexo 15.

Para el análisis del mesohábitat se identificaron zonas de bloom y no bloom algal de Didymo. El criterio fue el siguiente: Sí la estación presentó Didymo visible con espesor y cobertura cualitativa mayor o igual a 3 se determino como zona de bloom, según lo descrito en la Tabla 8-4. Para este análisis también se consideraron otras varables como: profundidad y velocidad de fondo.

Respecto al espesor cuantitativo no fueron registradas diferencias estadísticas significativas para los mesohábitat denominados corrientes, pozo, rápidos y tabla (p>0.05), con valores promedios de 22.19; 34.81; 16.45 y 29.7 cm respectivamente (Figura 9-47).

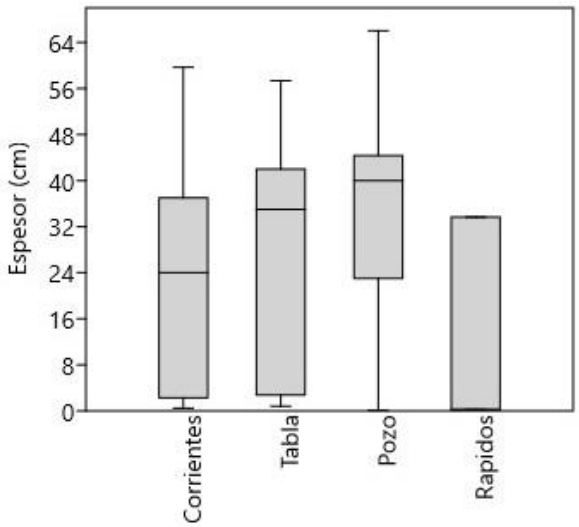


Figura 9-47. Espesor del moco de Didymo, en distintos mesohábitats analizados.

La profundidad según tipo de mesohábitat registró diferencias estadísticas significativas para corrientes, pozo, rápidos y tabla (p<0.05), con promedios de 11.32, 10.99, 13.61 y 9.75 cm respectivamente (Figura 9-48).

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

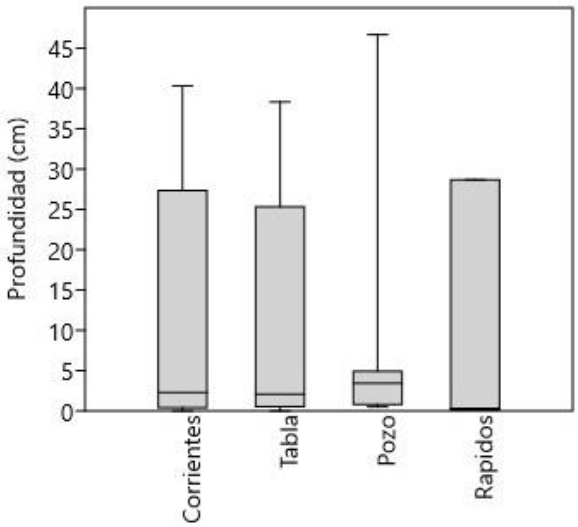


Figura 9-48. Profundidad asociada a los distintos mesohábitats analizados.

La velocidad de fondo evidenció diferencias estadísticas significativas entre los mesohábitat corrientes y pozo ($p<0.05$), mientras que el resto entre sí no presentaron diferencias estadísticas significativas ($p>0.05$). La velocidad de fondo promedio para los mesobábitats corriente, pozo, rápidos y tabla fueron 0.44, 0.22, 0.43 y 0.35 m/s respectivamente (Figura 9-49).

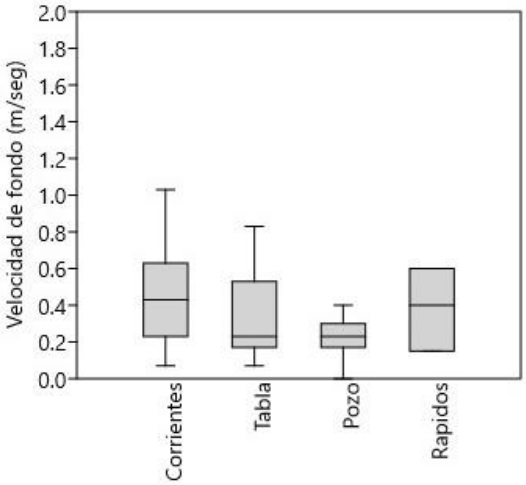


Figura 9-49. Velocidad de fondo asociada a los distintos mesohábitats analizados.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

En relación al perifiton asociado a los mesohábitats, se detectaron un total de 34 géneros. Por mesohábitats, se registraron 30 géneros en corrientes, 25 en pozo, 21 en rápidos y 28 en tabla (Tabla 9-11). Respecto a la composición de géneros del perifiton según tipo de mesohábitat, no fueron evidenciadas diferencias significativas (p>0.05).

Tabla 9-11. Géneros de perifiton presentes según tipo de mesohábitat. Letra X indica presencia de dicho género en el tipo de mesohábitat señalado.

Género/ Mesohábitat	Corrientes	Pozo	Rápidos	Tabla
Achnanthidium	X	X	X	X
Anabaena	X	X	X	X
Ankistrodesmus	X			
Cocconeis				X
Cosmarium	X	X		X
Cymbella	X	X	X	X
Denticula	X	X	X	X
Diatoma	X	X	X	X
Didymosphenia	X	X	X	X
Dinobryon	X			
Encyonema		X	X	
Ephitemia	X	X		X
Fragilaria	X	X	X	X
Frustulia	X			
Gomphoneis	X		X	X
Gomphonema	X	X	X	X
Gyrozigma	X			
Hannaea	X	X	X	X
Mastogloia		X		
Melosira	X		X	X
Monoraphidium	X	X		X
Mougeotia	X			X
Navicula	X	X	X	X
Nitzschia	X	X	X	X

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

Género/ Mesohábitat	Corrientes	Pozo	Rápidos	Tabla
Achnanthidium	X	X	X	X
Oscillatoria	X			X
Pediastrum	X	X		X
Pennales indet	X	X		X
Rhoicosphenia	X		X	X
Rhopalodia	X	X	X	X
Scenedesmus	X	X	X	X
Spirogyra		X		
Staurastrum	X			
Tabellaria	X	X	X	X
Ulnaria	X	X	X	X
34	**30**	**25**	**21**	**28**

En el mesohábitat tipo corrientes, los géneros de perifiton más abundantes fueron Achnanthidium (48.92%), Nitzschia (11.03%) y Fragilaria (3.82%); en pozo fue Achnanthidium (52.73%), Nitzschia (10.55%) y Didymosphenia (2.84%); en rápidos fueron Nitzschia (28.46%), Fragilaria (28.18%) y Diatoma (13.14%) y en tabla los géneros más representativos fueron Nitzschia (30.35%), Achnanthidium (24.54%) y Tabellaria (4.94%), ver Figura 9-50.

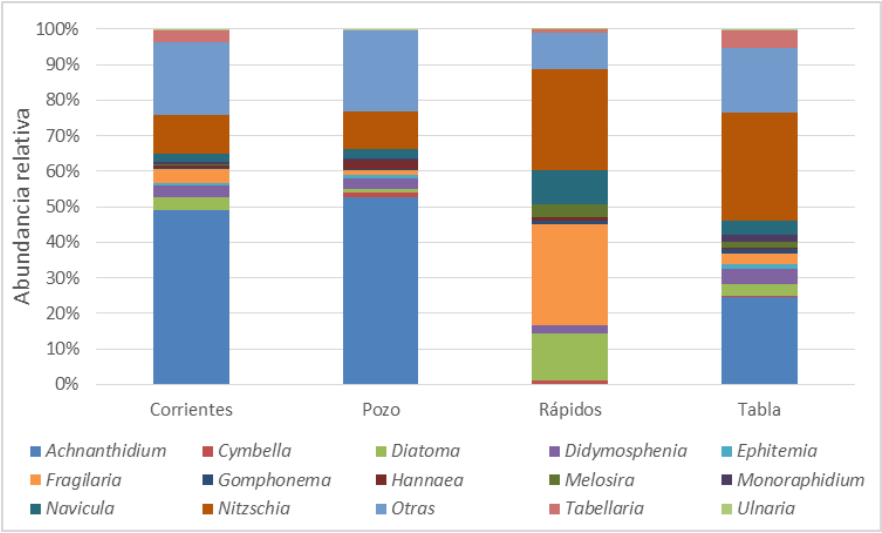


Figura 9-50. Abundancias relativas del perifiton asociados a los mesohábitats estudiados.

Por otro lado, se analizaron las diferencias entre las estaciones de muestreo con bloom y sin bloom de Didymo. En las estaciones de muestreo con bloom de Didymo se registraron 34 géneros de perifiton presentes en mesohábitat, siendo los más abundantes Achnanthidium (47.95%), Nitzschia (14.51%) y Fragilaria (4.14%). Mientras que, en las estaciones de muestreo sin bloom fueron registrados 26 géneros de perifiton, siendo los más abundantes Nitzschia (26.87%), Diatoma (7.99%) y *D. geminata* (6.52%) ver Tabla 9-12.

Tabla 9-12. Géneros de perifiton presentes según bloom y no bloom de Didymo. Letra X indica presencia de dicho género en el tipo de condición señalada.

Género	Con bloom de Didymo	Sin bloom de Didymo
Achnanthidium	X	X
Anabaena	X	X
Ankistrodesmus	X	X
Cocconeis	X	
Cosmarium	X	X
Cymbella	X	X
Denticula	X	X
Diatoma	X	X
*D. geminata*sphenia	X	X
Dinobryon	X	
Encyonema	X	
Ephitemia	X	X
Fragilaria	X	X
Frustulia	X	X
Gomphoneis	X	X
Gomphonema	X	X
Gyrozigma	X	
Hannaea	X	X
Mastogloia	X	
Melosira	X	
Monoraphidium	X	X
Mougeotia	X	X
Navicula	X	X
Nitzschia	X	X
Oscillatoria	X	X
Pediastrum	X	X
Pennales indet	X	X
Rhoicosphenia	X	

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

Género	Con bloom de Didymo	Sin bloom de Didymo
Rhopalodia	X	X
Scenedesmus	X	X
Spirogyra	X	X
Staurastrum	X	
Tabellaria	X	X
Ulnaria	X	X
Total	**34**	**26**

Fuente: Elaboración Propia.

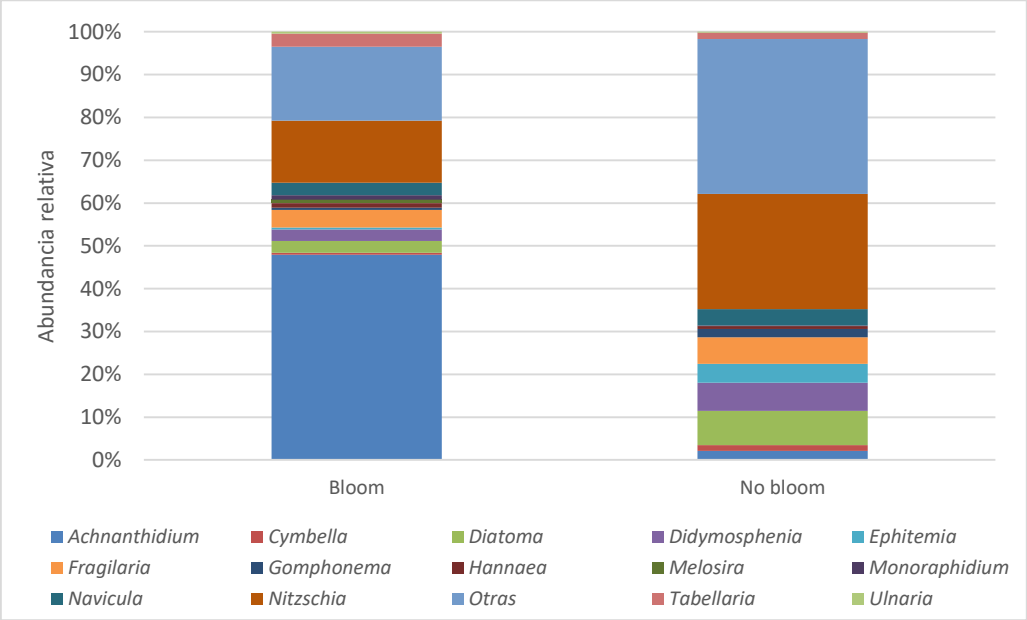


Figura 9-51. Abundancias relativas del perifiton, en estaciones de muestreo con bloom y sin bloom.

Parámetros Comunitarios

Respecto a la riqueza según tipo de mesohábitat, no fueron evidenciadas diferencias estadísticas significativas ($p>0.05$). En corrientes fue observado una riqueza promedio de 9.16 géneros/estación, en pozo 9.40 géneros/estación, en rápidos 10.00 géneros/estación y en tabla 9.53 géneros/estación (Figura 9-52).

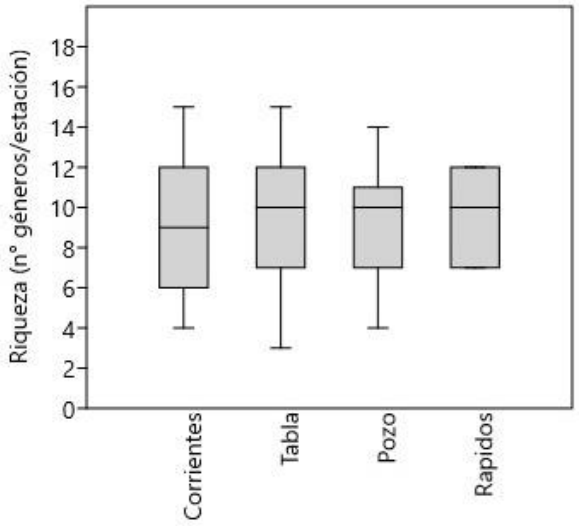


Figura 9-52. Riqueza de géneros del perifiton, asociadas a los distintos mesohábitats.

Según bloom y sin bloom de *D. geminata*, la riqueza de géneros de perifiton en mesohábitat tampoco evidenció diferencias estadísticas significativas (p>0.05), con promedios de 9.37 y 9.38 géneros/estación respectivamente (Figura 9-53).

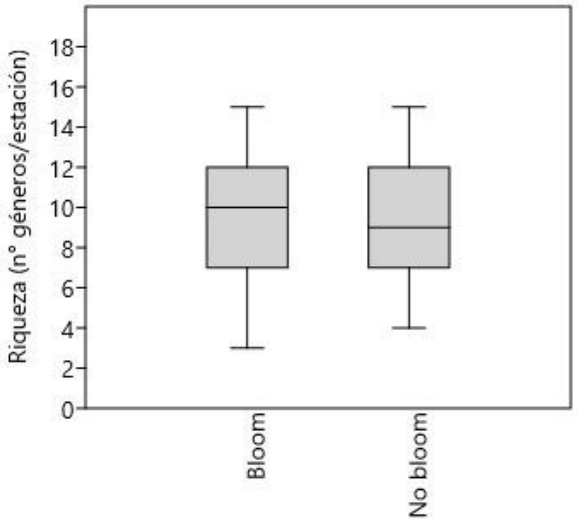


Figura 9-53. Riqueza del perifiton, en estaciones de muestreo con bloom y sin bloom.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

La densidad según tipo de mesohábitat no evidenció diferencias estadísticas significativas ($p>0.05$). En corrientes fue observada una densidad promedio de 8235.69 cel/mm^2, en pozo 8324.85 cel/mm^2, en rápidos 5548.38 cel/mm^2 y en tabla 6016.14 cel/mm^2 (Figura 9-54).

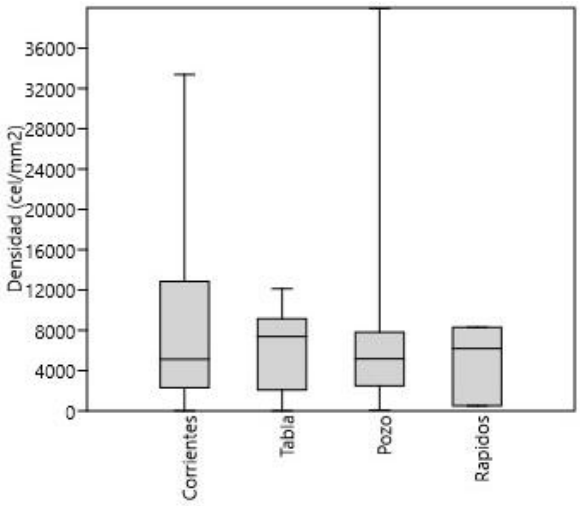


Figura 9-54. Densidad del perifiton, asociadas a los distintos mesohábitats.

Según bloom y no bloom de *D. geminata*, la densidad de perifiton en mesohábitat si evidenció diferencias estadísticas significativas ($p<0.05$), con promedios de 9089.39 y 3511.22 14 cel/mm^2 respectivamente (Figura 9-55).

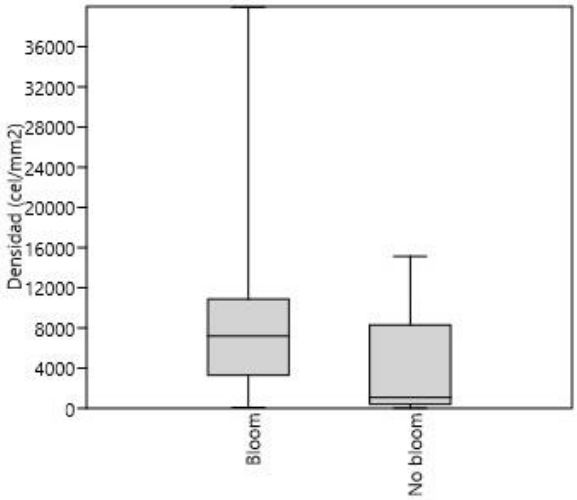


Figura 9-55. Densidad del perifiton, en estaciones de muestreo con bloom y sin bloom de Didymo.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

Respecto al índice de diversidad de Shannon según tipo de mesohábitat, no fueron evidenciada diferencias estadísticas significativas (p>0.05). En corrientes fue observado un índice de diversidad de Shannon medio de 1.26, en pozo 1.22, en rápidos 1.51 y en tabla 1.36 (Figura 9-56).

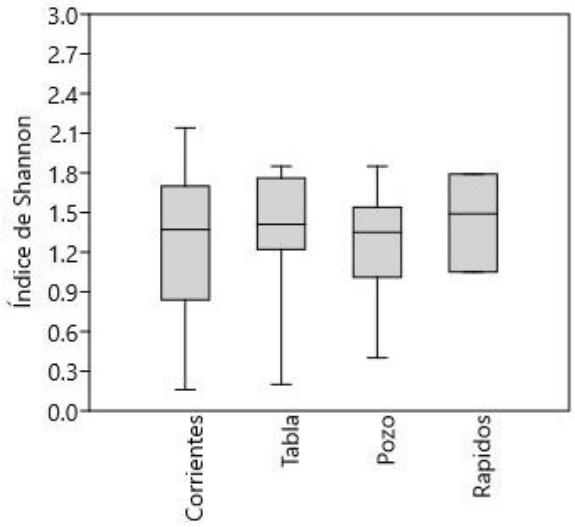


Figura 9-56. Índice de diversidad de Shannon del perifiton, asociadas a los distintos mesohábitats.

Al analizar estaciones de muestreo con bloom y sin bloom de Didymo, la diversidad de Shannon de géneros de perifiton, tampoco evidenció diferencias estadísticas significativas (p>0.05), con promedios de 1.29 y 1.32 respectivamente (Figura 9-57).

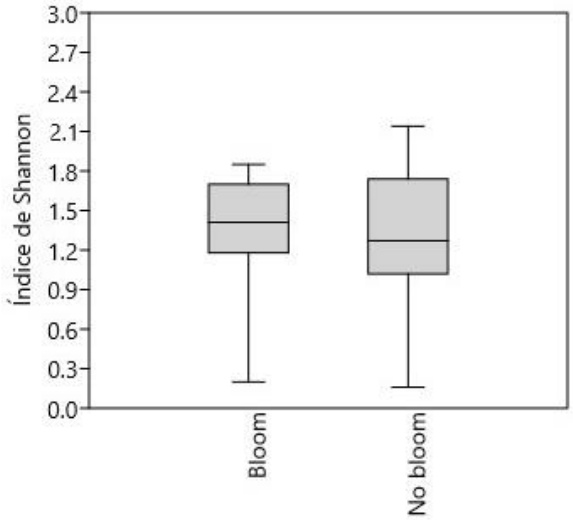


Figura 9-57. Índices de diversidad de Shannon del perifiton, en estaciones de muestreo con bloom y sin bloom de Didymo.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

Respecto al índice de diversidad de Simpson según tipo de mesohábitat no se evidenciaron diferencias estadísticas significativas (p>0.05). En corrientes fue observado un índice de diversidad de Simpson medio de 0.57, en pozo 0.55, en rápidos 0.69 y en tabla 0.62 (Figura 9-58).

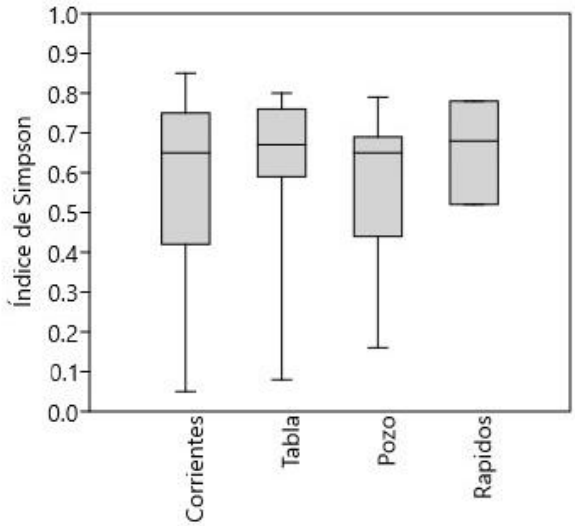


Figura 9-58. Índice de Simpson del perifiton, asociada a los distintos mesohábitats.

Según bloom y no bloom de Didymo, la diversidad de Simpson de géneros de perifiton en mesohábitat tampoco evidenció diferencia estadística significativa (p>0.05), con medias de 0.59 y 0.60 respectivamente (Figura 9-59).

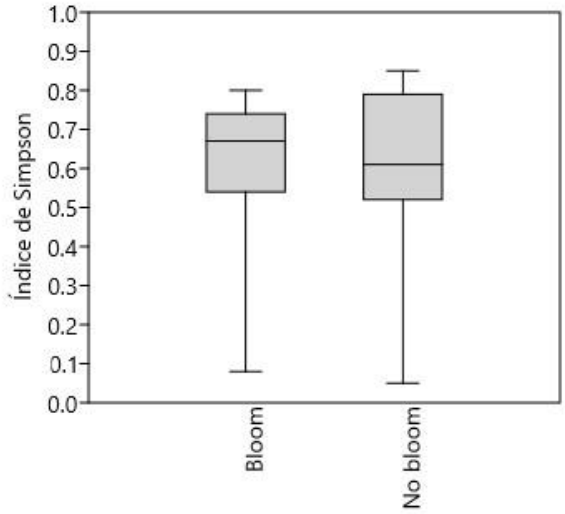


Figura 9-59. Índices de diversidad de Simpson del perifiton, en estaciones de muestreo con bloom y sin bloom de Didymo.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

Respecto a índice de equitatividad de Pielou según tipo de mesohábitat no se detectaron diferencias estadísticas significativas (p>0.05). En corrientes fue observado un índice de equitatividad de Pielou promedio de 0.56, en pozo 0.54, en rápidos 0.66 y en tabla 0.60 (Figura 9-60).

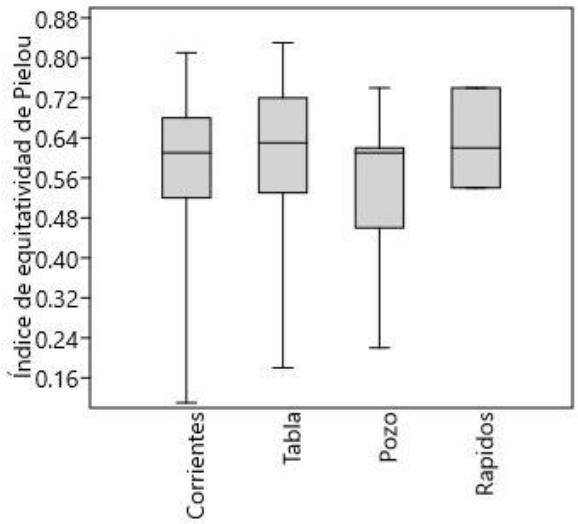


Figura 9-60. Índice de Equitatividad del perifiton, asociada a los distintos mesohábitats.

Según bloom y no bloom de Didymo, la equitatividad de Pielou de géneros de perifiton en mesohábitat tampoco evidenció diferencias estadísticas significativas (p>0.05), con promedios de 0.57 y 0.59 respectivamente (Figura 9-61).

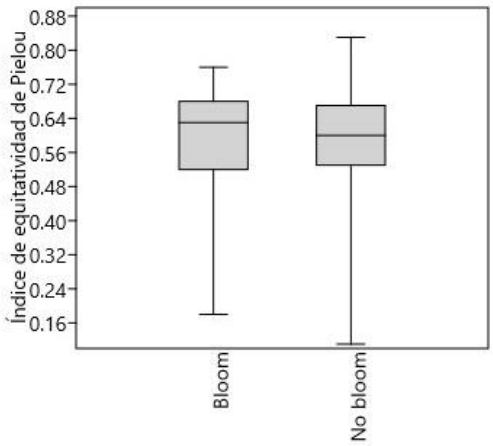


Figura 9-61. Índices de Equitatividad del perifiton, en estaciones de muestreo con bloom y sin bloom de Didymo.

Por último, la densidad asociada a Didymo y su relación con los distintos tipos de mesohábitat, no presentaron diferencias estadísticas significativas al compararlas según tipo de mesohábitat ($p>0.05$), con densidades promedios de 253.68 cel/mm^2, 236.41 cel/mm^2, 138.84 cel/mm^2 y 240.64 cel/mm^2 para los mesohábitat corriente, pozo, rápidos y tabla respectivamente.

Posteriormente, se realizó un análisis de correlaciones de Spearman, en el cual no se evidenciaron relaciones entre la densidad de Didymo con las variables espesor cuantitativo del moco, profundidad de río y velocidad de fondo, ver Figura 9-62.

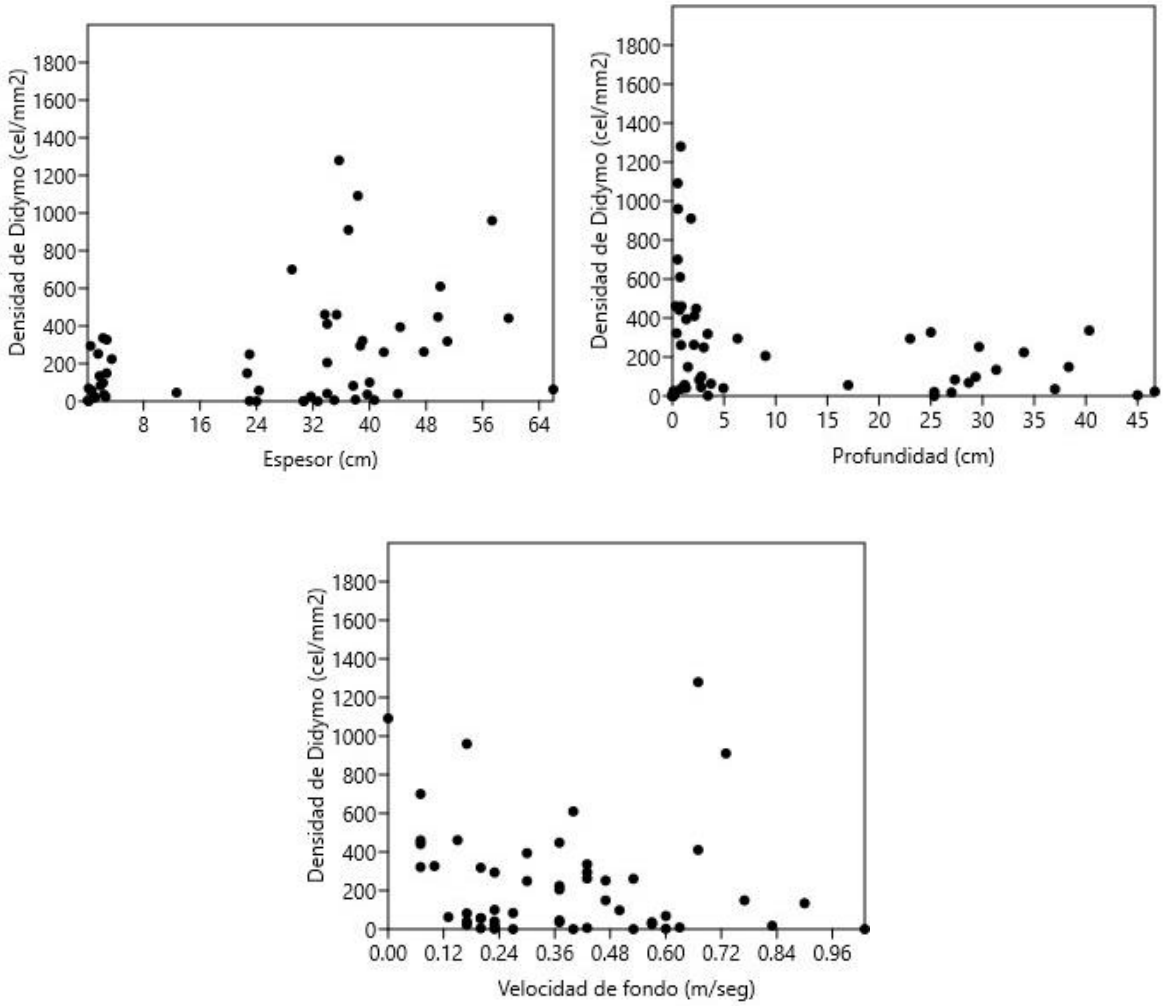


Figura 9-62. Análisis de correlaciones de Spearman, entre Didymo y las variables espesor, profundidad y velocidad de fondo (p>0.05).

Formas de crecimiento

Respecto a las formas de crecimiento según tipo de mesohábitat, al realizar un análisis de similitud (ANOSIM), no se evidenció diferencias estadísticas significativas según tipo de mesohábitat, a saber corriente, pozo, rápidos y tabla ($p<0.05$).

En corrientes, las formas de crecimiento más representativas fueron pedunculada (72.27%), rosetada (15.29%) y no adheridas (8.23%); en pozo fueron pedunculada (83.83%), rosetada (11.49%) y no adheridas (2.61%); en rápidos rosetada (58.04%), no adheridas (18.35%) y pedunculada (13.68%); y en tabla las formas de crecimiento más representativas fueron pedunculada (48.06%), rosetada (32.39%) y no adheridas (11.62%), ver Figura 9-63.

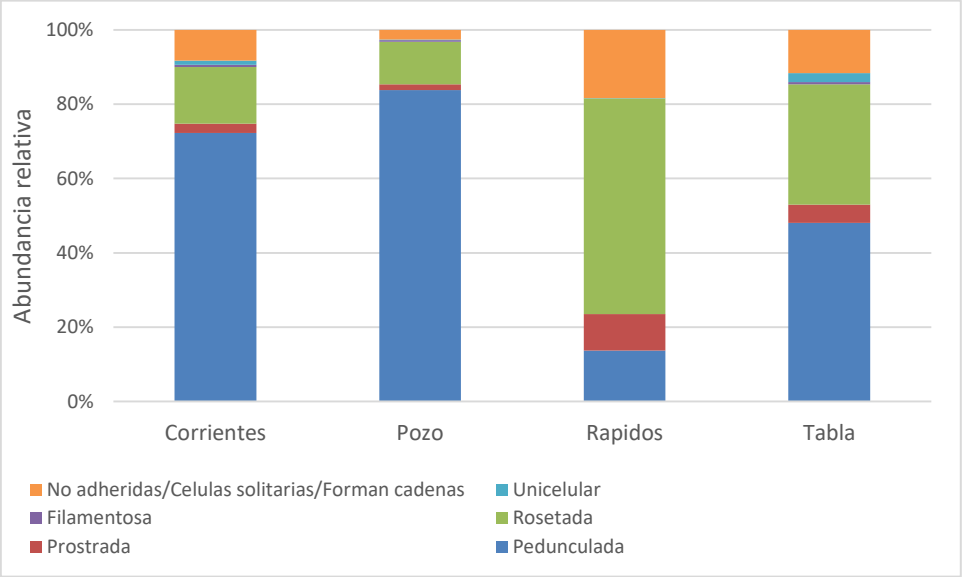


Figura 9-63. Abundancia relativas del perifiton representado a través de las formas de crecimiento y en los respectivos tipos de mesohábitats (ANOSIM; $p>0.05$).

Respecto a la densidad de *D. geminata* relacionada a las formas de crecimiento de microalgas en los mesohábitats evaluados, la forma de crecimiento "pedunculada" fue la que obtuvo la mayor correlación con un 34%. Mientras que, el resto de formas de crecimiento tuvo una correlación menor al 15%.

Al realizar un análisis de similitud (ANOSIM), entre los sectores con y sin bloom de *D. geminata*, tomando como referente las formas de crecimiento, no se detectaron diferencias significativas ($p>0.05$). En sectores con bloom de *D. geminata*, las formas de crecimiento más representativas

fueron “pedunculada” (67.29%), “rosetada” (20.61%) y “no adheridas” (7.83%); mientras que en sectores sin bloom fueron “pedunculada” (56.69%), “rosetada” (22.93%) y “no adheridas” (11.68%), ver Figura 9-64.

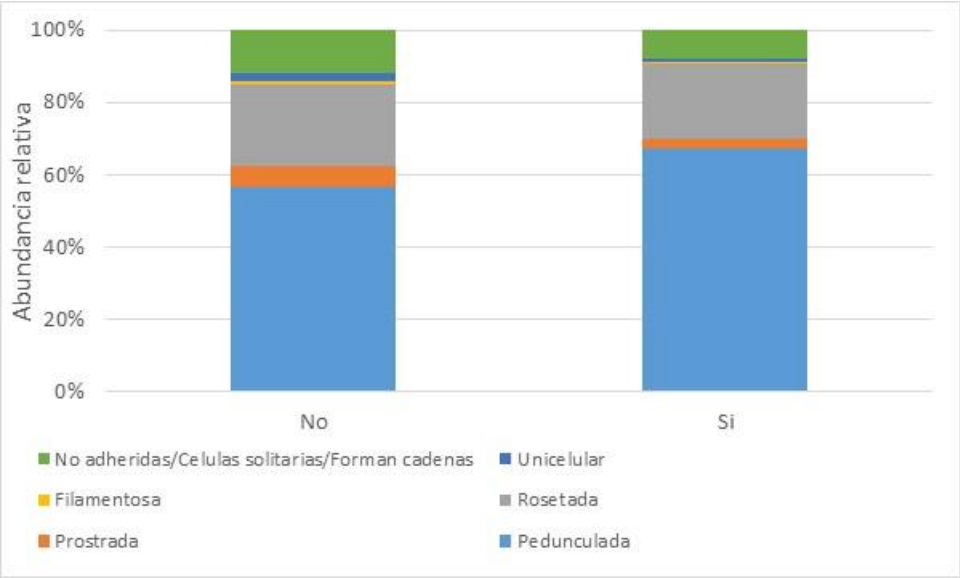


Figura 9-64. Abundancia relativas del perifiton representado a través de las formas de crecimiento y en sectores con y sin bloom (ANOSIM; p>0.05).

9.1.3.4 Macroinvertebrados bentónicos

El resultado taxonómico y las familias más representativas de cada macroinvertebrados bentónicos se encuentran en el Anexo 16 y Anexo 17, respectivamente.

La comunidad de macroinvertebrados bentónicos fue identificada en su mayoría hasta el nivel taxonómico de familia, a excepción de los *taxa*: Hirudinea, Oligochaeta, Nematomorpha, Collembola, Acari y Turbellaria, los que fueron descritos hasta el nivel indicado en la Tabla 9-13. Sin embargo, para evaluarlos en conjunto con el resto de macroinvertebrados, éstos fueron clasificados en familias indeterminadas.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

Tabla 9-13. Macroinvertebrados bentónicos que no fueron identificados hasta nivel taxonómico de familia.

Phylum	Clase	Orden	Familia
Annelida	Hirudinea	Indeterminado	Familia 1 indeterminada
Annelida	Oligochaeta	Indeterminado	Familia 2 Indeterminada
Nematomorpha	Indeterminado	Indeterminado	Familia 3 indeterminada
Platyhelminthes	Turbellaria	Indeterminado	Familia 4 indeterminada
Arthropoda	Arachnoidea	Acari	Familia 5 Indeterminada
Arthropoda	Entognatha	Collembola	Familia 6 Indeterminada

Fuente: Elaboración Propia.

Fue registrado un total de 49 *taxa* de macroinvertebrados entre las cinco regiones analizadas. En la región del Biobío, fueron registrados 24 *taxa*, siendo los más abundantes Leptophlebiidae (36.54%), Hydrobiidae (21.80%) y Baetidae (10.13%); en la Araucanía 40 *taxa*, siendo lo más abundantes Chironomidae (24.02%), Leptophlebiidae (19.59%) y Baetidae (12.48%); en Los Ríos fueron registrados 44 *taxa,* siendo los más abundantes Chironomidae (22.65%), Leptophlebiidae (21.79%) y Hydropsychidae (16.25%); en Los Lagos fueron registrados 32 *taxa*, siendo los más abundantes Chironomidae (25.19%), Leptophlebiidae (20.39%) y Hydropsychidae (9.19%); y en la región de Aysén fueron registrados 37 *taxa,* siendo los más abundantes Chironomidae (35.35%), Leptophlebiidae (15.01%) y Leptophlebiidae (13.87%), (Tabla 9-14; Figura 9-65).

Tabla 9-14. Listado de *taxa* de macroinvertebrados según región de análisis. Letra X indica presencia del *taxa* correspondiente en la región indicada.

Taxa/Regiones	Biobío	Araucanía	Los Ríos	Los Lagos	Aysén
Acari	X	X	X	X	X
Aeglidae	X	X	X	X	X
Aeshnidae	X	X	X	X	X
Ameletopsidae		X	X	X	X
Ancylidae	X	X	X		
Athericidae	X	X	X	X	X
Austroperlidae	X	X	X	X	X
Baetidae	X	X	X	X	X
Blephariceridae	X	X	X		X
Ceratopogonidae		X	X	X	X
Chilinidae	X	X	X	X	X
Chironomidae	X	X	X	X	X
Collembola		X			
Corydalidae	X	X	X	X	
Diamphipnoidae		X	X		
Ecnomidae		X	X		X
Elmidae	X	X	X	X	X

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

Taxa/Regiones	Biobío	Araucanía	Los Ríos	Los Lagos	Aysén
Empididae	X	X	X	X	X
Eustheniidae			X		
Glossosomatidae	X	X	X	X	X
Gripopterygidae	X	X	X	X	X
Gyrinidae			X		
Hirudinea		X	X		X
Hyalellidae	X	X	X		X
Hydraenidae			X		
Hydrobiidae	X	X	X	X	X
Hydrobiosidae		X	X	X	X
Hydrophilidae			X		
Hydropsychidae	X	X	X	X	X
Hydroptilidae		X	X	X	X
Leptoceridae		X	X	X	X
Leptophlebiidae	X	X	X	X	X
Limnephilidae			X		X
Lymnaeidae				X	X
Muscidae			X		X
Nematomorpha		X	X	X	X
Notonemouridae		X	X	X	X
Oligochaeta	X	X	X	X	X
Oniscigastridae		X	X		
Perlidae		X	X	X	X
Physidae		X	X		
Polycentropodidae				X	X
Psephenidae	X	X	X	X	
Pyralidae			X		X
Sericostomatidae		X		X	X
Sialidae		X			X
Simuliidae	X	X	X	X	X
Tipulidae	X	X	X	X	X
Turbellaria	X	X	X	X	
49	**24**	**40**	**44**	**32**	**37**

Fuente: Elaboración Propia.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

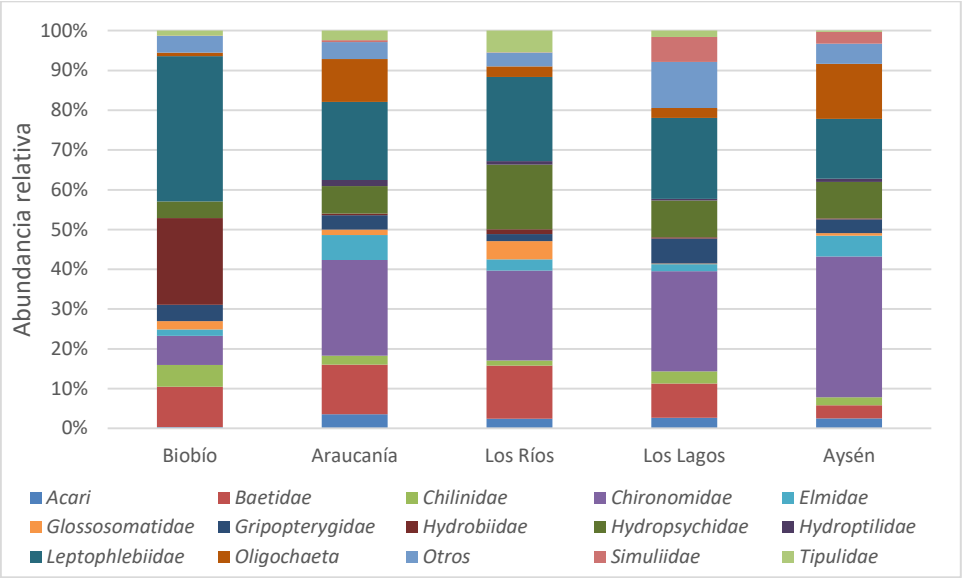


Figura 9-65. Abundancias relativas de *taxa* de macroinvertebrados según región.

Un análisis de similitud (ANOSIM) entre los muestreos realizados en los períodos de primavera-verano y otoño evidenciaron diferencia significativa para los *taxa* de macroinvertebrados ($p<0.05$).

Al analizar la composición y abundancia de macroinvertebrados bentónicos entre ríos con presencia y ausencia de *D. geminata,* se obtuvo diferencias significativas ($p<0.05$). Esto significa que la composición de macroinvertebrados y sus abundancias fueron distintas en ríos con presencia de *D. geminata* y en ríos con ausencia de esta. Mismo resultado fue obtenido al realizar la comparación entre regiones ($p<0.05$), por lo que los datos fueron analizados en forma separada.

Respecto a las estaciones con presencia de *D. geminata*, fueron registrados 39 *taxa*, siendo los más abundantes Chironomidae (33.19%), Oligochaeta (14.47%) y Hydropsychidae (11.48%); mientras que las estaciones con ausencia de *D. geminata* registraron los 49 *taxa*, siendo los más abundantes Leptophlebiidae (19.54%), Chironomidae (26.35%) y Baetidae (9.57%) (Tabla 9-15;Figura 9-66).

Tabla 9-15. Listado de *taxa* de macroinvertebrados según presencia y ausencia de *D. geminata*. Letra X indica presencia del *taxa* correspondiente en la condición indicada.

Taxa/Regiones	Presencia	Ausencia
Acari	X	X
Aeglidae	X	X
Aeshnidae	X	X
Ameletopsidae	X	X
Ancylidae		X
Athericidae	X	X
Austroperlidae	X	X
Baetidae	X	X
Blephariceridae	X	X
Ceratopogonidae	X	X
Chilinidae	X	X
Chironomidae	X	X
Collembola		X
Corydalidae	X	X
Diamphipnoidae	X	X
Ecnomidae		X
Elmidae	X	X
Empididae	X	X
Eustheniidae	X	X
Glossosomatidae	X	X
Gripopterygidae	X	X
Gyrinidae		X
Hirudinea	X	X
Hyalellidae	X	X
Hydraenidae		X
Hydrobiidae	X	X
Hydrobiosidae	X	X
Hydrophilidae		X
Hydropsychidae	X	X
Hydroptilidae	X	X
Leptoceridae	X	X
Leptophlebiidae	X	X
Limnephilidae	X	X
Lymnaeidae	X	X
Muscidae		X
Nematomorpha	X	X
Notonemouridae	X	X
Oligochaeta	X	X
Oniscigastridae	X	X
Perlidae	X	X
Physidae		X
Polycentropodidae		X
Psephenidae	X	X
Pyralidae	X	X
Sericostomatidae	X	X
Sialidae		X
Simuliidae	X	X
Tipulidae	X	X
Turbellaria	X	X
Total	**39**	**49**

Fuente: Elaboración Propia.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

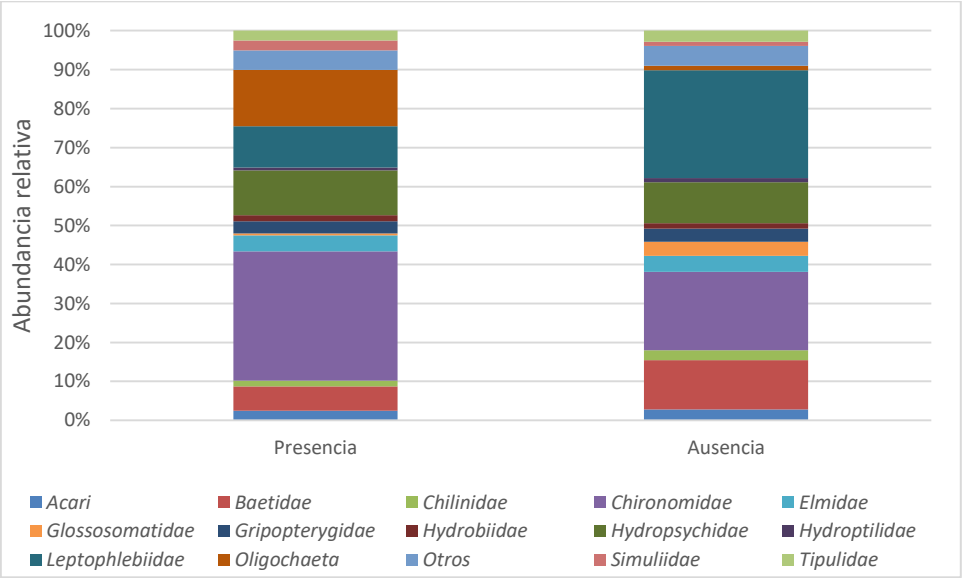


Figura 9-66. Abundancias relativas de *taxa* de macroinvertebrados según presencia y ausencia de *D. geminata*.

Parámetros comunitarios

A continuación se describen los parámetros comunitarios de macroinvertebrados, a nivel de región y en estaciones con presencia y ausencia de *D. geminata* (Tabla 9-16).

Tabla 9-16. Parámetros comunitarios de las macroinvertebrados bentónicas, a nivel de región y según presencia y ausencia de *D. geminata*. Los valores indican el promedio y el error estándar.

Región/Parámetro	Riqueza (N°taxa/estación)	Densidad (ind/m^2)	Índice de Shannon	Índice de diversidad de Simpson	Índice de Equitatividad
Región					
Biobío	9.00 ± 1.49	403.21 ± 128.58	1.21 ± 0.10	0.58 ± 0.04	0.62 ± 0.06
Araucanía	12.60 ± 0.73	668.74 ± 98.65	1.66 ± 0.06	0.72 ± 0.02	0.69 ± 0.02
Los Ríos	10.71 ± 0.56	577.63 ± 84.42	1.46 ± 0.04	0.66 ± 0.02	0.66 ± 0.02
Los Lagos	8.69 ± 0.66	313.58 ± 55.35	1.38 ± 0.08	0.63 ± 0.03	0.67 ± 0.04
Aysén	8.56 ± 0.47	429.13 ± 82.83	1.30 ± 0.06	0.6 ± 0.02	0.64 ± 0.03
D. geminata					
Presencia	11.35 ± 0.42	702.96 ± 91.12	1.48 ± 0.05	0.66 ± 0.02	0.63 ± 0.02
Ausencia	9.10 ± 0.39	380.50 ± 41.01	1.37 ± 0.04	0.63 ± 0.02	0.67 ± 0.02
Total general	9.85 ± 0.30	486.91 ± 41.99	1.41 ± 0.03	0.64 ± 0.01	0.66 ± 0.01

Fuente: Elaboración Propia.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

Riqueza

Se presentó una riqueza promedio de 9.85 *taxa*/estación, registrándose diferencias estadísticas significativas entre regiones ($p<0.05$; Figura 9-67).

En la región del Biobío, se presentó una riqueza promedio de 9.00 t*axa*/estación, con un máximo de 16 *taxa* en Chillan_040, y un mínimo de 3 *taxa* en Biobío_120. En la región de la Araucanía se registró una riqueza promedio de 12.60 *taxa*/estación, con un máximo de 19 *taxa* en Liucura_Tolten_020 y un mínimo de 2 *taxa* en Claro_010. En los Ríos, la riqueza promedio fue de 10.71 *taxa*/estación, con un máximo de 19 *taxa* en Pillanleufu_020, y un mínimo de 2 t*axa* en Neltume_020. En Los Lagos se registró una riqueza promedio de 8.69 *taxa*/estación, con un máximo de 16 *taxa* en Cochamo_030, Futaleufu_080 y Puelo_020; y un mínimo de 0 *taxa* en Huenu_Huenu_012. Y en Aysén la riqueza promedio fue de 8.56 *taxa*/estación, con un máximo de 18 *taxa* en Cisnes_020, y un mínimo de 0 *taxa* en Palena_090.

Respecto a presencia y ausencia de *D. geminata*, fue registrada diferencia estadística significativa en relación a riqueza ($p<0.05$; Figura 9-67).

En presencia de *D. geminata* la riqueza promedio fue de 11.35 *taxa*/estación, con un máximo de 19 *taxa* en Pillanleufu_020 y un mínimo de 3 *taxa* en Baker_060. Mientras que en ausencia de *D. geminata*, la riqueza promedio fue de 9.10 *taxa*/estación, con un máximo de 19 *taxa* en Liucura_Tolten_020 y un mínimo de 0 *taxa* en Huenu_Huenu_012 y Palena_090.

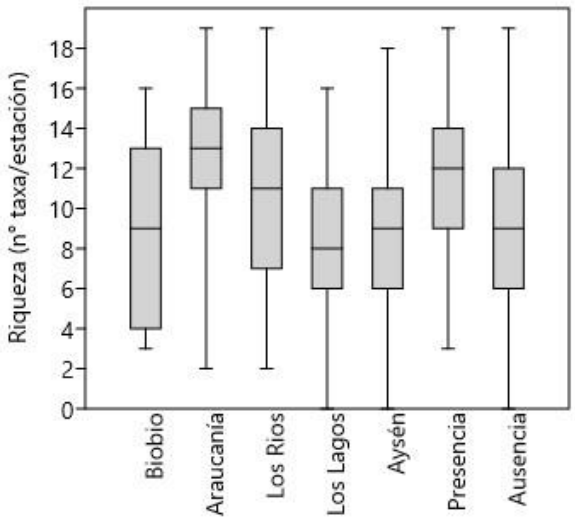


Figura 9-67. Boxplot de riqueza de *taxa* de macroinvertebrados, por región de análisis y ausencia y presencia de *D. geminata.*

Densidad

Se presentó una densidad promedio de 486.91 ind/m^2, registrándose diferencias estadísticas significativas entre regiones ($p<0.05$; Figura 9-68).

En la región del Biobío, se presentó una densidad promedio de 403.21 ind/m^2, con un máximo de 1095.56 ind/m^2 en Chillan_040, y un mínimo de 11.11 ind/m^2 en Biobío_120. En la región de la Araucanía se registró una densidad promedio de 668.74 ind/m^2, con un máximo de 2255.56 ind/m^2 en Biobio_050 y un mínimo de 6.67 ind/m^2 en Claro_010. En los Ríos, la densidad promedio fue de 577.63 ind/m^2, con un máximo de 3251.11 ind/m2 en Remehue_020, y un mínimo de 4.44 ind/m^2 en Neltume_020. En Los Lagos se registró una densidad promedio de 313.58 ind/m^2, con un máximo de 1486.67 ind/m^2 en Futaleufu_010 y un mínimo de 0.00 ind/m^2 en Huenu_Huenu_012. En Aysén la densidad promedio fue de 429.13 ind/m^2, con un máximo de 3393.33 ind/m^2 en Pico_020, y un mínimo de 0.00 ind/m^2 en Palena_090.

Respecto a presencia y ausencia de *D. geminata*, fue registrada diferencia estadística significativa en relación a densidad ($p<0.05$; Figura 9-68).

En presencia de *D. geminata* la densidad promedio fue de 702.96 ind/m^2, con un máximo de 3393.33 ind/m^2 en Pico_020 y un mínimo de 13.33 ind/m^2 en Baker_060. Mientras que en ausencia de *D. geminata*, la densidad promedio fue de 380.50 ind/m^2, con un máximo de 3251.11 ind/m^2 en Remehue_020 y un mínimo de 0.00 ind/m^2 en Huenu_Huenu_012 y Palena_090.

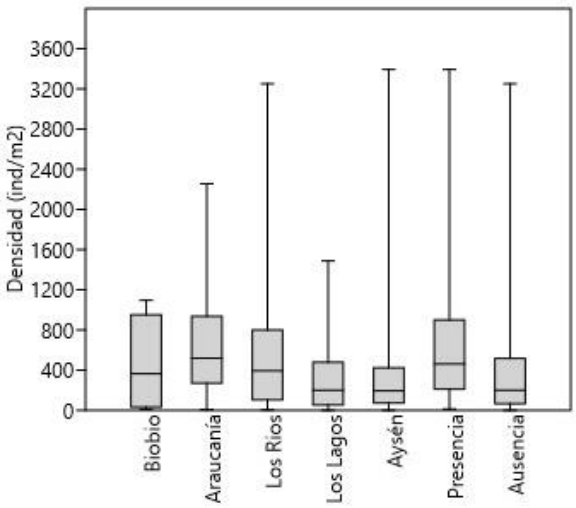


Figura 9-68. Boxplot de densidad de taxa de macroinvertebrados, por región de análisis y ausencia y presencia de *D. geminata*.

Índice de Shannon

Se presentó una diversidad de Shannon promedio de 1.41, registrándose diferencias estadísticas significativas entre regiones ($p<0.05$; Figura 9-69).

En la región del Biobío, se presentó una diversidad de Shannon promedio de 1.21, con un máximo de 1.64 en Chillan_040, y un mínimo de 0.68 en Diguillin_A. En la región de la Araucanía se registró una diversidad promedio de 1.66, con un máximo de 2.07 en Voipir_060 y un mínimo de 0.64 en Claro_010. En los Ríos, la diversidad promedio fue de 1.46, con un máximo de 2.01 en Pillanleufu_020, y un mínimo de 0.49 en Golgol_019. En Los Lagos se registró una diversidad promedio de 1.38, con un máximo de 2.09 en Pillanleufu_080 y un mínimo de 0.00 en Apertura_010 y Huenu_Huenu_012. Y en Aysén la diversidad promedio fue de 1.30, con un máximo de 2.04 en Nirehuao_020, y un mínimo de 0.00 en Palena_090 y Palena_100.

Respecto a presencia y ausencia de *D. geminata*, no fue registrada diferencia estadística significativa en relación a diversidad de Shannon ($p>0.05$; Figura 9-69).

En presencia de *D. geminata* la diversidad promedio fue de 1.48, con un máximo de 2.09 en Futaleufu_080 y un mínimo de 0.45 en Simpson_010. Mientras que en ausencia de *D. geminata*, la diversidad promedio fue de 1.37, con un máximo de 2.07 en Voipir_060 y un mínimo de 0.00 en Apertura_010, Huenu_Huenu_012, Palena_090 y Palena_100.

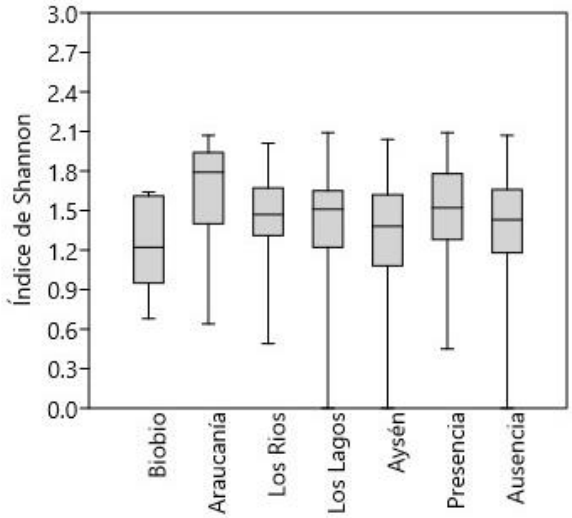


Figura 9-69. Boxplot de índice de diversidad de Shannon de macroinvertebrados, por región de análisis y ausencia y presencia de *D. geminata*.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

Índice de diversidad Simpson

Se presentó una diversidad de Simpson promedio de 0.64, sin registrarse diferencias estadísticas significativas entre regiones (p>0.05; Figura 9-70).

En la región del Biobío, se presentó una diversidad de Simpson promedio de 0.58, con un máximo de 0.73 en Chillan_040, y un mínimo de 0.28 en Diguillin_A. En la región de la Araucanía se registró una diversidad promedio de 0.72, con un máximo de 0.85 en Voipir_060 y un mínimo de 0.44 en Biobio_050 y Claro_010. En los Ríos, la diversidad promedio fue de 0.66, con un máximo de 0.83 en Pillanleufu_020, y un mínimo de 0.18 en Golgol_019. En Los Lagos se registró una diversidad promedio de 0.63, con un máximo de 0.85 en Futaleufu_080 y un mínimo de 0.00 en Apertura_010 y Huenu_Huenu_012. Y en Aysén la diversidad promedio fue de 0.60, con un máximo de 0.84 en Nirehuao_020, y un mínimo de 0.00 Palena_090 y Palena_100.

Respecto a presencia y ausencia de *D. geminata*, no fue registrada diferencia estadística significativa en relación a diversidad de Simpson (p>0.05; Figura 9-70).

En presencia de *D. geminata* la diversidad promedio fue de 0.66, con un máximo de 0.85 en Futaleufu_080 y un mínimo de 0.17 en Simpson_010. Mientras que en ausencia de *D. geminata*, la diversidad promedio fue de 0.63, con un máximo de 0.85 en Voipir_060, y un mínimo de 0.00 en Apertura_010, Huenu_Huenu_012, Palena_090 y Palena_100.

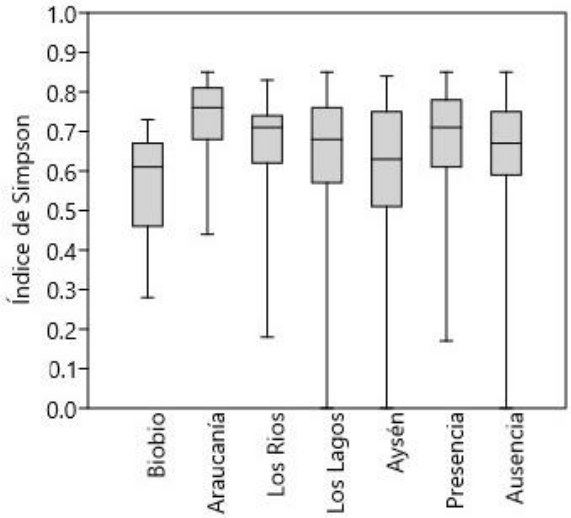


Figura 9-70. Boxplot de índice de diversidad de Simpson de macroinvertebrados, por región de análisis y ausencia y presencia de *D. geminata*.

Índice de Equitatividad

Se presentó una equitatividad de Pielou promedio de 0.66, sin registrarse diferencias estadísticas significativas entre regiones (p>0.05; Figura 9-71).

En la región del Biobío, se presentó una equitatividad de Pielou promedio de 0.62, con un máximo de 0.96 en Biobio_120, y un mínimo de 0.33 en Diguillin_A. En la región de la Araucanía se registró una equitatividad promedio de 0.69, con un máximo de 0.92 en Claro_010 y Mininco_090; y un mínimo de 0.40 en Biobio_050. En los Ríos, la equitatividad promedio fue de 0.66, con un máximo de 1.00 en Neltume_020, y un mínimo de 0.23 en Golgol_019. En Los Lagos se registró una equitatividad promedio de 0.67, con un máximo de 1.00 en Huenu_Huenu_012 y un mínimo de 0.00 en Apertura_010. Y en Aysén la equitatividad promedio fue de 0.64, con un máximo de 1.00 en Risopatron_019, y un mínimo de 0.00 en Palena_090 y Palena_100.

Respecto a presencia y ausencia de *D. geminata*, no fue registrada diferencia estadística significativa en relación a equitatividad de Pielou (p>0.05; Figura 9-71).

En presencia de *D. geminata* la equitatividad promedio fue de 0.63, con un máximo de 0.95 en Puelo_040 y un mínimo de 0.19 en Simpson_010. Mientras que en ausencia de *D. geminata*, la equitatividad promedio fue de 0.67, con un máximo de 1.00 en Huenu_Huenu_012, Neltume_020 y Risopatron_019, y un mínimo de 0.00 en Apertura_010, Palena_090 y Palena_100.

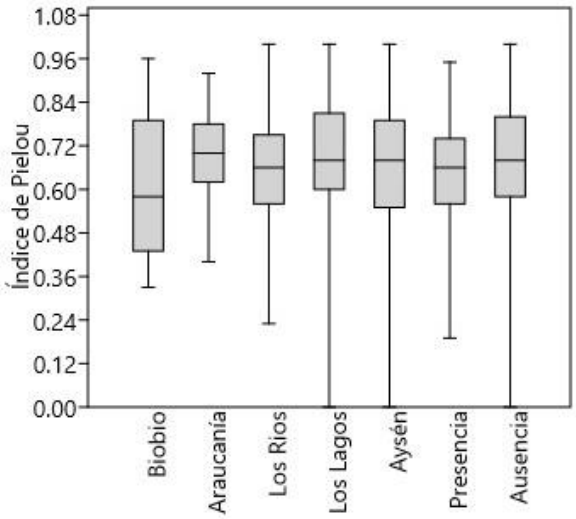


Figura 9-71. Boxplot de índice de Equitatividad de Pielou de macroinvertebrados, por región de análisis y ausencia y presencia de *D. geminata*.

Análisis de Correlación Canónica (CCA) entre parámetros fisicoquímicos *in situ* e índices comunitarios de macroinvertebrados en estaciones con presencia de *D. geminata*

En presencia de *D. geminata*, un análisis de correlación canónica (CCA) respecto a la comunidad de macroinvertebrados relacionada con los parámetros *in situ*, evidenciaron que los índices de riqueza, diversidad y equitatividad se relacionaron de forma directa con la turbidez, oxígeno disuelto y saturación de oxígeno, y de forma inversa con la temperatura, conductividad y pH del agua de los ríos analizados. Respecto a densidad de macroinvertebrados, no evidenció relaciones con los parámetros *in situ* analizados (Figura 9-72).

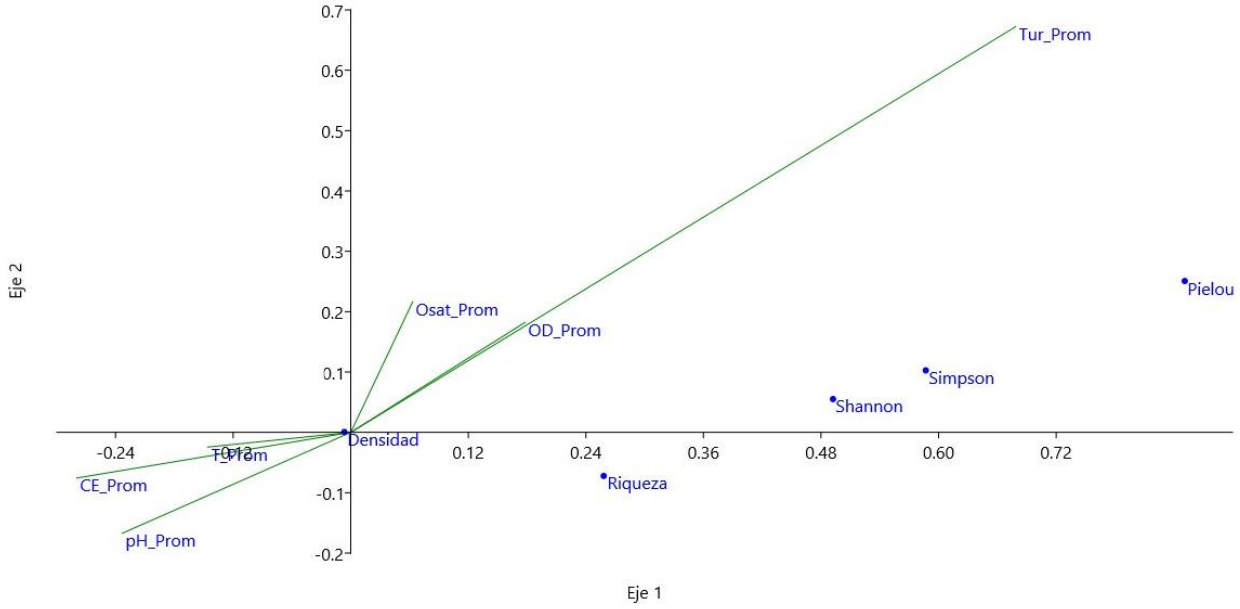


Figura 9-72. Análisis de Correlación Canónica entre parámetros *in situ* e índices comunitarios de macroinvertebrados en presencia de *D. geminata.*

Análisis de Correlación Canónica (CCA) entre parámetros fisicoquímicos *in situ* e índices comunitarios de macroinvertebrados en estaciones con ausencia de *D. geminata*

Mientras que en ausencia de *D. geminata*, un Análisis de Correlación Canónica (CCA) respecto a la comunidad de macroinvertebrados relacionada con los parámetros *in situ*, evidenció que los índices de riqueza, diversidad y equitatividad se relacionaron de forma directa con la turbidez y oxígeno disuelto; y de forma inversa con la saturación de oxígeno, temperatura, conductividad y pH del agua de los ríos analizados. Respecto a densidad de macroinvertebrados, no evidenció relaciones con los parámetros *in situ* analizados (Figura 9-73).

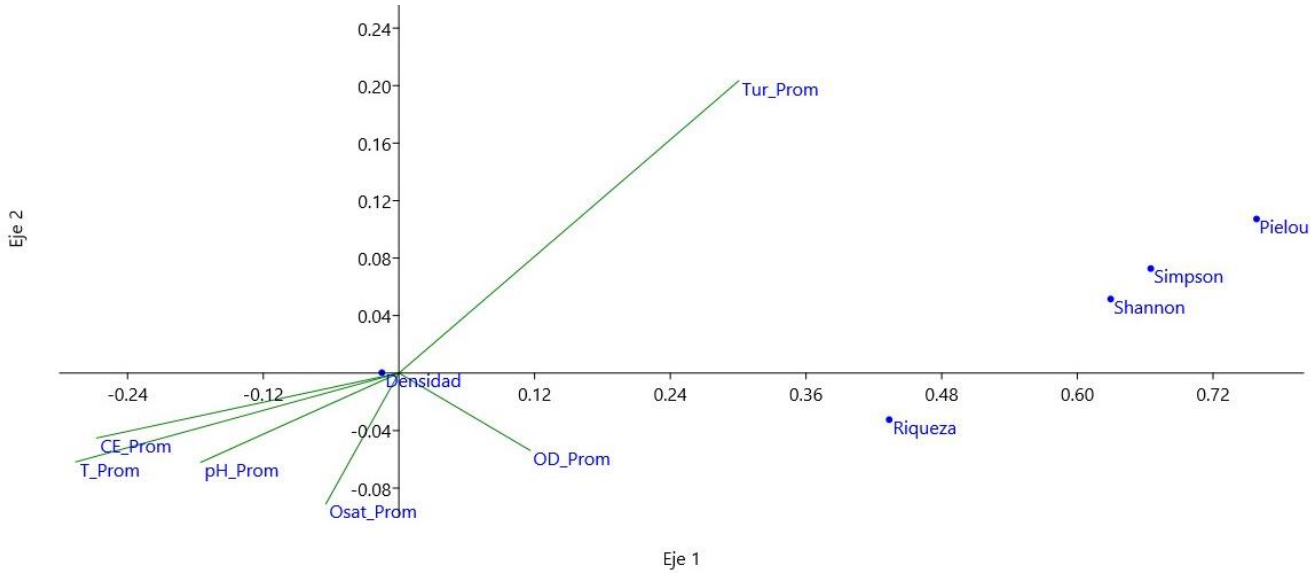


Figura 9-73. Análisis de Correlación Canónica entre parámetros *in situ* e índices comunitarios de macroinvertebrados en ausencia de *D. geminata*.

Análisis de Correlación Canónica (CCA) entre nutrientes e índices comunitarios de macroinvertebrados en estaciones con presencia de *D. geminata*

Un análisis de correlación canónica respecto de la comunidad de macroinvertebrados en presencia de *D. geminata* relacionada con los nutrientes, evidenciaron que los índices de riqueza, diversidad y equitatividad se relacionaron de forma directa con la concentración de hierro, fósforo total, fosfato disuelto, nitrito y nitrato y fósforo, y de forma inversa con el resto de variables. La densidad de macroinvertebrados no evidenció relaciones claras con los parámetros químicos analizados (Figura 9-74).

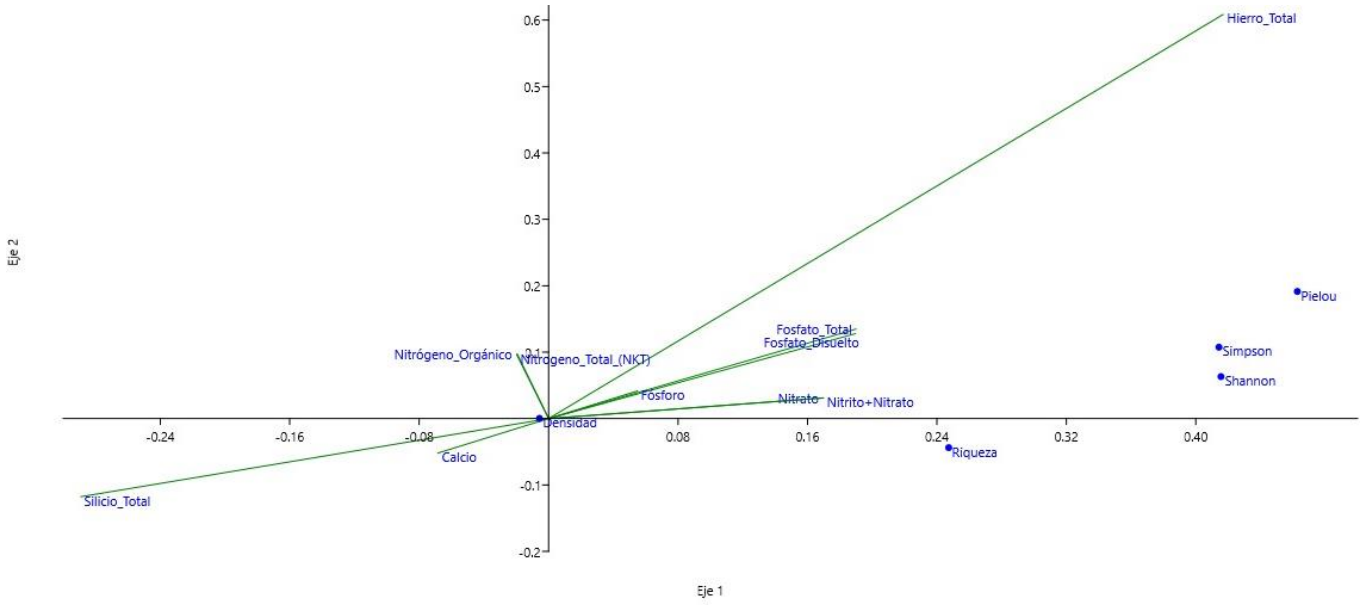


Figura 9-74. Análisis de Correlación Canónica entre nutrientes y parámetros comunitarios de macroinvertebrados en presencia de *D. geminata*.

Análisis de Correlación Canónica (CCA) entre nutrientes e índices comunitarios de macroinvertebrados en estaciones con ausencia de *D. geminata*

Un análisis de correlación canónica respecto a la comunidad de macroinvertebrados en ausencia de *D. geminata* relacionada con los nutrientes, evidenciaron que los índices de riqueza, diversidad y equitatividad se relacionaron de forma directa con la concentración de hierro, fósforo total, fosfato disuelto, nitrógeno total y nitrógeno orgánico; y de forma inversa a las concentraciones de silicio, calcio y niritos y nitratos. La densidad de macroinvertebrados no evidenció relaciones claras con los parámetros químicos analizados (Figura 9-75).

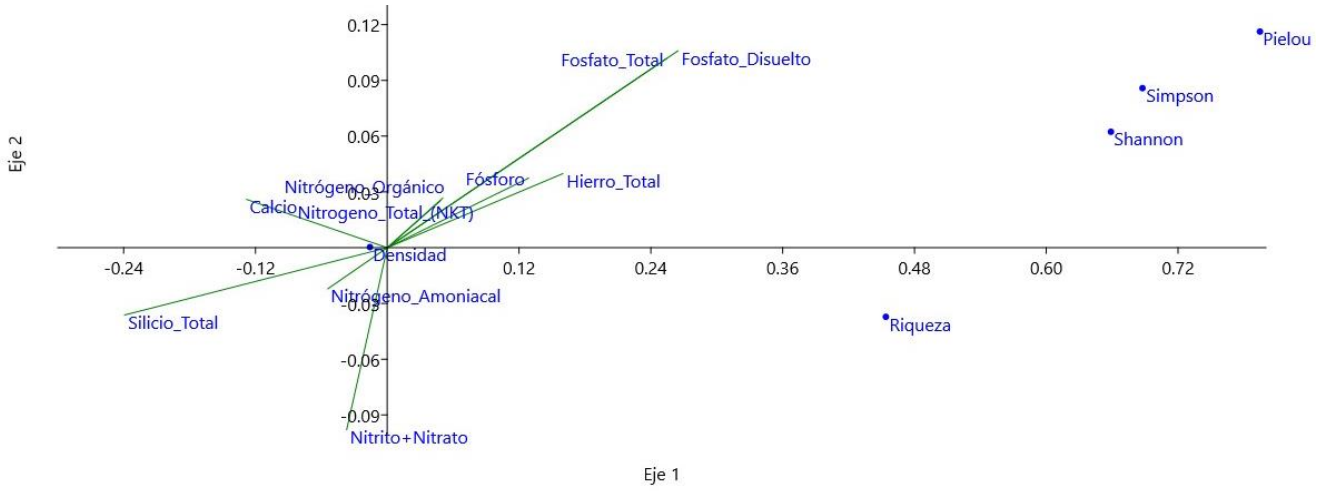


Figura 9-75. Análisis de Correlación Canónica entre nutrientes e índices comunitarios de macroinvertebrados en ausencia de *D. geminata*.

Análisis de Correlación Canónica (CCA) entre variables hidráulicas e índices comunitarios de macroinvertebrados en estaciones con presencia de *D. geminata*

Un análisis de correlación canónica respecto a la comunidad de macroinvertebrados en presencia de *D. geminata* relacionada las variables hidráulicas (sustrato, velocidad de la corriente y densidad de drenaje), evidenciaron que los índices de riqueza, diversidad y equitatividad se relacionaron de forma directa con el tamaño de sustrato limo/arcilla y grava, además de velocidad de la corriente y profundidad; ; y una relación inversa con densidad de drenaje, piedras, arena y cantos. La densidad de macroinvertebrados no evidenció relaciones claras con los parámetros hidráulicos analizados (Figura 9-76).

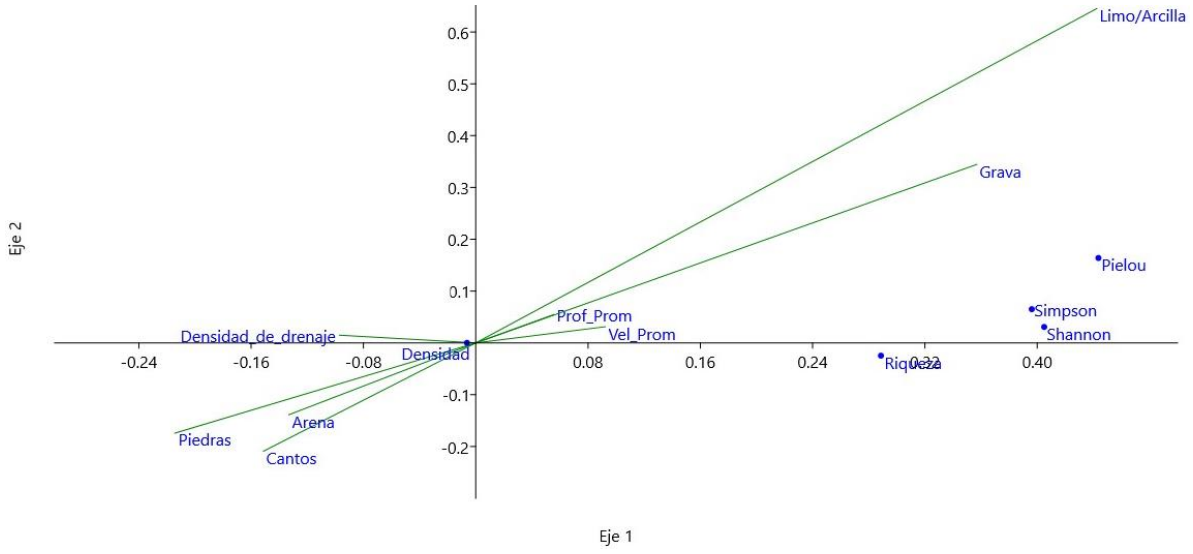


Figura 9-76. Análisis de Correlación Canónica entre variables hidráulicas e índices comunitarios de macroinvertebrados en presencia de *D. geminata*.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

Análisis de Correlación Canónica (CCA) entre variables hidráulicas e índices comunitarios de macroinvertebrados en estaciones con ausencia de *D. geminata*

Un análisis de correlación canónica respecto a la comunidad de macroinvertebrados en ausencia de *D. geminata* relacionado a las variables hidráulicas (sustrato, velocidad de la corriente y densidad de drenaje), evidenciaron que los índices de riqueza, diversidad y equitatividad se relacionaron de forma directa con el tamaño de sustrato limo/arcilla y grava, además de velocidad de la corriente y profundidad; con el tamaño de sustrato arena y grava, además de velocidad de la corriente y profundidad; y una relación inversa con densidad de drenaje, piedras, limo/arcilla y cantos. La densidad de macroinvertebrados no evidenció relaciones con los parámetros hidráulicos analizados (Figura 9-77).

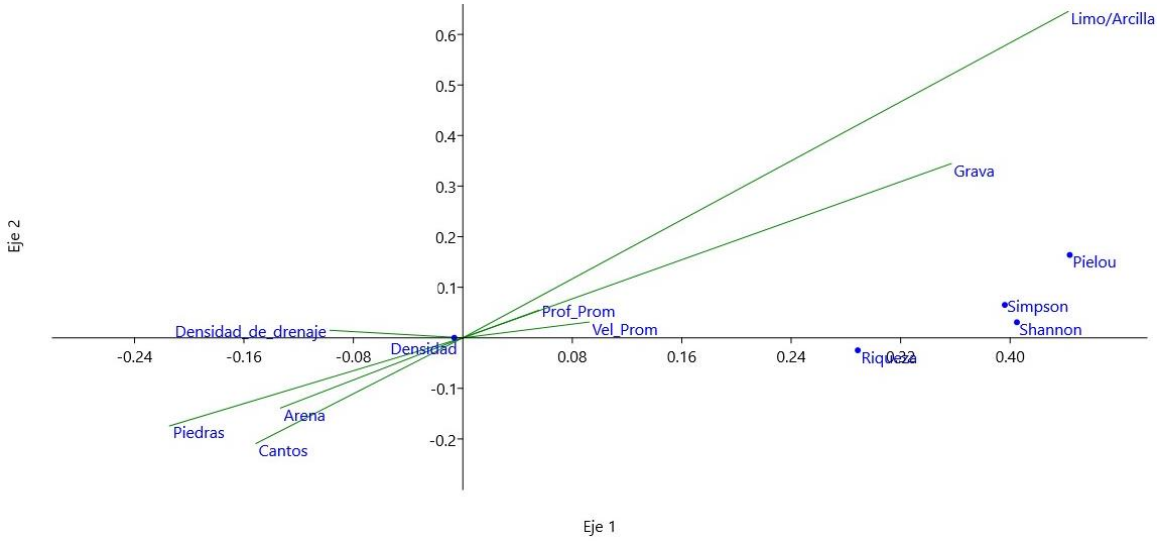


Figura 9-77. Análisis de Correlación Canónica entre variables hidráulicas e índices comunitarios de macroinvertebrados en ausencia de *D. geminata*.

9.2 Análisis histórico de *Didymosphenia geminata*

A continuación se expresan los resultados para el cumplimiento del objetivo Nº2.

9.2.1 Compendio de informes técnicos y científicos realizados en el territorio nacional desde el año 2011 al 2015

Desde que se detectó la presencia de *D. geminata* en Chile en el año 2010, instituciones públicas y privadas han estado a cargo de estudios enfocados, en general, a la prospección, vigilancia y monitoreo del Didymo, financiados principalmente por SUBPESCA y SERNAPESCA.

A contunuación se expone un análisis de la información histórica de cada río prospectado a partir del año 2010 en adelante, respecto de la presencia y ausencia de la especie Didymo en ríos del sur de Chile. La revisión se enfoca en primer lugar, en la visualización del avance de la plaga, y en segundo lugar, en la revisión de las asociaciones entre *D. geminata* y los parámetros físicoquímicos, biológicos e hidráulicos de cada rio prospectado.

Cabe señalar que, los proyectos revisados difieren entre sí, respecto de las metodologías utilizadas, límites de detección de parámetros físicos y químicos, instrumentos utilizados en la medición de los mismos, componentes biológicos, periodo estacional, región, año y estaciones de muestreo. En relación a esto, se debe ser cuidadoso al realizar análisis y comparación de los datos para hallar patrones asociados a la especie plaga dependiendo del objetivo, la trazabilidad y la escala del análisis.

En la Tabla 9-17 se observa el nombre del proyecto, la institución mandante y ejecutora, duración del proyecto, las regiones abarcadas en cada caso, y por último el periodo estacional en el que se realizó la respectiva campaña de muestreo. A cada proyecto se le agrego un número para facilitar su análisis.

En la Tabla 9-18 se observan los componentes biológicos, parámetros físicos y químicos *in situ* y análisis químicos de calidad de agua o btenidos en cada proyecto evaluado.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

Tabla 9-17. Proyectos de prospección, vigilancia y monitoreo de la presencia de la especie *D. geminata* financiados por SUBPESCA, SERNAPESCA y FIP realizados en el territorio nacional entre los años 2010-2015.

Proyecto	Mandante	Ejecutor	Duración	Regiones	Estacionalidad	Referencia
Proyecto 1: Prospección de la presencia de *D. geminata* en las regiones XIV, X, XI y XII y elaboración de material de difusión tendiente a su control.	SUBPESCA	POCH Ambiental-U.Chile	Noviembre-2010 -Enero 2011	XIV, X, XI y XII	Primavera	SUBPESCA/POCH-U.Chile (2010)
Proyecto 2; Prospección de la presencia de *D. geminata* en las regiones de Los Lagos y Aysén.	SUBPESCA	POCH Ambiental-U.Chile	Mayo 2011-Diciembre 2011	X-XI	Otoño	SUBPESCA/POCH-U.Chile, (2011a)
Proyecto 3: Prospección de la presencia de *D. geminata* en las regiones de La Araucanía y Los Ríos.	SUBPESCA	POCH Ambiental-U.Chile	Mayo 2011-Diciembre 2011	IX-XIV	Otoño	SUBPESCA/POCH-U.Chile (2011b)
Proyecto 4: Prospección de la presencia de *D. geminata* en la Subcuenca del Río Yelcho y las cuencas del Río Palena y Río Baker.	SUBPESCA	POCH Ambiental-U.Chile	Diciembre 2011-Abril 2012	X-XI	Primavera	SUBPESCA/POCH-U.Chile (2012)
Proyecto 5: Monitoreo de la presencia de la especie *Diatomea D. geminata* en ríos de las regiones de Los Lagos y de Aysén (701-42-LE12).	SERNAPESCA	AMAKAIK/ECOHYD	Noviembre 2012-Marzo 2013	X-XI	Primavera	SERNAPESCA/Amakaik-EcoHyd (2013)
Proyecto 6: Monitoreo de la cobertura geográfica de la presencia de la especie de diatomea *D. geminata* en ríos de la zona del Alto Biobío.	SERNAPESCA	AMAKAIK/ECOHYD	Enero 2013-Marzo 2013	IX	Primavera	SERNAPESCA/Amakaik-EcoHyd (2013)
Proyecto 7: Prospección de *D. geminata* en cuerpos de agua de la Zona Centro-Sur (2012-26-DAC-8)	SUBPESCA	AMAKAIK/ECOHYD	Enero 2013-Junio 2013	IX-XIV	Verano	SUBPESCA/Amakaik-EcoHyd (2013)
Proyecto 8: Monitoreo y prospección de la presencia *de D. geminata* en ríos de las regiones de Los Lagos y Aysén	SERNAPESCA	AMAKAIK/ECOHYD	Febrero 2014-Junio 2014	X-XI	Verano	SERNAPESCA/Amakaik-EcoHyd (2014)
Proyecto 9: Evaluación de *D. geminata* en cuerpos de agua zona Centro-Sur (FIP-2013-05).	FIP	AMAKAIK/ECOHYD	Noviembre 2013-Marzo 2015	VIII, IX y XIV	Primavera	FIP/Amakaik (2014)

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

Tabla 9-18. Muestreos biológicos, físicos y químicos *in situ, nutrientes y otros* obtenidos en cada proyecto evaluado.

Proyecto	Componente biológico	Parámetros fisicoquímicos *in situ*	Análisis químico del agua
Proyecto 1: Prospección de la presencia de *D. geminata* en las regiones XIV, X, XI y XII y elaboración de material de difusión tendiente a su control.	Microalgas planctónicas Diatomeas bentónicas	pH, CE, Tº(C), OD, Radiación solar superficial (PAR)	Calcio Total, Nitrato, Nitrito, Fosforo orgánico, Fosforo inorgánico y Sílice
Proyecto 2: Prospección de la presencia de *D. geminata* en las regiones de Los Lagos y Aysén.	Microalgas planctónicas Diatomeas bentónicas	pH, CE, Tº(C), OD, Turbidez, Solidos Totales Suspendidos	Calcio Total, Nitrato, Nitrito, Fosforo orgánico, Fosforo inorgánico, Sílice.
Proyecto 3: Prospección de la presencia de *D. geminata* en las regiones de La Araucanía y Los Ríos.	Microalgas planctónicas Diatomeas bentónicas	pH, CE, Tº(C), OD, Turbidez, Solidos Totales Suspendidos.	Calcio Total, Nitrato, Nitrito, Fosforo orgánico, Fosforo inorgánico, Sílice.
Proyecto4: Prospección de la presencia de *D. geminata* en la Subcuenca del Río Yelcho y las cuencas del Río Palena y Río Baker.	Microalgas planctónicas Diatomeas bentónicas	pH, CE, Tº(C), OD, % O sat	SIN ANALISIS QUIMICO
Proyecto 5: Monitoreo de la presencia de la especie *Diatomea D. geminata* en ríos de las regiones de Los Lagos y de Aysén (701-42-LE12).	Microalgas planctónicas Diatomeas bentónicas	pH, CE, Tº(C), OD, % O sat	Calcio Total, Nitrato, Nitrito, Fosforo orgánico, Fosforo inorgánico, Sílice y Hierro
Proyecto 6: Monitoreo de la cobertura geográfica de la presencia de la especie de diatomea *D. geminata* en ríos de la zona del Alto Bío-Bío.	Microalgas planctónicas Diatomeas bentónicas	pH, CE, Tº(C), OD, % O sat	Calcio Total, Nitrato, Nitrito, Fosforo orgánico, Fosforo inorgánico, Sílice y Hierro
Proyecto 7: Prospección de *D. geminata* en cuerpos de agua de la Zona Centro-Sur (2012-26-DAC-8).	Microalgas planctónicas Diatomeas bentónicas	pH, CE, Tº(C), OD, % O sat	Calcio Total, Nitrato, Nitrito, Fosforo orgánico, Fosforo inorgánico, Sílice y Hierro
Proyecto 8: Monitoreo y prospección de la presencia de *D. geminata* en ríos de las regiones de Los Lagos y Aysén.	Microalgas planctónicas Diatomeas bentónicas	pH, CE, Tº(C), OD, % O sat	Calcio Total, Nitrato, Nitrito, Fosforo orgánico, Fosforo inorgánico, Sílice y Hierro
Proyecto 9: Evaluación de *D. geminata* en cuerpos de agua zona Centro-Sur (FIP-2013-05).	Microalgas planctónicas Diatomeas bentónicas Macroinvertebrados bentónicos y Mesohábitat	pH, CE, Tº(C), OD, % O sat	Calcio Total, Nitrato, Nitrito, Fosforo Total, Fosforo inorgánico, Sílice y Hierro

Fuente: Elaboración Propia.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

9.2.1.1 Avance de la plaga

Los proyectos *D. geminata* se inician el año 2010 como consecuencia del registro masivo hallado en la subcuenca del río Futaleufu por encargo de diversas instituciones, entre ellas, la Subsecretaria de Pesca (SUBPESCA), el Servicio Nacional de Pesca (SERNAPESCA) y el Fondo de inversión pesquera y acuicultura (FIP).

El primer informe técnico fue elaborado por Poch-U.Chile, institución que realizó la primera prospección de la presencia *D. geminata* en el territorio nacional y abarco las regiones de Los Ríos, Los Lagos, Aysén y Magallanes. La campaña de muestreo tuvo lugar en primavera del año 2010 y se prospectaron 24 ríos y 1 lago. Los resultados de este proyecto indicaron la presencia de la plaga en la comunidad bentónica de los ríos: Futaleufú, Espolón y Noroeste de la región de Los Lagos y en Emperador Guillermo y Aysén de la región de Aysén. Los ríos Simpson y Ñirehuao resultaron positivos para *D. geminata* solo en el plancton, ver Tabla 9-19. Encontrandose, las regiones de Los Lagos y Aysén positivas para la plaga Didymo, y negativa para las regiones de Los Ríos y Magallanes (SUBPESCA/POCH-U.Chile, 2010).

El segundo proyecto elaborado por la misma institución se origina como consecuencia del hallazgo de *D. geminata* en la región de Los Lagos y Aysén, debido a esto, la autoridad consideró pertinente realizar nuevas prospecciones en estas regiones. Este informe técnico comprendió 36 estaciones, 17 en la región de Los Lagos y 19 en la región de Aysén. Los resultados indicaron que los ríos prospectados de la región de Los Lagos no presentaron *D. geminata* en las muestras de diatomeas bentónicas. En la región de Aysén se registró *D. geminata* en el fitoplancton y en muestras de diatomeas bentónicas, además de generación de pedúnculo en un río correspondiente al afluente La Paloma (Desagüe Lago Monreal), ver Tabla 9-19 (SUBPESCA/POCH-U.Chile, 2011a).

El tercer proyecto también elaborado por Poch-U.Chile se inicia a mediados del año 2011, en la región de la Araucanía y Los Ríos, ambas, libres de la plaga hasta ese momento. El proyecto se justificó debido a que estas regiones poseen un destacado valor ambiental, además de ser zonas en donde se desarrollan actividades asociadas a la dispersión de la plaga como; pesca recreativa, práctica de kayak, rafting, pesca con mosca, entre otros. Los resultados indicaron que la especie *D. geminata* no forma parte de la comunidad bentónica de los 8 y 24 ríos prospectados en las

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

regiones de La Araucanía y los Ríos respectivamente. Cabe destacar, que la región de Los Ríos fue prospectada en octubre del 2010, también con resultado negativo para *D. geminata*.

Debido a que hasta el año 2011 las regiones de La Araucanía y los Ríos se encontraban libres de la plaga, se elaboró un plan de vigilancia y control para esta zona, en donde la cuenca del río Valdivia fue declarada como área libre de plaga en la región de Los Ríos,y la cuenca del río Tolten para la región de la Araucanía (SUBPESCA/POCH-U.Chile, 2011b).

El cuarto proyecto ejecutado por Poch-U.Chile en el año 2012 abarca la región de Aysén, específicamente la subcuenca del Yelcho y las cuencas de los ríos Baker y Palena , en donde hasta esa fecha se habían identificado varios cuerpos de agua infectados con la plaga. Los resultados de la prospección dieron positivos para *D. geminata* en las tres cuencas. Los ríos afectados fueron Estero Bellavista (subcuenca Yelcho); río Pico y Figueroa (cuenca Palena), río Cochrane y Baker (cuenca Baker), ver Tabla 9-19 (SUBPESCA/POCH-U.Chile, 2012).

Debido a que la región de Aysén y Los Lagos hasta ese momento evidenciaban un avance de la plaga, se ejecuta el quinto proyecto, ahora, a cargo de Amakaik/EcoHyd el que pretendió dar continuidad a los demás proyectos realizados en dichas regiones. El área de estudio correspondió a 90 estaciones, 27 de ellos en la región de Los Lagos y 63 en Aysén. Del total de estaciones se registró *D. geminata* en los ríos: Pico, Figueroa, Palena, Bake y Ñirehuao, ver Tabla 9-19 (SERNAPESCA/Amakaik-EcoHyd, 2013).

Desde que fue detectada la presencia de *D. geminata* en Chile no había registros de su presencia en la región de La Araucanía. Sin embargo, la autoridad fue notificada de la presencia de la plaga en la zona de Alto Biobío lo que obligó a realizar prospecciones en esta región. En consecuencia de lo anterior, se realizó un sexto proyecto, ejecutado por Amakaik/EcoHyd. El área de estudio comprendió la prospección de 15 estaciones en la zona de Alto Biobío en la región de la Araucanía, de los cuales, se registró presencia de *D. geminata* en 5 de ellos, donde no se habían presentado registros previos de *D. geminata* (SERNAPESCA/Amakaik-EcoHyd, 2013).

Debido al registro de *D. geminata* en la región de la Araucanía, se realizó el séptimo proyecto, ejecutado también por Amakaik/EcoHyd. Este comprendió un total de 97 estaciones de muestreo en la Región de la Araucanía y Los Ríos. Se registró presencia de *D. geminata* en bentos en 14 de ellos, sin registro anterior de la plaga. Esto fue en los ríos Biobío (5 estaciones), Pucón (1 estación), Enco (2 estaciones), Quebrada Onda (3 estaciones), San Pedro (1 estación) y

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

Llanquihue (2 estaciones). En total se registraron seis nuevas detecciones de ríos con presencia de *D. geminata*, ver Tabla 9-19. (SUBPESCA/Amakaik-EcoHyd, 2013).

El octavo proyecto elaborado por el mismo equipo consultor es realizado en las regiones de Los Lagos y Aysén, en zonas donde se había evidenciado desde el año 2010 presencia y avance de la plaga. Particularmente, durante el último proyecto de prospección (SERNAPESCA/Amakaik-Ecohyd, 2013), se detectó la presencia de *D. geminata* en la cuenca del río Cisnes, en 2 subcuencas del río Palena y 2 subsubcuencas del río Aysén, todos sectores completamente libres de la plaga hasta el 2011. Por ello, se hizo necesario prospectar un mayor número de estaciones en estas regiones. En este proyecto se monitorearon 92 estaciones, de los cuales, 16 resultaron positivos para *D. geminata* entre las regiones de Los Lagos y Aysén. A la luz de los resultados, esto significó una disminución de puntos contaminados ya que si bien hubo nuevos registros de *D. geminata*, otros que eran positivos anteriormente, resultaron libres de la plaga en esa oportunidad. De esta manera, la cuenca del río Cisnes (Costeras e Islas entre río Palena y río Aysén), resultó negativa para *D. geminata*, a diferencia de campañas anteriores (diciembre 2012, enero 2013). Tal como se registró en las campañas de octubre 2010–enero 2012 y diciembre 2012–enero 2013, las cuencas río Yelcho, río Palena (Cuenca río Palena y Costeras Límite X Región), río Aysén y río Baker continúan registrando presencia de *D. geminata*. En la cuenca del río Palena se observaron bastantes cambios en lo que respecta a puntos con presencia o ausencia de *D. geminata*. Por un lado, 4 puntos en los que previamente se había diagnosticado *D. geminata*, en esta campaña no lo presentaron. Sin embargo, las cuencas del río Aysén y río Baker aumentaron casi al doble los puntos con presencia de *D. geminata* ver Tabla 9-19 (SERNAPESCA/Amakaik-EcoHyd, 2014).

El último informe examinado abarcó las regiones del Biobío, Araucanía, Los Ríos y Los Lagos, y es el único proyecto de los analizados que tuvo dos campañas de muestreo, la primera fue realizada en primavera (2013) y el segunda en otoño (2014), con lo cual, se pretende observar la dinámica temporal de *D. geminata*. También, fue el primero en realizar el muestreo de mesohábitat y en evaluar los efectos de la plaga en la comunidad de macroinvertebrados bentónicos.

En ambas campañas se muestreó un total de 92 estaciones. La campaña de primavera 2013 exhibió 20 estaciones positivas para *D. geminata*, siendo las cuencas del Biobío (10), Toltén (1) y Valdivia (9) aquellas infectadas por la plaga. En cuanto a la campaña de muestreo de otoño 2014, 14 estaciones presentaron *D. geminata*, específicamente en las cuencas Biobío (8),

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

Valdivia (5) y Bueno (1). Esta última, no había mostrado *D. geminata* en monitoreos realizados con anterioridad, ver Tabla 9-19.

En síntesis un total de 36 ríos entre las regiones del Biobío y Aysén han presentado *D. geminata* en alguno de los muestreos realizados desde el año 2010 hasta el 2015. Hasta la fecha se tiene conocimiento que la plaga se distribuye de manera parchosa desde la región del Biobío a Magallanes.

Con la información recopilada de cada proyecto revisado, además, de la inclusión de los resultados de presencia/ausencia de *D. geminata* del presente proyecto, se genero un mapa con la distribución de *D. geminata* en las zonas centro sur y austral de Chile, ver Figura 9-78, en donde se visualiza el aumento de regiones infectadas con la plaga Didymo en aproximadamente seis años de monitoreos.

Tabla 9-19. Avance de la plaga *D. geminata* en las regiones IX, XIV, X, XI desde el año 2010-2015.

Proyecto	Región	Cuenca	Ríos con *D. geminata*	*D. geminata* bentos	*D. geminata* Plancton
1. Prospección de la presencia de *D. geminata* en las regiones XIV, X, XI y XII y elaboración de material de difusión tendiente a su control.	Aysén	R. Aysén	Emperador Guillermo	SI	SI
			Aysén (Extra)	SI	SI
			Simpson	NO	SI
			Ñirehuao	NO	SI
	Los Lagos	R.Yelcho	Futaleufu	SI	SI
			Espolón	SI	SI
			Noroeste (Extra)	SI	SI
2. Prospección de la presencia de *D. geminata* en las regiones de Los Lagos y Aysén.	Aysén	R.Aysén	Rio La Paloma o Desagüe Lago Monreal	SI	SI
	Aysén	R.Palena	Risopatron	NO	SI
3. Prospección de la presencia de *D. geminata* en las regiones de La Araucanía y Los Ríos.	Sin registro de *D. geminata*			NO	NO
4. Prospección de la presencia de *D. geminata* en la Subcuenca del Río Yelcho y las cuencas del Río Palena y Río Baker.	Aysén	R.Palena	Figueroa	SI	SI
			Pico	SI	SI
		R.Baker	Cochrane	SI	SI
			Baker	SI	SI

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

Proyecto	Región	Cuenca	Ríos con *D. geminata*	*D. geminata* bentos	*D. geminata* Plancton
	Los Lagos	R.Yelcho	Bellavista	SI	SI
5. Monitoreo de la presencia de la especie Diatomea *D. geminata* en ríos de las regiones de Los Lagos y de Aysén (701-42-LE12).	Aysén	R.Aysén	Norte	SI	SI
			Ñirehuao	SI	SI
		R.Baker	Baker	SI	SI
		R.Palena y Costeras Limite Decima Region	Figueroa	SI	SI
			Pico	SI	SI
			Risopatron	NO	SI
	Los Lagos	C.Costeras e islas entre R.Palena y R.Aysén	Cisnes	SI	SI
			Palena	SI	SI
6. Monitoreo de la cobertura geográfica de la presencia de la especie de diatomea *D. geminata* en ríos de la zona del Alto Biobío	Araucanía	Río Biobío	R.Biobío entre R.Pichipehuenco y R.Lonquimay	SI	SI
			R.Biobío entre R.Lonquimay y R.Ranquil.	SI	SI
			R.Biobío entre arriba junta Río Ranquil y .Lamin	SI	SI
7. Prospección de D. geminata en cuerpos de agua de la Zona Centro-Sur (2012-26-DAC-8)	Araucanía	R.Biobío	Biobío	SI	SI
		R.Tolten	Pucon	SI	SI
	Los Ríos	R.Valdivia	Río San Pedro	SI	SI
			Enco	SI	SI
			R.Llanquihue	SI	SI
			Fuy	SI	SI
8. Monitoreo y prospección de la presencia de *D. geminata* en ríos de las regiones de Los Lagos y Aysén	Aysén	R.Aysén	Pedregoso	SI	SI
			Ñirehuao	SI	SI
			Norte	SI	SI
			Richiardi	SI	SI
		R.Baker	Baker	SI	SI
			Río Del Salto.	SI	SI
	Los Lagos	R.Yelcho	Futaleufu	SI	SI
			Espolón	SI	SI
			Bellavista	SI	SI
		R.Palena y Costeras Limite Decima Region	Palena alto	SI	SI
			Tranquilo	SI	SI

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

Proyecto	Región	Cuenca	Ríos con *D. geminata*	*D. geminata* bentos	*D. geminata* Plancton
9. Evaluación de *D. geminata* en cuerpos de agua zona Centro-Sur (FIP-2013-05).	Araucanía	Río Biobío	Biobío	SI	SI
			Lonquimay	SI	SI
		R.Tolten	Pucón	SI	SI
	Los Rios	R.Valdivia	Fuy	SI	SI
			Estero Quebrada	SI	SI
			Enco	SI	SI
			Huahum	SI	SI
			Llanquihue	SI	SI
			Rio San Pedro	SI	SI
		R.Bueno	Curriñe	SI	SI

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

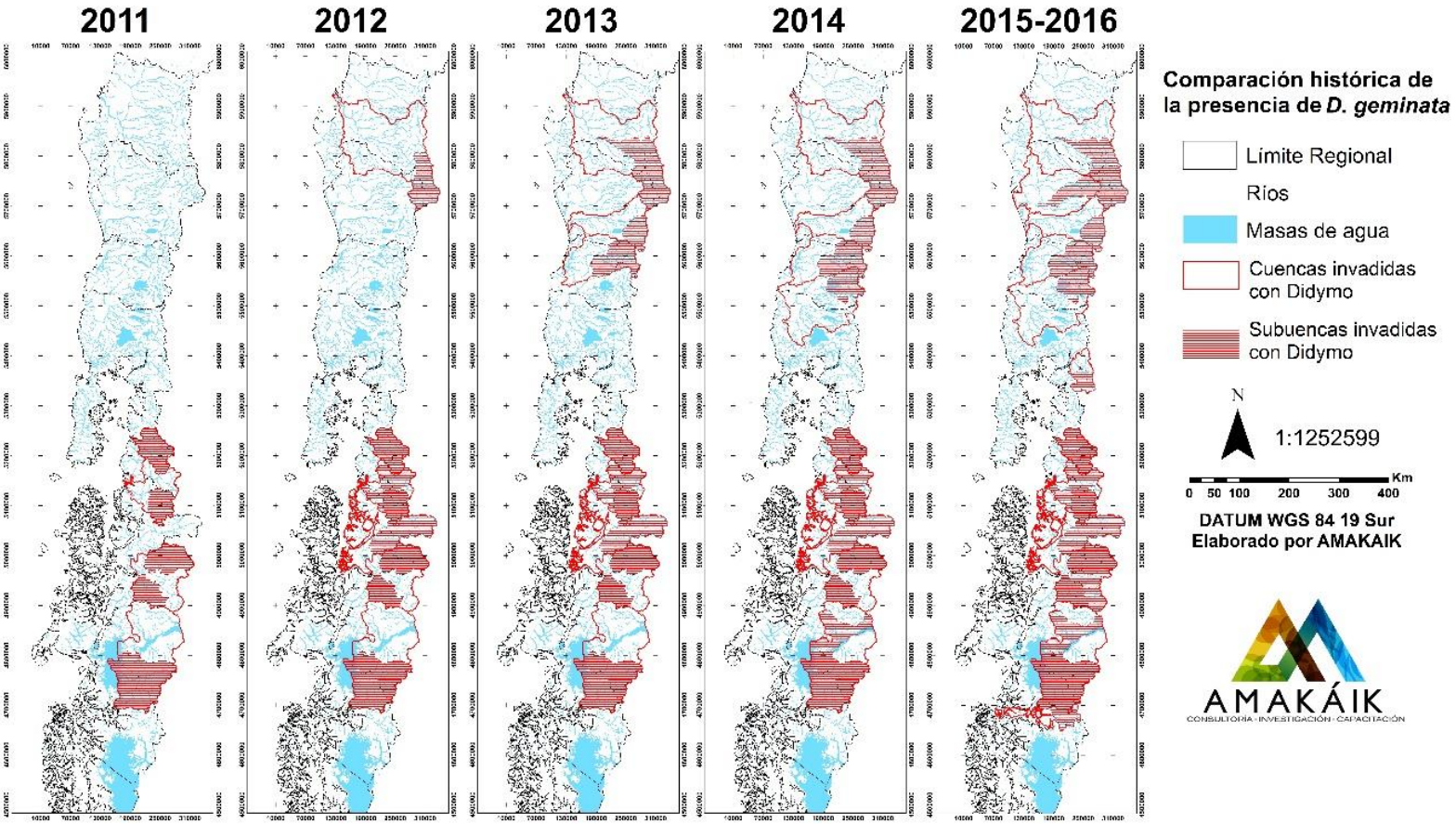


Figura 9-78. Avance de la plaga desde el año 2011 a 2016.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

Comunidades biológicas

A continuación se describen los resultados más relevantes de cada proyecto referente a las comunidades biológicas asociadas a *D. geminata.*

Entre los componentes biológicos la comunidad fitoplanctónica y bentónica han sido obtenidas en cada muestreo con el objetivo de identificar los ríos positivos para la plaga de aquellos libres de ésta. Con respecto a la comunidad planctónica se observo que estaciones con presencia de *D. geminata* exibian una alta densidad de células, riqueza y diversidad de *taxa*. Sin embargo, no se detectó una relación entre la comunidad planctónica y *D. geminata.* Por tal razón, a partir del año 2013 en adelante, la comunidad planctónica se obtuvo solo como una medida de diagnóstico de la presencia y/o ausencia de la plaga Didymo en la columna de agua y se comienza a dar mayor relevancia a la comunidad de microalgas bentónicas y su posible asociación con *D. geminata*.

Con respecto a la comunidad de diatomeas se encontró que *Achnanthidium minutissimum*, *Fragilaria bicapita, Fragilaria capucina, Fragilaria capucina var. vaucheriae, Encyonema minutum, Gomphonema pumilum, Nitzschia dissipata* se encontrarían relacionadas con *D. geminata.* En el río Figueroa *D. geminata* se relaciono con *Fragilaria nana*, en el río Pico con *Nitzchia paleacea* y el Baker con *Encyonema minutiforme, Diatoma vulgaris y Diatoma moniliformi.*

En la mayoría de los informes se verifica que la comunidad de diatomeas bentónicas se ve beneficiada frente a la presencia de *D. geminata*, aumentando en general la riqueza y diversidad de *taxa* (SERNAPESCA/Amakaik-EcoHyd, 2013). Patrón contrario al que se observa en las invasiones biológicas. Por ejemplo, en el río Futaleufú durante la ejecución del **proyecto 2** (2010), se observó una alta abundancia de especies epiliticas y baja abundancia de células de *D. geminata*. Sin embargo, en el 2011 el río Futaleufú registro aumento de células de *D. geminata* y disminución de otras especies de diatomeas. Algo similar ocurrio en el río Noroeste, mientras que en el río Espolón se observó el fenómeno contrario.

Otra información relevante correponde a que estaciones con *D. geminata* y mucosidad visible han dado como resultado alta generación de pedúnculo y pocas células de *D. geminata*. Por el contrario, sitios sin pedúnculo visible y con presencia de *D. geminata* solo a nivel celular exiben mayor densidad de las mismas. Posiblemente la formación de pedúnculo se encuentra inversamente relacionada con la densidad de células de *D. geminata*.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

Otro aspecto que fue incorporado en el año 2013 dentro de los componentes biológicos fue el análisis de la estructura de la comunidad de maroinvertebrados bentónicos, dado que la literatura establece que la plaga podría afectar negativamente a esta comunidad y así a toda la cadena trófica. Hasta el momento los resultados con respecto a este grupo no han verificado resultados estadísticamente significativos (FIP/Amakaik, 2014). Esto es principalmete porque el objetivo de cada proyecto es el muestreo Didymo y no de macroinvertebrados bentónicos. Sin embargo, la literatura señala que existe una relación entre ambos grupos, especialmente se ha verificado aumentos de individuos de la familia Chironomidae en estaciones con *D. geminata* y menor cantidad de familias de los órdenes Ephemeroptera, Plecóptera y Trichoptera, estos últimos son organismos sensibles a cambios en condiciones del hábitat dentro de los sistemas lóticos (FIP/Amakaik, 2014).

9.2.1.2 Parametros físicos y químicos

A continuación se describen los resultados de cada proyecto con respecto a las variables físicas, químicas, hidráulicas y geográficas que posiblemente se encontrarian involucradas con la especie *D. geminata*.

Con respecto a los parámetros físicos y químicos se observaron concentraciones de oxígeno disuelto adecuadas para el desarrollo de la biota por sobre 6 mg/L. La mayoría de los cuerpos de agua presentaron un pH de carácter neutro con una leve tendencia a la acidez (SUBPESCA/POCH-U.Chile 2012). Las conductividades de los ríos prospectados fueron generalmente bajas (orden de magnitud 10-100 µS/cm). Por otra parte, los valores de nitrito y fosforo (inorgánico y orgánico) presentaron valores bajo el límite de detección en la mayoría de los casos, no pudiéndose hacer relaciones entre estos últimos y *D. geminata*.

Los análisis de los parámetros fisicoquímicos arrojaron que las estaciones en presencia de *D. geminata* mostraron valores significativamente mayores de pH que las estaciones sin *D. geminata*. Sin embargo, no es posible distinguir si esta asociación se debe a un cambio natural a nivel estacional o a la presencia de *D. geminata*. En general se exhiben variaciones poco significativas de los parámetros *in situ* entre estaciones con presencia de la plaga versus estaciones con ausencia de *D. geminata* (FIP/Amakaik, 2014).

Por otra parte, se observaron altos niveles de calcio en las estaciones colonizadas, los que se corresponden con los resultados obtenidos en otros sistemas límnicos del mundo (Kilroy, 2004;

Whitton *et al*., 2009; Cullis *et al*., 2009). Este aumento en su concentración se atribuye al potencial requerimiento de calcio como componente del pie de mucilago (Gretz, 2008), sin embargo, no es posible corroborar esta asociación debido a la falta de información sobre variables químicas en estaciones con presencia de *D. geminata* previo a su invasión. También, estaciones invadidas han registrado mayores valores de sílice.

En todos los informes se han realizado análisis exploratorios y correlaciones entre los parámetros físicos y químicos y *D. geminata* a fin de establecer alguna asociación. No obstante, hasta el momento no se observan patrones significativos entre sí que puedan tender a explicar la presencia de *D. geminata*.

En el año 2013 se comenzó a integrar a estos informes las variables hidráulicas, entre las cuales, la velocidad de fondo fue menor en estaciones con *D. geminata*. Esta vendría siendo la primera característica física que podría asociarse a la colonización de la plaga (SERNAPESCA/Amakaik-EcoHyd, 2013).También se observó tipos de mesohabitat, específicamente, rápidos y someros los que generalmente se relacionaron con la ausencia de la plaga. Cabe mencionar que, el sustrato podría jugar un papel relevante en la colonización de la plaga, relacionado el tamaño de este con la adhesión de *D. geminata* (SERNAPESCA/Amakaik-EcoHyd, 2014).

En el último proyecto analizado, se valorizó la importancia de factores geográficos, dejando en segundo lugar a variables físicas y químicas, sugiriendo que la ubicación del tramo y la regulación hidrológica se relacionan altamente con la presencia de *D. geminata*. Estos resultados validan la idea de que son las variables hidrográficas, geográficas y físicas las que podrían estar determinando la dinámica poblacional de Didymo por sobre las condiciones fisicoquímicas de los ríos (SERNAPESCA/Amakaik-EcoHyd 2014).

En los ríos prospectados en estos seis años en donde se han integrado los resultados de todos los proyectos no se han encontrado patrones de distribución biológicos, físicos y/o químicos para explicar en parte la distribución de *D. geminata*.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

9.2.2 Base de datos (BS)

Con la información recopilada de los informes técnicos y científicos ejecutados en el territorio nacional, se genero una BD hístorica, en la cual, se incluyen también los resultados del presente proyecto FIPA-2015-04. Esta base de datos constituye un aporte para futuros informes dado que recopila información relevante para dar continuidad a relaciones y patrones ecológicos en torno a la plaga Didymo.

Esta base de datos cuenta con información de las regiones del Biobío a Aysén dejando fuera a la región de Magallanes debido a que los resultados provenientes del Centro de Investigación y Desarrollo (CIEN) y Centro de Investigación en Ecosistemas de las Patagonia (CIEP) no cumplieron con los requisitos básicos para ser incluidos.

La BD hístorica se encuentra en el Anexo 18 en formato Excel, la cual, contiene una nomenclatura para su mejor compresión, además, se adjunta un protocolo de utilización de la BD en el Anexo 19.

A continuación en la Tabla 9-20 se observa la organización de la base de datos con su entidad, atributo y descripción del mismo.

Tabla 9-20. Diccionario de entidades y atributos establecidos para la base de datos histórica *D. geminata*.

Entidad	Descripción	Atributo	Descripción
ID	Información que caracteriza el sitio muestreado.	id (clave principal)	Número de identificación de cada registro (sitio de muestreo).
		cod_unic (clave secundaria)	Código único que involucra sitio y fecha de realización del muestreo.
		cod_empr	Código único que involucra empresa, región y sitio de muestreo.
		nom_sit	Nombre del sitio según ubicación espacial.
		cod_sit	Código del nombre del sitio según ubicación espacial.
Ubicación espacial	Información geográfica del sitio muestreado.	region	Región administrativa donde se ubica el sitio muestreado.
		cod_cuenca	Código que asigna la Dirección General de Aguas a la cuenca en la cual se ubica el sitio de muestreo.
		cuenca	Nombre de la cuenca donde se ubica el sitio muestreado.
		subcuenca	Nombre de la subcuenca donde se ubica el sitio muestreado.
		subsubcuenca	Nombre de la subsubcuenca donde se ubica el sitio muestreado.
		rio	Nombre del río muestreado.
		altitud	Altitud del sitio de muestreo medida en m.s.n.m.
		huso	Huso horario de las coordenadas referidas al sitio de muestreo.
		este	Coordenada Este en metros WGS84 UTM del sitio de muestreo.
		norte	Coordenada Norte en metros WGS84 UTM del sitio de muestreo.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

Entidad	Descripción	Atributo	Descripción
Fuente de información	Atributos de la fuente de información del muestreo.	nom_proy	Título del proyecto realizado asociado a la campaña de muestreo.
		periodo_inicio	Periodo en que se inició el proyecto.
		periodo_final	Fecha de entrega informe final del proyecto.
		reg_proy	Regiones en que se realiza el muestreo del proyecto.
		periodo_muest	Periodo de realización de las campañas de muestreo.
		est_muest	Estación del año en que se realizó el muestreo.
		cod_proy	Código abreviado por proyecto.
		cod_muest	Código abreviado por proyecto y muestreo.
		cod_org	Código por sitio de muestreo señalado en el informe original.
		contraparte	Nombre de entidad que solicita/financia el proyecto.
		cod_contr	Código abreviado para contraparte.
		ejecutor	Nombre de empresa/organización que organiza y ejecuta el proyecto.
		cod_ej	Código abreviado para ejecutor.
Ubicación temporal	Fecha y hora en que se realizó el muestreo.	fecha	Fecha completa en que se realizó el muestreo.
		dia	Día del muestreo.
		mes	Mes del muestreo.
		ano	Año del muestreo.
		hora_i	Hora de inicio del muestreo.
		hora_t	Hora de término del muestreo.
Situación *D. geminata*	Características de *D. geminata* en el sitio.	bentos	Presencia/ausencia de *D. geminata* bentónica.
		plancton	Presencia/ausencia de *D. geminata* planctónica.
		cre_alga	Crecimiento mucoso en el punto muestreado.
		cob_did	Cobertura mucosa en el punto muestreado.
Ficha técnica de muestreo	Características técnicas del muestreo realizado.	long_tramo	Longitud del tramo seleccionado.
		mues_fqin	Se realizó muestreo físico-químico *in situ* (si/no).
		mues_fqlab	Se realizó muestreo físico-químico en laboratorio (si/no).
		laboratorio	Nombre del laboratorio ejecutor del análisis físico-químico.
		cod_quim	Código de la muestra química del laboratorio.
		muest_hidro	Se realizó muestreo de variables hidrodinámicas (si/no).
		muest_diat	Se realizó muestreo de diatomeas bentónicas (si/no).
		rep_diat	Cantidad de sustrato muestreado para diatomeas bentónicas (i.e. número de rocas).
		muest_peri	Se realizó muestreo de microalgas bentónicas (perifiton; si/no).
		rep_peri	Cantidad de sustrato muestreado para microalgas bentónicas (i.e. número de rocas).
		muest_macro	Se realizó muestreo de macroinvertebrados bentónicos (si/no).

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

Entidad	Descripción	Atributo	Descripción
		area_macro	Número de áreas muestreadas para macroinvertebrados bentónicos (30x30cmxárea).
		muest_meso	Se realizó identificación del mesohábitat asociado al sitio de muestreo (si/no).
		tip_meso	Tipos de mesohábitat identificados.
		vol_meso	Volumen de muestra recogida para mesohábitat (cc).
		area_meso	Cantidad de áreas muestreadas por mesohábitat (2x2cmxárea).
		rep_meso	Número de réplicas obtenidas de mesohábitat.
		muest_fito	Se realizó muestreo de microalgas planctónicas (si/no).
		prof_malla	Profundidad de la red utilizada para muestreo de microalgas planctónicas (cm).
		tiempo	Tiempo de duración del muestreo de microalgas planctónicas (min).
		vel_corr	Velocidad de corriente en el punto donde se sumergió la red de microalgas planctónicas (m/s).
		bal_fil	Baldes filtrados para muestreo de microalgas planctónicas (L).
Físico-química *in situ*	Datos físico-químicos *in situ* obtenidos.	t_agua	Temperatura del agua promedio, obtenida a partir de mediciones en el mismo sitio de muestreo (°C).
		ph	pH promedio, obtenido a partir de mediciones en el mismo sitio de muestreo.
		CE	Conductividad eléctrica promedio, obtenida a partir de mediciones en el mismo sitio de muestreo (uS/cm).
		OD	Oxígeno disuelto promedio, obtenido a partir de mediciones en el mismo sitio de muestreo (mg/L).
		Osat	Porcentaje de saturación de oxígeno promedio, obtenido a partir de mediciones en el mismo sitio de muestreo (%).
Físico-química laboratorio	Datos físico-químicos obtenidos en laboratorio.	Ca	Calcio (mg/L).
		PO4i	Fosfato inorgánico (mg/L).
		P_tot	Fósforo total (mg/L).
		Pi	Fósforo inorgánico estimado de forma estiquiométrica (mg/L).
		Po	Fósforo orgánico estimado de forma estiquiométrica (mg/L).
		PO4o	Fosfato orgánico estimado de forma estiquiométrica (mg/L).
		PO4t	Fosfato total estimado de forma estiquiométrica (mg/L).
		Fe	Hierro (mg/L).
		NO3	Nitrato (mg/L).
		NO2	Nitrito (mg/L).
		SiO2	Sílice (mg/L).
Caracterización hidromorfológica	Información de rasgos hidromorfológicos del sitio muestreado.	vel_sup	Velocidad superficial promedio, obtenida a partir de mediciones en el mismo sitio de muestreo (m/s).
		vel_m	Velocidad media promedio, obtenida a partir de mediciones en el mismo sitio de muestreo (m/s).
		vel_fon	Velocidad de fondo promedio obtenida a partir de mediciones en el mismo sitio de muestreo (m/s).
		prof	Profundidad media en la columna de agua en la zona donde se midió la velocidad.
		bolo_2	Porcentaje de presencia de bolones en el sitio muestreado (metodología 2*).
		cant_2	Porcentaje de presencia de cantos en el sitio muestreado (metodología 2*).
		grava_2	Porcentaje de presencia de grava en el sitio muestreado (metodología 2*).

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

Entidad	Descripción	Atributo	Descripción
		gravill_2	Porcentaje de presencia de gravilla en el sitio muestreado (metodología 2*).
		are_2	Porcentaje de presencia de arenas, limos y arcillas en el sitio muestreado (metodología 2*).
		bloq_1	Porcentaje de presencia de bloques en el sitio muestreado (metodología 1*).
		bolo_1	Porcentaje de presencia de bolones/grava en el sitio muestreado (metodología 1*).
		are_1	Porcentaje de presencia de arena en el sitio muestreado (metodología 1*).
		lim-arc_1	Porcentaje de presencia de limos/arcillas en el sitio muestreado (metodología 1*).
		are_3	Porcentaje de presencia de arena en el sitio muestreado (metodología 3*).
		gravi_3	Porcentaje de presencia de gravilla en el sitio muestreado (metodología 3*).
		grava_3	Porcentaje de presencia de grava en el sitio muestreado (metodología 3*).
		bolo_3	Porcentaje de presencia de bolones en el sitio muestreado (metodología 3*).
		form_can	Forma del canal donde se muestreó (serpenteante/sinuoso/trenzado/encajonado/con alteraciones de cauce).
		habitat	Tipo de hábitat (rápido profundo/rápido somero/lento profundo/lento somero).
		vel_cauli	Velocidad cualitativa en la zona muestreada.
		tip_tramo	Tipo de tramo muestreado (duna y estrías/rabiones y poza/lechos planos/gradas y pozas/cascadas).
Condiciones ambientales	Caracterización climática durante el muestreo.	meteo	Condiciones meteorológicas in situ.
		sombra	Porcentaje de sombra sobre el tramo.
		cla_ag	Turbidez cualitativa del agua.
		cond_can	Condiciones del cuerpo de agua.
Información hidrológica REC-Chile	Caracterización hidrológica de estaciones de muestreo según clasificación REC-Chile.	REC-Chile	Código REC-Chile.
		Cod_Clima	Código primer nivel REC-Chile (clima).
		Not_Clima	Notación primer nivel REC-Chile (clima).
		Cod_orig_flu	Código segundo nivel REC-Chile (origen del flujo).
		Not_Oflujo	Notación segundo nivel REC-Chile (origen del flujo).
		nivel_1	Notación primer nivel REC-Chile.
		nivel_2	Notación primer y segundo nivel REC-Chile.
Información hidrológica por estación fluviométrica	Régimen hidrológico a partir de información de estaciones fluviométricas.	R.Seco	Régimen hidrológico en un año seco (año asociado al régimen hidrológico para una probabilidad de excedencia de un 95%).
		R.medio	Régimen hidrológico en un año normal (año asociado al régimen hidrológico para una probabilidad de excedencia de un 50%).
		R.humedo	Régimen hidrológico en un año húmedo (año asociado al régimen hidrológico para una probabilidad de excedencia de un 5%).
Diatomeas bentónicas	Información respecto de la comunidad de	riq_diato	Riqueza de especies de diatomeas bentónicas (S).
		dens_diato	Densidad relativa de diatomeas bentónicas (cel/mm2).

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

Entidad	Descripción	Atributo	Descripción
	diatomeas bentónicas.	cel_viab	Porcentaje de células viables de diatomeas bentónicas (%).
		dens_c_diato	Densidad relativa por sitio de muestreo corregida por % células viables.
		diver_diato	Índice de diversidad de Shannon-Wiener para diatomeas bentónicas.
		equit_diato	Índice de equitatividad de Evennenss para diatomeas bentónicas.
		Especies de diatomeas bentónicas	Densidad relativa (cel/ml) por especie.
Microalgas bentónicas	Información respecto de la comunidad de microalgas bentónicas.	dens_peri	Densidad relativa (cel/mm2) por sitio de muestreo de microalgas bentónicas.
		diver_peri	Índice de diversidad de Shannon-Wiener para microalgas bentónicas.
		equit_peri	Índice de equitatividad (Evenness para microalgas bentónicas.
		riq_peri	Riqueza de géneros de microalgas bentónicas (S).
		Géneros de microalgas bentónicas	Densidad relativa por género (cel/mm2).
Macroinvertebrados	Información respecto de la comunidad de macroinvertebrados.	diver_macro	Índice de diversidad de Shannon-Winner para macroinvertebrados.
		dens_macro	Densidad relativa por sitio de muestreo de macroinvertebrados (ind/m2).
		riq_macro	Riqueza de taxa de macroinvertebrados (S).
		Taxa de macroinvertebrados.	Densidad relativa por taxa de macroinvertebrados (ind/m2).

Fuente: AMAKAIK/Ecohyd/SERNAPESCA, (2014)

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

9.3 Análisis de factores que inciden en la dispersión, colonización y proliferación de *Didymosphenia geminata*

A continuación se expresan los resultados para el cumplimiento del objetivo Nº3. Los resultados de este objetivo se encuentra organizados de la siguiente manera. Primero, mediante la recopilación de antecedentes bibliográficos de la especie plaga *D. geminata* en Chile y en el mundo, luego, en la determinación de los factores bióticos y abióticos que inciden en *D. geminata* y los potenciales vectores de dispersión. Finalmente se realiza una evaluación del programa de monitoreo realizado en Chile hasta el momento.

9.3.1 Recopilación de información sobre *D. geminata*

9.3.1.1 Revisión sistemática

A partir de la revisión sistemática de la información bibliográfica cualitativa, se desarrolló una base de datos con las principales publicaciones encontradas en revistas científicas nacionales e internacionales que presentan factor de impacto y que han sido indexadas de preferencia en el ranking ISI (por sus siglas en inglés Institute for Scientific Information), con la finalidad de elaborar una revisión robusta y validada de la información.

Los términos claves de búsqueda fueron "*Didymosphenia geminata*" y/o "*D. geminata*" en la plataformas digitales de redes universitarias, revistas científicas, ISI Web, Google Academic y similares.

Posteriormente, se recopiló un total de 108 publicaciones de 69 distintos libros, reportes y revistas científicas, las que fueron individualizadas según su nombre e.g. Diatom Research, Journal of Phycology, Canadian Fishery and Aquatic Science, etc.

Por otra parte, la información fue categorizada utilizando cuatro criterios de clasificación i.e. Biología/Morfología; Ciclo de Vida; Impacto sobre el Ecosistema y Genética/Diversidad Bacteriana. En cada uno de ellos, se describe el contenido en función de los aspectos mencionados y desglosados en la Figura 9-79, y que tienen directa relación con el objeto de este estudio, la plaga de *D. geminata*. La base de datos corresponde al archivo Revisión Sistemática.xls se encuentra en el Anexo 20.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

La recopilación de publicaciones científicas se enfocó según lo solicitado en las bases técnicas del proyecto FIPA N° 2015-04, y tal como se planteó en la propuesta técnica, en que la búsqueda se orientaría específicamente a información de la ecología, morfología, biología, colonización y proliferación entre otros solo con respecto a la especie plaga "*Didymosphenia geminata"*, pues es este último el objeto de estudio. Sin perjuicio de aquello, se agregó además la bibliografía relativa a la Ecología de Algas, Formas de Crecimiento de Diatomeas y Genética de otras algas.

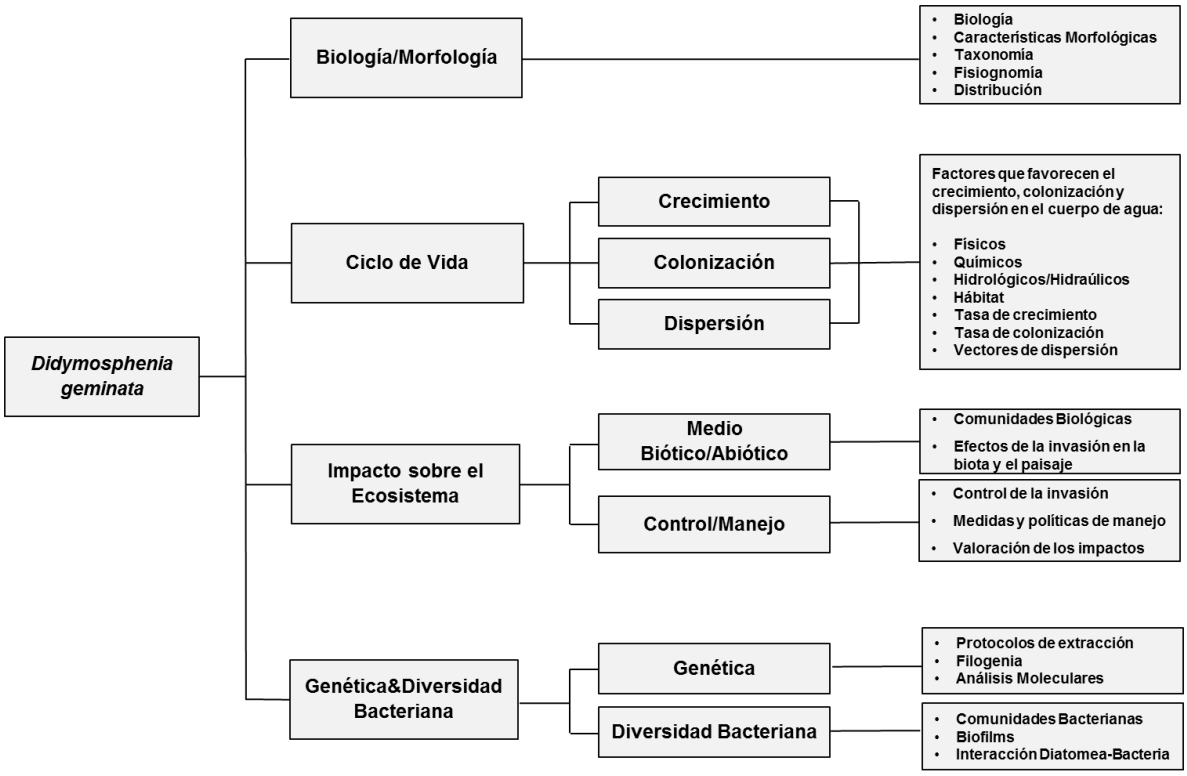


Figura 9-79. Clave para la categorización y clasificación de las publicaciones científicas sistematizadas.

De las 108 publicaciones científicas incorporadas en la revisión sistemática, 44 corresponden al ciclo de vida, 35 al impacto sobre el ecositema, 18 relacionadas con genética y diversidad bacteriana y 11 afines a morfología y biología de la especie.

Con respecto al ciclo de vida de *D. geminata* la mayor cantidad de publicaciones se relacionan con la disperción, seguida del crecimiento, y por último, la colonización.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

9.3.1.2 Entrevistas

En el contexto de las entrevistas durante el proceso de desarrollo del proyecto, las asesoras internacionales Cathy Kilroy, Carole Anne Gillis, Nora Maidana y Cristina Vieglais, han realizado importantes aportes estableciendo directrices principalmente para el mejoramiento del muestreo Didymo en Chile.

En el marco del proyecto *D. geminata* Subpesca ejecutado en Magallanes, y del cual Amakaik forma parte, en diciembre del año 2015 se dearrolló un workshop internacional en el que las especialistas pudieron interactuar con el equipo de trabajo y discutir resultados parciales respecto de la plaga Didymo. Una vez finalizada dicha actividad, las especialistas internacionales visitaron las instalaciones de Amakaik antes de iniciar la primera campaña de muestreo, con la finalidad de compartir su experiencia en el tema y discutir el enfoque con el que se abordarían los distintos análisis que forman parte del presente proyecto.

9.3.1.3 Normativa internacional de *Didymposphenia geminata*

Dentro del contexto de la normativa internacional asociado a especies invasoras se encuentra el Convenio de Diversidad Biológica (CDB), formulado en el seno de la Organización de Naciones Unidas en Río de Janeiro en 1992 que establece que cada parte contratante “impedirá que se introduzcan, controlará o erradicará las especies exóticas que amenacen a ecosistemas, hábitats o especies” (Naciones Unidas, 1992). Posteriormente, dentro de este escenario, el Catálogo de la UICN nombra las especies exóticas invasoras más perjudiciales, incluyendo a *D. geminata* (ISSG 2010).

Por otro lado, la Directiva Hábitats de la Unión Europea, relativa a la conservación de los hábitats naturales y de fauna y flora silvestres (Directiva Europea, 92/43/CE), es uno de los instrumentos más eficaces en la lucha contra las invasiones biológicas. Este organismo, junto a la Directiva Marco del Agua, que regula en el ámbito de la política de aguas (Directiva, 2000/60/CE) y que tiene entre sus objetivos “prevenir el deterioro, mejorar el estado de los ecosistemas acuáticos y promover el uso sostenible del agua”, son organizaciones conscientes de los perjuicios y de los efectos de las invasiones biológicas que causan la pérdida de Biodiversidad. Frente a esto, la Comisión Europea aprobó en el año 2011 la “Estrategia de la Unión Europea sobre biodiversidad hasta el 2020: Nuestro seguro de vida y capital natural” que establece como uno de sus objetivos

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

principales “Determinar y jerarquizar por orden de prioridad, no más tarde de 2020, las especies exóticas invasoras y sus vías de penetración, controlar o erradicar las especies prioritarias y gestionar las vías de penetración para impedir la irrupción y establecimiento de nuevas especies”. Dentro de las especies exóticas invasoras prioritarias, se encuentra *D. geminata* (Union Europea, 2011).

En España, si bien no se cuenta con una normativa específica para *D. geminata*, el año 2013 se incluye la descripción de esta especie y su estado de plaga en el “Catálogo Español de Especies Exóticas Invasoras”, una herramienta elaborada el 2007 a raíz de la Ley del Patrimonio Natural y Biodiversidad (MAAMA, 2013).

Por otra parte, en Nueva Zelanda, a partir de la detección del *D. geminata* en 2004 en la Isla Sur del país, se formó la organización “Biosegurity New Zeland”, quienes instauraron el plan de acción “Chequear, Limpiar y Secar” (“Check, Clean and Dry”) para evitar que la plaga se siga propagando. Además, se tomaron otras medidas como por ejemplo, en octubre del 2008, se prohibió el uso de las botas con suela de fieltro. También, se elaboraron folletos informativos para limpiar los equipos y educar sobre el tema en distintos ámbitos. Además, fueron establecidos diversos puntos de control y desinfección en la Isla Sur para controlar la dispersión hacia otros ambientes, como también, otros puntos de control y desinfección en las fronteras del país.

Adicionalmente, el Parque nacional Fiordland, a raíz de estar infectado las costas de los lagos Te Aneu y Manapouri, obliga a que cualquier persona que quiera ingresar a cualquier río y lago de la zona deba tener el “Certificado de Equipo Limpio”, el cual otorga la estación de limpieza a los usuarios, 48 horas antes de ingresar al parque. De igual manera, los turistas van a hacer el sendero Milford se les exige que tengan el equipamiento seco, de lo contrario, debe ser desinfectado antes de iniciar la excursión.

El 2006, las aguas del Te Waikoropupu Springs fueron cerradas a cualquier actividad recreacional para prevenir la introducción del *D. geminata* (MPI, 2012).

La situación en América del Norte, luego que se descubrieron nuevos focos de infección de *D. geminata* en el 2006, ha llevado a una serie de acciones que han efectuado los países de Canadá y Estados Unidos. En el primer caso, las acciones comienzan cuando el Centro de Control del Medio Ambiente de Quebec (CCQ) del Ministerio de Desarrollo Sostenible, Medio Ambiente y Parques (MDDEP) comenzó a monitorear los ríos positivos para esta microalga. Desde entonces, se realizaron actividades de difusión como workshop donde participaron diferentes organizaciones gubernamentales y no gubernamentales. Estas iniciativas llevaron a que el

MDDEP implementara un plan para prevenir la dispersión del *D. geminata* hacia otros ríos no infectados, a partir del protocolo elaborado por Nueva Zelanda, "Chequear, Limpiar y Secar"("Check, Clean and Dry") (MDDEP-MRNF Scientific Advisory Committee on *D. geminata,* 2008).

El 2009, los parques nacionales en Canadá, junto con la entrega de permisos de pesca, comenzaron a generar alerta sus visitantes sobre las amenazas del *D. geminata*.

Es así como dos provincias (Québec y New Brunswick) de este país tienen programas para concientizar sobre la problemática *D. geminata* (Bothwell *et al.,* 2009). Finalmente, el año 2010 se prohibió el uso de botas de fieltro tras la tramitación en conjunto de biólogos, conservacionistas y agencias de pesca (Bothwell *et al*., 2009).

Al igual que Canadá, la normativa *D. geminata* en Estados Unidos, se realizó considerando el protocolo de Nueva Zelanda. Varios estados de este país presentan una normativa para *D. geminata*. En el caso del estado de Washington, el departamento de Ecología elaboró un Plan de evaluación ambiental denominado "Procedimientos Operativos Estándar para Minimizar la Dispersión de Especies Invasoras" (Parsons *et al*., 2016), donde se incluye a *D. geminata* y a otras especies exóticas de vida acuática.

En Sudamerica, la situación en Argentina, tras la Resolución 254/2013 (Consejo Federal del Medio Ambiente 2013) reconoce una comisión Técnica Regional para el Control del *D. geminata*, como organismo de concertación para la articulación de una estrategia y plan de acción para el control de la plaga.

En Abril de 2012, de acuerdo a lo postulado en las Actas del Primer Encuentro Regional Argentino sobre evaluación de medidas regionales para controlar la expansión de *D. geminata*, realizado en San Carlos de Bariloche, Provincia de Río Negro en se reconoce el carácter interjurisdiccional de la problemática y la necesidad de coordinar una estrategia regional para la prevención y control de esta alga exótica. Tras esta situación se crea en Julio 2013, el documento Estrategia Regional para el Control del Alga Exótica Invasora *D. geminata* (Lyngbye) Schmidt 1899 (Comisión Técnica Regional para el Control del alga *D. geminata* 2013).

Además de lo anterior, Argentina cuenta con un Reglamento de Pesca Deportiva Continental Patagónico 2013-2014 (Comisión Consultiva de Pesca Continental Patagónica 2014), el cual presenta detalladamente en el capítulo "Organismos exóticos invasores, prevención de su introducción y dispersión", las instrucciones a seguir para la desinfección de los equipos de pesca.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

9.3.2 Determinación de factores bióticos y abióticos que inciden en *D. geminata*

9.3.2.1 Antecedentes generales

La colonización, proliferación y transporte en relación a *D. geminata*, es lo que hemos denominado ciclo de invasión de la especie.

La colonización depende del gradiente ambiental del hábitat, es decir, que éste sea el propicio para el asentamiento de esta microalga. Se ha estudiado la adherencia al sustrato y los factores que favorecerían este proceso. El principal suceso relacionado con la colonización es la producción de mucílago generado a base de un polisacárido, con el cual la diatomea a través de un pedúnculo mucilaginoso se fija al sustrato. Dicho polisacárido es producto de la fotosíntesis (Wetherbee *et al*., 1998; Higgins et al., 2003), por lo que en su desarrollo influye la intensidad de la luz y la radiación ultravioleta (Kilroy & Bothwell, 2014). El sustrato y su textura son relevantes para la fijación de este, reportándose que *D. geminata* preferiría sustratos rocosos de tipo rugosos (Bergey *et al*., 2010).

Una vez que *D. geminata* se ha adherido al sustrato, comenzaría la etapa de proliferación, en la cual se produce una mayor cantidad de mucílago, el que se conoce comúnmente como *D. geminata* o moco de roca. Se ha reportado que en esta fase la composición química del agua sería particularmente relevante. En este sentido, se ha determinado que bajas concentraciones de ciertos nutrientes, principalmente fósforo reactivo disuelto, favorecerían este proceso (Spaulding & Elwell 2007; Bothwell *et al*., 2014). Se ha sugerido también que el hierro y la temperatura del agua podrían influir en esta etapa (Kilroy, 2004).

Por último, la etapa de transporte, las células o propágulos pueden ser removidos y dispersados por vectores naturales y/o antrópicos de poblaciones ya establecidas de *D. geminata* (AMAKAIK/SERNAPESCA 2014).Sin embargo, aún no se tiene total claridad de cuáles serían los principales vectores de dispersión. Algunos estudios sugieren que el ser humano, los peces, algunas aves y mamíferos acuáticos serían los principales responsables de la dispersión de la plaga.

En este informe, se realizaron análisis multivariados considerando la comunidad perifítica, las diatomeas bentónicas y los parámetros físicos y químicos de los ríos con presencia y ausencia de *D. geminata* y con y sin blooms, utilizando un análisis de correlación canónica (CCA) entre

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

parámetros comunitarios y variables ambientales. Además, se presentan los resultados del estudio de posibles vectores de dispersión de *D. geminata* en cuerpos de agua del área de estudio.

9.3.2.2 Análisis multivariados

a) Análisis Multivariado para perifiton con presencia de *D. geminata*

Para la comunidad de perifiton registrada en sectores con presencia de *D. geminata*, los parámetros comunitarios riqueza, diversidad y equitatividad se relacionaron de forma directa con oxígeno disuelto, saturación de oxígeno y turbidez de agua, y de forma indirecta con la conductividad eléctrica, el pH y la temperatura del agua. La densidad no evidenció relaciones con las variables evaluadas (Figura 9-80).

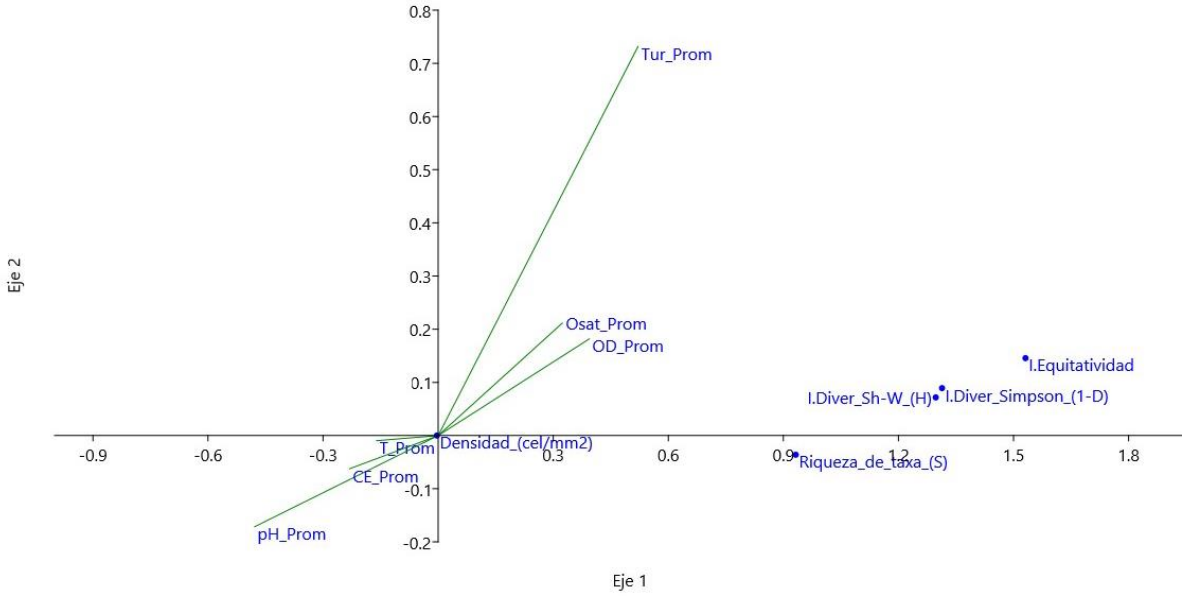


Figura 9-80. Análisis de Correlación Canónica entre variables *in situ* y parámetros comunitarios de perifiton.

Respecto a las variables químicas de laboratorio, el CCA evidenció que los parámetros comunitarios riqueza, diversidad y equitatividad se relacionan directamente con las concentraciones de hierro, nitrógeno total y nitrógeno orgánico; y de forma inversa con las concentraciones de silicio, calcio, compuestos fosforados y nitritos y nitratos. La densidad no evidencia relaciones con variables químicas analizadas (Figura 9-81).

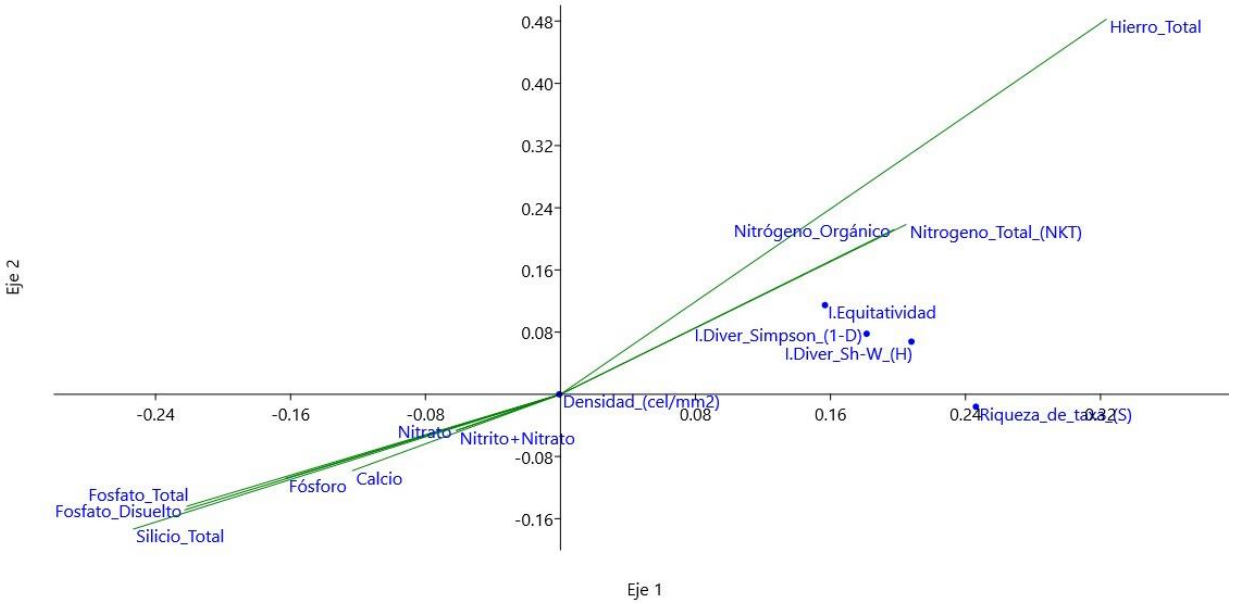


Figura 9-81. Análisis de Correlación Canónica entre nutrientes y parámetros comunitarios de perifiton.

Respecto a las variables hidráulicas, el análisis CCA) evidenció que los parámetros comunitarios riqueza, diversidad y equitatividad se relacionan directamente con los sustratos limo/arcilla y gravas, además de la profundidad y velocidad de corriente; y de forma inversa con los sustratos arena, cantos y piedras. La densidad no evidencia relaciones con variables hidráulicas analizadas (Figura 9-82).

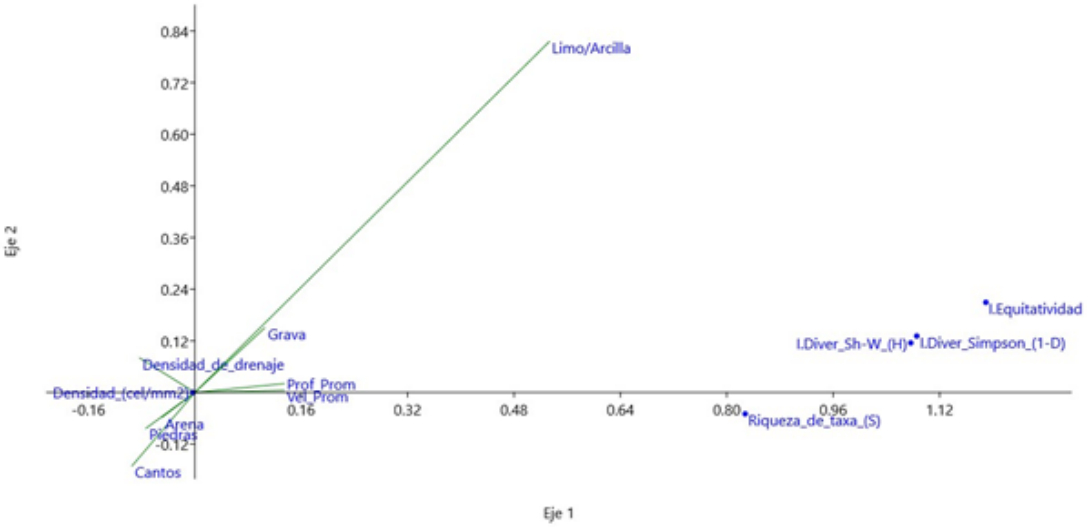


Figura 9-82. Análisis de Correlación Canónica entre variables hidraúlicas y parámetros comunitarios de perifiton.

b) Análisis Multivariado para perifiton en sectores con bloom de *D. geminata*

Al realizar el análisis CCA, para la comunidad de perifiton registrada en sectores con bloom de *D. geminata*, los parámetros comunitarios riqueza, diversidad y equitatividad se relacionaron de forma directa con conductividad eléctrica, temperatura de agua, oxígeno disuelto, saturación de oxígeno y turbidez de agua, y de forma indirecta con el pH (Figura 9-83). La densidad no evidencia relaciones con las variables evaluadas.

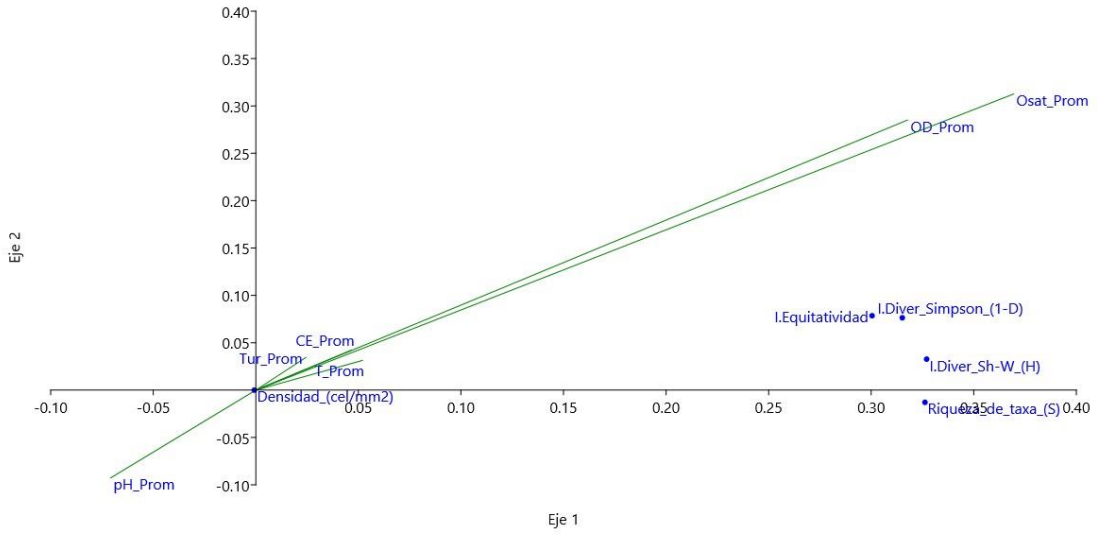


Figura 9-83. Análisis de Correlación Canónica en sectores con bloom, entre variables *in situ* y parámetros comunitarios de perifiton.

Respecto a las variables químicas de laboratorio, específicamente nutrientes, el CCA evidenció que los parámetros comunitarios riqueza, diversidad y equitatividad se relacionan de forma inversa con la concentración de todas las variables químicas analizadas (Figura 9-84). La densidad no evidencia relaciones con variables químicas analizadas.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

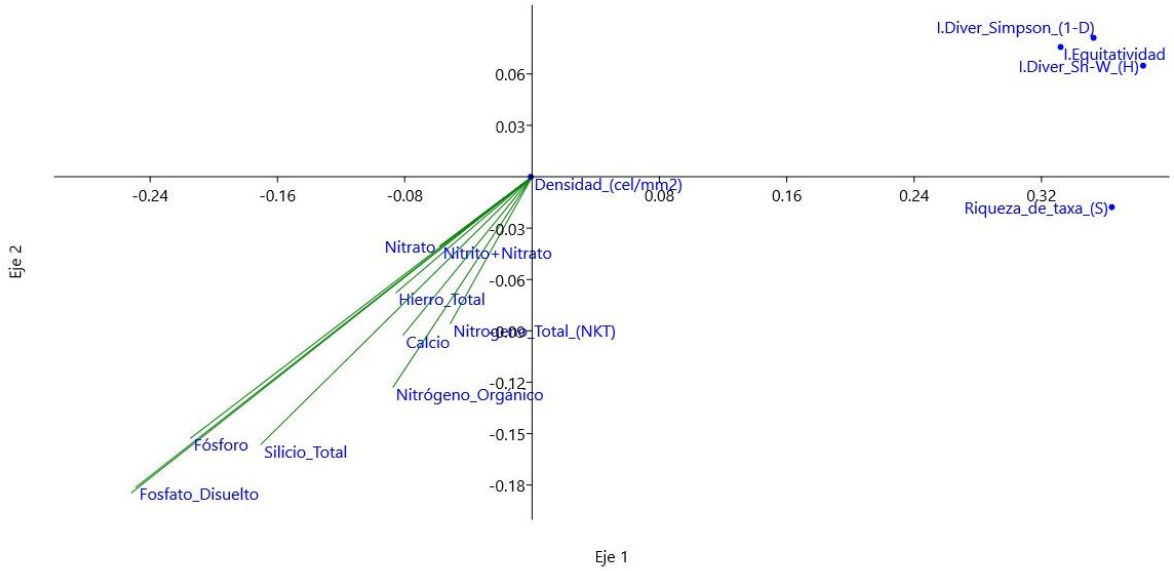


Figura 9-84. Análisis de Correlación Canónica en sectores con bloom, entre nutrientes y parámetros comunitarios de perifiton.

Respecto a variables hidráulicas, el análisis CCA evidenció que los parámetros comunitarios riqueza, diversidad y equitatividad se relacionan directamente con el sustrato piedras, cantos, velocidad de corriente y profundidad; y de forma inversa con la densidad de drenaje, además de los sustratos grava, arena y limo/arcilla. La densidad no evidencia relaciones con variables hidráulicas analizadas (Figura 9-85).

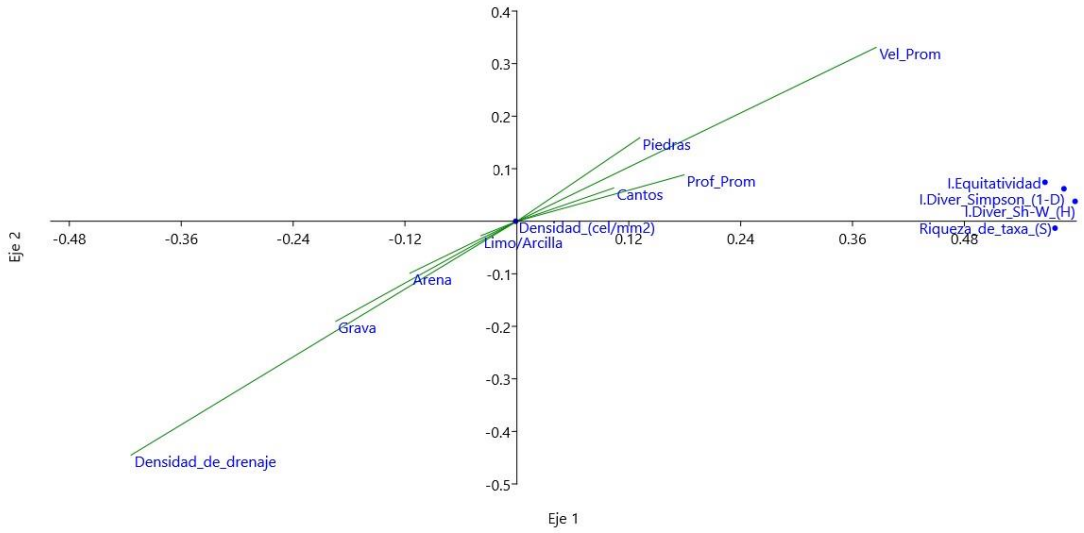


Figura 9-85. Análisis de Correlación Canónica en sectores con bloom, entre variables hidraúlicas y parámetros comunitarios de perifiton.

c) Análisis Multivariado para perifiton en ausencia de *D. geminata*

El análisis (CCA) evidenció que la comunidad de perifiton registrada en sectores donde hay ausencia de *D. geminata* (Figura 9-86) los parámetros comunitarios riqueza, diversidad y equitatividad se relacionó de forma directa con oxígeno disuelto, saturación de oxígeno y turbidez de agua, y de forma indirecta con conductividad eléctrica, pH y temperatura del agua. La densidad no evidencia relaciones con las variables evaluadas.

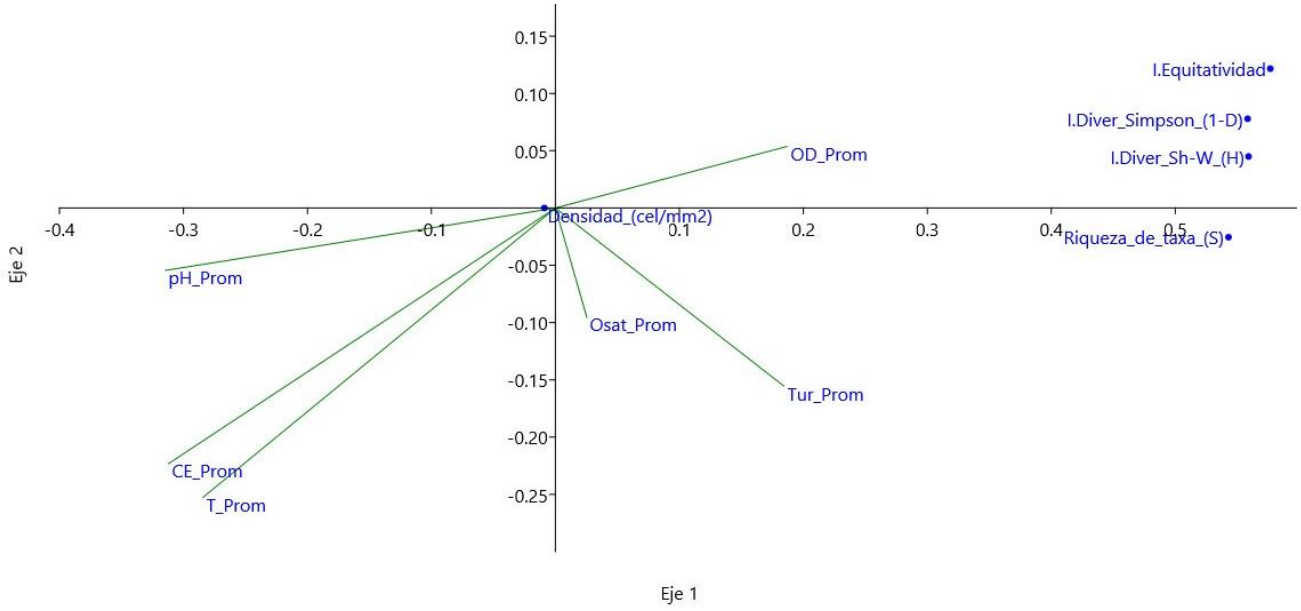


Figura 9-86. Análisis de Correlación Canónica entre variables *in situ* y parámetros comunitarios de perifiton.

Respecto a variables químicas de laboratorio, el análisis (CCA) evidenció que los parámetros comunitarios riqueza, diversidad y equitatividad se relacionan directamente con las concentraciones de hierro, nitrógeno total, nitrógeno orgánico y nitritos y nitraros; y de forma inversa con las concentraciones de silicio, calcio, compuestos fosforados (

Figura 9-87). La densidad no evidencia relaciones con variables químicas analizadas.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

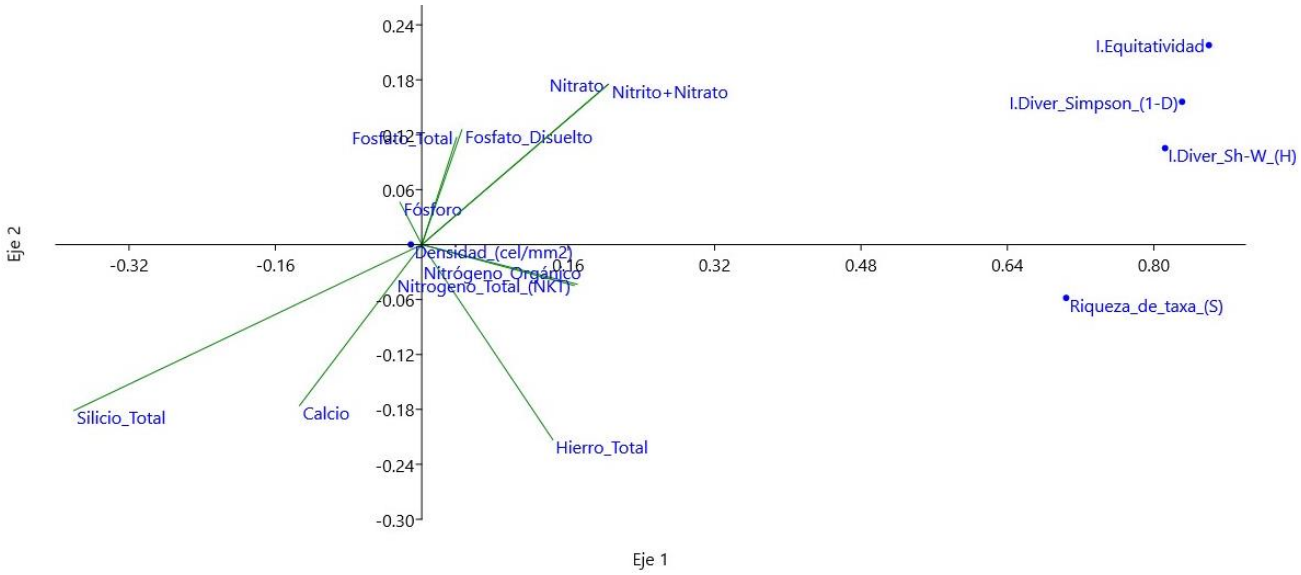


Figura 9-87. Análisis de Correlación Canónica entre nutrientes y parámetros comunitarios de perifiton.

Respecto a variables hidráulicas, un Análisis de Correlación Canónica (CCA) evidenció que los parámetros comunitarios riqueza, diversidad y equitatividad se relacionan directamente con el sustrato arena y grava, además de la profundidad y velocidad de corriente; y de forma inversa con los sustratos limo/arcilla, cantos y piedras (Figura 9-88). La densidad no evidencia relaciones con variables hidráulicas analizadas.

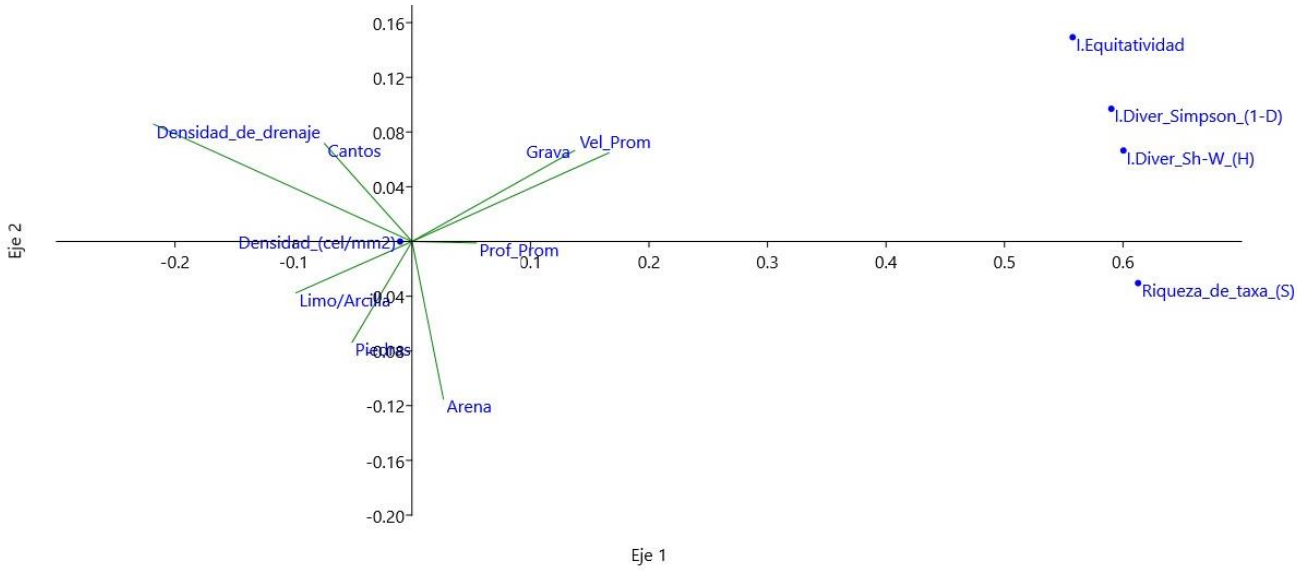


Figura 9-88. Análisis de Correlación Canónica entre variables hidraúlicas y parámetros comunitarios de perifiton.

d) Análisis Multivariado para perifiton en sectores sin bloom de *D. geminata*

En sectores sin bloom, el análisis CCA evidenció que en la comunidad de perifiton los parámetros comunitarios riqueza, diversidad y equitatividad se relacionaron de forma directa con oxígeno disuelto, saturación de oxígeno y turbidez, y de forma inversa con temperatura, conductividad eléctrica y pH (Figura 5-89). La densidad no evidencia relaciones con las variables evaluadas.

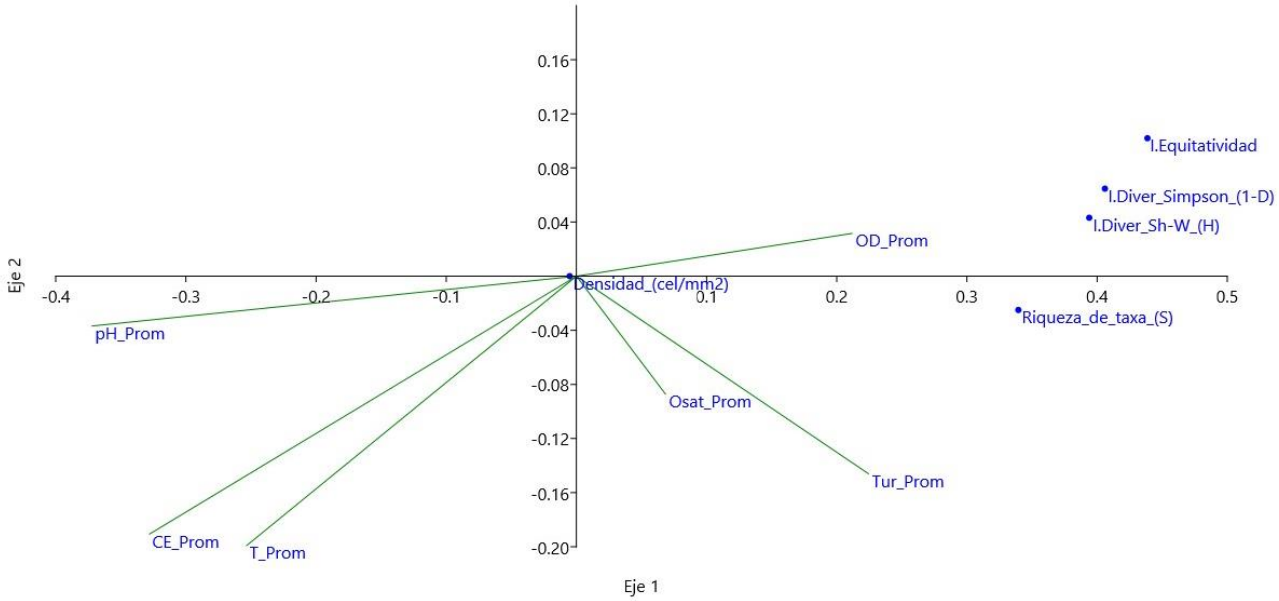


Figura 9-89. **Análisis de Correlación Canónica en sectores sin bloom, entre variables *in situ* y parámetros comunitarios del perifiton.**

Respecto a las variables químicas de laboratorio, el análisis CCA evidenció que los parámetros comunitarios riqueza, diversidad y equitatividad se relacionan de forma directa con compuestos nitrogenados y concentración de hierro y de forma inversa con concentración de silicio y calcio (Figura 9-90). La densidad no evidencia relaciones con variables químicas analizadas.

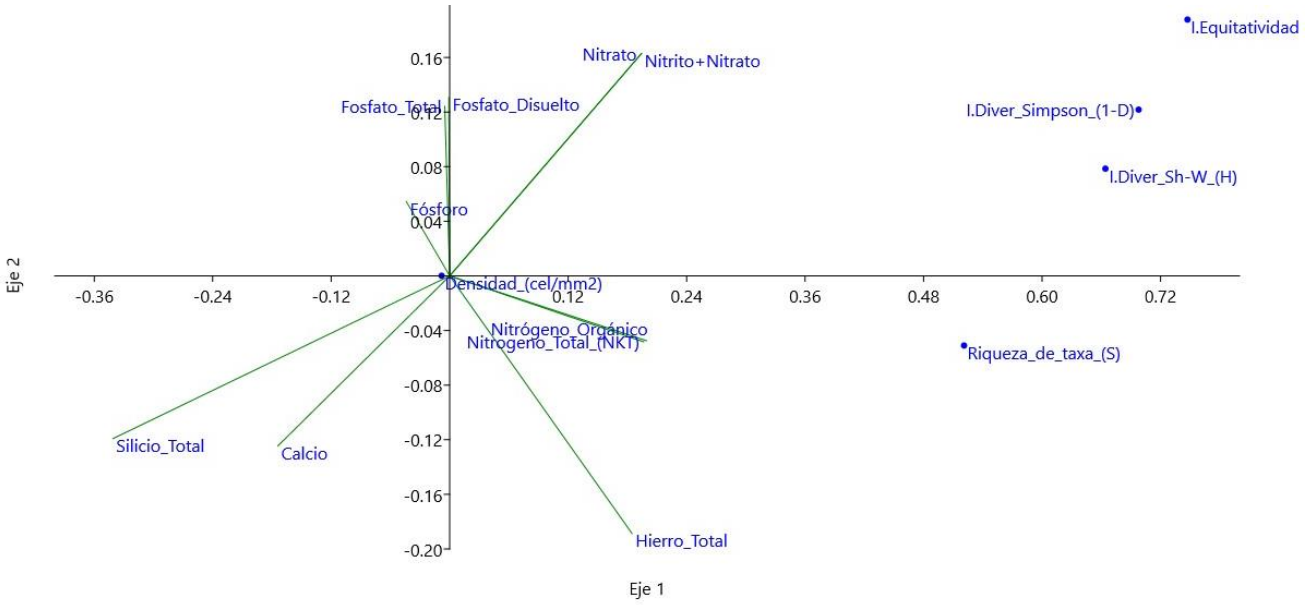


Figura 9-90. Análisis de Correlación Canónica en sectores sin bloom, entre nutrientes y parámetros comunitarios de perifiton.

Respecto a las variables hidráulicas, el análisis (CCA) evidenció que los parámetros comunitarios riqueza, diversidad y equitatividad se relacionan directamente con el sustrato grava y velocidad de corriente. En cambio, se evidenció de forma inversa con las demás variables consideradas. La densidad no evidencia relaciones con variables hidráulicas analizadas (Figura 9-91).

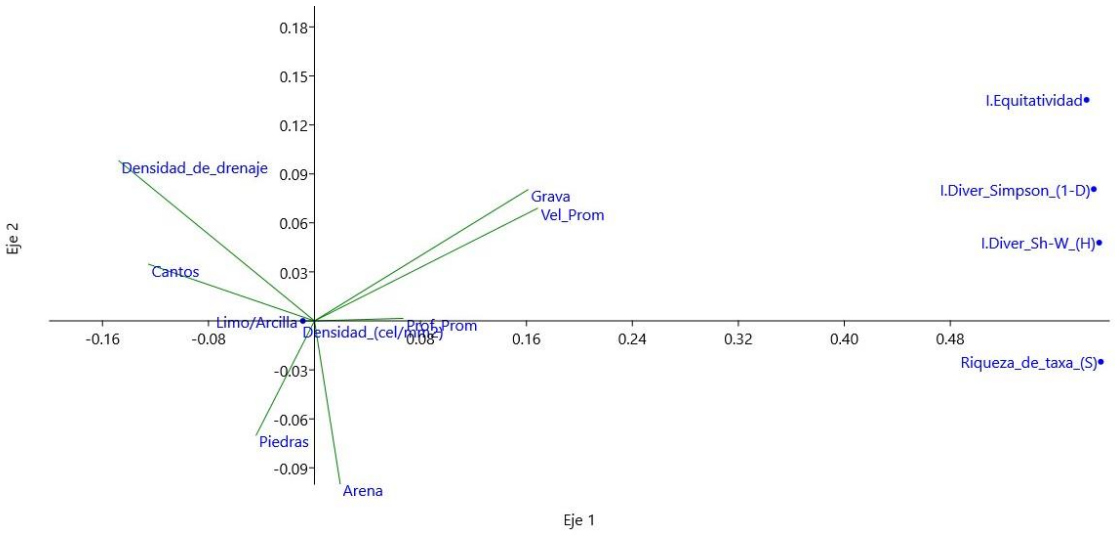


Figura 9-91. Análisis de Correlación Canónica en sectores sin bloom, entre variables hidraúlicas y parámetros comunitarios de perifiton.

e) Análisis Multivariado para diatomeas bentónicas con presencia de *D. geminata*

El análisis CCA respecto a la comunidad de diatomeas bentónicas relacionada con los parámetros *in situ* (Figura 9-92), evidenciaron que los índices de diversidad y equitatividad se relacionaron de forma directa con la saturación de oxígeno, oxígeno disuelto y turbidez del agua de los ríos analizados. Mientras que, se presentó una relación indirecta con la conductividad eléctrica, pH y temperatura del agua. Respecto a densidad de diatomeas, no evidenció relaciones con los parámetros *in situ* analizados. La riqueza tampoco evidenció una relación clara con los parámetros *in situ* evaluados.

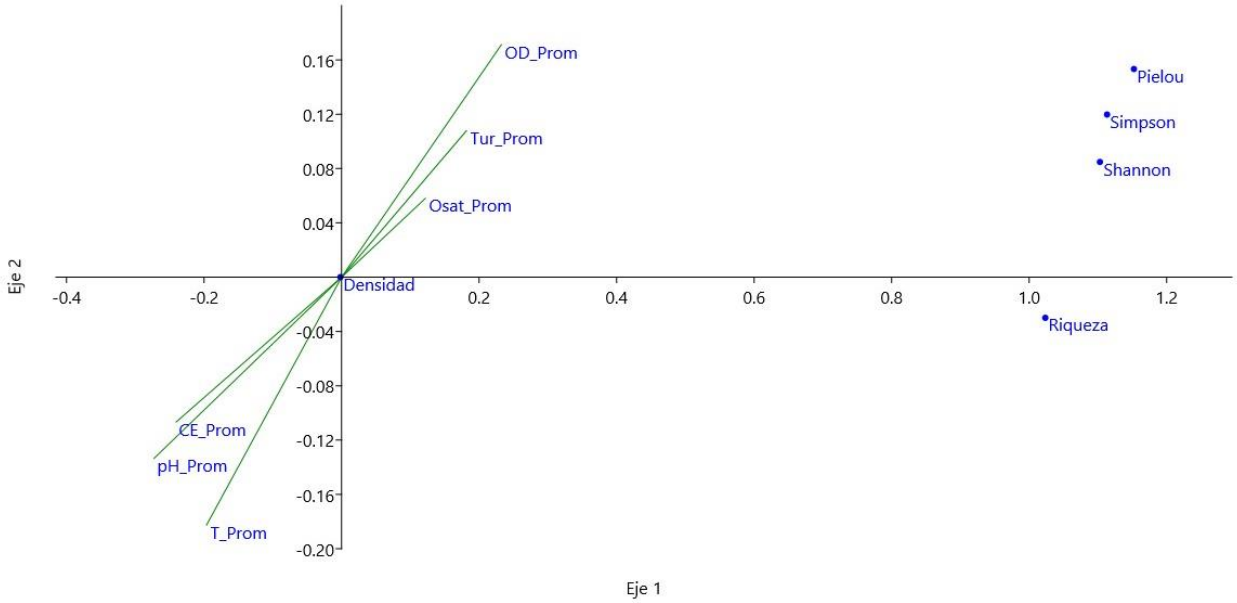


Figura 9-92. Análisis de Correlación Canónica (CCA), entre variables *in situ* y parámetros comunitarios de las diatomeas bentónicas.

El análisis CCA, respecto a la comunidad de diatomeas bentónicas relacionada con los parámetros químicos de laboratorio (Figura 9-93), evidenciaron que los índices riqueza, diversidad y equitatividad se relacionaron de forma directa con la concentración de los compuestos nitrogenados, además de la concentración de hierro y fósforo. Mientras que, se relacionaron de forma inversa con las concentraciones de Silicio y Calcio. La densidad no evidenció relaciones claras respecto a las concentraciones de nutrientes analizados.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

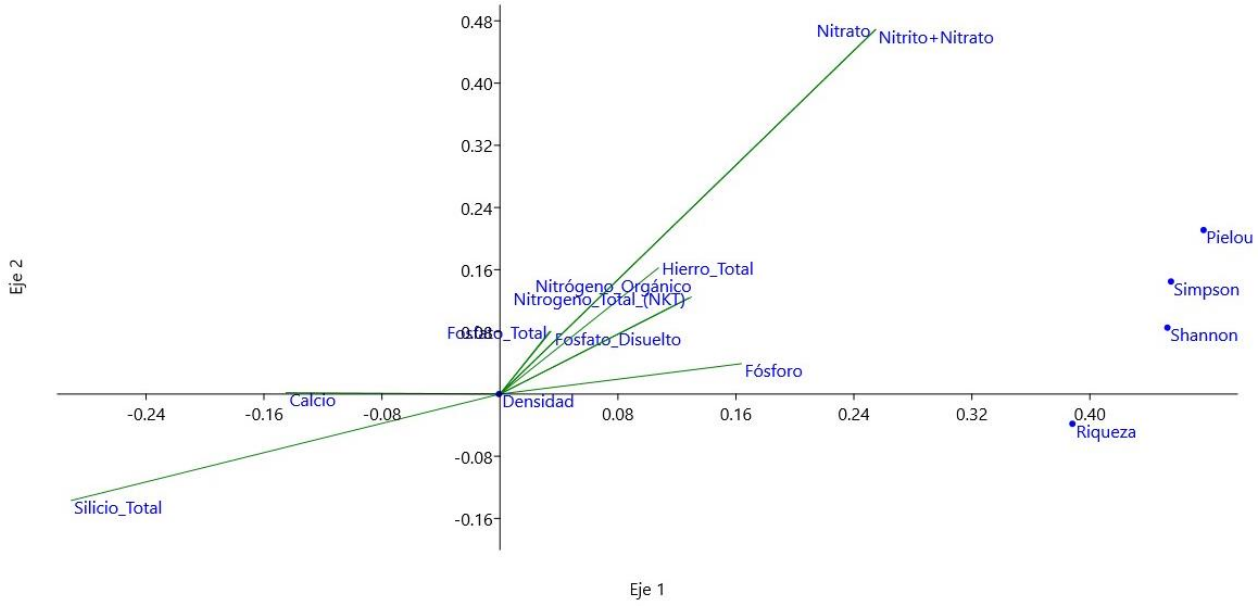


Figura 9-93. Análisis de Correlación Canónica entre nutrientes y parámetros comunitarios de las diatomeas bentónicas.

Por otra parte, el análisis CCA, respecto a la comunidad de diatomeas bentónicas relacionada con las variables hidraúlicas (sustrato, velocidad media de corriente y densidad de drenaje) (Figura 9-94), evidenciaron para riqueza, diversidad y equitativiad relaciones directas con el sustrato tamaño grava y la profundidad media. En cambio, se evidenciaron relaciones de forma inversa con la densidad de drenaje y los sustratos limo, arcilla, piedras y arena. La densidad no evidenció relaciones con las variables analizadas.

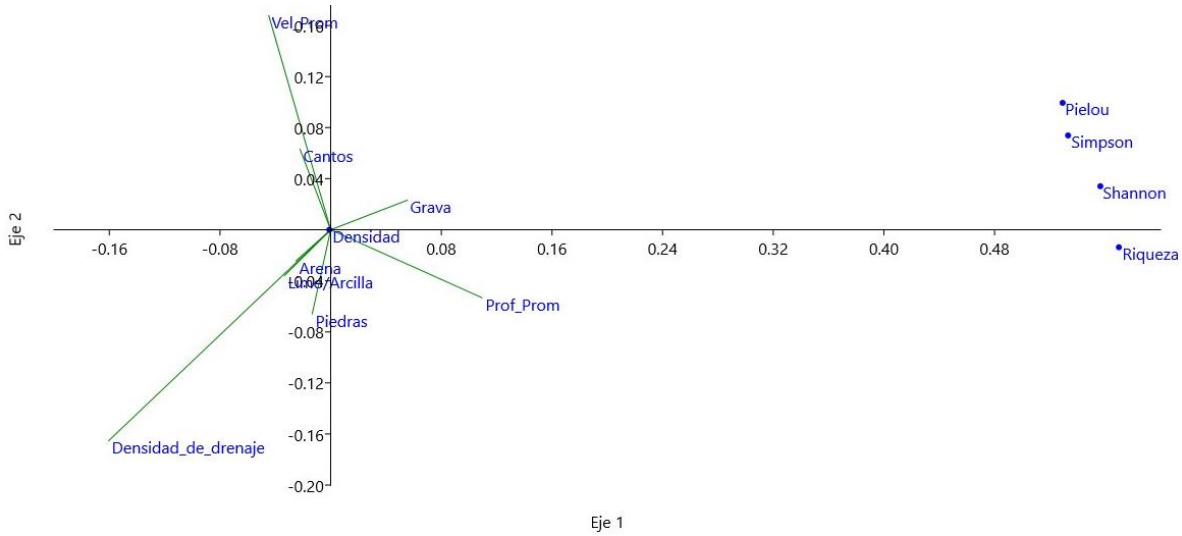


Figura 9-94. Análisis de Correlación Canónica entre variables hidraúlicas y parámetros comunitarios de las diatomeas bentónicas.

f) Análisis Multivariado para diatomeas bentónicas en ausencia de *D. geminata*

El análisis (CCA) evidenció que la comunidad de diatomeas registrada en sectores con ausencia de *D. geminata*, los parámetros comunitarios riqueza, diversidad y equitatividad se relacionaron de forma directa con oxígeno disuelto, saturación de oxígeno y turbidez de agua, y de forma inversa con conductividad eléctrica, pH y temperatura del agua (Figura 9-95.). La densidad no evidencia relaciones con las variables evaluadas.

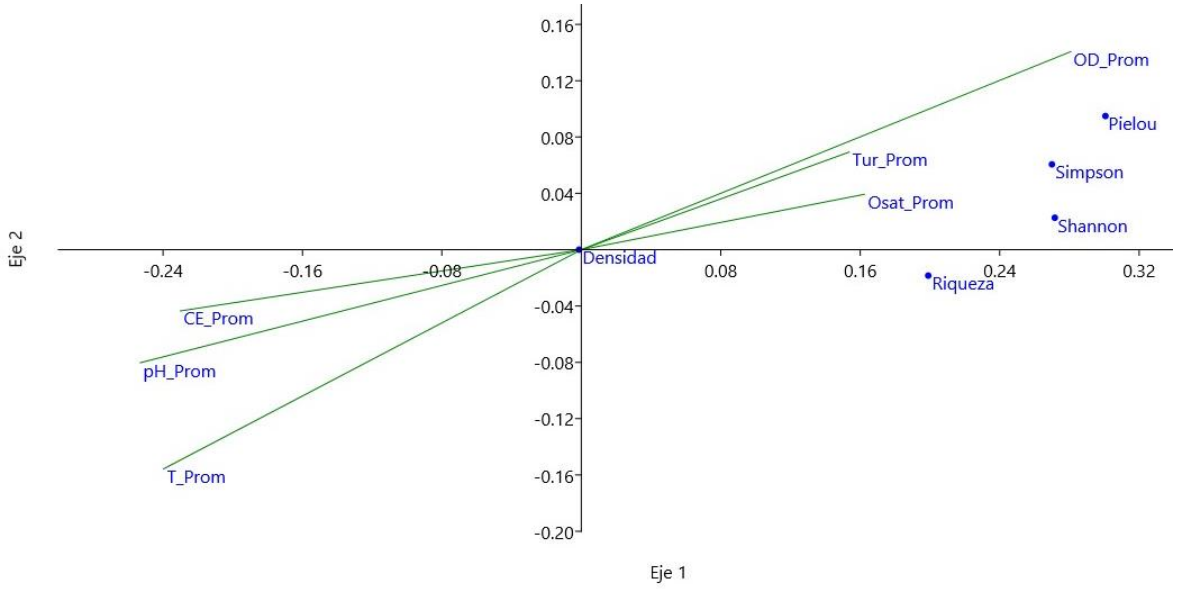


Figura 9-95. Análisis de Correlación Canónica (CCA), entre variables *in situ* y parámetros comunitarios de las diatomeas bentónicas.

Respecto a las variables químicas de laboratorio, el análisis (CCA) evidenció que los parámetros comunitarios riqueza, diversidad y equitatividad se relacionan directamente con las concentraciones de fosfato disuelto, hierro, nitrógeno total, nitrógeno orgánico y nitritos y nitraros; y de forma inversa con las concentraciones de silicio y calcio (Figura 9-96). La densidad no evidencia relaciones con variables químicas analizadas.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

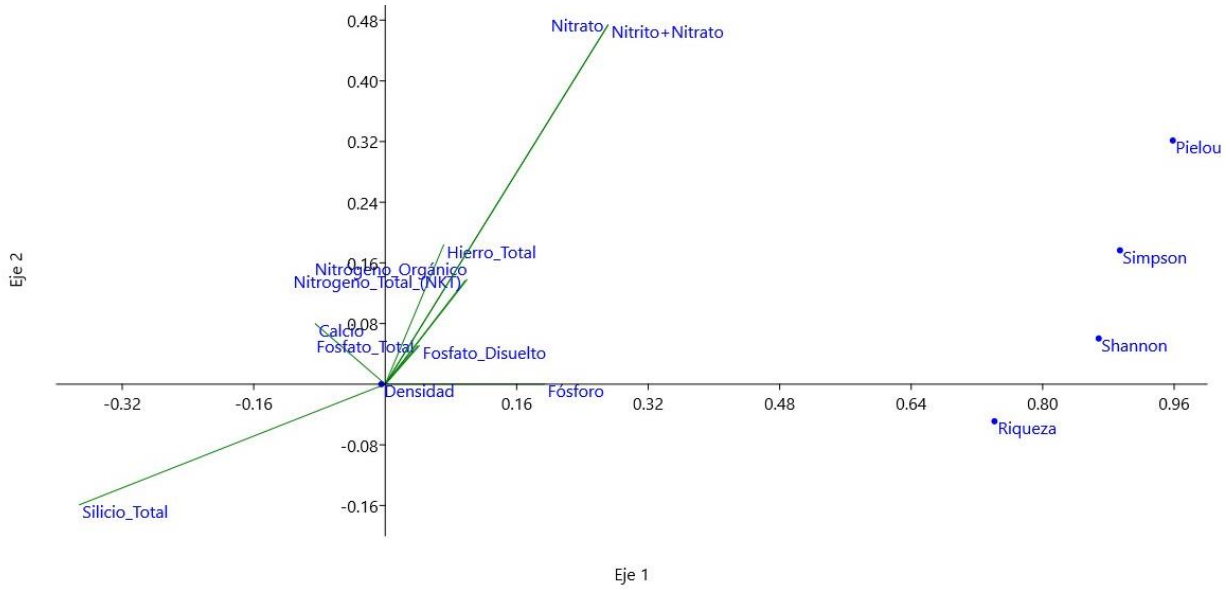


Figura 9-96. Análisis de Correlación Canónica entre nutrientes y parámetros comunitarios de las diatomeas bentónicas.

Respecto a variables hidráulicas, el análsis (CCA) evidenció que los parámetros comunitarios riqueza, diversidad y equitatividad se relacionan directamente con el sustrato grava y la profundidad, y de forma inversa con las demás variables analizadas (Figura 9-97.). La densidad no evidencia relaciones con variables hidráulicas analizadas.

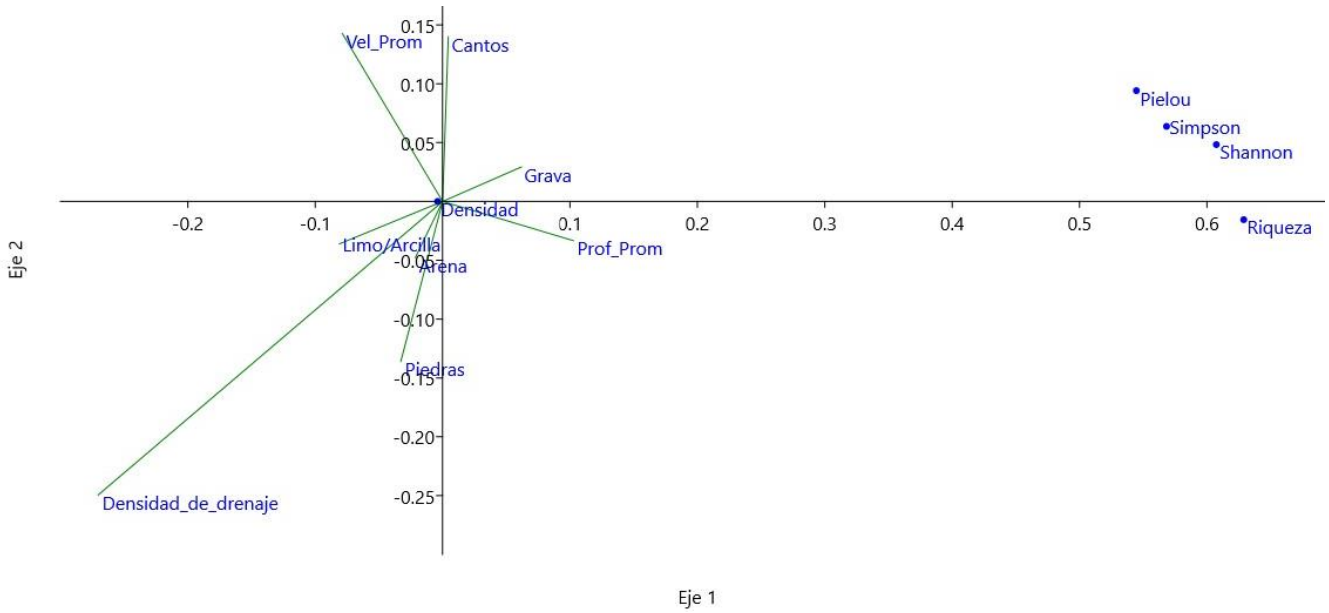


Figura 9-97. Análisis de Correlación Canónica entre variables hidraúlicas y parámetros comunitarios de las diatomeas bentónicas

g) Análisis Multivariado para diatomeas bentónicas en sectores con bloom de *D. geminata*

El análisis (CCA) evidenció para la comunidad de diatomeas bentónicas registrada en ríos con bloom de *D. geminata* (Figura 9-98), que los parámetros comunitarios riqueza, diversidad y equitatividad se relacionaron de forma directa con conductividad eléctrica, temperatura de agua, oxígeno disuelto, saturación de oxígeno y turbidez de agua, y de forma indirecta con el pH. La densidad no evidenció relaciones con las variables evaluadas.

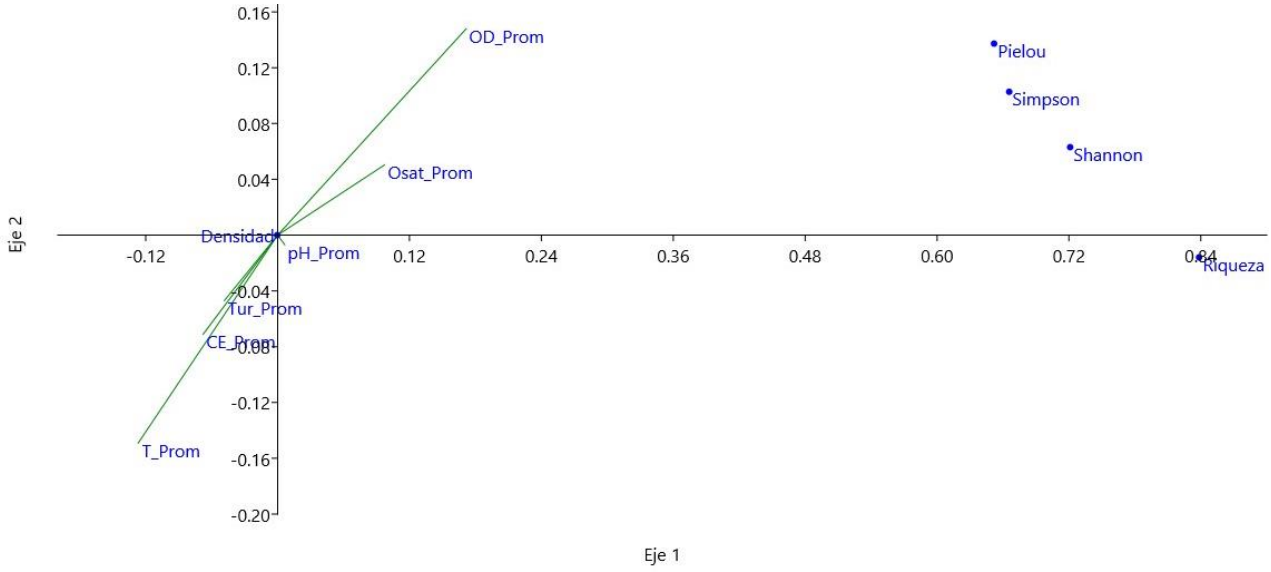


Figura 9-98. Análisis de Correlación Canónica (CCA), entre variables *in situ* y parámetros comunitarios de las diatomeas bentónicas en sectores con bloom de *D. geminata*.

Respecto a variables químicas de laboratorio, el análisis (CCA) evidenció que los parámetros comunitarios riqueza, diversidad y equitatividad se relacionan de forma directa con las concentraciones de nitrógeno orgánico, nitrógeno total, fosfato total y fosfato disuelto, y de forma inversa con el resto de variables analizadas. La densidad no evidenció relaciones con variables químicas analizadas (Figura 9-99).

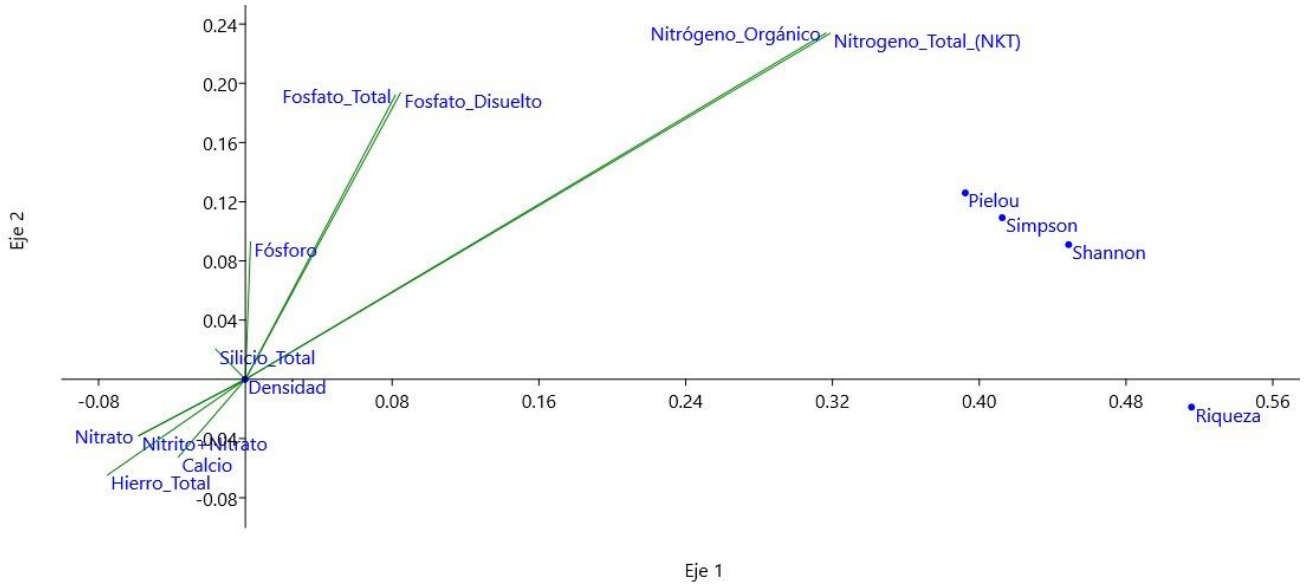


Figura 9-99. Análisis de Correlación Canónica entre nutrientes y parámetros comunitarios de las diatomeas bentónicas en sectores con bloom de *D. geminata*.

Respecto a variables hidráulicas, el análisis (CCA) evidenció que los parámetros comunitarios riqueza, diversidad y equitatividad se relacionan directamente con el sustrato cantos y densidad de drenaje; y de forma inversa con la velocidad de corriente, profundidad, además de los sustratos grava, arena y limo/arcilla. La densidad no evidenció relaciones con variables hidráulicas analizadas (Figura 9-100).

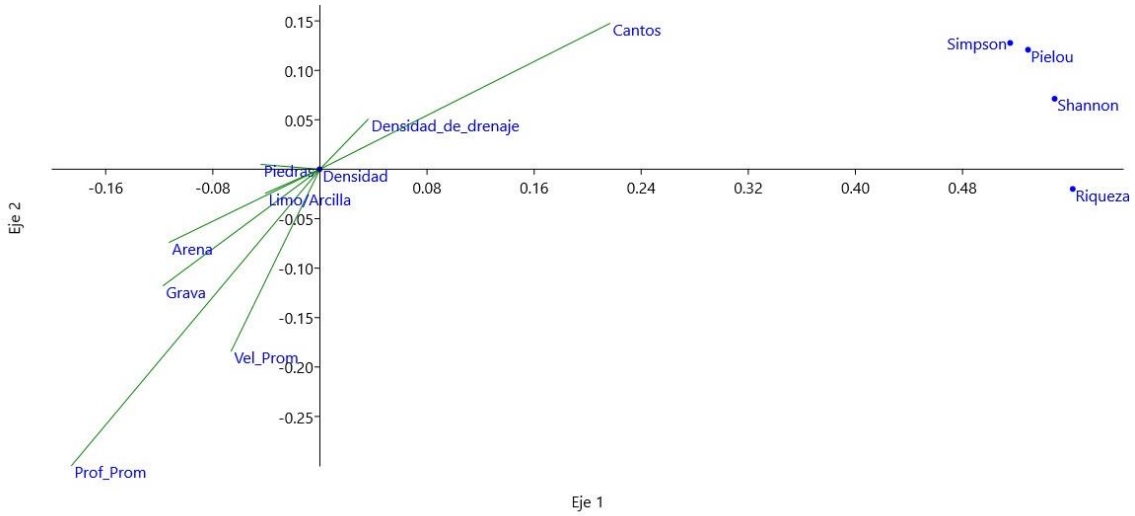


Figura 9-100. **Análisis de Correlación Canónica entre variables hidraúlicas y parámetros comunitarios de las diatomeas bentónicas en sectores con bloom de *D. geminata.***

h) Análisis Multivariado para diatomeas bentónicas en sectores sin bloom de *D. geminata*

Para los sectores sin bloom de *D. geminata*, considerando que se registró la presencia de este, se observó al realizar el análisis (CCA), que la comunidad de diatomeas bentónicas registrada, los parámetros comunitarios riqueza, diversidad y equitatividad se relacionaron de forma directa con oxígeno disuelto, saturación de oxígeno y turbidez, y de forma inversa con temperatura, conductividad eléctrica y pH. La densidad no evidencia relaciones con las variables evaluadas (Figura 9-101).

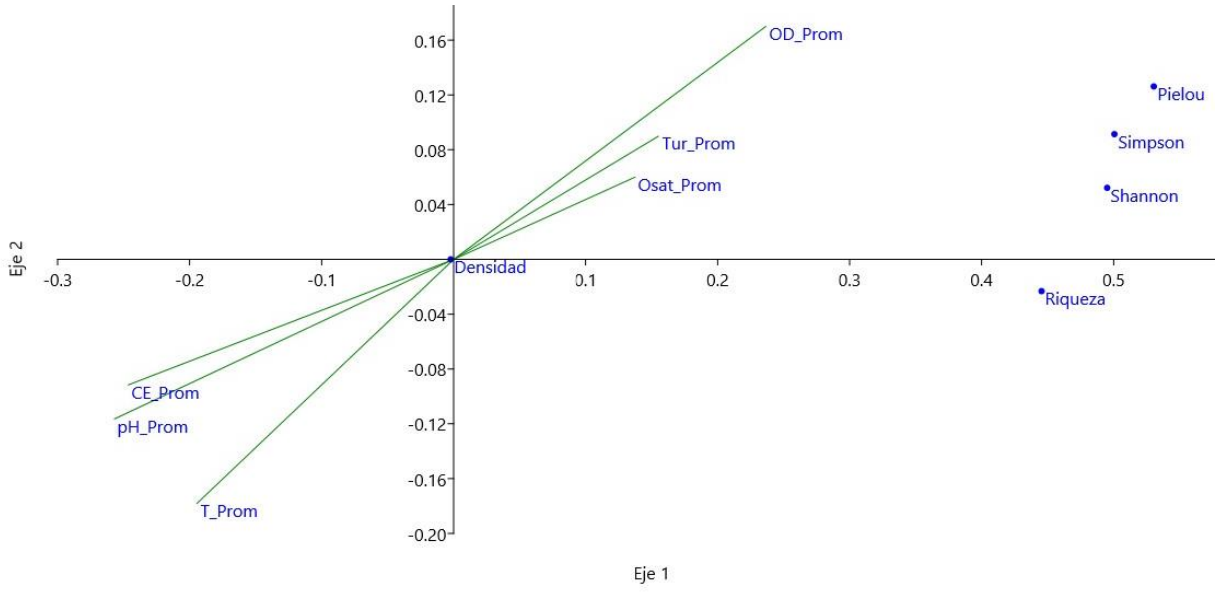


Figura 9-101. Análisis de Correlación Canónica (CCA), entre variables *in situ* y parámetros comunitarios de las diatomeas bentónicas en sectores sin bloom de *D. geminata*.

Respecto a variables químicas de laboratorio, el análsis (CCA) evidenció que los parámetros comunitarios riqueza, diversidad y equitatividad se relacionan de forma directa con compuestos nitrogenados y concentración de hierro; y de forma inversa con concentración de silicio y calcio. La densidad no evidenció relaciones con variables químicas analizadas (Figura 9-102).

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

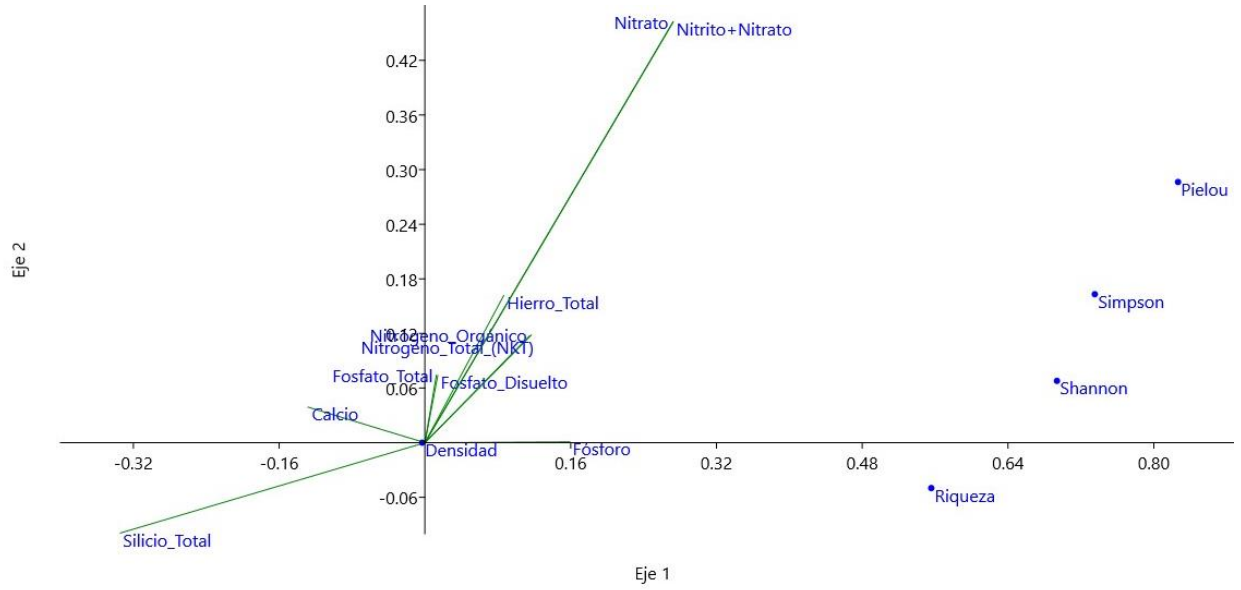


Figura 9-102. Análisis de Correlación Canónica entre nutrientes y parámetros comunitarios de las diatomeas bentónicas en sectores sin bloom de *D. geminata*.

Respecto a variables hidráulicas, un Análisis de Correlación Canónica (CCA) evidenció que los parámetros comunitarios riqueza, diversidad y equitatividad se relacionan directamente con el sustrato grava y profundidad; y de forma inversa con las demás variables consideradas. La densidad no evidencia relaciones con variables hidráulicas analizadas (Figura 9-103).

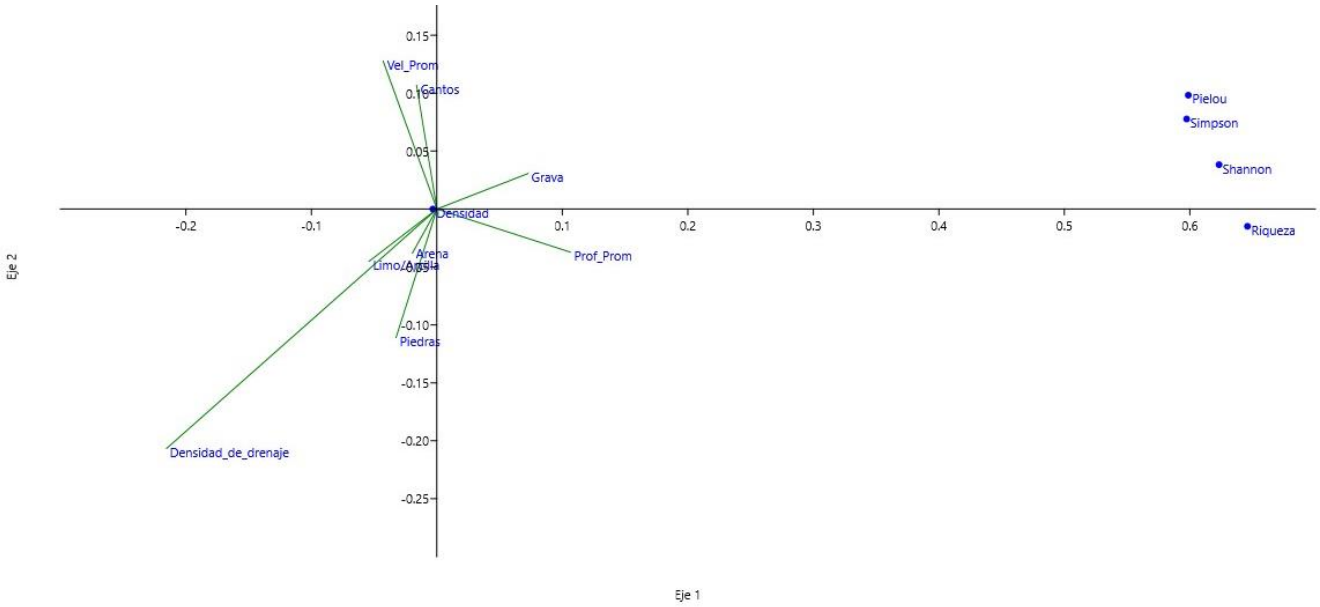


Figura 9-103. Análisis de Correlación Canónica entre variables hidraúlicas y parámetros comunitarios de las diatomeas bentónicas en sectores sin bloom de *D. geminata*.

9.3.3 Potenciales vectores de dispersión de la plaga

Dentro de los potenciales vectores de dispersión se consideró la fauna íctica, avifauna, mamíferos acuáticos y el ser humano. Cabe destacar que estos resultados son preliminares y corresponden a una primera aproximación en lo que respecta a la dispercion del Didymo.

a) Fauna íctica

En la Tabla 9-21 se muestra la presencia de *D. geminata* en las estaciones en que se realizó el monitoreo de fauna íctica. Para cada una de ellas, se indica la presencia o ausencia histórica de esta microalga, y las estaciones que actualmente resultaron positivos y/o negativos para *D. geminata* en las comunidades de perifiton y fitoplancton.

Tabla 9-21.Estaciones monitoreadas, cuenca a la que pertenecen y presencia de *D. geminata* en cada una de ellas (presencia histórica y en las comunidades de perifiton y fitoplancton)

Estación	Cuenca	Presencia de *D. geminata*		
		Histórico	Perifiton	Fitoplancton
Cisnes_060	Costeras e Islas entre río Palena y río Aysén	No	No	Si
Grande_O_010	Costeras e Islas entre río Palena y río Aysén	No	No	No
Rodriguez_010	Costeras e Islas entre río Palena y río Aysén	No	No	No
Grande_E_010	Costeras e Islas entre río Palena y río Aysén	No	No	No
Nireguao_020	Río Aysén	Si	Si	Si
Pollux_010	Río Aysén	Si	Si	Si
Coyhaique_010	Río Aysén	No	Si	Si
Norte_010	Río Aysén	Si	Si	Si

Muestreo de fauna íctica y detección de células de *D. geminata*

A continuación se presentan los resultados del monitoreo de fauna íctica en las cuencas Costeras e Islas y rio Aysén (Tabla 9-22). En cada caso, se muestra el arte de pesca utilizado, las especies capturadas, el código de estación, los resultados de variables morfométricas y los recuentos de células viables de *D. geminata*. Aquellos ejemplares sin código corresponden a individuos

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

capturados a los que no se les extrajo muestra de raspado, debido su estadio de desarrollo (no eran juveniles o adultos).

Cuencas Costeras e Islas entre río Palena y río Aysén

En las cuencas costeras e islas entre río Palena y río Aysén, fueron prospectadas cuatro estaciones de muestreo entre las que se encuentran Estación Cisnes_060, Estación Grande_O_010, Estación Rodríguez_010 y Estación Grande_E_010.

Las estaciones muestreadas, presentan ausencia de *D. geminata* en las comunidades de fitoplancton y perifiton, a excepción de la Estación Cisnes_060, en la cual se observó células viables de *D. geminata* (con cloroplasto en su interior) en la muestra de fitoplancton.

- *Estación Cisnes_060*

Esta estación se encuentra ubicada en el río Cisnes, en la subcuenca del mismo nombre, a una altitud geográfica de 14 m.s.n.m. En este sitio fueron capturados cinco ejemplares de la especie *Salmo trutta* (trucha marrón). Para el muestreo se utilizó pesca eléctrica, con un esfuerzo de pesca de 120 minutos. La abundancia fue de tres individuos (CPUE ind/hora) y la riqueza de especies fue igual a uno. El calado de espinel no dio resultados positivos.

De los cinco ejemplares capturados, sólo en uno de ellos se observó una célula muerta de *D. geminata* (Figura 9-104). Cabe mencionar que esto fue observado en el individuo de mayor peso corporal, longitud y factor de condición (Tabla 9-22).

Tabla 9-22. Muestreo de fauna íctica, Estación Cisnes_060

Ejemplar	Arte de pesca	Especie	Código muestra	Células de *D. geminata*		Peso Total	Longitud Total	Factor condición
				Vivas	Muertas			
1	P. eléctrica	*S. trutta*	Cs1	0	1	21,8	13,5	0,89
2	P. eléctrica	*S. trutta*	Cs2	0	0	1,6	5,9	0,78
3	P. eléctrica	*S. trutta*	Cs3	0	0	2	6,3	0,8
4	P. eléctrica	*S. trutta*	Cs4	0	0	0,6	4,5	0,66
5	P. eléctrica	*S. trutta*	Cs5	0	0	0,7	4,3	0,88
Promedio						5,3	6,9	0,80

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

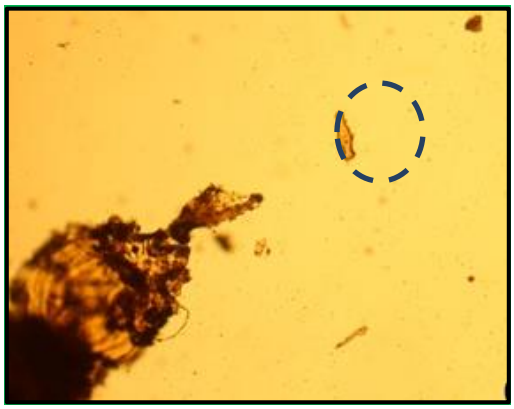


Figura 9-104. Vista Valvar de una célula de *D. geminata* (círculo), observada en muestras de escamas de *S. trutta*, réplica Cs1, Estación Cisnes_060

- *Estación Grande_O_010*

Esta estación se encuentra ubicada en el río Grande, en la subcuenca del río Cisnes, a una altitud de 194 m.s.n.m. En esta estación fueron capturados cinco ejemplares de *S. trutta* (trucha marrón) y tres de *Oncorhynchus mykiss* (trucha arcoíris). Para el muestreo se utilizó pesca eléctrica, con un esfuerzo de pesca de 120 minutos. La abundancia fue de cinco individuos (CPUE ind/hora), tres de *S. trutta* y dos de *O. mykiss*. La riqueza de especies fue igual a dos, mientras que la diversidad de Shannon-Wiener fue de 0,67 (nits/ind). El calado del espinel no dio resultados positivos.

Por otra parte, no se observó células de *D. geminata* en los ocho ejemplares capturados (Tabla 9-23).

Tabla 9-23. Muestreo de fauna íctica, Estación Grande_O_010

Ejemplar	Arte de pesca	Especie	Código muestra	Células de *D. geminata*		Peso Total	Longitud Total	Factor condición
				Vivas	Muertas			
1	P. eléctrica	*O. mykiss*	GO1	0	0	5,1	8,3	0,89
2	P. eléctrica	*O. mykiss*	GO2	0	0	14,3	12,5	0,73
3	P. eléctrica	*O. mykiss*	GO3	0	0	4,5	8,0	0,88
4	P. eléctrica	*S. trutta*	GO4	0	0	4,6	8,2	0,83
5	P. eléctrica	*S. trutta*	GO5	0	0	9,7	10	0,97
6	P. eléctrica	*S. trutta*	GO6	0	0	3,5	7,0	1,02
7	P. eléctrica	*S. trutta*	GO7	0	0	3,2	6,5	1,17
8	P. eléctrica	*S. trutta*	GO8	0	0	29,6	15,8	0,75
Promedio						9,3	9,5	0,91

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

- *Estación Rodríguez_010*

Esta estación se ubica en la subcuenca del río Cisnes, a una altitud de 269 m.s.n.m. En este sitio fueron capturados un total de cuatro individuos de *S. trutta* (trucha marrón); tres de ellos mediante pesca eléctrica y uno mediante espinel. En el primer caso, el esfuerzo de muestreo fue de 60 minutos (CPUE ind/hora). La abundancia fue de cuatro individuos, y la riqueza de especies fue igual a uno.

En relación a la detección de células de *D. geminata* en los ejemplares capturados, esta fue negativa en todos ellos (Tabla 9-24).

Tabla 9-24. Muestreo de fauna íctica, Estación Rodríguez_010

Ejemplar	Arte de pesca	Especie	Código muestra	Células de *D. geminata*		Peso Total	Longitud Total	Factor condición
				Vivas	Muertas			
1	Espinel	*S. trutta*	R1	0	0	216,6	28,8	0,91
2	P. eléctrica	*S. trutta*	R2	0	0	9,7	10,5	0,84
3	P. eléctrica	*S. trutta*	R3	0	0	70,3	19,4	0,96
4	P. eléctrica	*S. trutta*	R4	0	0	11,1	10,8	0,88
5	P. eléctrica	*S. trutta*	R5	0	0	10,2	9,9	1,05
Promedio						63,6	15,9	0,93

- *Estación Grande_E_010*

Esta estación se ubica en el río Grande, en la subcuenca del río Cisnes, a una altitud de 472 m.s.n.m. En esta estación fueron capturados un total de 12 ejemplares de *S. trutta*. Del total de individuos, sólo uno de ellos fue capturado mediante espinel, en tanto que los restantes fueron capturados mediante pesca eléctrica, con un esfuerzo de muestreo de 60 minutos (CPUE ind/hora). La abundancia fue de 12 individuos, y la riqueza de especies fue igual a uno.

Por otra parte, no se observó células de *D. geminata* en los ejemplares capturados (Tabla 9-25).

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

Tabla 9-25. Muestreo de fauna íctica, Estación Grande_E_010

Ejemplar	Arte de pesca	Especie	Código muestra	Células de *D. geminata*		Peso Total	Longitud Total	Factor condición
				Vivas	Muertas			
1	Espinel	*S. trutta*	GE1	0	0	279,1	29,5	1,09
2	P. eléctrica	*S. trutta*	GE2	0	0	18,3	12,1	1,03
3	P. eléctrica	*S. trutta*	GE3	0	0	2,5	5,5	1,5
4	P. eléctrica	*S. trutta*	GE4	0	0	1,1	4,8	0,99
5	P. eléctrica	*S. trutta*	GE5	0	0	1,5	5,2	1,07
6	P. eléctrica	*S. trutta*	GE6	0	0	1,4	5,0	1,12
7	P. eléctrica	*S. trutta*	GE7	0	0	1,4	5,1	1,06
8	P. eléctrica	*S. trutta*	GE8	0	0	1,3	4,9	1,1
9	P. eléctrica	*S. trutta*	GE9	0	0	1,8	5,3	1,21
10	P. eléctrica	*S. trutta*	GE10	0	0	1,5	5,2	1,07
11	P. eléctrica	*S. trutta*	Sin código	n/a	n/a	1,1	4,9	0,93
12	P. eléctrica	*S. trutta*	Sin código	n/a	n/a	1,0	5,0	0,8
13	P. eléctrica	*S. trutta*	Sin código	n/a	n/a	0,9	4,8	0,81
Promedio						24,1	7,5	1,06

Cuenca río Aysén

En la cuenca Aysén, fueron prospectadas cuatro estaciones de muestreo i.e. Estación Nirehuao_020, Estación Pollux_010, Estación Coyhaique_010 y Estación Norte_010. La mayoría de las estaciones muestreadas, cuentan con un reporte previo de la presencia de *D. geminata* en sus ríos, a excepción de la Estación Coyhaique_010, la cual hasta la fecha se encontraba libre de la plaga. Cabe destacar que, los resultados del análisis de las comunidades de perifiton y fitoplancton mostraron presencia de *D. geminata* en todas las estaciones, en las que además se observó alto a muy alto desarrollo mucoso adherido al sustrato.

- *Estación Ñirehuao_020*

Esta estación se ubica en el río Ñirehuao, en la subcuenca del río Mañihuales, a una altitud de 149 m.s.n.m. Este sitio presentó desarrollo mucoso con una cobertura del sustrato menor al 20 %, de 2,1 cm de espesor, lo que corresponde a “Muy alta mucosidad” (Manual Didymo SUBPESCA, 2016).

En esta estación se registró un total de ocho individuos de *S. trutta*, todos ellos capturados mediante pesca eléctrica, con un esfuerzo de muestreo de 60 minutos (CPUE ind/hora). La abundancia fue de ocho individuos y la riqueza de especies fue igual a uno.

Los resultados del análisis de raspado de peces reveló la presencia de dos células muertas de *D. geminata*, ambas observadas en la réplica Ni1 (Tabla 9-26).

Tabla 9-26. Muestreo de fauna íctica, Estación Nirehuao_020

Ejemplar	Arte de pesca	Especie	Código muestra	Células de *D. geminata*		Peso Total	Longitud Total	Factor condición
				Vivas	Muertas			
1	P. eléctrica	*S. trutta*	Ñi1	0	2	2,9	6,9	0,88
2	P. eléctrica	*S. trutta*	Ñi2	0	0	3,1	6,6	1,08
3	P. eléctrica	*S. trutta*	Ñi3	0	0	4,0	7,8	0,84
4	P. eléctrica	*S. trutta*	Ñi4	0	0	1,1	5,0	0,88
5	P. eléctrica	*S. trutta*	Ñi5	0	0	3,0	6,7	1,00
6	P. eléctrica	*S. trutta*	Ñi6	0	0	1,3	4,9	1,10
7	P. eléctrica	*S. trutta*	Sin código	n/a	n/a	0,8	3,7	1,58
8	P. eléctrica	*S. trutta*	Sin código	n/a	n/a	0,9	3,8	1,64
Promedio						2,1	5,7	1,13

- *Estación Pollux_010*

Esta estación se ubica en el río Pollux, en la subcuenca del río Simpson, a una altitud de 349 m.s.n.m. La estación presentó desarrollo mucoso con una cobertura del sustrato de entre 50 y 80%, con 3,4 cm de espesor, lo que corresponde a “Muy alta mucosidad”, de acuerdo al (Manual Didymo SUBPESCA, 2016).

En esta estación se registró un total de 23 ejemplares de *S. trutta* y un ejemplar de *O. mykiss*, todos ellos capturados mediante pesca eléctrica, con un esfuerzo de muestreo de 60 minutos (CPUE ind/hora). La abundancia total fue de 24 individuos, la riqueza de especies fue igual a dos y la diversidad de Shannon-Wiener fue de 0,17 (nits/ind).

Los resultados del análisis de raspado de peces fueron negativos para la presencia de células de *D. geminata*, para todos los individuos capturados (Tabla 9-27).

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

Tabla 9-27. Muestreo de fauna íctica, Estación Pollux_010

Ejemplar	Arte de pesca	Especie	Código muestra	Células de *D. geminata*		Peso Total	Longitud Total	Factor condición
				Vivas	Muertas			
1	P. eléctrica	*S. trutta*	1P	0	0	62,5	17,1	1,25
2	P. eléctrica	*S. trutta*	2P	0	0	47,9	16,2	1,13
3	P. eléctrica	*S. trutta*	3P	0	0	52	16,4	1,18
4	P. eléctrica	*S. trutta*	4P	0	0	45,4	15	1,35
5	P. eléctrica	*S. trutta*	5P	0	0	32,6	14,1	1,16
6	P. eléctrica	*O. mykiss*	6P	0	0	67,6	18,6	1,05
7	P. eléctrica	*S. trutta*	7P	0	0	4	7,5	0,95
8	P. eléctrica	*S. trutta*	8P	0	0	3,8	6,9	1,16
9	P. eléctrica	*S. trutta*	9P	0	0	3,8	7,2	1,02
10	P. eléctrica	*S. trutta*	10P	0	0	3	6,9	0,91
11	P. eléctrica	*S. trutta*	11P	0	0	3,1	6,8	0,99
12	P. eléctrica	*S. trutta*	12P	0	0	2,2	5,4	1,4
13	P. eléctrica	*S. trutta*	Sin código	n/a	n/a	2,1	5,9	1,02
14	P. eléctrica	*S. trutta*	Sin código	n/a	n/a	2,8	6,9	0,85
15	P. eléctrica	*S. trutta*	Sin código	n/a	n/a	3	6,6	1,04
16	P. eléctrica	*S. trutta*	Sin código	n/a	n/a	2,9	6,7	0,96
17	P. eléctrica	*S. trutta*	Sin código	n/a	n/a	2	5,7	1,08
18	P. eléctrica	*S. trutta*	Sin código	n/a	n/a	3,4	6,3	1,36
19	P. eléctrica	*S. trutta*	Sin código	n/a	n/a	2,1	6	0,97
20	P. eléctrica	*S. trutta*	Sin código	n/a	n/a	1,1	4,9	0,93
21	P. eléctrica	*S. trutta*	Sin código	n/a	n/a	2,9	6,1	1,28
22	P. eléctrica	*S. trutta*	Sin código	n/a	n/a	1,9	5,9	0,93
23	P. eléctrica	*S. trutta*	Sin código	n/a	n/a	2,1	5,5	1,26
24	P. eléctrica	*S. trutta*	Sin código	n/a	n/a	2,4	5,8	1,23
Promedio						14,9	8,8	1,10

- *Estación Coyhaique_010*

Esta estación se ubica en el río Coyhaique, en la subcuenca de río Simpson, a una altitud de 365 m.s.n.m. En este sitio se observó generación de pedúnculo, con una cobertura de sustrato de más del 80% y 1,2 cm de espesor, lo cual es clasificado como “Mucosidad alta” (Manual Didymo SUBPESCA, 2016).

En esta estación se registró un total de 13 individuos de *S. trutta*, todos ellos capturados mediante pesca eléctrica, con un esfuerzo de muestreo de 60 minutos (CPUE ind/hora). La abundancia total fue de 13 individuos y la riqueza de especies fue igual a uno.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

El análisis de raspado de mucosidad de peces reveló la presencia de una célula muerta de *D. geminata*, observada en la réplica 10Pc (Tabla 9-28).

Tabla 9-28. Monitoreo de fauna íctica estación Coyhaique_010

Ejemplar	Arte de pesca	Especie	Código muestra	Células de *D. geminata*		Peso Total	Longitud Total	Factor condición
				Vivas	Muertas			
1	P. eléctrica	*S. trutta*	1Pc	0	0	22,3	13,2	0,97
2	P. eléctrica	*S. trutta*	2Pc	0	0	16,1	11,5	1,06
3	P. eléctrica	*S. trutta*	3Pc	0	0	2,5	6,7	0,83
4	P. eléctrica	*S. trutta*	4Pc	0	0	28,4	14,1	1,01
5	P. eléctrica	*S. trutta*	5Pc	0	0	1,1	4,8	0,99
6	P. eléctrica	*S. trutta*	6Pc	0	0	0,9	3,8	1,64
7	P. eléctrica	*S. trutta*	7Pc	0	0	16,9	12,3	0,91
8	P. eléctrica	*S. trutta*	8Pc	0	0	19,7	12,5	1,01
9	P. eléctrica	*S. trutta*	9Pc	0	0	71,6	19	1,04
10	P. eléctrica	*S. trutta*	10Pc	0	1	1,7	5,5	1,02
11	P. eléctrica	*S. trutta*	Sin código	n/a	n/a	1,3	5,7	0,7
12	P. eléctrica	*S. trutta*	Sin código	n/a	n/a	0,7	4,5	0,77
13	P. eléctrica	*S. trutta*	Sin código	n/a	n/a	0,3	3,3	0,83
Promedio						14,1	9	0,98

- *Estación Norte_010*

Esta estación se ubica en la subcuenca del río Mañihuales, a una altitud de 501 m.s.n.m. La estación presentó generación de pedúnculo, con una cobertura de sustrato menor al 20 % y 1,2 cm de espesor, lo cual es clasificado como “Mucosidad alta” (Manual Didymo SUBPESCA, 2016).

En esta estación se registró un total de siete individuos de *S. trutta*, todos ellos capturados mediante pesca eléctrica, con un esfuerzo de muestreo de 60 minutos (CPUE ind/hora). La abundancia total fue de siete individuos y la riqueza de especies fue igual a uno (Tabla 5-29).

Los resultados del análisis de raspado de mucosidad de peces revelaron la presencia de tres células muertas de *D. geminata*, una de ellas observada en la réplica Ne2 y las otras dos en la réplica Ne3 (Tabla 9-29; Figura 9-1055).

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

Tabla 9-29. Muestreo de fauna íctica, Estación Norte_010

Ejemplar	Arte de pesca	Especie	Código muestra	Células de *D. geminata*		Peso Total	Longitud Total	Factor condición
				Vivas	Muertas			
1	P. eléctrica	*S. trutta*	Ne1	0	0	2.9	6.4	1.11
2	P. eléctrica	*S. trutta*	Ne2	0	1	3.7	7.5	0.88
3	P. eléctrica	*S. trutta*	Ne3	0	2	2.6	5.8	1.33
4	P. eléctrica	*S. trutta*	Ne4	0	0	1.8	5.8	0.92
5	P. eléctrica	*S. trutta*	Ne5	0	0	2.9	6.5	1.06
6	P. eléctrica	*S. trutta*	Ne6	0	0	1.1	5.6	0.63
7	P. eléctrica	*S. trutta*	Ne7	0	0	4.3	7.5	1.02
Promedio						2.8	6.4	0.99

Figura 9-105. Escama de *S. trutta*. Vista Cingular (círculo azul), de una célula de *D. geminata* observada en la estación Norte_010, réplica Ne2

Estado de Conservación

Las dos especies capturadas en el área de estudio pertenecen a la familia *Salmonidae* (Figura 9-106), las que corresponden a especies introducidas no encontrándose clasificadas en categoría de conservación, según el Reglamento de Clasificación de Especies (DS 29/2012), Ministerio del Medio Ambiente.

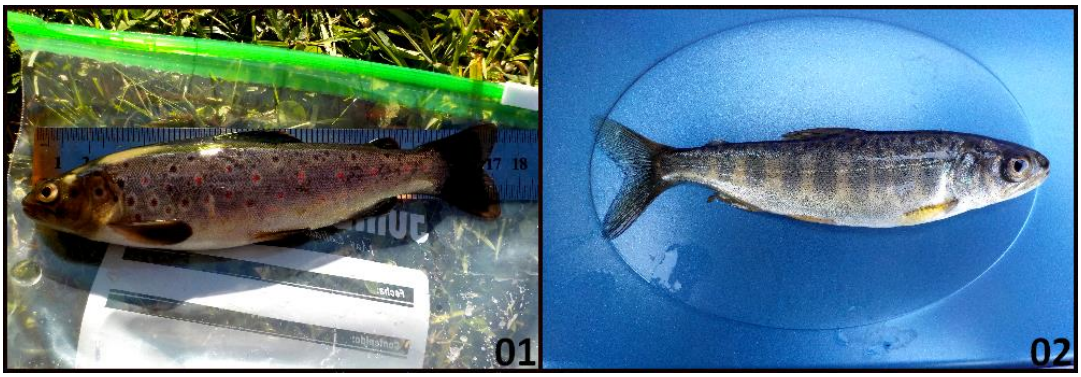


Figura 9-106. Especies capturadas en el muestreo de fauna íctica. a) *Salmo trutta*, b) *Oncorhynchus mykiss*

Síntesis

En síntesis, las mayores abundancias de peces fueron registradas en las estaciones con presencia de *D. geminata*, siendo la Estación Pollux_010, la que reveló mayor abundancia. Como antecedente la mencionada estación de muestreo, fue la que presentó mayor espesor de mucosidad de *D. geminata* sobre el sustrato.

Por otra parte, en la mayoría de las estaciones monitoreadas la riqueza de especies fue igual a uno (*S. trutta*), a excepción de las estaciones Grande_O_010 y Pollux_010, en los cuales se registró además ejemplares de *O. mykiss*.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

b) Avifauna

Detección de *D. geminata* en estaciones muestreadas

Como referencia a la detección de *D. geminata*, en 10 de las 20 estaciones censadas para aves acuáticas, se detectó la presencia de *D. geminata*. Cabe destacar que indiferente a la presencia o ausencia de *D. geminata*, fue posible avistar individuos en todas las estaciones censadas.

Muestreo de Aves

El área de estudio presentó una abundancia total de 337 individuos y una riqueza de 23 especies, correspondientes a 15 familias. En la Tabla 9-30, se muestra cada especie observada, hábitat de cada una de ellas (parcial o completamente acuático y terrestre) y movilidad (migratoria o sedentaria). Además, se muestra si el ave fue avistada exclusivamente en un sitio con presencia de *D. geminata*, en ausencia de ésta o en ambos casos.

Las familias más abundantes, en orden decreciente, fueron Hirundinidae, Charadriidae y Furnariinae. Esta última representada por *Cinclodes patagonicus*, ave observada en el 85% de las estaciones censadas, siendo común en estaciones con presencia y ausencia de *D. geminata*. Este resultado concuerda con estudios previos, los cuales han reportado que el género *Cinclodes* se observa frecuentemente en las riberas de ríos próximos a la Cordillera de los Andes (Victoriano *et al*., 2006; Sanín *et al*., 2009).

Como se observa en la Tabla 9-30, de las 23 especies registradas, 11 correspondieron a aves parcial o completamente acuáticas, y que mantienen una conducta migratoria; tres de ellas son parcial o completamente acuáticas y con conducta sedentaria; dos especies son terrestres y de conducta migratoria; una especie es terrestre y sedentaria, y finalmente, seis aves son terrestres y se desconoce su conducta.

Las 10 estaciones con presencia de *D. geminata* registraron una abundancia de 195 individuos y una riqueza de 19 especies. De estas, seis especies fueron observadas únicamente en estaciones con presencia de *D. geminata* (26,1% del total), en tanto que las 13 especies restantes fueron avistadas en estaciones con presencia y ausencia de *D. geminata*. Cabe destacar que estas 19 especies avistadas en estaciones con *D. geminata* son las que comprenden el área de influencia de la plaga *D. geminata* y que podrían eventualmente comportarse como dispersores

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

de la plaga. Además, 10 de ellas presentan hábitat parcial o completamente acuático, y además conducta migratoria. No obstante, el resto de las aves fueron observadas en contacto con el sustrato o forrajeando en la ribera del cauce.

Tabla 9-30. Especies de aves observadas durante el censo en las regiones de la Araucanía y Los Ríos

Familia	Nombre científico	Nombre común	Estado de conservación (UICN 2015)	*D. geminata*	Hábito	Movilidad	Referencia
Alcedinidae	*Megaceryle torquata*	Martín pescador	LC	No	Acuática	Migratoria	Cheser (1994)
Anatidae	*Anas georgica*	Pato Jergón Grande	LC	Ambas*	Acuática	Migratoria	Cheser (1994)
	Speculanas specularis	Pato anteojillo	NT	Ambas*	Acuática	Migratoria	Jaramillo (2005)
	Merganetta armatta	Pato cortacorrientes	LC	No	Acuática	Sedentaria	Pernollet y col. (2012)
Ardeidae	*Egretta thula*	Garza chica	LC	No	Acuática	Migratoria	Maccarone y col. (2012)
Charadriidae	*Vanellus chilensis*	Queltehue	LC	Ambas*	Parcialmente acuática	Migratoria	Cheser (1994)
Falconinae	*Milvago chimango*	Tiuque	LC	Ambas*	Terrestre	Migratoria	Cheser (1994)
	Caracara plancus	Traro	LC	Ambas*	Terrestre	-	-
Fringuillinae	*Carduelis barbata*	Jilguero	LC	Si	Terrestre	-	-
Furnariinae	*cinclodes patagonicus*	Churrete	LC	Ambas*	Acuática	Migratoria	Jaramillo (2005)
Hirundinidae	*Pygochelidon cyanoleuca*	Golondrina de dorso negro	LC	Ambas*	Parcialmente acuática	Migratoria	Jaramillo (2005)
	Tachycineta meyeni	Golondrina chilena	LC	Si	Parcialmente acuática	Migratoria	Jaramillo (2005)
Laridae	*Larus dominicanus*	Gaviota Dominicana	LC	Si	Parcialmente acuática	Sedentaria	Fordham, (1968); Falla y col., (1993), Twentyman y col (1999)
	Larus serranus	Gaviota andina	LC	Si	Parcialmente acuática	Migratoria	Jaramillo (2005)
	Larus maculipennis	Gaviota cahuil	LC	Si	Acuática	Migratoria	Cheser (1994)
Phalacrocoracidae	*Phalacrocorax brasilianus*	Yeco	LC	Ambas*	Acuática	Migratoria	Schmitt y col. (1997)

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

Familia	Nombre científico	Nombre común	Estado de conservación (UICN 2015)	*D. geminata*	Hábito	Movilidad	Referencia
Rhyncryptidae	*Scytalopus magellanicus*	Churrin del sur	LC	No	Parcialmente acuática	Sedentaria	Jaramillo (2005)
Thraupidae	*Sicalis luteola*	Chirihue	LC	Ambas*	Terrestre	-	-
Troglodytidae	*Cistothorus platensis*	Chercan de las vegas	LC	Si	Terrestre	Sedentaria	Fordham, (1968); Falla y col., (1993), Twentyman y col (1999)
	Troglodytes musculus	Chercán	LC	Ambas*	Terrestre	-	-
Turididae	*Turdus falcklandii*	Zorzal	LC	Ambas*	Terrestre	-	-
Tyrannidae	*Anairetes parulus*	Cachudito	LC	Ambas*	Terrestre	-	-
	Lessonia rufa	Colegial	LC	Ambas*	Terrestre	Migratoria	Cheser (1994)

Las 10 estaciones sin presencia de *D. geminata* registraron una abundancia de 142 individuos y una riqueza de 17 especies, de las cuales cuatro fueron observadas únicamente en estaciones sin presencia de *D. geminata*, y 13 especies fueron observadas en ambas estaciones con y sin *D. geminata* (Figura 9-107).

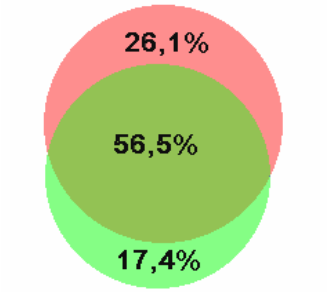


Figura 9-107. Diagrama de Venn que muestra las especies (%) de aves observadas en estaciones con presencia de *D. geminata* (color rojo) y en ausencia de ella (color verde claro). Además, se observa el porcentaje de especies observadas en ambas estaciones (esferas solapadas, color verde oscuro)

En promedio, la abundancia de aves en las estaciones con presencia de *D. geminata* fue mayor que la estimada en estaciones con ausencia de la plaga. En tanto, los valores promedio de riqueza de especies, índice de Shannon, índice de Simpson y equitatividad fueron similares entre estaciones con presencia y ausencia de *D. geminata*, siendo levemente mayores en estaciones con presencia de la plaga (Tabla 9-31).

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

Finalmente, es importante mencionar que de las 10 estaciones con presencia de *D. geminata*, siete de ellas exhibieron pedúnculo en el sustrato, con un espesor y cobertura de mucosidad que variaba desde Mediano a Muy alto, según lo establecido (Manual Didymo SUBPESCA, 2016).

Tabla 9-31. Promedio de parámetros comunitarios de estaciones con presencia y ausencia de *D. geminata*

Parámetros comunitarios	Con *D. geminata*			Sin *D. geminata*		
	Promedio±ES	Max	Min	Promedio	Max	Min
Abundancia	[19.50 ± 18.28]	66.00	7.00	[14.20 ± 17.31]	58.00	3.00
Riqueza de especie	[4.40 ± 1.43]	7.00	2.00	[4.40 ± 2.35]	8.00	1.00
Índice de Simpson	[0.64 ± 0.13]	0.82	0.45	[0.61 ± 0.25]	0.77	0.00
Índice de Shannon	[1.20 ± 0.34]	1.81	0.69	[1.15 ± 0.55]	1.68	0.00
Índice de Equitatividad	[0.85 ± 0.12]	0.99	0.63	[0.79 ± 0.3]	0.96	0.00

Estructura comunitaria de avifauna y su relación con la presencia de *D. geminata*

Los resultados del NMDS y del test ANOSIM mostraron que no existe diferencias significativas entre la estructura de la comunidad de avifauna de estaciones con presencia de la plaga y en ausencia de ella (p = 0,78) (Figura 9-108).

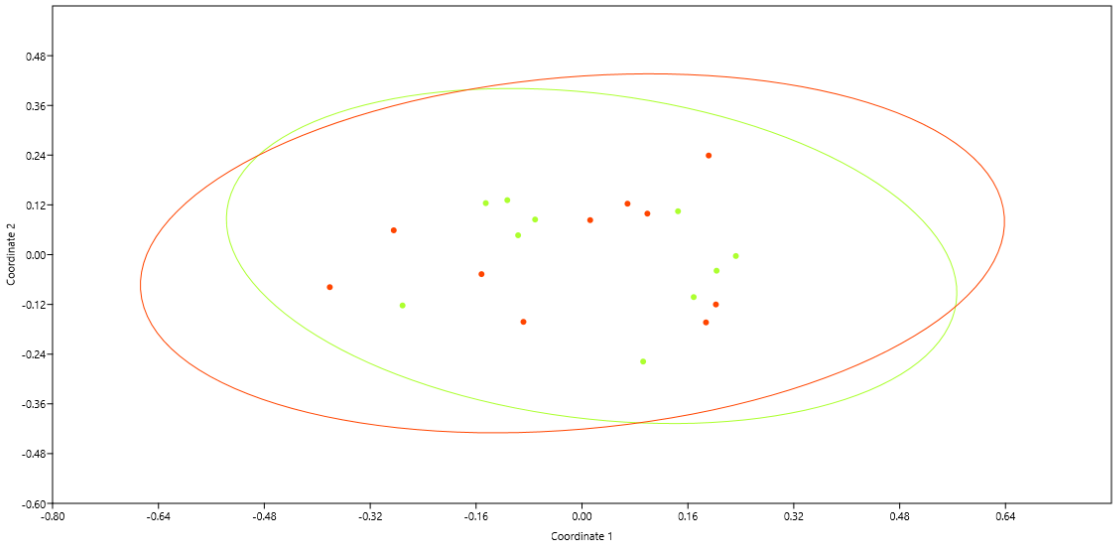


Figura 9-108. Estructura comunitaria de avifauna en estaciones con presencia de *D. geminata* (rojo) y estacioness con ausencia de ella (verde). Mediante este análisis (NMDS) se observó que no existen diferencias entre ambas estructuras de dichas comunidades

c) Mamíferos

Detección de *D. geminata* en estaciones monitoreadas

De las 30 estaciones seleccionadas para el muestreo de mamíferos, 10 de ellas resultaron positivas para la presencia de *D. geminata* en muestras de perifiton.

Muestreo de Mamíferos

En relación al estudio, este se enfocó en mamíferos acuáticos, específicamente, los mustélidos Huillín, que vive en ambientes de aguadulce y marinos, y Visón exclusivo de aguadulce. Del total de estaciones muestreadas, en seis estaciones fue posible encontrar vestigios y/o avistamientos de al menos una de las dos especies de mustélidos en estudio. En el 17% de las estaciones se registró Huillín, en el 13,3% se observaron vestigios de Visón, y en el 70% restante no se observó ninguno de los mamíferos aquí estudiados.

En la Tabla 9-32 se observa que sólo una estación fue positiva para *D. geminata* (Huahum_020), encontrándose en ella vestigios de ambas especies; las cinco estaciones restantes fueron negativas para *D. geminata*. En Huenehue_020 se encontró vestigios exclusivamente de Visón, en Manio_030 y Putregal_010 se encontró vestigios de Huillín y en Liquiñe_030 y Cuacua_010 se encontraron vestigios de ambas especies (Figura 9-109). De las tres estaciones con presencia de Visón, en una de ellas fue avistado un individuo forrajeando (Liquene_030) (Figura 9-110).

Tabla 9-32. Resultados de vestigios y/o avistamientos de Huillín y Visón registrados en estaciones prospectadas en la región de Los Ríos, de acuerdo a presencia o ausencia de *D. geminata*

D. geminata	Estación	Registro huillín	Registro visón	Observaciones
No	Huenehue_020	No	Si	Vestigios de visón (fecas y huellas)
No	Manio_030	Si	No	Vestigios de huillín (fecas, huellas, madriguera)
No	Putregal_010	Si	No	Vestigios de huillín (fecas, huellas)
No	Cuacua_010	Si	Si	Vestigios de huillín (fecas) y visón (huellas)
No	Liquiñe_030	Si	Si	Avistamiento de visón y vestigios de huillín (fecas y huellas)
Si	Huahum_020	Si	Si	Vestigios de huillín (huellas) y visón (huellas, fecas y restos de comida)

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

Figura 9-109. Vestigios hallados en la Estación Cuacua_010. 01) Fecas de Huillín; 02) Huellas de Visón. (A) y (B) corresponden a huellas de perros. Esto último no fue prospectado, la imagen es sólo para ilustrar comparación de tamaños

Figura 9-110. Avistamiento de Visón en Estación Liquiñe_030 (punto negativo para *D. geminata*)

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

d) Alteraciones Antrópicas

Muestreo de alteraciones antrópicas y relación con la presencia de *D. geminata*

Respecto a las alteraciones antrópicas de la ribera, se observó que bajada peatonal, bebedero de animales, bajada de vehículos y/o vadeo fueron las alteraciones visualizadas con mayor frecuencia en los puntos de muestreo, tanto en estaciones con presencia de *D. geminata*, como en estaciones con ausencia de ella (Figura 9-111, Tabla 9-33). Entre estas últimas, no se determinó diferencias estadísticamente significativas (p>0,05).

Las alteraciones antrópicas observadas con mayor frecuencia fueron recreativo, poblados y ganadería, entre las cuales no se determinó diferencias estadísticamente significativas en relación a estas y las estaciones con presencia y ausencia de *D. geminata* (p>0.05) (Figura 9-112, Tabla 9-34).

Tabla 9-33. Frecuencia relativa de alteraciones antrópicas en estaciones con presencia/ausencia de *D geminata*

Actividades antrópicas	Frecuencia Ausencia (%)	Frecuencia Presencia (%)
Bajada peatonal	35.77	32.43
Bebedero de animales	30.66	31.08
Bajada de vehículos y/o vadeo	21.9	27.03
Extracción de áridos	3.65	2.7
Otros	0	2.7
Sin información	8.03	4.05

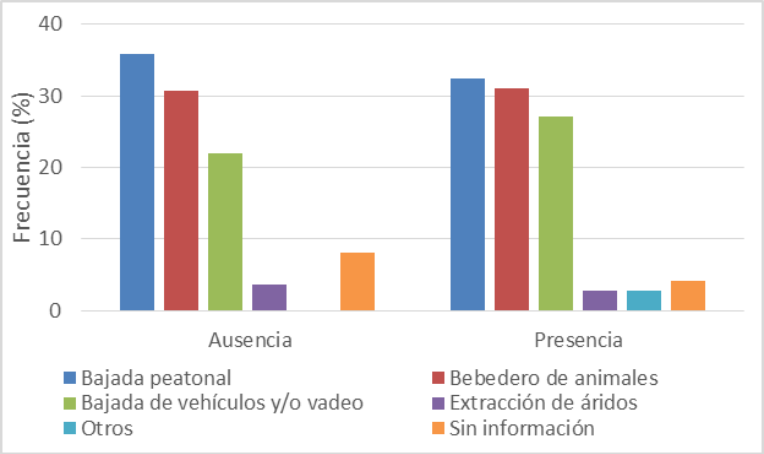


Figura 9-111. Frecuencia de alteraciones antrópicas registradas entre estaciones con ausencia y presencia de *D. geminata*.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

Tabla 9-34. Frecuencia relativa de actividades del entorno respecto a estaciones con presencia y ausencia de *D. geminata*.

Actividad del entorno	Frecuencia Ausencia (%)	Frecuencia Presencia (%)
Recreativo	28.44	24.62
Poblados	22.02	21.54
Ganadero	18.35	27.69
Agrícola	8.26	9.23
Servicio	5.5	7.69
Urbano	2.75	1.54
Embalse	2.75	0
Acuicultura	1.83	0
Desagües	1.83	0
Otros	1.83	1.54
Ductos	0.92	1.54
Industrial	0.92	0
Sin Información	4.59	4.62

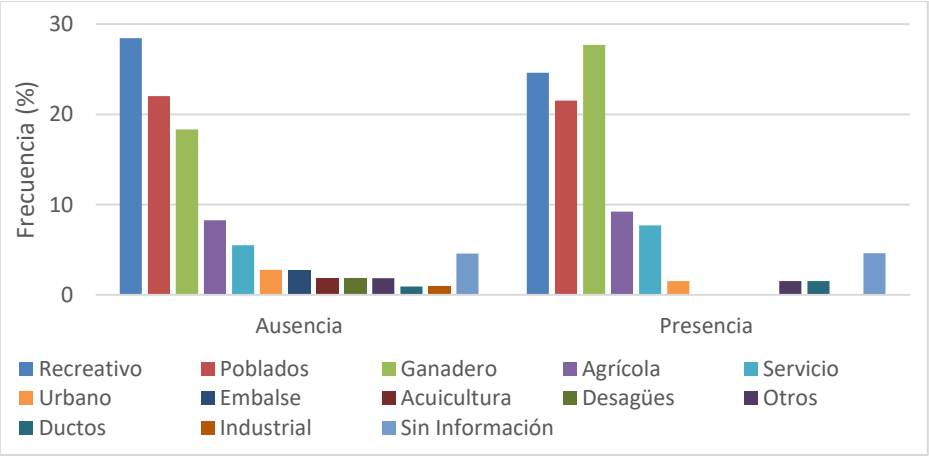


Figura 9-112. Alteraciones antrópicas registradas en estaciones con ausencia y presencia de *D. geminata*

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

9.3.4 Evaluación del programa de monitoreo realizado en Chile

La evaluación del programa de monitoreo se llevo a cabo en una jornada de trabajo, financiada por el Fondo de inversión Pesquera y Acuicultura. Esta jornada fue realizada el día 22 de noviembre del 2016 en Valparaíso. Para ello, se considero personal relevante en el estudio y gestión de la plaga, entre ellos, personal del programa *D. geminata* SUBPESCA, autoridades del C.I.P.A., directores regionales de SERNAPESCA, representantes del gobierno regional de los sectores invadidos, operadores turísticos, cualquier autoridad o personal de Instituciones públicas y privadas con competencia en el tema.

En esta jornada de trabajo se valoro el plan de monitoreo existente con el objeto de no descuidar los sectores que limiten con áreas declaradas zona de plaga, continuar con la prospección y seguimiento de la plaga *D. geminata*, identificar nuevas áreas de distribución de la microalga, analizar el efecto de la plaga sobre el ecosistema, mantener un programa de difusión de los resultados, además de la aplicación de medidas de bioseguridad para el control de la misma.

Detalles de la jornada

- Se tomo la decisión de continuar con el actual modelo de monitoreo, vigilancia y prospección de Didymo.
- Los vectores de disperción no seran considerados en proyectos Didymo debido al bajo monto de tales licitaciones.
- Se discutio sobre la efectividad de las actividades de de difusión, concluyendo que es más eficiente realizar una gran campaña de difusión que varias campañas fragmentadas.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

9.4 Desarrollo de actividades de difusión

A continuación se expresan los resultados para el cumplimiento del objetivo Nº4. Este objetivo incorpora el desarrollo de material gráfico y audivisual, además de la elaboración de charlas informativas orientadas a la educación de la comunidad respecto a los alcances de la plaga y sus medidas de prevención.

9.4.1 Desarrollo de material gráfico y audiovisual

El material gráfico generado correspondio a: afiches, flyers, pendones y dípticos, ver Figura 9-113. También fueron confeccionadas 600 bolsas estilo morral ver Figura 9-114. Todo el materia fue entregado a las autoridades con competencia, y divulgado en cada una de las charlas y talleres de difusión realizadas en el marco del proyecto FIPA 2015-04.

A parte del materia gráfico fue producido un breve video explicativo estilo playground, el cual, se expuso en cada charla, taller y curso realizado, asi como también a través de los medios online, ver Figura 9-115.

El detalle del material gráfico y audiovisual se encuentra en las Tabla 9-35 y Tabla 9-36.

Figura 9-113. Pendones desarrollados para actividades de difusión en el proyecto FIPA 2015-04.

Figura 9-114. Bolsa estilo morral desarrollados para actividades de difusión en el proyecto FIPA 2015-04.

Figura 9-115. Video de dufusión del proyecto FIPA 2015-04.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

Tabla 9-35. Detalle de los medios utilizados en la estrategia de difusión.

Actividades de difusion		Cantidad (Unidades)	Canal y receptor	Duración
Medios gráficos	Afiches	100	Colegios, centros turísticos, hoteles, hostel, universidades, entre otros.	Indefinida
	Flyers	3.000	Colegios, centros turísticos, hoteles, hostel, universidades, entre otros.	Indefinida
	Pendones	6	2 en Taller de capacitación 4 para subpesca	-
	Dípticos	250	Taller de capacitación	-
Medios digitales	Video	1	Taller de capacitación, sitio web y redes sociales	1 minuto
Medios online	Sitio web	1	Internet	Permanente
	Redes sociales	1	Facebook	18 meses

Tabla 9-36. Descripción técnica de los medios de difusión.

Tipo de Difusión		Especificaciones técnicas	Aspectos generales:
Medios gráficos	Afiches	-	Tamaño sugerido Afiche: Tabloide (45 x 29 cm aprox.)
			Impresión Digital Tiro 4 colores
	Flyers	-	Tamaño sugerido Flyers: 10 x 15 cm
			Impresiones Digital tiro 4 colores
	Pendones	-	Tamaño 80x200cm
			Roller
			Bolso
			Papel látex
			Impreso en alta calidad
	Dípticos	-	Tamaño Media Carta
			Impreso 4 colores tiro/retiro
			Papel couche 200grs
Medios digitales	Video	-	Calidad HD 1080
			Video infográfico
Medios online	Sitio web	Programación HTML5	Creación de correo corporativos
		CSS3	Formularios de contactos
		Jquery	Descargas de PDF
		PHP	Galerías para fotografías y video
		Responsive web (Adaptabilidad móvil)	Dominio.cl y Host por un año
	Redes sociales	-	Formato Fanpage
			Estrategia central: Marketing de contenido
			Estrategia secundaria: Publicidad de pago en la red
			Generación de Contenido diario (1 post diario de Lunes a Domingo)
			Manual de normas gráfica exclusiva para redes sociales
			Informe de métricas mensual

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

9.4.2 Charlas informativas

Se realizaron charlas informativas en 5 ciudades del país: Concepción, Temuco, Valdivia, Coyhaique y Puerto Montt.

Para dar a conocer las charlas, talleres, cursos y jornadas de trabajo, se envió un mail masivo (Figura 9-116) a una base de datos de 980 casillas de correo electrónico (empresas, personeros y entidades regionales vinculadas a al medio ambiente), con el formato de descarga de invitación para cada ciudad donde se realizaron las exposiciones. Tambien, se envió mail a profesionales de Subpesca y Sernapesca para que existiera un apoyo institucional en la estrategia de difusión.

Posteriormente, se envió un correo electrónico y posterior llamado telefónico, a las diversos encargados de cada sede, donde se realizarían las cinco charlas informativas (Concepción, Temuco, Valdivia, Coyhaique y Puerto Montt).

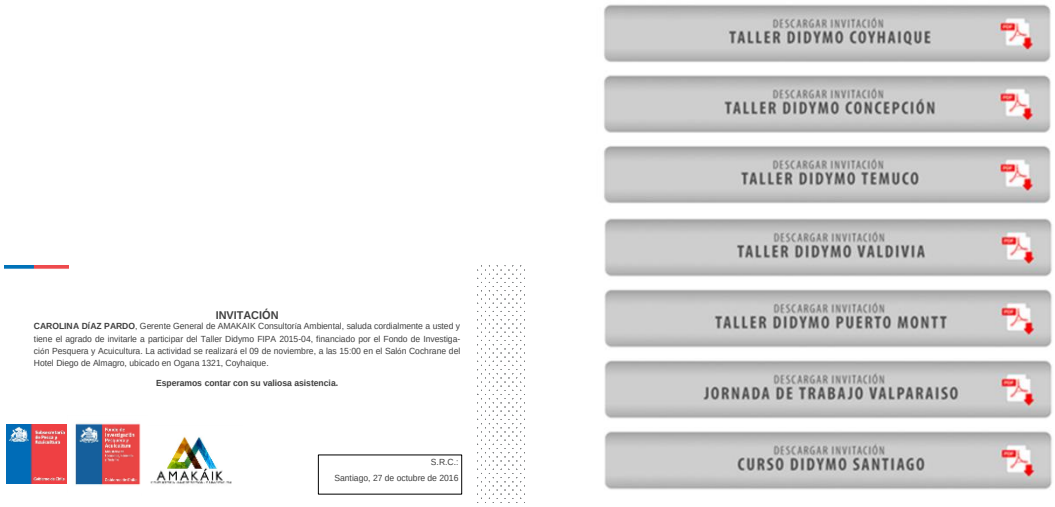


Figura 9-116. Actividades de dufisión del proyecto FIPA 2015-04.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

En cada ciudad donde se realizaron las charlas informativas se hizo una aguda campaña de difusión en las redes sociales orientadas al publico en general, y además, en medios escritos y radiales, ver Figura 9-117 a Figura 9-120. Los medios online involucraron el diseño de una página web, una plataforma digital que funcionaria como un espacio de consulta permanente.

Figura 9-117. Campaña de difusión Coyhaique

Figura 9-118. Campaña de difusión Temuco

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

Figura 9-119. Campaña de difusión Valdivia

Figura 9-120. Campaña de difusión

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

El día 9 de noviembre comenzaron las charlas de difusión del proyecto FIPA realizadas en las ciudades de Coyhaique, Concepción, Temuco, Valdivia y Puerto Montt , ver Tabla 9-37.

Las charlas fueron dirigidas por Carolina Díaz Pardo, especialista en diatomeas bentónicas continentales, quien se encuentra trabajando con la especie *D. geminta* desde el año 2010 hasta la fecha.

En el Anexo 21 se encuentran las lisitas de asitencia a cada charla (Coyhaique, Concepción, Temuco, Valdivia y Puerto Montt).

Tabla 9-37. Ciudad y fecha de las charlas informativas en torno al estado de la paga Didymo en el territorio nacional.

Ciudad	Fecha	Lugar en donde se dicro el taller	Nº asitentes
Coyhaique	9 de Noviembre, 2016	Hotel Dreams	2
Concepción	14 de Noviembre, 2016	Sede Universidad Santo Tomás	17
Temuco	15 de Noviembre, 2016	Sede Universidad Santo Tomás	7
Valdivia	16 de Noviembre, 2016	Sede Universidad Santo Tomá	7
Puerto Montt	17 de Noviembre, 2016	Sede Universidad Santo Tomás	13

Las charlas tuvieron una duración aproximada de dos horas y la siguiente estructura:

- Inicio de charla con intervención de la especialista en diatomeas bentónicas, Carolina Díaz Pardo.
- Intervención de profesional de Sernapesca regional Charla de Sernapesca Regional.
- Charla de Subpesca Regional.
- Discusión final y conclusiones.
- Cierre del taller.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

Figura 9-121. Imagen de Charlas informativas

En el Anexo 22 se encuentran el material de difusión como imágenes de las charlas realizadas en Coyhaique, Concepción, Temuco, Valdivia y Puerto Montt, en las cuales se aprecian los pendones comprometidos por el proyecto, más las bolsas tipo morral que se regalaron a cada uno de los asistentes. Estas bolsas tipo morral fueron entregadas al personal de Subpesca y Sernapesca regional, para que fuesen distribuidos en posteriores actividades relacionadas con la prevención del Didymo.

A pesar de toda la difusión realizada en diversos medios de comunicación regionales, mails masivos, mails dirigidos a diversos actores regionales, entidades gubernamentales, apoyo de los departamentos de comunicaciones de Universidad Santo Tomas (quienes fueron nuestros aliados en estas charlas de difusión, facilitándonos sus instalaciones), la convocatoria fue muy escasa.

Una de las razones de la baja asistencia podría deberese a la paralización de los servicios públicos que existía en el momento de la ejecución de las charlas, por lo que hubo poco apoyo de entidades publicas (gubernamentales y municipios) para la difusión de dichas actividades.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

9.5 Diversidad genética poblacional de *D. geminata* e Interacción con la comunidad de bacterias asociadas

En este ítem se expresan los resultados para el cumplimiento del objetivo extra Nº1.

9.5.1 Antecedentes generales

De acuerdo a los antecedentes *D. geminata* ha sido ampliamente estudiada en aspectos morfológicos, su biología, ciclo de vida (crecimiento, colonización y sobre todo la dispersión de esta), la distribución en el mundo la que ha aumentado con nuevos registros de áreas infestadas. Sin embargo, factores biológicos como la variabilidad genética poblacional de *D. geminata* y las interacciones con su entorno en términos de sus relaciones con la denominada ficósfera y las comunidades bacterianas has sido muy poco estudiado.

En términos evolutivos, el éxito de las diatomeas se ve manifestado en la alta diversidad y abundancia mostrada en una amplia variedad de ambientes (Round, Crawford & Mann, 1990). Desde el punto de vista reproductivo, las poblaciones son predominantemente clonales lo que las hace presentar una alta diversidad (Evans *et al*., 2009), incluso durante periodos de floraciones (Rynearson & Armbrust, 2006). Durante cortos periodos de tiempo, algunas especies de diatomeas forman floraciones, frecuentemente en primavera cuando la variación abiótica es limitada, la competencia de los genotipos asociados a estas diatomeas conduce a la dominancia de unos pocos de ellos, aumentando la uniformidad genotípica de las poblaciones en sistemas infestados, en comparación con los no infestados (De Meester, 1996).

Por otra parte, las interacciones entre microorganismos constituyen uno de los principales componentes de las comunidades microbianas, donde el sinergismo o competencia entre especies determina la diversidad en un ecosistema (Hardin, 1960). Diatomeas y bacterias han coexistido por más de 200 millones de años, estableciendo interacciones a lo largo de la escala evolutiva, por el cual cientos de genes presentes en las diatomeas probablemente fueron adquiridos de genomas bacterianos (Armbrust *et al*., 2004; Bowler *et al*., 2008). El gran número de genes supuestamente transferidos desde genomas bacterianos a diatomeas, reafirma el paradigma de que diatomeas y bacterias han desarrollado interacciones específicas. Lo anterior ha sido considerado en estudios cuyo objetivo fue examinar la dinámica de la comunidad bacteriana durante las floraciones de diatomeas (Rooney-Varga *et al*., 2005). Por otro lado, existe la llamada ficósfera que corresponde a la región que se extiende alrededor de células de algas

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

microscópicas, cadenas o colonias de ellas, y en la cual se postula que el crecimiento bacteriano es estimulado por productos extracelulares de células algales (Bell & Mitchell, 1972).

En las superficies de las rocas o el bentos, se pueden encontrar comunidades fototróficas formando biopelículas, las cuales pueden tener desde algunos micrómetros hasta varios centímetros de espesor (Buhmann, 2015). Las biopelículas fototróficas contribuyen a la producción primaria en la trama trófica de ecosistemas acuáticos, están compuestos principalmente por diatomeas y otros organismos fotosintéticos como cianobacterias y microalgas, los cuales proveen de energía a los microorganismos heterotróficos asociados como Archeas y bacterias (Amin & cols, 2012). Bajo este contexto, las bacterias influencian positivamente a las diatomeas en términos de crecimiento, agregación y producción de sustancias poliméricas extracelulares (Buhmann, 2015). Se ha reportado en ecosistemas marinos la presencia del filo α-Proteobacterias, con 4 géneros principales: Ruegeria, Sulfitobacter, Roseobacter Erithrobacter, junto al filo Bacteroidetes, ambos asociados consistentemente a la presencia y abundancia de especies de diatomeas (Amin & cols, 2012; Schafer & cols, 2002).

Conocer la relación entre las comunidades de diatomeas y bacterias en otros ecosistemas acuáticos nos permite orientar nuestra investigación hacia el análisis de la diversidad bacteriana presente en las estaciones infectados de la zona centro-sur de Chile con la microalga invasora *D. geminata*.

9.5.1.1 Análisis de diversidad genética

A continuación se analizan los resultados obtenidos para el análisis de diversidad genética, utilizando el programa Blastn (https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi) para las secuencias obtenidas luego de procesar en Chromas (Tabla 9-38). Cuatro de las muestras analizadas difieren de los resultados esperados, presentan 96% de similitud para otras especies de diatomeas, de esto es posible deducir que las secuencias corresponden a una especie que no está presente en la base de datos. La secuencia de BioBio_020 no fue posible analizarla por Blastn, debido a la presencia de interferencias.

Las muestras provenientes de las estaciones de muestreo Aysen_050, Pico_020, Bellavista_020, Biobio_050 presentan 96% de identidad en el análisis en Blastn para otras especies de diatomeas. A estas muestras se les asignó las siguientes nomenclaturas: ni_1_ID:Aysen_050, ni_2_ID:Pico_020, ni_3_ID:Bellavista_020, ni_4_ID:Biobio_050. La secuencia de BioBio_020 no

fue posible analizarla por Blastn, debido a la presencia de interferencias en la lectura al momento de secuenciar (Figura 9-122).

A continuación (Tabla 9-38), se presentan los resultados de identificación obtenidos en Blastn a partir del producto PCR secuenciado, se entrega la información obtenida para 19 localidades, la muestra n°15 no fue evaluada (Figura 9-122).

Tabla 9-38. Blastn para secuencias obtenidas a partir del fragmento amplificado con los partidores *rbcL* (Jaramillo *et al*., 2015) para 19 localidades.

N° CIA	Cod_Estación	pb	Gen	E valu	% Identi	% Que
1	Arroyo_Cea_010	829	*D. geminata* strain CH058 ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase large subunit (rbcl) gene, partial cds; chloroplast	0	100	100
2	Aysen_050	619	*Craticula buderi* strain D06_069 ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase large subunit (rbcL) gene, partial cds; chloroplast	0	96	100
3	Pollux_010	840	*D. geminata* strain CH058 ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase large subunit (rbcl) gene, partial cds; chloroplast	0	100	99
4	Cochrane_010	840	*D. geminata* strain CH058 ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase large subunit (rbcl) gene, partial cds; chloroplast	0	100	99
5	Norte_010	849	*D. geminata* strain CH058 ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase large subunit (rbcl) gene, partial cds; chloroplast	0	100	100
8	Espolon_010	839	*D. geminata* strain CH058 ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase large subunit (rbcl) gene, partial cds; chloroplast	0	99	99
9	Pico_020	596	*Sellaphora cf. laevissima* KEL-2015 clone JAR89_B2Run14 ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase large subunit (rbcL) gene, partial cds; chloroplast	0	96	99
10	Palena_050	855	*D. geminata* strain CH058 ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase large subunit (rbcl) gene, partial cds; chloroplast	0	100	100
11	Puelo_040	853	*D. geminata* strain CH058 ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase large subunit (rbcl) gene, partial cds; chloroplast	0	100	100
12	Puelo_020	840	*D. geminata* strain CH058 ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase large subunit (rbcl) gene, partial cds; chloroplast	0	100	99
13	Bellavista_020	668	*Achnanthidium minutissimum* strain B448 ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase large subunit gene, partial cds; chloroplast	0	96	100
14	Biobio_050	807	*Melosira varians clone* JAR93_I7run14 ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase large subunit (rbcL) gene, partial cds; chloroplast	0	96	99
16	Lonquimay_010	832	*D. geminata* strain CH058 ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase large subunit (rbcl) gene, partial cds; chloroplast	0	100	100
17	Llanquihue_030	824	*D. geminata* strain CH058 ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase large subunit (rbcl) gene, partial cds; chloroplast	0	100	100
18	Huahum_020	828	*D. geminata* strain CH058 ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase large subunit (rbcl) gene, partial cds; chloroplast	0	99	100
19	Florin_020	847	*D. geminata* strain CH058 ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase large subunit (rbcl) gene, partial cds; chloroplast	0	100	100

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

N° CIA	Cod_Estación	pb	Gen	E valu	% Identi	% Que
20	Currine_020	780	*D. geminata* strain DRARU ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase large subunit (rbcL) gene, partial cds; plastid	0	99	100
21	Fuy_030	812	*D. geminata* strain CH058 ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase large subunit (rbcl) gene, partial cds; chloroplast	0	99	100
22	Coyhaique_010	839	*D. geminata* strain CH058 ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase large subunit (rbcl) gene, partial cds; chloroplast	0	100	99

Fuente: Elaboración Propia.

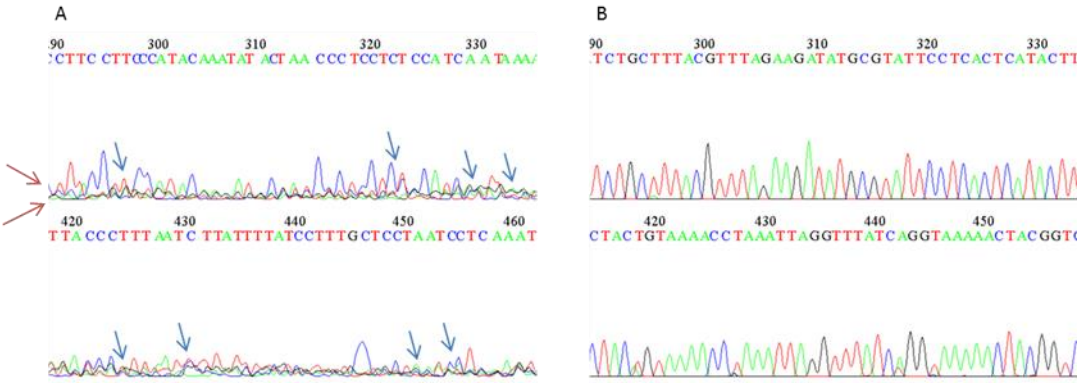


Figura 9-122. A. Imagen representativa de los cromatogramas obtenidos de la secuenciación de la localidad 15, BioBio_020. Se observan peaks poco definidos, indicados por flechas azules, las flechas rojas indican la presencia de varias señales de lectura en la muestra. B. imagen representativa de cromatograma de muestra 20, con peaks bien definidos.

Se realizó alineamiento múltiple de las 19 secuencias obtenidas más la especie outiler, 20 secuencias en total, con la herramienta CLUSTAL W en el programa Bioedit (Figura 9-123).

En la Figura 9-123, se muestra el alineamiento múltiple utilizando la herramienta CLUSTAL W de las secuencias del gen *rbcL* obtenidas del producto PCR a partir del DNA genómico proveniente de estaciones de muestreo descritos en la metodología, se seleccionó como grupo *outliers* a la especie *Cymbella tumida*, descrita por Jaramillo *et al*., (2015) como una de las especies filogenéticamente emparentadas con *D. geminata*, basado en el gen *rbcL*.

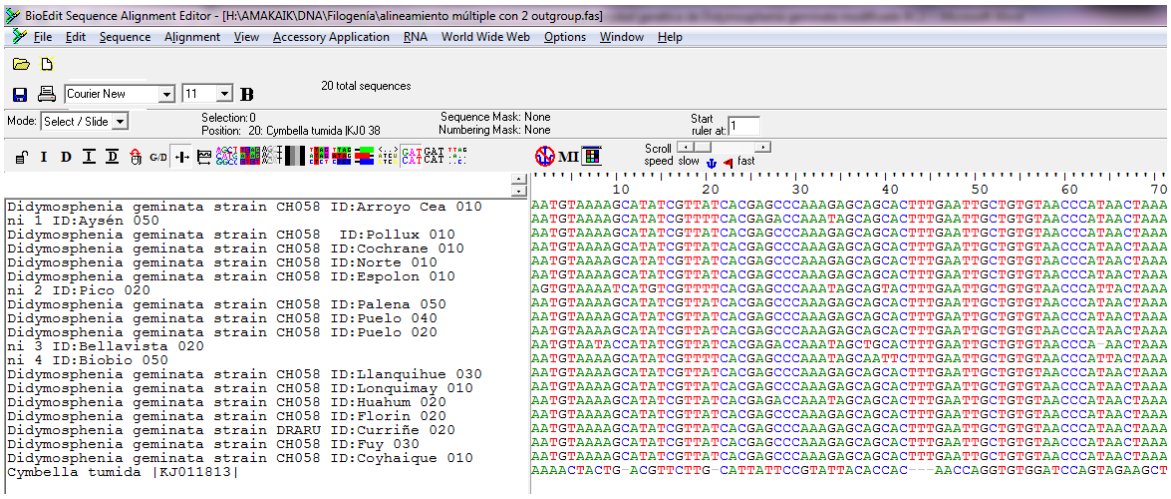


Figura 9-123. Imagen representativa del alineamiento múltiple CLUSTAL W en Bioedit.

Posteriormente se realizó la construcción del árbol filogenético en MEGA6, de éste análisis además se obtiene el número de sustituciones de pares de bases por sitio, distancia evolutiva basada en el modelo Tamura Nei (Tamura *et al*., 2004), entre las distintas secuencias analizadas (Tabla 9-39) estos valores se toman como referencia para la construcción de las ramas del árbol (Figura 9-124).

Tabla 9-39. Se muestran el número de sustituciones de bases por sitio de entre las secuencias. Los análisis se realizaron utilizando el modelo de Máxima Verosimilitud Compuesto.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
1. Didymosphenia geminata strain CH058 ID:Arroyo_Cea_010																				
2. ni_1_ID:Aysén_050	0.061																			
3. Didymosphenia geminata strain CH058 ID:Pollux_010	0.000	0.061																		
4. Didymosphenia geminata strain CH058 ID:Cochrane_010	0.000	0.061	0.000																	
5. Didymosphenia geminata strain CH058 ID:Norte_010	0.000	0.061	0.000	0.000																
6. Didymosphenia geminata strain CH058 ID:Espolon_010	0.003	0.057	0.003	0.003	0.003															
7. ni_2_ID:Pico_020	0.066	0.038	0.066	0.066	0.066	0.063														
8. Didymosphenia geminata strain CH058 ID:Palena_050	0.000	0.061	0.000	0.000	0.000	0.003	0.066													
9. Didymosphenia geminata strain CH058 ID:Puelo_040	0.000	0.061	0.000	0.000	0.000	0.003	0.066	0.000												
10. Didymosphenia geminata strain CH058 ID:Puelo_020	0.000	0.061	0.000	0.000	0.000	0.003	0.066	0.000	0.000											
11. ni_3_ID:Bellavista_020	0.048	0.059	0.048	0.048	0.048	0.045	0.068	0.048	0.048	0.048										
12. ni_4_ID:Biobio_050	0.121	0.118	0.121	0.121	0.121	0.119	0.111	0.121	0.121	0.121	0.127									
13. Didymosphenia geminata strain CH058 ID:Llanquihue_030	0.000	0.061	0.000	0.000	0.000	0.003	0.066	0.000	0.000	0.000	0.048	0.121								
14. Didymosphenia geminata strain CH058 ID:Lonquimay_010	0.000	0.061	0.000	0.000	0.000	0.003	0.066	0.000	0.000	0.000	0.048	0.121	0.000							
15. Didymosphenia geminata strain CH058 ID:Huahum_020	0.008	0.052	0.008	0.008	0.008	0.005	0.064	0.008	0.008	0.008	0.040	0.117	0.008	0.008						
16. Didymosphenia geminata strain CH058 ID:Florin_020	0.000	0.061	0.000	0.000	0.000	0.003	0.066	0.000	0.000	0.000	0.048	0.121	0.000	0.000	0.008					
17. Didymosphenia geminata strain DRARU ID:Currifie_020	0.000	0.061	0.000	0.000	0.000	0.003	0.066	0.000	0.000	0.000	0.048	0.121	0.000	0.000	0.008	0.000				
18. Didymosphenia geminata strain CH058 ID:Fuy_030	0.000	0.061	0.000	0.000	0.000	0.003	0.066	0.000	0.000	0.000	0.048	0.121	0.000	0.000	0.008	0.000	0.000			
19. Didymosphenia geminata strain CH058 ID:Coyhaique_010	0.000	0.061	0.000	0.000	0.000	0.003	0.066	0.000	0.000	0.000	0.048	0.121	0.000	0.000	0.008	0.000	0.000	0.000		
20. Cymbella tumida |KJ011813|	1.240	1.280	1.240	1.240	1.240	1.236	1.340	1.240	1.240	1.240	1.308	1.430	1.240	1.240	1.230	1.240	1.240	1.240	1.240	

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

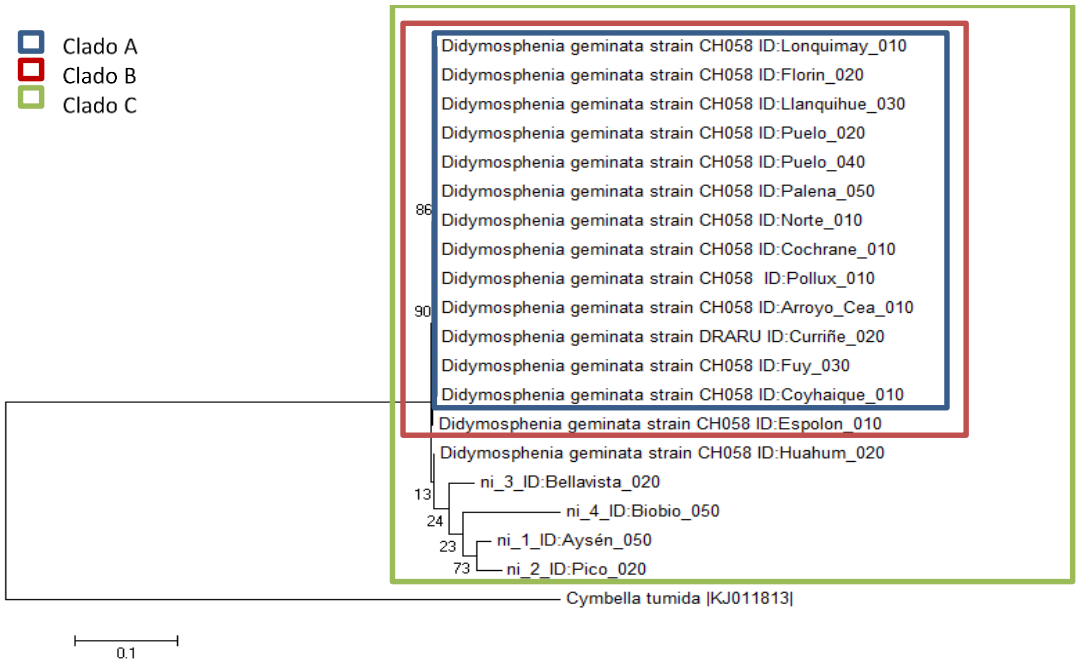


Figura 9-124. Relaciones filogenéticas de *D. geminata* en base a rbcL, en las ramas se indica el nombre de la localidad evaluada. Se utilizó como outgroup la especies de diatomea *Cymbella tumida* (número de acceso Genbank KJ011813) obtenida de la base de datos GenBank. Se distinguen 3 clados principales, Clado A, Clado B y Clado C.

A modo de síntesis, los resultados reportados han logrado identificar a nivel molecular la presencia de *D. geminata* en 15 de las 19 localidades secuenciadas, en las 4 localidades restantes correspondientes a Aysen_050, Bellavista_020, BioBio_050, y Pico_020 se obtuvo un 96% de similitud con las especies de diatomeas de agua dulce *Achnanthidium minutissimum* strain B448 (n.a: KR709271.1), *Melosira varians* (n.a: KM999080.1), *Craticula buderi* strain D06 069 (n.a: KM084947.1) y *Sellaphora* cf. *Laevissima* KEL-2015 (n.a KM999088.1) respectivamente (n.a corresponde al número de acceso en Genbank, https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/), debido a que el porcentaje de similitud no es representadas como ni_1_ID:Aysen_050, ni_2_ID:Pico_020, ni_3_ID:Bellavista_020, ni_4_ID:Biobio_050.

El análisis Boostrap ML permite identificar con 88% de repeticiones un clado monofilético (Clado A) de *D. geminata* (número de acceso GenBank KJ011819.1, KR066785.1), el cual abarca 13 localidades: Llanquihue_030, Florin_020, Lonquimay_010, Puelo_020, Puelo_13, Palena_050, Norte_010, Cochrane_010, Pollux, Arroyo_CEA, Curriñe_010, Fuy_030 y Coyhaique_010, este

clado se encuentra contenido dentro un clado monofilético (Clado B) que incluye a la localidad Espolon_010, con boostrap de 86%. Por otro lado, la especie *D. geminata* identificada en HuaHum_020 no fue agrupada dentro el clado anterior, pero sí se agrupa en el Clado C, que incluye todas las secuencias analizadas. Del árbol filogénetico construido con las secuencias obtenidas con los partidores para la subunidad mayor del gen *rbcL* posible concluir que *D. geminata* de HuaHum_020 proviene de la población ancestral que pudo dar origen al Clado B, mientras que *D. geminata* proveniente de Espolon_010 provendría de la misma población ancestral que pudo dar origen al Clado A.

Las secuencias no identificadas también fueron agrupadas en el Clado C. Sin embargo, el porcentaje de boostrap de 16% en el nodo que relaciona a *D. geminata* strain CH058 ID:Huahum 020 con las localidades no identificadas, indica que la rama puede estar agrupada de esta forma por azar. Por otro lado, la rama que relaciona las secuencias ni_1_ID:Aysen_050, ni_2_ID:Pico_020 se repite en el 73% de las veces. Estas especies podrían estar estrechamente relacionadas. Es importante considerar que bootstrap sobre 95 considera que una rama generada es correcta (Holmes, 2003).

Relaciones filogenéticas

En las (Figura 9-125-Figura 9-127) se ilustran los resultados obtenidos al realizar un análisis filogenético de las 55 secuencias de diatomeas mediante distintos algoritmos para construir el árbol de relaciones filogenéticas.

En la Figura 9-125 se reportan los resultados obtenidos al emplear un algoritmo fenético, específicamente el enlazamiento a vecinos más cercanos o neighbour joining. En este resultado se puede apreciar que los géneros *Gomphonema*, *Cymbella* y *Encyonema* se separan claramente del grueso de las secuencias del género *D. geminata* correspondientes a nuestro país. Las excepciones a esta separación de las secuencias de *D. geminata* son las secuencias correspondientes a *D. geminata* con código de acceso Genebank KJ011820, y KJ011818, reportadas por Nakov *et al*., (2014) en GenBank (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/). Si bien ambas secuencias aparentemente corresponden a poblaciones del hemisferio norte, no nos fue posible al momento de redactar el presente informe obtener la información sobre la localidad de colecta. Sin embargo, la información reportada en dicho proyecto corresponde a muestreos realizados en Estados Unidos y Siberia (Lago Baikal). Se ha contactado al autor principal para obtener dicha información. Al examinar las topologías obtenidas mediante los algoritmos de

máxima parsimonia (análisis cladístico) y máxima verosimilitud (análisis cladístico), observamos que en ambos casos la separación de las muestras obtenidas en Chile con respecto a las muestras restantes (Figura 9-126-Figura 9-127), manteniéndose la separación de las secuencias KJ011820, y KJ011818 con respecto a las obtenidas en el presente proyecto y en el trabajo de Jaramillo *et al*., (2015). No obstante las diferencias en la filogenia reportadas en nuestros análisis, un resultado consistente es la diferencia de las muestras colectadas en Chile con respecto a las muestras de *Gomphonema*, *Cymbella* y *Encyonema*.

En la Figura 9-125 se ilustran los resultados obtenidos en base al algoritmos fenético Neighbour joining. Se indica para cada rama los porcentajes de bootstrap obtenidos. El valor a la derecha de cada rama indica por probabilidades posteriores. Los géneros de diatomeas representados se identifican mediante los colores de la rama correspondiente. En naranjo se destacan las especies del género Encyonema, mientras que las especies de Gomphonema se muestran en verde, en azul se muestran aquellas secuencias que corresponden a especies de Cymbella, y en rojo aquellas secuencias que corresponden a especies del género *D. geminata*.

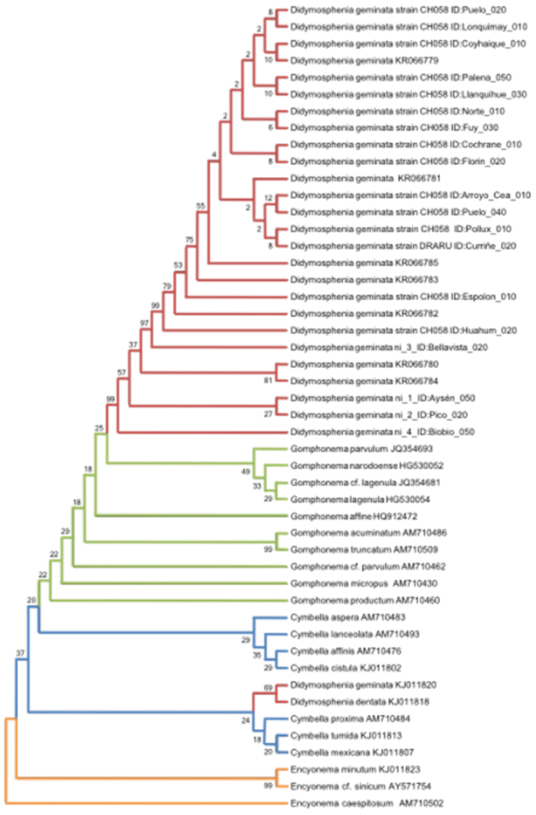


Figura 9-125. Relación filogenética de *D. geminata* y otras especies relacionadas de diatomeas en base al gen rbcL.

En la Figura 9-126 se ilustran los resultados obtenidos en base a algoritmos cladístico de máxima parsimonia. Se indica para cada ramalos porcentajes de bootstrap obtenidos. El valor a la derecha de cada rama indica por probabilidades posteriores. Los géneros de diatomeas representados se identifican mediante los colores de la rama correspondiente. En naranjo se destacan las especies del género Encyonema, mientras que las especies de Gomphonema se muestran en verde, en azul se muestran aquellas secuencias que corresponden a especies de Cymbella, y en rojo aquellas secuencias que corresponden a especies del género *D. geminata*.

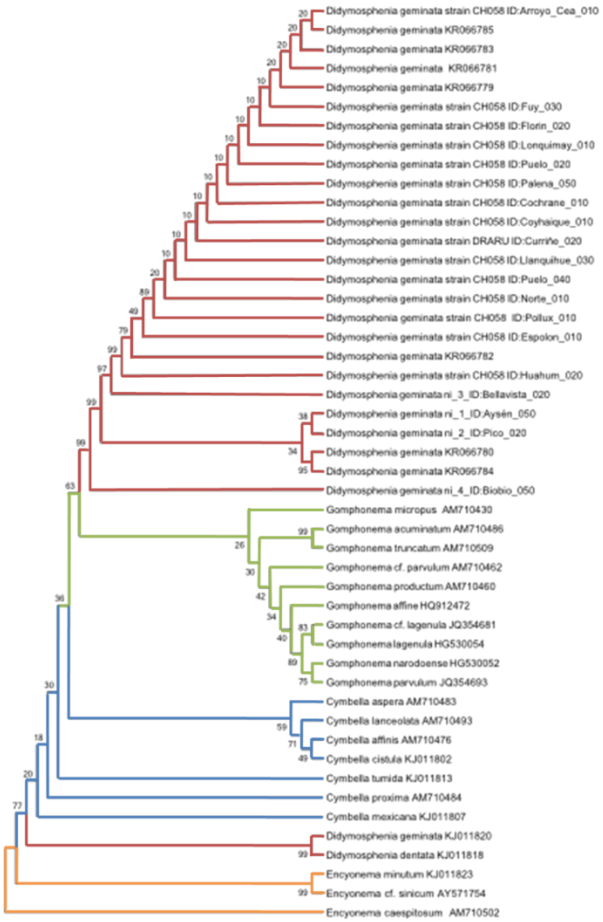


Figura 9-126. Relación filogenética de *D. geminata* y otras especies relacionadas de diatomeas en base al gen rbcL.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

En la Figura 9-127 se ilustran los resultados obtenidos en base al algoritmos cladístico probabilístico de máxima verosimilitud. Se indica para cada rama los porcentajes de bootstrap obtenidos. El valor a la derecha de cada rama indica por probabilidades posteriores. Los géneros de diatomeas representados se identifican mediante los colores de la rama correspondiente. En naranjo se destacan las especies del género Encyonema, mientras que las especies de Gomphonema se muestran en verde, en azul se muestran aquellas secuencias que corresponden a especies de Cymbella, y en rojo aquellas secuencias que corresponden a especies del género *D. geminata*.

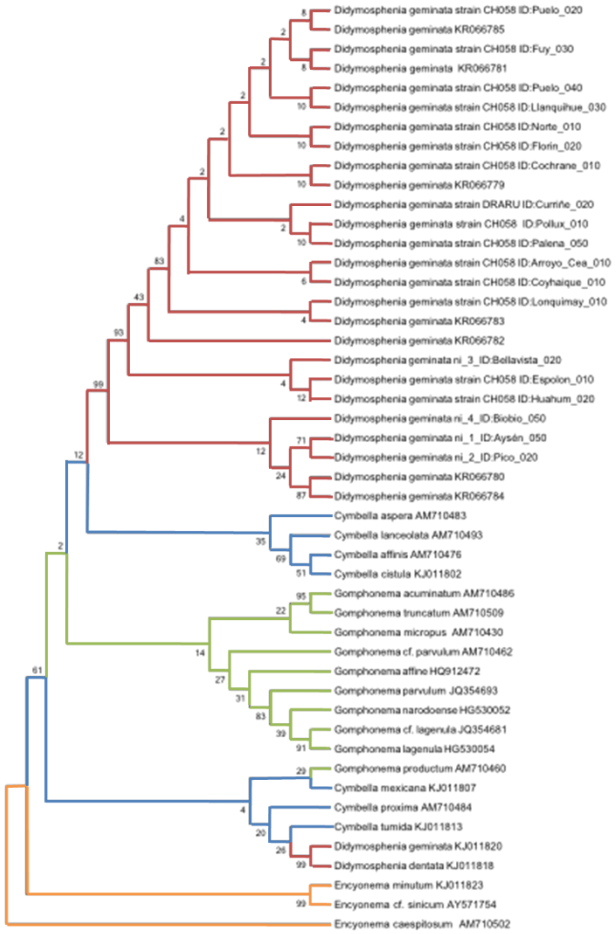


Figura 9-127. Relación filogenética de *D. geminata* y otras especies relacionadas de diatomeas en base al gen rbcL.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

Diversidad y Estructura Poblacional

Por otra parte, respecto a la estructura poblacional, y su variabilidad genética, los resultados indican que, independientemente del método de análisis, se observa un grupo de entre 15 y 18 secuencias de *D. geminata* que se agrupan, con una muy baja distancia genética entre ellas. Ello sugiere que hay un grueso de las 26 muestras chilenas que comparten secuencias muy parecidas. Independientemente del algoritmo seleccionado, puede apreciarse separaciones en el conjunto restante de muestras. Estos resultados indican que existe un grupo importante de poblaciones que podrían pertenecer a un único linaje. A su vez, las secuencias restantes podrían corresponder a linajes que se originaron por mutación desde una primera introducción o bien pueden corresponder a nuevos linajes que se han introducido de forma independiente.

El análisis de haplotipos permitió resolver el alto grado de similitud entre las 26 secuencias colectadas en Chile, particularmente para aquellas que no aparecen como diferenciadas en los árboles filogenéticos (Figura 9-125-Figura 9-127).

En la Tabla 9-40 se detalla información para cada secuencia, incluyendo el resultado de la identificación de haplotipos del gen *rbcL* de *D. geminata* en Chile mediante el software FaBox. El análisis de haplotipos muestra que existen dos haplotipos más frecuentes, correspondientes al haplotipo I y IX, con 12 y 3 poblaciones respectivamente, mientras que cada uno de los restantes haplotipos presenta una única población. Al examinar la diversidad genética para las distintas cuencas, se aprecia una disminución a lo largo del gradiente latitudinal, siendo la cuenca del Bío Bío la más diversa, con seis haplotipos presentes, mientras que las cuencas de los ríos Puelo y Baker son las menos diversas, presentando solamente un único haplotipo (Figura 9-128).

Ello podría indicar una fuente de origen de invasión desde el norte hacia el sur. En este sentido, y examinando únicamente el número de haplotipos observados, se podría formular como primera hipótesis que la diversidad genética observada podría corresponder a una única introducción de una población diversa, con un punto de origen en el Biobío y posterior traslado o propagación hacia el sur. Sin embargo, existen interpretaciones o hipótesis alternativas. La primera es que el alto número de haplotipos podrían corresponder a múltiples introducciones, posteriores a la introducción original. De forma alternativa, un cierto número de estas introducciones podrían haber dado origen a nuevos haplotipos, a través de mutaciones, resultando en una diversidad mayor, como se observa en las cuencas de Biobío, Valdivia, Bueno, Palena y Aysén.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

En la Tabla 9-40 se detallan tanto los nombres de las cuencas y ríos como la localización geográfica de cada población muestreada. Se ordenan las muestras de acuerdo a los resultados de análisis de haplotipos realizado utilizando el módulo *pegas* (Paradis, 2010), indicando el haplotipo correspondiente a cada una de ellas.

Tabla 9-40. Ubicación de las muestras de secuencias genéticas utilizadas para caracterizar la diversidad genética de *D. geminata* en Chile.

Cuenca	Río	Código población	Lat (ºS)	Long (ºO)	Haplotipo
Biobio	Lonquimay	Lonquimay_010	-38.44	-71.26	I
Valdivia	Llanquihue	Llanquihue_030	-39.82	-72.09	
Valdivia	Fuy	Fuy_030	-39.82	-72	
Bueno	Florin	Florin_020	-40.12	-72.2	
Puelo	Puelo	Puelo_040	-41.72	-72.08	
Puelo	Puelo	Puelo_020	-41.93	-71.93	
Palena y C. Costeras, Límite X Región	Palena	Palena_050	-43.65	-72.02	
Aysén	Norte	Norte_010	-45.23	-71.72	
Aysén	Coyhaique	Coyhaique_010	-45.54	-71.92	
Aysén	Arrollo Cea	Arroyo_Cea_010	-45.67	-72.23	
Aysén	Pollux	Pollux_010	-45.69	-72.06	
Baker	Cochrane	Cochrane_010	-47.26	-72.55	
Aysén	Aysen	Aysen_050	-45.34	-72.45	II
Yelcho	Espolon	Espolon_010	-43.19	-71.87	III
Palena y C. Costeras, Límite X Región	Pico	Pico_020	-44.2	-71.85	IV
BioBio	Rahue	KR066785*	-38.41	-71.25	IX
Valdivia	Fuy	KR066779*	-39.83	-71.94	
Aysén	Pollux	KR066781*	-45.69	-72.06	
Yelcho	Espolon	Bellavista_020	-43.18	-71.89	V
Biobio	Biobio	Biobio_050	-38.5	-71.2	VI
Valdivia	Huahum	Huahum_020	-40.03	-71.71	VII
Bueno	Currine	Currine_020	-40.21	-72	VIII
BioBio	Caracoles	KR066780*	-38.34	-71.29	X
Bueno	Curriñe	KR066782*	-40.21	-72.02	XI
BioBio	Tucapel	KR066783*	-38.59	-71.14	XII
BioBio	Lollen	KR066784*	-38.47	-71.24	XIII

Secuencias reportadas por Jaramillo *et al.,* (2015)

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

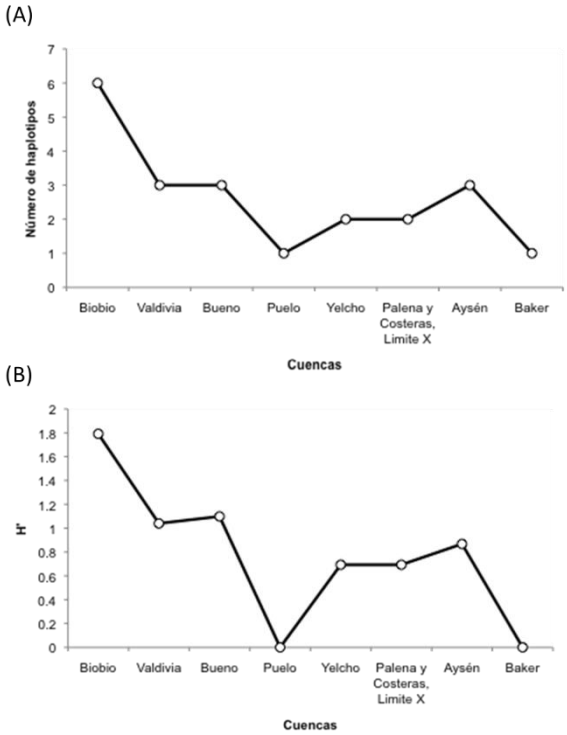


Figura 9-128. Diversidad genética poblacional de *D. geminata* en Chile. Se ilustra la variación a nivel de cuencas para la diversidad de haplotipos del gen rbcL de *Didymosphenia geminata* en Chile. Se ilustra el número de haplotipos (A) y la diversidad de Shannon (B) para las 8 cuencas estudiadas.

Para examinar en que grado la evidencia obtenida sugiere que una u otra hipótesis podría ser plausible, se evaluó el grado de similitud entre haplotipos mediante un análisis de red o grafo. La Figura 9-129 representa la red de haplotipos obtenida a partir de las secuencias (Paradis, 2010). Esta red corresponde a un grafo bidireccional que conecta los distintos haplotipos identificados a partir de las secuencias analizadas. Así, en la red cada nodo corresponde a una población o secuencia, y está unida mediante un enlace a aquella (o aquellos) haplotipos de mayor parecido en cuanto a su secuencia genética. El grafo utiliza una distancia sin corregir o de Hamming, que corresponde a un modelo que asume la existencia de infinitos sitios de secuencias de ADN (Templeton *et al.,* 1992). En esta red se representa el número de secuencias para cada haplotipo dado mediante el tamaño del nodo, identificando además mediante colores la identidad de las secuencias presentes en cada haplotipo. Los puntos ubicados a lo largo de cada enlace representan el número de mutaciones entre los haplotipos conectados por dicho enlace.

La Figura 9-129 se ilustra un grafo bidireccional que conecta los distintos haplotipos identificados a partir de las secuencias analizadas. El grafo utiliza un modelo de infinitos sitios de secuencias de ADN (es decir, distancia sin corregir o de Hamming), eliminando datos faltantes de forma pareada. Se representa mediante el tamaño del nodo el número de secuencias para cada haplotipo dado, identificando mediante colores la identidad de las secuencias presentes en cada haplotipo. Los puntos ubicados a lo largo de cada enlace representan el número de mutaciones entre los haplotipos conectados por dicho enlace.

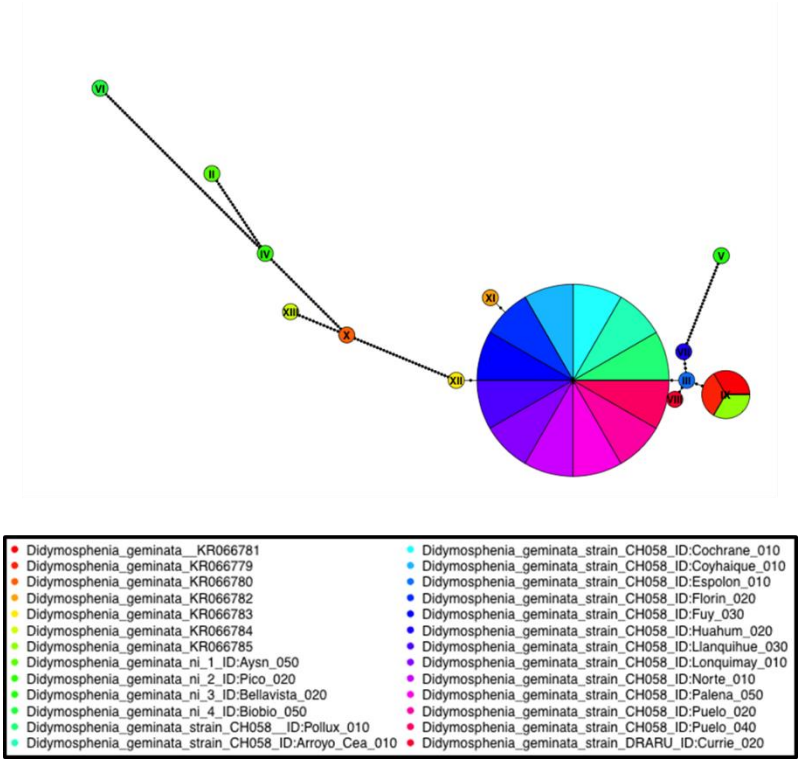


Figura 9-129. Red de unión mediana de los haplotipos del gen rbcL de *D. geminata* en Chile.

Al examinar la red de haplotipos, se puede apreciar que el haplotipo I, que es el más frecuente, está separado de los haplotipos III, XI y XII por una única mutación. De estos tres, solo el haplotipo III tiene secuencias muy similares, destacando haplotipo VIII (una mutación de diferencia con III), el haplotipo VII (dos mutaciones de diferencia con III) y la población IX (dos mutaciones de diferencia con III). Por ello, podría esperarse que a menos el haplotipo I corresponda a una introducción, y posiblemente IX tambien corresponda a una introducción. A fin de identificar de

manera más clara estas posibilidades, se examinó el patrón de distribución geográfica de estos haplotipos espacial puede complementar de manera importante las relaciones.

Al examinar la variación filogeográfica de la diversidad genética del gen *rbcL* de *Didymosphenia geminata* en Chile se aprecia que la secuencia I se encuentra ampliamente distribuida, mientras que con excepción de la secuencia IX, las demás tienen una distribución acotada (Figura 9-130). Sin embargo, el patrón de la distancia en número de mutaciones indica que al menos los haplotipos XI y XII corresponden a mutaciones del haplotipo I. Por otra parte, los haplotipos II, IV, V, VI y XIII presentan grandes distancias o acumulaciones de mutaciones, tanto con respecto a sus haplotipos mas cercanos y como respecto al haplotipo I, siendo al menos 4 de ellos secuencias de poblaciones relativamente aisladas y poco diversas. Todos estos antecedentes sugieren un potencial para al menos dos eventos de invasión de la plaga *D. geminata* en Chile, pudiendo alcanzar hasta diez eventos de introducción de distintos linajes.

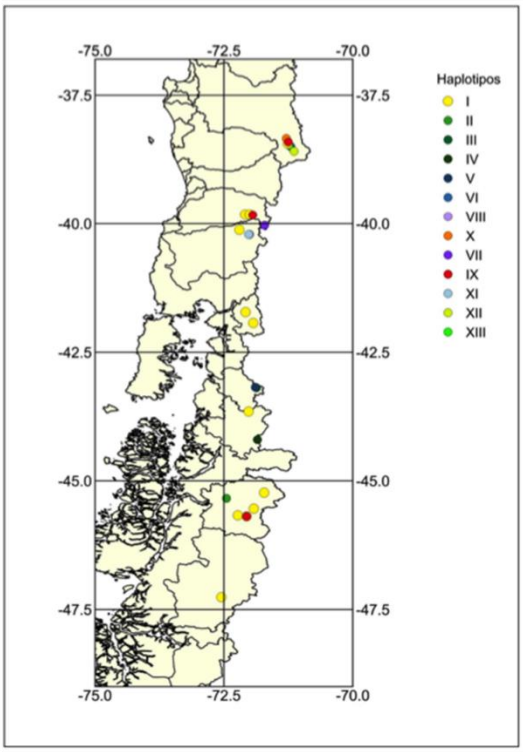


Figura 9-130. Variación filogeográfica de la diversidad genetica del gen rbcL de *Didymosphenia geminata* en Chile. Se ilustra la ubicación geográfica de los distintos haplotipos del gen rbcL de *Didymosphenia geminata* en Chile para las secuencias listadas en la Tabla 9-40.

9.5.2 Diversidad Bacteriana

Para el análisis de diversidad bacteriana se obtuvo el número total de bases, el recuento de lecturas, el porcentaje (%) total de CG, AT, y el nivel de calidad de secuenciación de una base dada, Q, definida como: $Q = -10 \log_{10}(e)$.

Un puntaje de calidad de 20 (Q20), indica la probabilidad de lectura de una base incorrecta cada 100 bases, mientras que, un puntaje de calidad de 30 (Q30) indica la probabilidad de encontrar 1 base incorrecta cada 1000 bases. Para ello, fue utilizado el software Illumina package bcl2fastq v1.8.4, en tanto, en la Tabla 9-41 se indican los datos crudos obtenidos luego de la secuenciación.

Tabla 9-41. Datos crudos obtenidos de la secuenciación MiSeq. Se entregan los valores del total de bases obtenidas en cada sitio de muestreo, el recuento de lecturas, %GC y %AT, Q20 y Q30.

N° CIAB	Muestra	Total Bases	Recuento de lecturas (reads)	GC (%)	AT (%)	Q20 (%)	Q30 (%)
1	Arroyo_Cea_010	408.007.785	1.362.108	52.74	47.26	82.45	67.67
2	Aysen_050	435.039.207	1.452.808	53.41	46.59	82.15	67.37
3	Pollux_010	456.628.846	1.526.044	53.07	46.93	82.74	68.07
4	Cochrane_010	444.929.363	1.484.676	52.69	47.31	82.86	68.21
5	Norte_010	467.083.588	1.559.422	53.58	46.42	83.16	68.64
8	Espolon_010	433.037.342	1.446.284	53.06	46.94	82.53	67.73
9	Pico_020	497.144.230	1.662.638	53.76	46.24	81.79	66.90
10	Palena_050	415.819.457	1.390.546	53.92	46.08	81.79	66.80
11	Puelo_040	420.371.203	1.403.378	52.23	47.77	82.23	67.26
12	Puelo_020	434.343.156	1.448.860	52.35	47.65	82.50	67.68
13	Bellavista_020	392.461.224	1.309.998	52.62	47.38	82.71	68.01
14	Biobio_050	204.770.139	682.548	52.94	47.06	73.09	55.38
15	Biobio_020	473.581.281	1.579.870	53.66	46.34	81.95	66.94
16	Lonquimay_010	421.931.418	1.407.994	52.0	48.0	82.72	67.84
17	Llanquihue_030	437.849.738	1.462.608	52.01	47.99	82.46	67.58
18	Huahum_020	461.128.003	1.538.892	52.73	47.27	82.62	67.85
19	Florin_020	354.863.346	1.184.560	52.32	47.68	82.92	68.15
20	Currine_020	362.805.187	1.210.930	53.10	46.90	82.49	67.64
21	Fuy_030	309.441.263	1.034.298	51.85	48.15	83.43	68.81
22	Coyhaique_010	323.070.070	1.078.598	52.97	47.03	82.56	67.68
Promedio		407.715.292,30	1.361.353	52.85	47.15	82.06	67.11
Desviación Estándar		68.432.074,77	228.737.83	0.61	0.61	2.15	2.81

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

Se obtuvo un promedio de 407,7 ± 68,4 millones de bases de las 20 regiones analizadas. Sólo se puede observar que en la muestra Biobio_050 el total de bases fue de 204,7 millones. Así mismo, el valor de lecturas en 19 de las 20 muestras es superior a 1 millón, sin embargo, en la muestra proveniente de la estación de muestreo Biobio_050 se obtuvo 682.548 lecturas. La muestra proveniente de la estación Biobio_050 además posee Q20 de 73%, mientras que el promedio de las muestras es de 82,06 ± 2,15%, y posee valor de Q30 55,38%, casi 10% menor al valor promedio de las muestras que corresponde a 67,11 ± 2,81%.

Estos resultados indican que la precisión en las lecturas es menor en esta estación respecto a los otros sitios de muestreo. La muestra Biobio_020, proveniente de un sitio de muestreo cercano geográficamente a Biobio_050, ambas provenientes del río Biobio, sí fue posible obtener valores de Q20 y Q30 similares a las otras estaciones de muestreo. Es posible que la calidad del DNA obtenido de la muestra Biobio_050 haya influido en los problemas de secuenciación registrados, como así mismo en los problemas de amplificación que se tuvieron del gen *rbc*L en la identificación de *D. geminata*.

Por otro lado, el porcentaje de GC y AT en todos los sitios es relativamente constante, en promedio 52,85 ± 0,61% de GC y 47,15± 0,61% de contenido de AT en el total de las muestras. Esto indica que las especies secuenciadas no han estado sometidas a restricciones ambientales importantes que produzcan variaciones en el contenido de GC (Hildebrand *et al.*, 2010).

De esto es posible concluir que las bacterias presentes en los sitios de muestreo son mesófilas. Por las condiciones ambientales y la temperatura del agua donde éstas muestras fueron obtenidas (4-14°C), se espera encontrar la presencia de OTUs de grupos bacterianos psicrófilos o psicrófilos facultativos.

Unidades taxonómicas Operacionales (OTUs)

Del análisis bioinformático se obtuvo un total de match para 51333 OTUs que incluyen secuencias para miembros de los reinos Archeas y Bacterias, presentes en la base de datos Silva SEED v.123, de los cuales, sólo algunos estaban presentes en cada una de las muestras (Tabla 9-42). Muchos de estos OTUs contaban con pocas lecturas que los sustentaban, en la mayoría de los casos se observó sólo una lectura para un OTU en particular.

Para facilitar el análisis, se escogió las 10 lecturas más abundantes que estuvieran presentes en el total de los 20 sitios evaluados. Cabe destacar que las lecturas con mayor presencia, se

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

condicen con las especies de mayor presencia en el lugar y para este caso corresponden al reino Bacteria sobre Archea.

Tabla 9-42. Sitio de muestreo para la obtención de gDNA. Se indica región, río y nombre de cada una de las muestras. Se ordenan la latitud (°S) en sentido sur a norte.

Región	Río	Estación	Lat (ºS)	Long (ºO)
Aysén	R.Cochrane	Cochrane_010	-47,26	-72,55
Aysén	R.Pollux	Pollux_010	-45,69	-72,06
Aysén	Arrollo Cea	Arroyo_Cea_010	-45,67	-72,23
Aysén	R.Coyhaique	Coyhaique_010	-45,54	-71,92
Aysén	R.Aysen	Aysen_050	-45,34	-72,45
Aysén	R.Norte	Norte_010	-45,23	-71,72
Aysén	R.Pico	Pico_020	-44,20	-71,85
Los Lagos	R.Palena	Palena_050	-43,65	-72,02
Los Lagos	R.Espolon	Espolon_010	-43,19	-71,87
Los Lagos	R.Espolon	Bellavista_020	-43,18	-71,89
Los Lagos	R.Puelo	Puelo_020	-41,93	-71,93
Los Lagos	R.Puelo	Puelo_040	-41,72	-72,08
Los Ríos	R.Currine	Currine_020	-40,21	-72,00
Los Ríos	R.Florin	Florin_020	-40,12	-72,20
Los Ríos	R.Huahum	Huahum_020	-40,03	-71,71
Los Ríos	R.Fuy	Fuy_030	-39,82	-72,00
Los Ríos	R.Llanquihue	Llanquihue_030	-39,82	-72,09
Araucanía	R.Biobio	Biobio_020	-38,73	-71,16
Araucanía	R.Biobio	Biobio_050	-38,50	-71,20
Araucanía	R.Lonquimay	Lonquimay_010	-38,44	-71,26

Al clasificar la pertenencia de las lecturas con mayor representación, se encontró que éstas pertenecen a cuatro *Phyla* principales de bacterias, los cuales corresponden a Verrucomicrobia, Proteobacteria, Bacteroidetes y por último una bacteria no determinada (Bacteria_unclassified), de acuerdo a la base de datos utilizada (Tabla 9-43; Tabla 9-44).

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

Tabla 9-43. Top 10 de OTUs más abundantes en las 20 estaciones de muestreo, es posible distinguir en la mayoría de los casos se determinó hasta en nivel taxonómico de Familia.

OTUs	Reino	Phylum	Clase	Orden	Familia	Género
Otu000001	Bacteria	Verrucomicrobia	Verrucomicrobiae	Verrucomicrobiales	Verrucomicrobiaceae	Luteolibacter
Otu000002	Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Rhodobacteraceae	NA
Otu000003	Bacteria	Bacteroidetes	Sphingobacteria	Sphingobacteriales	Cytophagaceae	NA
Otu000004	Bacteria	Bacteria_unclassified	Bacteria_unclassified	Bacteria_unclassified	Bacteria_unclassified	NA
Otu000005	Bacteria	Verrucomicrobia	Opitutae	Opitutales	Opitutaceae	Opitutus
Otu000006	Bacteria	Bacteria_unclassified	Bacteria_unclassified	Bacteria_unclassified	Bacteria_unclassified	NA
Otu000007	Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Sphingomonadales	Sphingomonadaceae	NA
Otu000008	Bacteria	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Burkholderiales_unclassified	NA
Otu000009	Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Sphingomonadales	Sphingomonadaceae	Novosphingobium
Otu000010	Bacteria	Bacteroidetes	Sphingobacteria	Sphingobacteriales	Sphingobacteriales_unclassified	NA

Tabla 9-44. *Phyla* más abundantes, representados en 10 OTUs con mayores lecturas. Se entrega el valor en % de abundancia dentro de las lecturas totales obtenidas para los 10 OTUs principales. *Phylum* Verrucomicrobia y Proteobacteria son aquellos que presentan mayor abundancia relativa en las muestras. Se ordenan geográficamente de sur a norte.

Muestra	Verrucomicrobia	Proteobacteria	Bacteroidetes	Bacteria_unclassified
Lonquimay_010	42.00%	35.88%	14.39%	7.73%
Biobio_050	48.60%	37.91%	7.90%	5.59%
Biobio_020	63.26%	28.06%	4.01%	4.66%
Llanquihue_030	38.26%	49.89%	4.95%	6.89%
Fuy_030	23.42%	49.43%	23.09%	4.06%
Huahum_020	15.64%	46.54%	32.14%	5.69%
Florin_020	39.41%	43.50%	8.28%	8.81%
Currine_020	17.35%	24.53%	21.45%	36.66%
Puelo_040	28.34%	24.40%	44.21%	3.06%
Puelo_020	31.11%	38.56%	24.99%	5.34%
Bellavista_020	30.31%	34.50%	13.95%	21.24%
Espolon_010	59.44%	20.01%	13.29%	7.26%
Palena_050	12.56%	30.93%	3.32%	53.19%
Pico_020	17.57%	17.57%	0.51%	64.35%
Norte_010	28.94%	37.30%	8.23%	25.52%
Aysen_050	24.42%	25.69%	11.55%	38.34%
Coyhaique_010	17.14%	21.29%	43.12%	18.46%
Arroyo_Cea_010	32.12%	30.55%	1.22%	36.12%
Pollux_010	15.27%	31.70%	46.18%	6.85%
Cochrane_010	11.49%	68.07%	12.00%	8.43%

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

Dentro de estos *phyla*, las clases más abundantes corresponden a Verrucomicrobiae y Opitutae para el *phylum* Verrucomicrobia; Alphaproteobacteria y Betaproteobacteria para el *phylum* Proteobacteria y Sphingobacteria para el *phylum* Bacteroidetes. No es posible obtener más información del cuarto *phylum* más abundante en las muestras, debido a que las secuencias no se encuentran clasificadas. Sin embargo, es posible distinguir cinco clases conocidas de bacterias. El porcentaje (%) de la abundancia de cada clase identificada, para el total de 10 OTUs, se describe en Tabla 9-45.

Tabla 9-45. Clases más abundantes, representadas en 10 OTUs con mayores lecturas. Se entrega el valor en % de abundancia dentro de las lecturas totales obtenidas para los 10 OTUs principales. Las muestras se ordenan geográficamente de sur a norte.

Muestra	Verrucomicrobiae	Opitutae	Alphaproteobacteria	Betaproteobacteria	Bacteria_unclassified	Sphingobacteria
Lonquimay_010	36.31%	5.69%	30.02%	5.86%	7.73%	14.39%
Biobio_050	12.03%	36.57%	35.84%	2.07%	5.59%	7.90%
Biobio_020	5.80%	57.46%	22.60%	5.46%	4.66%	4.01%
Llanquihue_030	34.96%	3.30%	43.86%	6.03%	6.89%	4.95%
Fuy_030	23.21%	0.21%	44.86%	4.57%	4.06%	23.09%
Huahum_020	14.09%	1.55%	34.92%	11.62%	5.69%	32.14%
Florin_020	39.41%	0.00%	34.01%	9.49%	8.81%	8.28%
Currine_020	16.86%	0.49%	18.78%	5.75%	36.66%	21.45%
Puelo_040	24.51%	3.82%	17.55%	6.85%	3.06%	44.21%
Puelo_020	30.86%	0.25%	29.33%	9.23%	5.34%	24.99%
Bellavista_020	28.52%	1.79%	27.37%	7.13%	21.24%	13.95%
Espolon_010	22.55%	36.89%	14.24%	5.77%	7.26%	13.29%
Palena_050	6.36%	6.20%	24.19%	6.74%	53.19%	3.32%
Pico_020	4.08%	13.49%	12.27%	5.31%	64.35%	0.51%
Norte_010	11.99%	16.96%	29.60%	7.70%	25.52%	8.23%
Aysen_050	24.16%	0.26%	22.71%	2.98%	38.34%	11.55%
Coyhaique_010	9.85%	7.29%	17.73%	3.56%	18.46%	43.12%
Arroyo_Cea_010	32.06%	0.06%	20.70%	9.86%	36.12%	1.22%
Pollux_010	11.80%	3.47%	27.20%	4.50%	6.85%	46.18%
Cochrane_010	11.45%	0.05%	64.50%	3.57%	8.43%	12.00%

En la Figura 9-131 se observa el heatmap o mapa de abundancia de los OTUs siendo el más abundante el OTU N°4 (Otu000004) con 2154 lecturas, que pertenece al *phylum* Bacteria_unclassified en Pico_020, seguido por OTU N°3 (Otu000003) con 1915 lecturas, que pertenece al *Phylum* Bacteroidetes, Clase Sphingobacteria en Pollux_010, y luego el OTU N°5 (Otu000005) con 1861, que pertenece al *Phylum* Verrucomicrobia, Clase Opitutae en Biobio_020.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

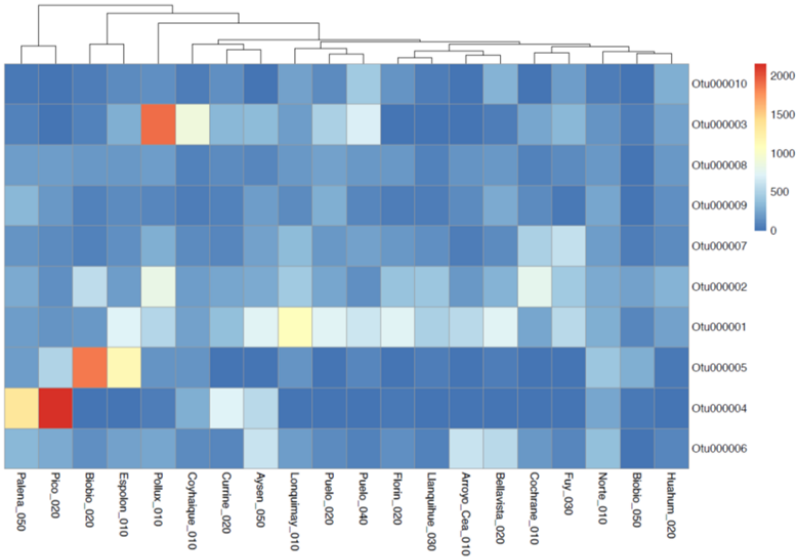


Figura 9-131. Heatmap o mapa de abundancia de los OTUs.

En la Figura 9-132 se observa un cladrograma, el cual agrupa por similitudes las muestras. Se puede distinguir cuatro muestras, Palena_050, Pico_020, Biobio_020 y Espolon_010, que se separan del clado principal que agrupa a 16 sitios de muestreo, en los cuales predominan los OTUs 1 y 2 (colores blanco-celeste), estando menos presentes los OTUs 5 y 6 (color azul).

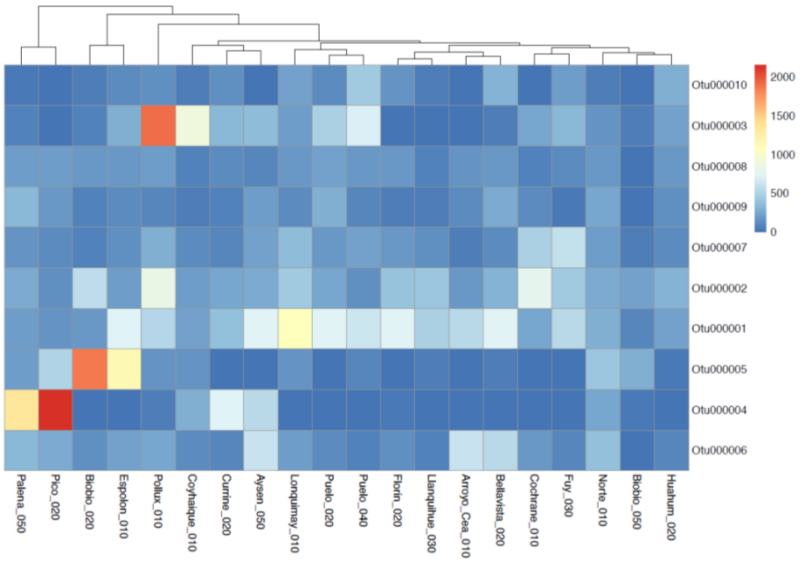


Figura 9-132. Cladrograma, el cual agrupa por similitudes las muestras.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

En la Figura 9-133 se observa un Heatmap o mapa de abundancia de 10 OTUs con mayor abundancia relativa en lecturas presente en cada uno de los sitios muestreados. De 0 a 2000 se indica el número de lecturas para cada OTU presente en las muestras.

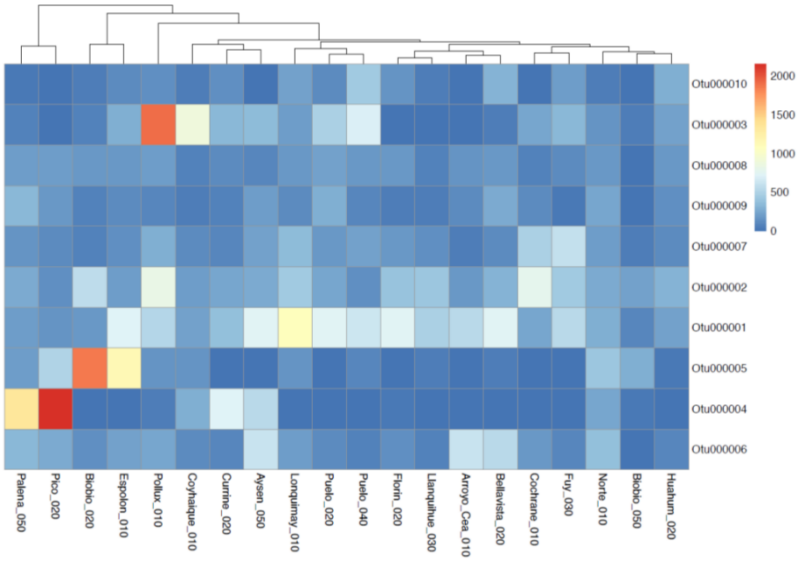


Figura 9-133. Heatmap o mapa de abundancia de 10 OTUs con mayor abundancia relativa en lecturas presente en cada uno de los sitios muestreados.

En Figura 9-134 se representa la abundancia relativa de los cuatro *phyla* identificados en este estudio, para los 20 sitios de muestreo. Es posible observar que en cada muestra existe más de un OTU representado por un *phylum*, esto se gráfica por las líneas que dividen los bloques de color que representan cada *phylum*. Se puede identificar los *phyla* Verrucomicrobia, Proteobacteria y Bacteria_unclassified como los más abundantes en todas las muestras. En la Figura 9-113 se gráfica la abundancia para la categoría taxonómica Clase, de acuerdo al to 10 de OTUs. En la Figura 9-136 se muestra la abundancia total de cada *phylum*, los sitios de muestreo se encuentran ordenados según localidad geográfica (Tabla 9-42).

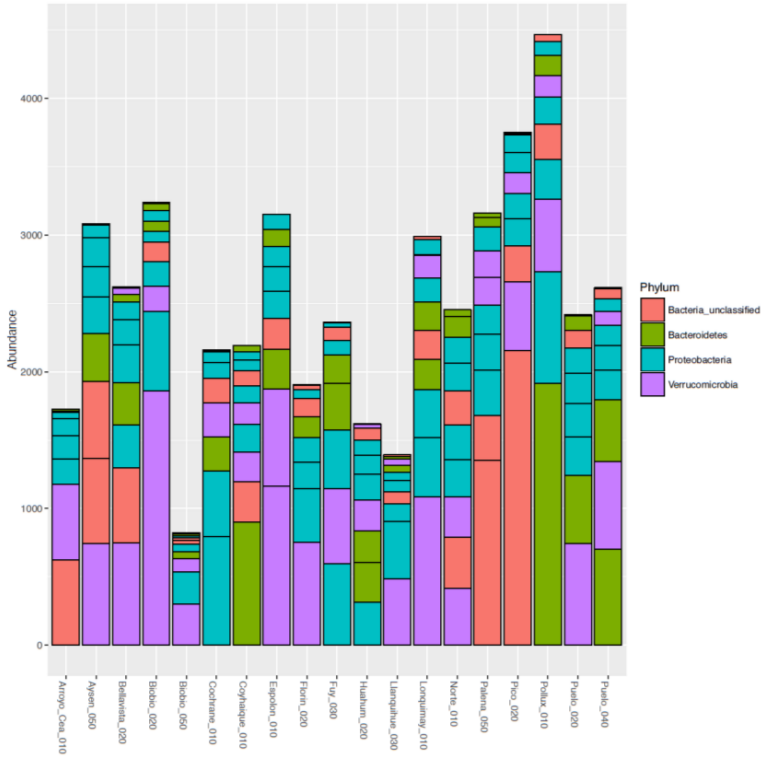


Figura 9-134. Abundancia relativa de lecturas para cuatro phyla principales en las 20 estaciones de muestreo. Se observan divisiones entre p*hyla*, esto se debe a la presencia de más de un OTU representando un *phylum*

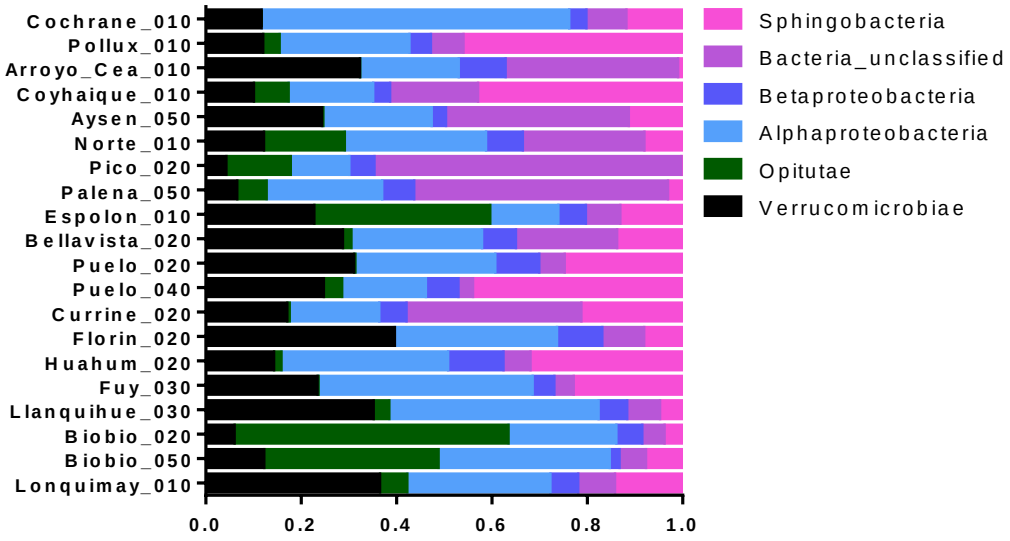


Figura 9-135. Abundancia relativa de clases de microorganismos presentes en los 10 OTUs, se representan como barras que indican una parte del total en el eje "x" (valor total =1), en el eje "y" se ordenan las muestras de sur a norte, siendo Cochrane_010 el muestreo más austral y Lonquimay_010 el punto de muestreo más cercano al °0 de latitud.

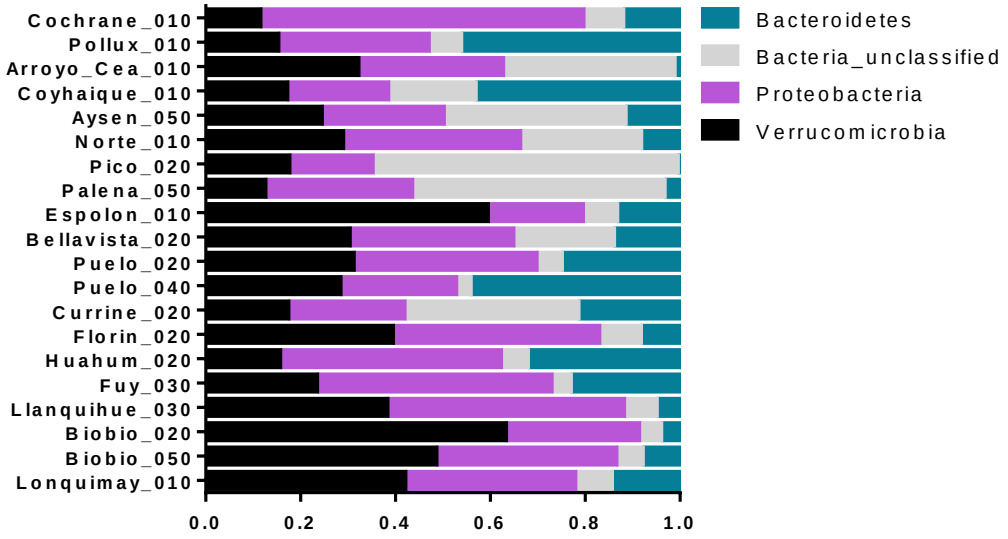


Figura 9-136. Abundancia de *Phyla* presentes en los 10 OTUs más representativos, las barras indican una parte del total en el eje "x" (valor total =1), en el eje "y" se ordenan las muestras de sur a norte, siendo

El *phylum* Verrucomicrobia es el más abundante en el total de las muestras, siendo las localidades con mayor abundancia: Biobio_020, con un 63,26%, Espolon_010 con 59,44%, Biobio_050 con 48,60% y Lonquimay_010 con 42,00% (Tabla 9-46).

Tabla 9-46. Tabla de abundancia relativa de 10 OTUs principales en los 20 puntos de muestreo. Se indica el número de lecturas para cada uno de los OTUs.

OTUs	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Arroyo_Cea_010	553	187	11	0	1	623	44	170	126	10
Bellavista_020	748	315	56	9	47	548	129	187	274	310
Biobio_020	188	578	76	7	1861	144	75	177	79	54
Biobio_050	99	233	52	28	301	18	52	17	10	13
Cochrane_010	247	794	248	0	1	182	481	77	117	11
Coyhaique_010	216	202	900	296	160	109	124	78	63	46
Currine_020	378	249	337	730	11	92	102	129	70	144
Aysen_050	745	265	353	559	8	623	222	92	213	3
Espolon_010	711	195	292	3	1163	226	145	182	109	127
Florin_020	752	395	5	33	0	135	190	181	64	153
Fuy_030	549	432	339	0	5	96	595	108	34	207
Huahum_020	228	314	231	3	25	89	111	188	140	289

OTUs	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Llanquihue_030	487	417	18	12	46	84	132	84	62	51
Lonquimay_010	1085	432	207	19	170	212	350	175	115	223
Norte_010	294	269	151	250	416	376	200	189	257	51
Palena_050	201	266	70	1354	196	328	171	213	328	35
Pico_020	153	147	13	2154	506	259	127	199	186	6
Pollux_010	527	819	1915	50	155	256	292	201	104	148
Puelo_020	746	243	495	0	6	129	184	223	282	109
Puelo_040	641	148	704	8	100	72	217	179	94	452

Es un *phylum* que debe su reconocimiento a la tecnología de ácidos nucleicos, aunque pocos de sus miembros han sido cultivados, estudios de 16S rRNA han confirmado que están ampliamente distribuidos en muchos entornos, como el agua dulce, los océanos, los suelos, e incluso las heces de vertebrados. Se considera la mayoría de los representantes de las subdivisiones 1, 2, 3, 4 y 6 de Verrucomicrobia habita en suelo, agua dulce o ambientes marinos y se especula que tienen un metabolismo aerobio o microaerofílico (Hedlund, 2011).

En relación al *phylum* Proteobacteria, se han relacionado numerosas funciones biogeoquímicas, es predominante de suelos y sedimentos en sistemas de agua dulce (Yihui Chen & cols, 2016). Se ha descrito abundancia de alfa-proteobacteria, beta-proteobacteria y gamma-proteobacteria asociada a la presencia de diatomeas bentónicas y al crecimiento y secreción de sustancias poliméricas extracelulares en sistemas de agua dulce (Bruckner & cols, 2008).

Por otro lado, especies de Bacteroidetes son conocidos por degradar compuestos de alto peso molecular en ambientes naturales (Fernández-Gómez & cols., 2013) Sin embargo, hasta ahora, los vínculos entre Bacteroidetes y factores ambientales en ecosistemas aún no están claros. Los antecedentes indican que Bacteroidetes muestra dominio en suelos y son menos abundante en los sedimentos de los lagos (Yihui Chen & cols, 2016).

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

9.6 Taller teórico-práctico sobre gestión de la especie plaga *D. geminata* y bioseguridad en Chile

La elaboración del taller teórico práctico sobre gestión de la especie plaga *D. geminata* y bioseguridad en Chile.correponde al objetivo extra Nº2.

Este taller tuvo lugar en la Universidad Santo Tomás en Santiago los días jueves 24 y viernes 25 de noviembre del 2016. Fueron invitados como asistentes a personas de diversas instituciones, estudiantes, profesionales del área y consultoras.

<u>El curso comprendio la exposición distintos especialistas, entre estos:</u>

Carolina A. Díaz Pardo. Especialista en Diatomeas de Aguas Continentales, Licenciada en Ciencias Ambientales cm Biología, Universidad de Chile y Gerente General Amakáik Consultoría Ambiental. Que como se mencionó anteriormente, se encuentra trabajndo en la plaga Didymo desde el año 2010 hasta la fecha.

Fabio Labra R. Profesor titular Facultad de ciencias Universidad Santo Tomas.

Alejandro Barrientos Puga. Medico Veterinario y se encuentra a cargo de la Unidad de Gestión Sanitaria y Plagas, División de Acuicultura, Subsecretaría de Pesca y Acuicultura.

Ricardo Sáez Palma. Biólogo Marino del Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura.

El taller téorico práctico concluyo con una jornada de trabajo en el laboratorio de la Universidad Santo Tomás. Aquí se expusieron las metodologías de muestreo Didymo, la toma de muestras químicas y biológica en terreno y las barreras de bioseguridad. Finalmente, se realizó un análisis de muestras de *D. geminata* al microscopio, cuyo enfoque se destino al reconociemineto de células de *D. geminata* y a la diferenciación de células vivas y muertas.

El curso tuvo buena concurrencia, contando con personas vinculadas al tema medioambiental, destacando la asistencia de la profesional a cargo de la continuación de este estudio en el Instituto de Fomento Pesquero (IFOP).

El registro fotográfico y lista de asitencia al taller teórico-práctico se encuentran en el Anexo 23.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

9.7 Publicaciones Científicas

Para dar cumplimiento al objetivo extra Nº3 que corresponde a la realización de manuscritos en base a los resultados obtenidos en el presente proyecto. Se elaboraron dos manuscritos, tal como se mencionó en la metodología.

El primer manuscrito se elaboro con la información obtenida en el objetivo especifico Nº3 “Análisis de factores bióticos y abióticos que inciden en la dispersión, colonización y proliferación de *Didymosphenia geminata*”, específicamente con los resultados de avifauna, el cual, se titula. “Primer censo de aves en presencia de la especie plaga *Didymosphenia geminata* en ríos de la precordillera en las regiones de La Araucanía y Los Ríos”. Este manuscrito se encuentra contenido en el Anexo 24.

El segundo manuscrito se elaboro con los resultados del objetivo extra Nº1 Variabilidad genética y comunidad bacteriana asociada a *D. geminata,* el cual se titula “Phylogenetic and phylogeographic patterns of *Didymosphenia geminata* on invaded sites in Chile”. Este manuscrito se encuentra contenido en el Anexo 25.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

10. DISCUSIÓN

10.1 Prospección y seguimiento de la especie plaga *D. geminata*

Los resultados del estudio revelaron que un total de 35 ríos presentan *D. geminata* en la comunidad de microalgas bentónicas. De estos, 18 pertenecen a la Región de Aysén, siendo los ríos Bravo, Cisnes, Estero pedregoso, Aysén, Nirehuao, Norte, Arroyo Cea, La Paloma, Coyhaique, Pollux, Simpson, Baker, Chacabuco, Cochrane, Jeinimeni, Estero el Bravo, Figueroa y Pico. Cinco ríos corresponden a la Región de Los Lagos, precisamente Palena, Puelo, Quebrada sin nombre (DGA), Espolón, Futaleufu. Nueve ríos en la Región de Los Ríos, estos son Caunahue, Curriñe, Florin, Pillanleufu, Enco, San Pedro, Fuy, Huahum, Llanquihue. En la Región de la Araucanía tres ríos se hallaron infectados los que corresponden a los ríos Biobío, Lonquimay y Cautín. Finalmente en la Región del Biobío fue detectada *D. geminata* en la estación (estación Biobio_110) perteneciente al río Biobío.

En relación a lo anterior, cinco ríos corresponden a nuevos sitios colonizados. Estos corresponden a los ríos: Bravo (Bravo_010), Estero el Bravo (Risopatron_008), Caunahue (Caunahue_020), Liucura (Liucura_Biobio_020), Cautín (Cautin_010).

En relación a las variables fisicoquímicas *in situ* de temperatura, oxígeno disuelto, porcentaje de saturación de oxígeno, pH, conductividad, y turbidez, se observo que fueron homogéneos entre sí en todos los ríos muestreados. Sin evidencia de tendencias y/o correlaciones estadísticas significativas respecto a la presencia o ausencia *D. geminata* y en relación de la presencia o ausencia de bloom de Didymo. Esta situación se explica debido a que todos los ríos contemplados en este estudio se ubican en zonas precordilleranas, corresponden a ríos oligotróficos con pendientes pronuciadas asociados a ríos de montaña o ritrales.

La única variable que mostro una leve diferencia estadística ($p<0.05$) fue el pH siendo estos neutros con una leve tendencia a la alcalinidad (7.0-8.0). Se logró evidenciar que *D. geminata* habitualmente se hallaría en ríos tributarios donde el rango de pH es entre 7,5 y 8,5. En este contexto es que la presencia de la plaga estaría relacionada a ríos con aguas circumneutrales (Dufford *et al*., 1987; Skulberg, 1982). No obstante, en anteriores proyectos Didymo se encontró que el pH en presencia de la plaga seria de carácter neutro con una leve tendencia a la acidez (SUBPESCA/POCH-U.Chile 2012).

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

En relación a los parámetros químicos de laboratorio se evidenciaron valores de fosfato inorgánico muy bajos, en la mayoría de los cuerpos de agua estudiados, lo cual coincide con zonas donde hay presencia de Didymo, situación similar se manifiesta con los valores mínimos para nitratos y nitritos. En este contexto se confirma lo que señala la literatura que, esta microalga prefiere hábitats de aguas frías y oligotróficas con concentraciones mínimas de iones en la columna de agua (Bothwell *et al*., 2014; Kramer & Lange-Bertalot, 1986; Kawecka & Sanecki, 2003).

Se encontró una leve diferencia estadística ($p<0.05$) en estaciones con presencia y ausencia de *D. geminata* con respecto a el sílice y al hierro. El sílice exibio una posible relación inversa entre la densidad de *D. geminata* y la concentración del sílice soluble. Lo cual estaría demostrado en algunos crecimientos ("bloom") de diatomeas, las cuales agotan las concentraciones de sílice. Por el contrario, se evidencio una relación directa entre la densidad de *D. geminata* y la disponibilidad del calcio. La concentración de calcio se atribuye al potencial requerimiento de este elemento como componente del pie de mucilago (Gretz, 2008).

En relación al hierro se encontro en bajas concentraciones en la mayoría de los cuerpos de agua donde se encontró presencia de *D. geminata*, al parecer podria ser un factor importante para su presencia (Kilroy, 2004; James *et al.,* 2014).

Todo lo anterior se condice con las características del hábitat que se ha indicado en la literatura (Kilroy, 2004; Largerstedt, 2007).

Con respecto a las variables hidráulicas se observó que *D. geminata* presentaría preferencia por sustratos de mayor tamaño (piedras “bolones” y cantos), disminuyendo en sustratos más pequeños (arena y limo/arcilla). Lo anterior se corrobora con la literatura, la cual expresa que *D. geminata* presentaria un óptimo crecimiento en rocas y bolones (Kilroy, 2004; Kilroy *et al*., 2007; Larned *et al*., 2006).

Con respecto a las comunidades perifíticas y diatomeas bentónicas estas presentaron diferencias estadisticas significativas en su composición y abundancia, entre regiones y en ríos con presencia y ausencia de *D. geminata.* Eso significa que la composición y abundancia de microalgas son distintas en ríos con presencia de *D. geminata* y en ríos con ausencia de esta, así como entre las regiones.

Con respecto a los índices comunitarios se observaron diferencias significativas en la riqueza de perifiton y diatomeas bentónicas. Estaciones con de *D. geminata* presentaron mayores valores

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

de riqueza, lo que podría tener alguna relación con la diferencia observada para sitios con y sin Didymo, respecto de los micro y macronutrientes.

La densidad presentó diferencias significativas en ambos grupo biológicos en relación a la presencia y ausencia de *D. geminata*, observandose mayores densidades en sectores donde *D. geminata* estuvo presente.

La diversidad de Shannon y Simpson, presentaron diferencias significativas entre regiones solo para las diatomeas bentónicas en las regiones del Biobío en la que hubieron mayores diversidades para ambos grupos, y en la Araucanía solo en el caso de las diatomeas bentónicas para la diversidad de Shannon. Las menores diversidades se observaron en la región de Los Lagos. En relación, a la presencia – ausencia de *D. geminata*, no se observaron diferencias para las diversidades.

La equitatividad, en tanto, mostró patrones similares en regiones como para la presencia y ausencia de *D. geminata*.

Respecto al análisis a escala de mesohábitat, en estaciones con presencia de *D. geminata* y analizando el perifiton de la cobertura mucosa, no se detectaron diferencias significativas para la composición y abundancias al diferenciar entre tipos de mesohabitat denominados como corrientes, pozo, rápidos y tabla. Además a esta escala se realizó un análisis diferenciando entre mesohabitat con bloom y sin bloom de Didymo, en el que se obtuvo una mayor riqueza en mesohabitat con bloom, albergando dominancia de los géneros *Achnanthidium*, *Nitzschia* y *Fragilaria*.

En relación a estos resultados asociados al aumento de la riqueza de estos grupos algales, en otros estudios se ha reportado para el perifiton un aumento en la biomasa, lo que indica que la presencia en gran cantidad del material mucilaginoso de Didymo, lo cual podría estar favoreciendo el establecimiento de perifiton en los ríos (Kilroy *et al*., 2009). Por otra parte, y a propósito de la amplia presencia de *Achnanthidium* en el perifiton como en las diatomeas bentónicas, se ha reportado que la extensa matriz pedunculada de Didymo podría proveer nuevos hábitat para estos grupos, siendo particularmente colonizada por la diatomea cosmopolita de pequeño tamaño *Achnanthidium minutissimum* (Kilroy *et al*., 2009).

En relación a la composición si bien las diferencias podrían deberse a múltiples factores (i.e. régimen de caudal, crecidas del río, suministro de nutrientes, entre otros), al parecer se provocaría un cambio en la composición de *taxa* en los ríos con presencia de *D. geminata*. Kilroy

et al., 2009, han reportado un notorio cambio en la ocurrencia de algunos *taxa* en el río Lower Waiau (Nueva Zelanda), producto de la rápida expansión de la plaga excluyendo a algunas especies de las superficies colonizables.

En relación a los *taxa* dominantes, se ha reportado en estudios anteriores realizados en la regiones evaluadas en este estudio, varias microalgas asociadas a la especie *D. geminata* entre las que destacan la especie cosmopolita *Achnanthidium minutissimum* y también las especies epilíticas *Encyonema minutum*, *Fragilaria bicapitata*, *Fragilaria capucina*, *Fragilaria capucina* var. v*aucheriae* y *Gomphonema pumilum* (SUBPESCA/POCH-U.Chile , 2012). En relación al perifiton analizado en este estudio, también se detectaron, a lo menos, los mismos géneros.

A nivel de mesohábitat (con presencia de *D. geminata*), la riqueza no presentó mayores diferencias tomando en cuenta los tipos de mesohábitat y considerando los mesohábitat con bloom y sin bloom de Didymo. La densidad, tampoco presentó diferencias entre tipos de mesohábitat, sin embargo, en mesohábitat con bloom y sin bloom si fueron observadas diferencias en las densidades, siendo mayores en mesohabitat con bloom.

Los restantes parámetros de diversidad y equitatividad no presentaron diferencias significativas ya sea al comparar entre regiones como en los distintos tipos de mesohábitat.

En relación a la densidad de *D. geminata* no se observaron diferencias significativas entre mesohábitat, presentando patrones homogéneos entre tipos de mesohábitat, a saber corrientes, tabla, rápidos y pozo. Por otra parte, no se observaron correlaciones entre la densidad de *D. geminata* y el espesor cuantitaivo del moco, la profundidad y la velocidad de la corriente asociados a los distintos mesohábitat.

Se analizaron además, las formas de crecimiento de las microalgas asociadas a los mesohábitat, no encontrándose diferencias entre los distintos tipos. Sin embargo, se encontró una correlación de *D. geminata* con las otras diatomeas con formas pedunculadas. La representatividad de las formas pedunculadas fue de un 72.27% en los mesohábitats.

Los macroinvertebrados bentónicos se diferenciaron estadísticamente entre periodos de muestreo, entre regiones y en presencia y/o ausencia de *D. geminata*, especificamente en la composición y abundancia. Los resultados exhibieron que sitios con *D. geminata* poseen menor proporción de EPT (Ephemeropteros, Plecópteros y Trichoperos) y mayor número de Chironomida, en contraste con sitios sin *D. geminata* que presentaron menor porcentaje EPT y mayor proporción de Chironomidae. Lo anterior tiene relación con lo que se espera para esta

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

comunidad en sitios impactados por *D. geminata* según la literatura (Biggs, 2000; Kilroy *et al*., 2006; Larned *et al*., 2007; Gillis & Chalifour, 2010).

No obstante, se realizaron análisis de correlación canónica que relacionaron los índices comunitarios de macroinvertebrados bentónicos y las variables ambientales (parámetros fisicoquímicos, nutrientes y variables hidráulicas). Éstos análisis revelaron que las mismas variables ambientales se relacionaron directamente en presencia y en ausencia de Didymo. Así como las mismas variables ambientales se relacionaron inversamente en presencia y en ausencia de Didymo. Este resultado expone que por el momento *D. geminata* no se econtraría afectando a esta comunidad. Esto puede deberse, por una parte, a la diferencia en el número de estaciones con presencia y ausencia de la plaga, resultando considerablemente mayor el número de estaciones sin plaga. Por otro lado, el muestreo se encuentra enfocado al monitoreo del Didymo, y no a la comunidad de macroinvertebrados bentónicos. Si se desea evaluar el efecto del Didymo en esta comunidad se recomienda acotar el área de estudio para este análisis.

La mayoría de los estudios realizados en el extranjero con respecto a este tema, evalúan el efecto de la plaga ubicando estaciones en un mismo río, en donde existan sitios con y sin Didymo. Un buen ejemplo de ello en Chile, correspondería al río Biobío.

En síntesis se observo mayor número de géneros, en el caso de la comunidad perifitica, mayor número de especies para el caso de las diatomeas y mayor núemero de familias en el caso de los macroinvertebrados bentónicos en la Región de Aysén y los menores valores para la Región del Biobío. Lo anterior podría tener su explicación en la cantidad de estaciones muestreadas por región, siendo Aysén la que concentro la mayor cantidad y Biobío la menor.

10.2 Análisis histórico de *Didymosphenia geminata*

En primavera del año 2010 se realizó la primera prospección de *D. geminata* desde la IX hasta la XII Región. Desde aquel entonces, diferentes estudios han sido realizados, los que han hecho evidente el avance de la plaga.

Desde que se detecto la plaga hasta las fecha existe un total de 36 ríos entre las regiones del Biobío y Aysén que han presentado *D. geminata* en alguno de los muestreos ejecutados. Hasta la fecha se tiene conocimiento que la plaga se distribuye de manera parchosa desde la región del Biobío a Magallanes.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

En todos los proyectos analizados se observa que la comunidad de diatomeas bentónicas se ve beneficiada frente a la presencia de *D. geminata*, aumentando en general la riqueza, diversidad y la abundancia total de individuos. Este fenómeno es contrario al patrón común que siguen las invasiones biológicas, las cuales excluyen a competidores cuando la invasión ya superó su etapa de expansión. Frente a esto, se ha sugerido en los diferentes proyectos que la plaga aún se encuentra en un estado aún intermedio de invasión en la mayoría de los sitios analizados, sin posicionarse aún como especie dominante de la comunidad bentónica.

El aumento de abundancia de células totales de la comunidad de microalgas bentónicas en sitios invadidos, puede deberse a la presencia del material mucilaginoso de *D. geminata* (Kilroy *et al*., 2009).

En la multiplicidad de informes analizados se observaron otras microalgas asociadas a la especie *D. geminata* entre las que destacan la especie cosmopolita *Achnanthidium minutissimum* y también las especies epilíticas *Encyonema minutum*, *Fragilaria bicapitata*, *Fragilaria capucina*, *Fragilaria capucina* v *vaucheriae* y *Gomphonema pumilum*.

Con respecto al componente biológico, se integró a los análisis en el año 2013 la comunidad de macroinvertebrados bentónicos y recientemente en el presente proyecto a los peces, aves y mamíferos. De esta manera se puede tener una visión ecológica de las consecuencias de la plaga en los distintos niveles tróficos y de los posibles vectores de dispersión no antrópicos.

Por otra parte, los análisis estadísticos multivariados realizados en la mayoría de los estudios, asociaron la presencia de *D. geminata* a los parámetros físico-químicos como el calcio, sílice y pH. Sin embargo, al realizar los análisis individualmente con cada parámetro no se encuentran resultados significativos, haciendo vaga la interpretación de esta asociación.

Se observa que sitios con presencia de *D. geminata* tienen valores muy bajos de fosforo, se ha descrito una relación inversa entre la concentración de fósforo reactivo disuelto y el biovolúmen de *D. geminata* (Kilroy & Bothwell, 2012), indicando que la causa proximal de los *bloom* de *D. geminata* sería un bajo nivel de fósforo. Las causas de la disminución de fósforo en los sistemas límnicos van desde la deposición atmosférica de nitrógeno activo, hasta la retención de fósforo por la agricultura, causas que se relacionan a los fenómenos de cambio climático y urbanización (Bothwell *et al*., 2014). Debido a que los ecosistemas acuáticos en Chile son vulnerables a estos fenómenos, determinar la relación entre la concentración de fósforo en sitios invadidos podría ayudar en el desarrollo de programas de manejo de *D. geminata* y programas de monitoreo de variables químicas, con énfasis en el análisis de fósforo, pudiendo así desarrollar mapas de

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

vulnerabilidad de acuerdo a la disminución de esta variable. Por el contrario, muchos estudios en la literatura mundial indican que las condiciones químicas tendrían relación con estos blooms algales, discutiendo el rol del calcio (Rost *et al*., 2011), hierro (Bothwell *et al*., 2012; James *et al*., 2014) y especialmente fósforo, cuya disminución provocaría una respuesta en la producción de *D. geminata* (Taylor & Bothwell, 2014; Bothwell *et al*., 2014).

Muchos de los sitios invadidos por *D. geminata* no habían sido prospectados previamente y en la actualidad son positivos para *D. geminata*. Sin el conocimiento de las condiciones de estos puntos previo a la invasión no es posible establecer con seguridad que *D. geminata* produzca un cambio en las condiciones fisicoquímicas de los sistemas acuáticos.

A nivel hidrológico y geográfico, ninguno de los sitios sometidos a un régimen netamente pluvial se encuentra con presencia de *D. geminata*, y el 85% de los sitios positivos cuenta con regulación directa de un lago aguas arriba. Estos resultados señalan que, los sitios con mayor regularidad en su régimen hidrológico, cuentan con mayores probabilidades de ser colonizados por *D. geminata*, resultado no explorado de manera cuantitativa anteriormente en el país (FIP, 2013).

Entre las variables hidráulicas se destaca la velocidad de fondo, registrando valores menores en sitios en presencia de *D. geminata*, siendo esta una asociación significativa. De esta manera, se cuenta con una característica física que podría asociarse a la colonización de la plaga.

En el último proyecto analizado, se valorizó la importancia de factores geográficos, dejando en segundo lugar a variables físicas y químicas, sugiriendo que la ubicación del tramo y la regulación hidrológica se relacionan altamente con la presencia de *D. geminata*. Estos resultados validan la idea de que son las variables hidrográficas, geográficas y físicas las que determinarían el establecimiento de *D. geminata*, por sobre condiciones físicas y químicas de los ríos, las que podrían estar determinando su dinámica poblacional (SERNAPESCA/Amakaik-EcoHyd, 2014).

En los ríos prospectados en estos seis años en donde se han integrado los resultados de todos los proyectos no se han encontrado patrones de distribución biológicos, físicos y/o químicos para explicar en parte la distribución de *D. geminata*.

Cabe señalar que el presente proyecto cuenta con una bases de datos histórica que puede ser de gran utilidad en futuros estudios Didymo.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

10.3 Análisis de factores que inciden en la dispersión, colonización y proliferación de *D. geminata*

10.3.1 Recopilación de información sobre *D. geminata*

Con respecto a la revisión sistemática la mayoría de las publicaciones se relacionan al ciclo de vida de la especie, específicamente con la disperción, seguida del crecimiento, y por último, la colonización. También se encontró una gran cantidad de trabajos relativos al impacto de la plaga en el ecosistema.

En relación a la normativa internacional la estrategia para el control de la especie, entregada por Biosecurity en Nueva Zelanda el 2005, establece que una vez que *D. geminata* se encuentra establecida en un recurso es muy difícil su eliminación. Por ello, el programa de control debe contar con un rango de opciones que van desde reducir la dispersión, minimizar los impactos y proteger áreas de alto valor ambiental.

En el presente trabajo, se realizó una evaluación del programa de monitoreo realizado en Chile, en el cual, se tomó la decisión de continuar con el actual modelo de monitoreo, vigilancia y prospección de Didymo.

10.3.2 Factores bióticos y abióticos que inciden en la colonización, proliferación y dispersión de *D. geminata*

En relación a los factores ambientales evaluados, se obtuvo para el perifiton como para las diatomeas en sectores con presencia de *D. geminata*, correlaciones positivas de la riqueza, la diversidad y la equitatividad con variables como oxígeno disuelto, saturación de oxígeno, la turbidez, hierro, nitrógeno total y nitrógeno orgánico. Además asociado positivamente con la velocidad de la corriente, la profundidad y sustratos más bien finos de preferencia limo-arcilla y gravas.

En cambio, estos parámetros comunitarios de riqueza, diversidad y equitatividad de ambos grupos perifiton y diatomeas bentónicas se correlacionaron negativamente con la conductividad eléctrica, temperatura y pH. Además de observarse correlaciones negativas con el Sílice y el Calcio, nitratos y nitritos y los compuestos fosforados (PT, PD).

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

Por último, se observaron relaciones inversas con el sustrato tipo arena, cantos y piedras para ambos grupos. En tanto, para las diatomeas bentónicas la densidad de drenaje presentó una correlación inversa con los parámetros de riqueza, diversidad y equitatividad.

Cabe destacar que, en sectores con ausencia de *D. geminata* los patrones de correlaciones fueron similares entre variables ambientales y parámetros comunitarios de ambos grupos, perifiton y diatomeas bentónicas.

Las variables ambientales relacionadas con las comunidades perifíticas y las diatomeas bentónicas, en la condición de sectores con bloom y sin bloom, mostró que en los sectores con bloom para los parámetros comunitarios riqueza, diversidad y equitatividad se obtuvo correlaciones positivas con la conductividad eléctrica, la temperatura, el oxígeno disuelto, la turbidez y la saturación de oxígeno. En tanto, se obtuvo correlaciones negativas para el pH.

En sectores con bloom, las comunidades perifíticas presentaron solo correlaciones negativas con los compuestos nitrogenados y fosforados. Además de los micronutrientes hierro, sílice y calcio. En cambio, para las diatomeas bentónicas se obtuvieron relaciones positivas con NO, NT, PT y PD y correlaciones negativas asociadas a los micronutrientes hierro, sílice y calcio.

Por otra parte, se observaron para las comunidades perifíticas correlaciones positivas con sustratos tipo piedras (guijarros), cantos, con la velocidad de la corriente y la profundidad. En tanto, para las diatomeas bentónicas solo se correlacionaron positivamente con sustrato tipo canto y la densidad de drenaje. En cambio, las correlaciones negativas se dieron para sustrato tipo grava, limo-arcilla y arena y densidad de drenaje para el perifiton y sustrato tipo grava, limo-arcilla, velocidad de la corriente y profundidad para las diatomeas bentónicas.

En los sectores sin bloom, se observaron correlaciones positivas para el perifiton y las diatomeas bentónicas con las variables oxígeno disuelto, saturación de oxígeno y turbidez. En tanto, correlacionó negativamente con las variables temperatura, conductividad eléctrica y el pH.

En el caso de los nutrientes en este estudio, se observó que los compuestos nitrogenados y el hierro se correlacionaron positivamente con los parámetros riqueza, diversidad y equitatividad de las comunidades bentónicas y las diatomeas bentónicas. En cambio, se correlacionaron negativamente con los micronutrientes Sílice y Calcio.

Por último, se observaron correlaciones positivas para los sustratos tipo grava para ambas comunidades perifiticas y diatomeas bentónicas. La velocidad de la corriente correlacionó positivamente para perifiton y negativamente para las diatomeas bentónicas. Por el contrario para

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

la profundidad para ambos grupos. La densidad de drenaje y los restantes tipos de sustratos (cantos y guijarros) fueron correlacionados negativamente para ambos grupos.

Dentro de los principales factores reguladores de las comunidades microalgales incluida el *D. geminata* se encuentran la velocidad de la corriente, el tipo de sustrato, la temperatura y la luz. El hábitat físico, la calidad del agua y la disponibilidad de nutrientes tienen la potencial influencia en la determinación de condiciones de bloom y no bloom de *D. geminata* en los ríos (James et al., 2014). Se ha documentado que la preferencia de hábitat de *D. geminata* en ríos y arroyos con bajas concentraciones de nutrientes, alta disponibilidad de luz y sustratos estables (Kilroy et al. 2005; Spaulding & Elwell 2007; Rost et al. 2011).

Los valores de pH del estudio con valores promedio de 7.46, con un máximo de 9.38 y un mínimo de 6.23 (valores en promedio alcalinos), presentó correlaciones inversas con los parámetros comunitarios riqueza, diversidad y equitatividad de las comunidades perifíticas y las diatomeas bentónicas.

En otros estudios realizados en las regiones del Biobío hasta Aysén, se observó que los sitios con presencia de *D. geminata* mostraron valores significativamente mayores de pH que los sitios sin *D. geminata*. Sin embargo, no fue posible distinguir si esta asociación se debe a un cambio natural a nivel estacional o a la presencia de *D. geminata* (FIP/Amakaik, 2014).

La temperatura con valores promedio de 12.90 °C, con valores máximos de 19.76 °C y mínimos de 5.5 °C, en sectores con bloom de *D. geminata*, presentó correlaciones positivas con los parámetros comunitarios de las comunidades perifíticas y las diatomeas bentónicas, no así en sectores con presencia y ausencia de *D. geminata*. Este tipo de relaciones ya se habían reportado anteriormente, donde las temperaturas promedio de sobrevivencia y prevalescencia de *D. geminata* están dentro de los órdenes de magnitud reportados para éste estudio ver Kilroy & Bothwell, 2011.

La turbidez, en este estudio con valores bajos del orden de 7.5 NTU, con valores máximos de 267 NTU y el mínimo de 0.4 NTU, obtuvo en relaciones favorables para el desarrollo de las comunidades perifíticas y las diatomeas bentónicas en presencia de *D. geminata* y en condiciones de bloom y sin bloom. Estos órdenes de magnitud de la turbidez no estarían interviniendo en el establecimiento de las comunidades microalgales en los ríos estudiados. Cabe destacar que, la turbidez del agua superficial, en altos valores, podría interferir en la disponibilidad de luz tanto

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

para las microalgas como para *D. geminata* (Kirkwood *et al*., 2007; Kilroy & Unwin, 2011). Además de limitar el crecimiento, la densidad, y la distribución tanto de las comunidades microalgales como de *D. geminata.* La condición de bajas concentraciones de turbidez, ya han sido reportadas en otros ríos con presencia de *D. geminata* ver Whitton et al., 2009.

En relación al *oxígeno disuelto*, que presentó correlaciones positivas en todas las condiciones de presencia y ausencia de *D. geminata*, con las comunidades perifíticas y las diatomeas bentónicas. En relación a esto, los valores reportados en este estudio se encuentran en una condición "buena", considerada adecuada para la vida de la gran mayoría de especies de peces y otros organismos acuáticos (USGS, 2016).

Respecto de los *nutrientes*, en este estudio la riqueza, la diversidad y la equitatividad estuvo favorecida por las concentraciones de compuestos nitrogenados (NT y NO) y hierro, tanto para las comunidades perifiticas como para las diatomeas bemtónicas en sectores con presencia de *D. geminata*. Sin embargo, estuvieron limitados por compuestos fosforados (PT y PD), nitritos y nitratos, además de los micronutrientes Sílice y Calcio. En sectores con bloom de *D. geminata*, las comunidades perifíticas estuvieron limitadas por la mayoría de los nutrientes, en tanto, para las diatomeas bentónicas solo por los micronutrientes hierro, sílice y calcio. Cabe destacar que, se observó que los sectores con presencia de *D. geminata* tienen valores muy bajos de fosforo disuelto con valores del orden de 0.09 mg/L.

Se ha descrito una relación inversa entre la concentración de fósforo reactivo disuelto y el biovolúmen de *D. geminata* indicando que la causa proximal de los bloom de *D. geminata* sería un bajo nivel de fósforo (Kilroy & Bothwell, 2012).

Se ha documentado que dentro de las principales causas de la disminución de fósforo en los sistemas límnicos van desde la deposición atmosférica de nitrógeno activo, hasta la retención de fósforo por la agricultura, causas que se relacionan a los fenómenos de cambio climático y urbanización (Bothwell *et al*., 2014).

Por otro lado, el crecimiento del perifiton en sistemas lóticos es comúnmente estimulado por el enriquecimiento de nitrógeno, fósforo o ambos nutrientes (Dodds *et al*., 2002). Sin embargo, desde mediados de 1980, la diatomea *D. geminata*, se ha expandido rápidamente en ambientes oligotróficos en los ríos del mundo (Bothwell *et al*., 2009; Blanco & Ector, 2009; Kilroy *et al*., 2009; Kirkwood *et al*., 2007; Kawecka & Sanecki, 2003).

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

En relación a Sílice y el Calcio en este estudio, en sectores con bloom, se observaron correlaciones inversas entre los parámetros comunitarios de perifiton y las diatomeas bentónicas produciéndose un aumento de la riqueza, la diversidad y la equitatividad cuando disminuyen las concentraciones de estos micronutrientes.

El hierro, presentó valores de concentraciones del orden de los 0.17 mg/L en promedio en sectores con presencia de *D. geminata*. Según los valores reportados en otros estudios son similares a valores de concentración de ríos no afectados por la plaga (Bothwell *et al*., 2012).

Por el contrario, varios estudios indican que las condiciones químicas tendrían relación con blooms algales de *D. geminata*, discutiendo el rol del calcio (Rost *et al*., 2011), hierro (Bothwell *et al*., 2012; James *et al*., 2014) y especialmente fósforo, cuya disminución provocaría una respuesta en la producción de *D. geminata* (Taylor & Bothwell, 2014; Bothwell *et al*., 2014).

En relación a la composición del sustrato, la densidad de drenaje, la velocidad de la corriente y la profundidad, son todas variables relacionadas con el establecimiento y colonización de *D. geminata*, como de las comunidades microalgales. Por otra parte, la composición del sustrato es determinante en la forma del cauce, su hidráulica y el hábitat de muchas microalgas así como de *D. geminata* (Bergey *et al*., 2010).

En relación a la composición del sustrato, en este estudio no se obtuvieron relaciones claras respecto del sustrato ya que se observaron correlaciones positivas y negativas de modo indistinto con toda clase de sustrato, a saber, limos-arcillas, gravas, piedras (guijarros), cantos. Bergey *et al*., 2010 documentó que *D. geminata* coloniza con mayor eficiencia sustratos rugosos y con textura, siendo más lenta la colonización en sustratos más lisos. Por otro lado, el tamaño de las rocas que se encuentran dentro del rango entre gravas y cantos no tiene efectos en la colonización de *D. geminata*. En fin, no se han reportado relaciones claras entre el tamaño de roca y la colonización de *D. geminata*.

La densidad de drenaje, fue reportada en la mayoría de las condiciones de este estudio, a saber presencia y ausencia de *D. geminata*, y en sectores con presencia de *D. geminata* pero no asociada a bloom en correlaciones negativas al aumento de la riqueza, la diversidad y la equitatividad de las comunidades perifíticas y de las diatomeas bentónicas.

Al respecto la densidad de drenaje (Horton, 1945), es una propiedad fundamental de una cuenca, que controla la eficiencia del drenaje y señala el estado erosivo (Senciales, 1999). Al estar una cuenca propensa a crecidas, el lecho del río estará sometidos a mayores efectos de corte

(Gibbins, 2007). En base a esto Cullis *et al*., 2012, determinó que el esfuerzo de corte tenía una influencia sobre la masa algal de *D. geminata*, alcanzando una remoción de 25% del total de la biomasa, considerando condiciones similares a la de cauces naturales. Cabe destacar que, efectos similares del esfuerzo de corte influye en la comunidad microalgal en su totalidad.

Estos resultados señalan que, los sitios con mayor regularidad en su régimen hidrológico, cuentan con mayores probabilidades de ser colonizados por *D. geminata*, resultado no explorado de manera cuantitativa anteriormente en el país (FIP/Amakaik, 2014).

Cabe destacar que, a pesar de la dinámica del régimen de caudal y las alta tasa de corte en los hábitat de preferencia de *D. geminata*, este es capaz de producir gruesas coberturas mucosas bentónicas en cortos periodos de tiempo (Spaulding & Elwell, 2007).

Entre las variables hidráulicas se destaca la velocidad de la corriente, en este estudio se observaron valores menores en sitios en presencia de *D. geminata*, siendo esta una asociación significativa. De esta manera, se cuenta con una característica física que podría asociarse a la colonización de la plaga. Flujos estables y sustratos estables promueven el establecimiento de *D. geminata* en los ríos estudiados.

En relación a la altura geográfica los valores promedio estuvieron en el orden de los 232 msnm, no presentando diferencias significativas entre los ríos evaluados. Por esta razón, este factor no fue correlacionado con las comunidades microalgales del estudio.

En relación a la dispersión, la mayoría de los sitios colonizados por *D. geminata* corresponde a sitios de difícil acceso para especies de microalgas bentónicas, lo que sugiere el origen antrópico (no por deriva) o producida por vectores biológicos capaces de migrar grandes distancias (algún tercero con capacidad de migrar transporta la plaga). En todos los estudios se consideró el ser humano como uno de los principales vectores al ser un agente transportador de células viables, atribuyendo su dispersión a actividades turísticas tales como la pesca recreativa, entre otros.

10.3.3 Potenciales vectores de dispersión de la plaga

De acuerdo a los resultados expuestos, sólo fue posible observar células de *D. geminata* en una cantidad mínima de peces capturados, y todas ellas muertas. Esto sugiere que los peces no estarían siendo un vector de dispersión de *D. geminata*. No obstante, se hace necesario repetir los estudios y aumentar el número de estaciones de muestreo en las áreas con presencia de *D.*

geminata, con la finalidad de obtener resultados con mayor precisión de modo de comprobar esta hipótesis.

Por otra parte, en las aves no se evaluó su potencial como vector de dispersión, dado que esto requiere la formulación de un estudio completo con captura de aves y muestreo de microalgas en los distintos ejemplares. Sin embargo, en la literatura se ha reportado el transporte de células de *D. geminata* por medio de aves, a través de sus plumas o patas, pero también se ha planteado la posibilidad de que esta microalga forme parte de su dieta, pudiendo pasar las células directamente desde los intestinos de las aves a la columna de agua. Un ejemplo de lo anterior es un experimento realizado en gansos en donde se observaron células viables de la diatomea *Asterionella formosa* (Spaulding, 2000; Kilroy, 2004). El objetivo de incorporar a este posible vector fue responder la pregunta de si este grupo se veía afectado por la presencia de Didymo. Así, mediante el censo de aves fue posible registrar la presencia de aves acuáticas y terrestres. El primer grupo requiere total o parcialmente de ambientes húmedos (asociados a cuerpos o cursos de agua) en sus ciclos de vida (Rottman, 1995; González-Acuña *et al*., 2004); en tanto que el segundo corresponde a aves que tienen un ciclo de vida terrestre, pero que utilizan ambientes húmedos o adyacentes a estos de manera alternativa (Ibarra *et al*., 2009). Del total de especies de avifauna observadas, 19 de ellas comparten hábitat con *D.geminata*. De estas, 11 son de hábitat parcial o completamente acuático, y tienen conducta migratoria, por lo que podrían tener mayor influencia en la dispersión de la plaga. Similarmente, fue posible detectar que más de la mitad de las especies fueron observadas en sitios con y sin *D. geminata*, lo que sugiere un mayor riesgo de contagio a partir de vectores naturales de la plaga. El grupo de aves destacable es el que se fue registrado sólo en ausencia de Didymo, especies en las que se requiere profundizar en su estudio para confirmar dicho patrón.

Se observó mayor abundancia y riqueza de avifauna en sitios con *D. geminata*. Esta diferencia podría estar relacionada con los horarios en que se realizaron los censos, ya que existen periodos durante el día en los cuales las aves se encuentran más activas y, por tanto, más visibles (amanecer y atardecer, véase Bibby *et al*., 2000). Esta variación en el horario de realización del censo no se pudo evitar por motivos logísticos.

Sin embargo, la probabilidad de registrar aves en el área de estudio no se vio mayormente afectada ya que la campaña de terreno se realizó en época estival, en la cual muchas especies se encuentran en época reproductiva o de crianza, por lo que están más activas que en otras épocas del año.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

De este modo, fue posible avistar aves en todos los puntos, ya sea forrajeando o descansando en el cauce y/o la ribera.

Por otra parte debido a la ausencia de estudios en Chile relacionados a registro de avifauna, por medio de telemetría en zonas riparianas, es que no se pudo integrar la movilidad de las especies con los datos de censo correspondientes a esta campaña de terreno.

No obstante, estudios previos realizados en otros países (Figuerola & Green, 2002), en los cuales se ha comprobado que las aves pueden dispersar otros organismos acuáticos como algas, diatomeas e invertebrados, se ha mencionado que la familia Anatidae puede alcanzar velocidades entre 40 y 80 Km/h. Esto permitiría inferir que las especies de Anatidae observadas, podrían ser vectores de la plaga *D. geminata* entre diferentes cuencas, siempre y cuando se conozca el tiempo de viabilidad de las células de *D. geminata* en el plumaje y/o en las fecas de las aves.

Por lo tanto, si bien se observó mayor abundancia y riqueza de avifauna en sitios con *D. geminata*, y además muchas de las especies observadas tienen conducta migratoria, es necesario complementar estos resultados con nuevos estudios, de modo de determinar de manera más concluyente el rol de la avifauna como agente dispersor de la plaga (por ejemplo, detección de células de *D. geminata* en plumas y patas, en las especies observadas en el área de estudio).

El monitoreo realizado en mamíferos tampoco fue formulado de modo que se pudiera corroborar si estos son dispersores de *D. geminata*, con este objetivo Leone *et al*., (2014) realizó un estudio en el que hallo células viebles *de D. geminata* en el pelaje del vison, por tal razón, se deberían realizar estudios similaes al de este autor a fin de establecer a los mamíferos como potenciales vectores de dispersión de la plaga Didymo. Sin embargo esto requiere un estudio exclusivo para este grupo biológico en el que se ocnsidere la captura de los ejemplares y muestreo de microalgas en ellos. El presente estudio tuvo más bien el objetivo de determinar si la presencia de Didymo afectaba la ocurrencia de las distintas especies, lo que fue descartado dado que ambas especies fueron registradas de manera inferente en puntos con y sin Didymo. Por otro lado, respecto de la dispersión como vector, pese a que se observaron vestigios de huillín en una estación positiva para Didymo se estima poco probable que actúe como vector de la plaga Didymo, debido a su estado de conservación.

Diversos autores, entre ellos Kilroy, (2004), señalan al vector antrópico como principal vector de la plaga, a través de actividades turísticas realizadas por él en sistemas acuáticos continentales. Esto tendría relación con que estas actividades producen remoción en el bentos, en el cual se sitúan habitualmente las células de *D. geminata* (Kociolek & Spalding, 2000). Por lo tanto, el uso

y transporte de equipos de pesca y botas, entre otros, serían el principal medio para la introducción y propagación de *D. geminata*, ya que las células son capaces mantener su viabilidad en condiciones desfavorables de humedad, temperatura y oscuridad, por al menos 40 días (Kilroy, 2005; Kilroy *et al*., 2006).

En este estudio, el registro de alteraciones antrópicas de ribera y de las actividades del entorno evidenciando que el área de estudio presenta una fuerte incidencia de actividades humanas. Esta evidencia de actividad antrópica fue visualizada tanto en sitos con presencia de *D. geminata*, como en sitios con ausencia de la plaga. Sin embargo, pese a que no se determinaron diferencias significativas entre ambos tipos de estaciones, se registran mayoeres actividades del entorno y alteraciones de ribera por causas antrópicas en puntos con Didymo. Por esta razón, no descarta al hombre como principal vector de dispersión, ya que son varios los factores que deben ser estudiados para dilucidar la participación del hombre en la dispersión de la plaga. A modo de ejemplo, sería necesario complementar estos resultados con ensayos destinados a estudiar la capacidad de adhesión y mantención de la viabilidad celular de *D. geminata* en distintos implementos de pesca y otras actividades recreativas, tal como se ha realizado en otros países (Kilroy 2005; Kilroy *et al*., 2006).

10.4 Diversidad genética poblacional de *D. geminata* e Interacción con la comunidad de bacterias asociadas

10.4.1 Diversidad Genética

En los resultados reportados en este estudio se logró identificar a nivel molecular la presencia de *D. geminata* en 16 de las 20 localidades analizadas, en las 4 localidades restantes correspondientes a Bellavista_020, BioBio_050, Esperanza_B y Pico_020 se obtuvo un 96% de similitud con las especies de diatomeas de agua dulce *Achnanthidium minutissimum* strain B448 (n.a: KR709271.1), *Melosira varians* (n.a: KM999080.1), *Craticula buderi* strain D06 069 (n.a: KM084947.1) y *Sellaphora* cf. *laevissima* KEL-2015 (n.a KM999088.1), respectivamente, el término “n.a” corresponde al número de acceso en Genbank (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/).

El análisis Boostrap ML permitió identificar con un 88% de repeticiones un clado monofilético (Clado A) de *D. geminata* (número de acceso GenBank KJ011819.1, KR066785.1), el cual abarca 13 localidades: Llanquihue_030, Florin_020, Lonquimay_010, Puelo_020, Puelo_13,

Palena_050, Norte_010, Cochrane_010, Pollux, Arroyo_CEA, Curriñe_010, Fuy_030 y Coyhaique_010, este clado se encuentra contenido dentro un clado monofilético (Clado B) que incluye a la localidad de Espolon_010, con boostrap de 86%. Por otro lado, la especie *D. geminata* identificada en HuaHum_020 no fue agrupada dentro el clado anterior, pero sí se agrupa en el Clado C, que incluye todas las secuencias analizadas. De esto es posible concluir que *D. geminata* de HuaHum_020 proviene de la población ancestral que pudo dar origen al Clado B, mientras que *D. geminata* proveniente de Espolon_010 provendría de la misma población ancestral que pudo dar origen al Clado A.

Las secuencias no identificadas, representadas con el nombre de la especie con el mayor porcentaje de identidad en la base de datos, también fueron agrupadas en el Clado C. Sin embargo, el porcentaje de boostrap de 16% en el nodo que relaciona a *D. geminata* strain CH058 ID:Huahum 020 con las 4 especies restantes, indica que la rama puede estar agrupada de esta forma por azar. Por otro lado, la rama que relaciona las especies *Craticula buderi* strain D06 069 y *Sellaphora* cf. *laevissima* KEL-2015 se repite en el 73% de las veces. Estas especies podrían estar estrechamente relacionadas. Es importante considerar que bootstrap sobre 95 se considera como una rama correcta (Holmes, 2003).

10.4.2 Relaciones filogenéticas

Respecto a la variabilidad genética de las muestras de *D. geminata* reportadas en el presente informe, destacamos tres puntos que ameritan discusión. El primero corresponde a los resultados obtenidos, y su relevancia tanto en términos poblacionales como filogenéticos o de estimación de relaciones entre linajes de diatomeas. El segundo punto corresponde a la variabilidad genética observada, y el grado de resolución a nivel poblacional y filogenético que se evidencia en los árboles filogenéticos generados. Por último, el tercer punto dice relación con las implicancias de los haplotipos inferidos a partir de las secuencias estudiadas, particularmente para la invasión y fuentes potenciales de esta especie en Chile.

Respecto al primer punto, cabe destacar que el proceso de extracción y purificación de ADN para este grupo de organismos es un proceso complejo y que actualmente se encuentra siendo objeto de investigación activa a nivel mundial. En ese respecto, nuestros resultados corroboran la validez y confiabilidad del gen rbcL como marcador molecular adecuado para extraer información genética útil para el análisis de esta especie. De igual manera, cabe señalar que los resultados obtenidos aportan un aumento significativo en la cantidad de evidencia disponible para este gen

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

en el género *D. geminata* a nivel mundial, aumentando a más del doble el número de secuencias de este gen reportadas. Ambos elementos otorgan un grado importante de validez y confiabilidad en el protocolo molecular realizado. En este contexto la variación que introducen nuestros resultados sobre la estimación de la filogenia total para las diatomeas estudiadas es un punto de particular interés para el estudio de las diatomeas como grupo en general, pero excede los alcances del presente proyecto. Sin embargo, no debe perderse de vista que este aspecto tiene aristas aplicadas no menores, pues la gran extensión de la especie *D. geminata* y su alto potencial invasivo requieren una aproximación integral que considere en particular marcadores moleculares que permitan dilucidar las relaciones de parentesco, especialmente si se desea identificar potenciales fuentes de los distintos linajes invasores, tanto en Chile como en otros países. Por otra parte, la validez y confiabilidad de los marcadores moleculares como rbcL permitirá ampliar el espectro de herramientas disponibles para la taxonomía de esta plaga, ayudando a apoyar las identificaciones existentes en base a la taxonomía a partir de rasgos morfológicos.

Un segundo resultado importante es la clara diferencia entre las muestras colectadas en Chile, con respecto a las secuencias disponibles de otras especies. En ese sentido, los resultados sugieren fuertemente que las muestras de *D. geminata* reportadas por Nakov *et al*., (2014) no corresponderían a la población fuente de la actual invasión de esta especie en Chile. Ello hace relevante y necesario el desarrollo de esfuerzos adicionales de muestro y secuenciación, tanto en nuestro país como en potenciales fuentes de *D. geminata*, tanto en Sudamérica como en otros continentes. Además de resolver con bastante éxito las diferencias genéticas de las cepas de *D. geminata* presentes en Chile, los tres métodos coinciden en indicar que un gran numero de las poblaciones secuenciadas en nuestro país corresponden a secuencias muy poco variables entre sí, pero poco menos de la mitad de las muestras restantes pueden resolverse, presentando diferencias de acuerdo a los métodos de aglomeración empleados. Ello indica que existe un importante grado de diversificación poblacional en esta especie de diatomea.

Finalmente, discutimos las implicancias de esta variabilidad genética para la interpretación y manejo del proceso de invasión de esta plaga. La presencia de un alto número de haplotipos, muchos de ellos muy distintos, sugiere que un número mayor a 1 o 2 invasiones podría ser factible. Sin embargo, se requiere de estudios con mayor evidencia molecular, ampliando tanto el espectro de marcadores genéticos, como las poblaciones a incluir, abarcando ojalá, potenciales poblaciones fuente. En cualquier caso, los resultados indican que la estructura genetica de esta especie está dominada por un haplotipo, I, que se encuentra en la mayoría de las cuencas estudiadas. A su vez, la gran cantidad de mutaciones existentes para la mayoría de los haplotipos

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

restantes sugiere una alta cantidad de linajes han invadido nuestro país. En particular, al menos 4 o 5 de estos linajes se encuentran en cuencas sin presencia de otros haplotipos. Ello podría dar evidencia de múltiples eventos de invasión. Adicionalmente, al examinar la ubicación espacial de los distintos haplotipos, se apoya fuertemente la existencia de mecanismos de transporte de corta y gran escala, dada la extensión geográfica de los dos haplotipos más frecuentes, y la gran dispersión geográfica de los haplotipos más raros. Nuevamente, el dilucidar las posibles hipótesis requiere el análisis de mayor número de muestras en el territorio nacional, en conjunto con muestras de otros países que puedan ser potenciales fuentes para la invasión en Chile de *D. geminata*.

10.4.3 Diversidad Bacteriana

Caracterización de las comunidades bacterianas asociadas a *D. geminata*

Los datos obtenidos permiten realizar una caracterización general de las comunidades bacterianas presentes en la estructura biológica formada por la diatomea *D. geminata*. Sin embargo, no es posible concluir que la presencia de esta microbiota posee un rol funcional relacionado a la presencia de *D. geminata* en las estaciones de muestreo.

De todos modos, es posible concluir que las comunidades bacterianas presentan mayor abundancia relativa sobre las archeas. Hay cuatro *phyla* dominantes, sin embargo, para poder especular respecto a su relación con la infección de *D. geminata*, sería necesario evaluar las comunidades bactarianas en el perifiton de los ríos con *D. geminata* en las estaciones de muestreo donde no hay presencia de estructura extracelular de *D. geminata* y/o río sin presencia de esta diatomea.

De acuerdo a la relación conocida entre bacterias y diatomeas, las bacterias influencian positivamente a las diatomeas en términos de crecimiento, agregación y producción de sustancias poliméricas extracelulares (Buhmann, 2015). Se ha reportado en ecosistemas marinos la presencia del *phylum* α-Proteobacteria, con cuatro géneros principales: *Ruegeria*, *Sulfitobacter*, *Roseobacter* y *Erithrobacter*, junto al phylum Bacteroidetes, ambos asociados consistentemente a la presencia y abundancia de especies de diatomeas (Amin & cols, 2012; Schafer & cols, 2002). Sin embargo, existe escasa literatura que relacione la presencia de diatomeas y bacterias en sistemas fluviales.

Los resultados obtenidos en este estudio pueden ser un aporte para entender la composición de las comunidades bacterianas cuando hay abundancia de diatomeas. Sin embargo, con los datos

obtenidos en este estudio no es aún posible concluir de manera certera, si hay una relación entre ambas o si *D. geminata* sólo actúa como un reservorio de diversidad.

Estacionalidad

Fujimoto & cols, (2016) describen la abundancia estacional bacteriana en sistemas acuáticos de agua dulce y es posible encontrar similitudes con los datos obtenidos en este análisis, por ejemplo, se reportan como grupos más abundantes en primavera y verano las Clases Betaproteobacteria, Alphaproteobacteria, Verrucomicrobiae y Sphingobacteria. De acuerdo a este estudio, la dinámica de las comunidades bacterianas se modifica de manera estacional, al igual que la dinámica conocida para *D. geminata*. Se describe un aumento en la abundancia de Verrucomicrobia en primavera. Algunos OTU de Betaproteobacteria presentan alta incidencia en primavera, disminuyendo drásticamente en verano, mientras que otros OTU de Betaproteobacteria aumentan en verano. La abundancia de Alphaproteobacteria tiende a aumentar en verano, sin embargo, se encuentran presentes durante primavera, verano y otoño, a diferencia de Sphingobacteria, que tienen a aumentar su abundancia en verano, disminuyendo drásticamente en invierno.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

11. CONCLUSIONES

Avance de la plaga

En la región de Aysén los ríos infectados fueron: río Bravo, Cisnes, Estero Pedregoso, Aysén, Nirehuao, Norte, Cea, La Paloma, Coyhaique, Pollux, Simpson; rio Baker, Cochrane; ríos Pico, Figueroa, Estero El Bravo y el río Chacabuco.

En la región de Los Lagos los ríos infectados fueron: rio Palena; rio Puelo; quebrada sin nombre (según DGA) que corresponde a la estación Futaleufu_010, los ríos Espolón y Futaleufu.

En la región de Los Ríos los sitios con *D. geminata* fueron los ríos Caunahue, Pillanleufu, Enco, San Pedro, Fuy, Huahum y Llanquihue.

La Araucanía presento un aumento de sitios con *D. geminata* para los ríos: Biobío, Liucura, Lonquimay y Cautín.

En Biobío, sólo se registró positivo para Didymo la estación Biobío_110 perteneciente al Río Biobío.

Perifiton, comunidades bentónicas y mesohabitat

Se observó diferencias en las composiciones y abundancias del perifiton y en las diatomeas bentónicas entre sectores con presencia y ausencia de Didymo, lo que podría indicar que la presencia de ésta favorece un aumento en la riqueza y la diversidad de estos grupos.

En relación a los distintos de mesohábitats analizados, no se observaron diferencias en las comunidades perifiticas y las diatomeas bentónicas, solo se evidenció que las formas pedunculadas, forma de crecimiento a la que pertenece *D. geminata*, prevalecieron estando altamente representadas.

Factores que inciden en la colonización, proliferación y dispersión de *D. geminata*

Entre las variables relacionadas con la colonización y proliferación de *D. geminata* se pudo establecer que los valores de la velocidad de la corriente, la estabilidad del sustrato, la turbidez y

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

la densidad de drenaje fueron favorables para el establecimiento de las comunidades microalgales en los ríos estudiados con presencia de *D. geminata*.

Se logró establecer que los valores de temperaturas y pH en este estudio, estarían dentro de los rangos óptimos para el establecimiento y proliferación de *D. geminata* en ríos con presencia de ésta y en sectores relacionados con desarrollo de bloom de *D. geminata*.

Como en la mayoría de los estudios reportados a la fecha, se observaron bajas concentraciones de compuestos fosforados, especialmente de fósforo disuelto, en los ríos estudiados los que podrían estar influyendo en la presencia y en los bloom de *D. geminata*.

Parametros físicos y químicos de los sistemas hídricos

En relación a las variables fisicoquímicas *in situ* (Temperatura, Oxígeno Disuelto, Porcentaje de Saturación pH, Conductividad, y Turbidez), determinadas en los diversos cuerpos de agua prospectados durante el desarrollo de las actividades de campo, fueron bastante homogéneos entre sí. Sin embargo no se observaron tendencias y/o correlaciones estadísticas significativas respecto a la presencia o ausencia Didymo.

Situación similar ocurre con los análisis estándares propuestos por estudios previos y sugeridos en el Manual Didymo SUBPESCA, (2016). (Nitrato, Fosfato, Fósforo total, Sílice, Calcio y Hierro); donde no se logró evidenciar correlaciones entre estos parámetros de laboratorio y su incidencia con la presencia y ausencia de la microalga invasora.

En relación a los parámetros químicos de laboratorio se logró evidenciar valores de fosfato inorgánico muy bajos, en la mayoría de los cuerpos de agua estudiados, lo cual coincide con zonas donde hay presencia de Dydimo, situación similar se manifiesta con los valores mínimos para nitratos y nitritos. En este contexto se confirma lo que nos señala la literatura, que esta microalga prefiere hábitats de aguas frías y oligotróficas con concentraciones mínimas de iones en la columna de agua (Bothwell *et al*., 2014; Kramer & Lange-Bertalot, 1986; Kawecka & Sanecki, 2003).

A su vez el hierro se registró en bajas concentraciones en la mayoría de los cuerpos de agua donde se encontró presencia de la microalga, al parecer es un factor importante para la presencia de *D. geminata* (Kilroy, 2004; James *et al.,* 2014).

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

Cabe mencionar que el pH de los cuerpos de agua estudiados en las regiones fueron pH neutros con una leve tendencia a la alcalinidad (7.0-8.0). Se logró evidenciar que Dydimo habitualmente se evidencia en ríos tributarios donde el rango de pH es entre 7,5 y 8,5. En este contexto es que la presencia de Dydimo estaría relacionada a ríos con aguas circumneutrales (Dufford *et al.,* 1987; Skulberg, 1982).

En lo que respecta a la proliferación en sí de la microalga, desde el punto de vista de los analisis de parámetros fisicoquímicos no se logra encontrar una correlación y es posible que, la dispersión y desarrollo de *D. geminata* podría verse facilitado por otros factores como son; las actividades antrópicas, especialmente la pesca en la zona, lo que sería un vector de dispersión que explicaría la presencia de *D. geminata*, y no por las características químicas del agua, debido a que no se muestran tendencias estadísticas definidas.

En lo que respecta a la proliferación en sí de la microalga, desde el punto de vista de los análisis de parámetros fisicoquímicos no se logra evidenciar una correlación y es posible que, la dispersión y desarrollo de Didymo podría verse facilitado por otros factores como son las actividades antrópicas, especialmente la pesca en la zona, lo que sería un vector de dispersión que explicaría la presencia de Didymo, y no por las características químicas del agua, debido a que no se muestran tendencias estadísticas definidas.

Diversidad genética del Didymo y diversidad bacteriana

Se registró una alta diversidad a nivel nacional de la especie Didymosphenia geminata. Todas las poblaciones corresponden a la misma especie, sin embargo fueron encontrados 13 haplotipos que se distribuyen de manera diferente según la cuenca evaluada, siendo los sitios con primeros registros de Didymo los con menor diversidad genética.

Se obtuvo una caracterización general de las comunidades bacterianas presentes en la estructura biológica formada por la diatomea *D. geminata*. Sin embargo, no es posible concluir que la presencia de esta microbiota posea un rol funcional relacionada a la presencia de *D. geminata* en las estaciones de muestreo.

Las comunidades bacterianas presentan mayor abundancia relativa sobre las Archeas (organismos unicelulares procariotas no bacterias), con cuatro phyla dominantes. Sin embargo, para poder discutir respecto a su relación con la infección de *D. geminata*, sería necesario evaluar

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

el perifiton de los ríos con *D. geminata* en las estaciones de muestreo donde no se evidenció la presencia de estructura extracelular de *D. geminata* y/o río sin presencia de esta diatomea.

Los resultados obtenidos en este estudio corresponden a un primer aporte para entender la composición de las comunidades bacterianas asociadas a los ensambles de diatomeas (perifiton) en ríos con presencia de *D. geminata*.

A la luz de los resultados este estudio no permite aún concluir, si hay una relación entre bacterias y diatomeas o si *D. geminata* sólo actúa como un reservorio de diversidad.

En este estudio fue posible evidenciar un recambio de la composición de especies bacterianas asociadas a la estacionalidad.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

12. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Alba-Tecedor J, Pardo I, Prat N & Pujanta A. (2005). Metodología para el establecimiento del estado ecológico según la Directiva del Marco del Agua. Protocolos de muestreo y análisis para invertebrados bentónicos. Ministerio del Ambiente. Confederación Hidráulica del Ebro. Madrid.

Amin S, Parker M & Armbrust E (2012). Interactions between diatoms and bacteria. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 76(3), 667-684.

Anderson M J & Legendre P (1999). An empirical comparison of permutation methods for tests of partial regression coefficients in a linear model. Journal of Statistical Computation and Simulation 62:271–303.

APHA (2005). Standard Methods for the examination of water and wastewaters, 21 th edition, American Public Health Association, Washington.

Araya B & Millie G (2005). Guía de Campo de las Aves de Chile, novena. Editorial Universtaria.

Armbrust EV, Berges JA, Bowler C, Green BR, Martinez D, Putnam NH, Zhou S, Allen AE, Apt KE, Bechner M, Brzezinski MA, Chaal BK, Chiovitti A, Davis AK, Demarest MS, Detter JC, Glavina T, Goodstein D, Hadi MZ, Hellsten U, Hildebrand M, Jenkins BD, Jurka J, Kapitonov VV, Kröger N, Lau WW, Lane TW, Larimer FW, Lippmeier JC, Lucas S, Medina M, Montsant A, Obornik M, Parker MS, Palenik B, Pazour GJ, Richardson PM, Rynearson TA, Saito MA, Schwartz DC, Thamatrakoln K, Valentin K, Vardi A, Wilkerson FP, Rokhsar DS. (2004). The Genome of the Diatom Thalassiosira Pseudonana: Ecology, Evolution, and Metabolism. Science;306(5693):79-86.

Asprey JF, Benson-Evans K & Furet JE (1964). A contribution to the study of South American Freshwater Phytoplankton. Gayana Bot. 10: 1–18.

Battarbee RW (1986). Diatom analysis. In: Berglund BE (ed) Handbook of Holocene palaeoecology and palaeohydrology. Wiley, Chichester, pp 527–570.

Bell W.H & Mitchell R (1972). Chemotactic and growth responses of marrne bacteria to algal extracellular products. Biol. Bull. 143: 265-277.

Bergey E. A, Cooper J & Phillips B (2010). Substrate characteristics affect colonization by the bloom-forming diatom *D. geminata*. Aquatic Ecology, 44(1), 33-40.

Bibby C, Burgess N, Hill D & Mustoe S (2000).Bird Census Techniques, Second. Academic Press, London, UK.

Biggs B.J.F (2000b) : Eutrophication of streams and rivers: dissolved nutrient - chlorophyll relationships for benthic algae. Journal of the North American Benthological Society 19: 17– 31.

Biggs B.J.F. (2000a): New Zealand Periphyton Guideline: Detecting, Monitoring and Managing the Enrichment of Streams. Ministry for Environment Publication, Wellington, 151 pp.

Blanco S & Ector L (2009). Distribution, ecology and nuisance effects of the freshwater invasive diatom *D. geminata* (Lyngbye) M. Schmidt: a literature review. Nova Hedwigia, 88(3-4), 347-422.

Bothwell M, Lynch D & Wright H (2009). Feature : Introduced Species On the Boots of Fishermen : The History of *D. geminata* blooms on Vancouver Island , British Columbia En los Zapatos de los Pescadores : La Historia de los Afloramientos del Alga *D. geminata* en la Isla de Vancouver , Columbia Británica. Fisheries 34:382–388.

Bothwell M & Kilroy C (2011). Phosphorus limitation of the freshwater benthic diatom D. geminata determined by the frequency of dividing cells: Phosphorus limitation in *D. geminata*. Freshw Biol 56:565–578.

Bothwell M.L, Kilroy C, Taylor B, Ellison E.T, James D.A, Gillis C, Bladon K.D & Silins U. (2012). Iron is not responsible for *Didymosphenia geminata* bloom formation in phosphorous-poor rivers. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 69: 1723-1727.

Bothwell M, Taylor B & Kilroy C (2014). The *D. geminata* story: the role of low dissolved phosphorus in the formation of *Didymosphenia geminata* blooms. Diatom Res 29:229–236.

Bourrelly P. (1968). Notes sur les Péridiniens d'eaudouce. Protistologica 4:5–14.

Bourrelly P. (1970). Les Algues d'eau douce: Algues bleues et rouges, Tomo III. Boubee Editores, Paris, Francia.

Bower KS, Price KL, Sturdee LE, Dayrell M, Dougherty DA, Lummis SC (2008). 5-Fluorotryptamine is a partial agonist at 5-HT3 receptors, and reveals that size and electronegativity at the 5 position of tryptamine are critical for efficient receptor function. 580 (3): 291-7.

Bruckner C.G, Bahulikar R, Rahalkar M, Schink B & Kroth P.G (2008). Bacteria associated with benthic diatoms from Lake Constance: phylogeny and influences on diatom growth and secretion of extracellular polymeric substances. Applied and Environmental Microbiology. 74(24), 7740-7749.

Buhmann (2015). Interactions between diatoms and bacteria in laboratory biofilm model communities. http://nbn-resolving.de/urn:nbn:de:bsz:352-0-269575.

Comisión Consultiva de Pesca Continental Patagónica (2014). Reglamento de Pesca Deportiva Continental Patagónico: Patagonia 2013/2014.

Comisión Técnica Regional para el Control del alga *D. geminata* (2013). Estrategia regional para el control del alga exótica invasora D. geminata (Lyngbye) Schmidt 1899.

Consejo Federal del Medio Ambiente (2013). Resolución N°254/2013. Argentina.

Cullis J, Gillis C.A, Bothwell M.L, Kilroy C, Packman A, & Hassan M. (2012). A conceptual model for the blooming behavior and persistence of the benthic mat-forming diatomD. geminata in oligotrophic streams. Journal of Geophysical Research: Biogeosciences, 117(G2).

Day D.J. (1978). «Drainage density changes during rainfall». Earth Surface Processes Nº 3, pp. 319-326.

De la Maza C, Cerda C, Cruz G, Mancilla G, Fuentes J.P & Piróska Á. (2014). Manual para aplicar indicadores de sustentabilidad en áreas protegidas. Servicio Natural de Turismo (SERNATUR), Gobierno de Chile.

De Meester L (1996). Local genetic differentiation and adaptation in freshwater zooplankton population: patterns and processes. Ecoscience 3:375-399.

Díaz C., Molina X. & Montecino V. (2012). Manual para el Monitoreo e Identificación de la microalga Bentónic D. geminata. Subsecretaría de Pesca, Gobierno de Chile.

Dodds W.K (2002). Freshwater ecology: concepts and environmental applications. Academic Press.

Domínguez E & Fernández H (2009). Macroinvertebrados bentónicos sudamericanos. Sistemática y Biología.Fundación Miguel Lillo. Tucumán, Argentina. 654 p.

Dufford R.G, H.J. Zimmerman L.D, Cline & Ward J.V. (1987). Responses of epilithic algae to regulation of Rocky Mountains treams. En: Craig JF& JB Kemper (eds) Regulates streams: advances in ecology: 383-390. Plenum Press, New York, USA.

Evans C.J, Olson J.M, Ngo K.T, Kim E, Lee N.E, Kuoy E, Patananan A.N, Sitz D, Tran P, Do M.T, Yackle K, Cespedes A, Hartenstein V, Call G.B, Banerjee U (2009). G-TRACE: rapid Gal4-based cell lineage analysis in Drosophila. Nat. Methods 6(8): 603--605. (Export to RIS).

Fernández-Gómez B, Richter M, Schüler M, Pinhassi J, Acinas S.G, González J. (2013). Ecology of marine Bacteroidtes: a comparative genomics approach. ISME J. 7 (5), 1026–1037.

Figuerola J, Green A (2002). Dispersal of aquatic organisms by waterbirds : a review of past research and priorities for future studies. Freshw Biol 47:483–494.

FIP/Amakaik (2014). Evaluación de *D. geminata* en cuerpos de agua zona Centro-Sur.

Fujimoto M, (2016). Spatiotemporal distribution of bacterioplankton functional groups along a freshwater estuary to pelagic gradient in Lake Michigan, J. Great Lakes Res., http://dx.doi.org/10.1016/j.jglr.2016.07.029.

Gibbins C, Vericat D & BatallaR. J (2007). When is stream invertebrate drift catastrophic? The role of hydraulics and sediment transport in initiating drift during flood events. Freshwater Biology, 52(12), 2369-2384.

Gillis C.& Chalifour M (2010). Changes in the macrobenthic community structure following the introduction of the invasive algae *D. geminata* in the Matapedia River (Québec, Canada). Hydrobiologia, 647(1), 63-70.

González-Acuña D, Benavente D & Figueroa R. (2004). Avifauna de la Laguna Santa Elena, Región del Biobío. Boletín Chileno de Ornitología 10:13–18.

Gregory K.J & Ovenden J.C (1979). «Drainage network volumes and precipitation in Britain». Trans. Inst. Br. Geogr., New Ser. 4, 1-11.

Gretz M. (2008). The Stalks of *D. geminata*. In: Bothwell M., Spaulding SA (eds) Proceedings of the 2007 International Workshop of D. geminata. p 21.

Hardin G. (1960). The Competitive Principle. Science, New Series, Vol. 131, No 3409 (Apr.29,1960), 1292-1297.9.

Hedlund B.P. (2011). Phylum XXIII Verrucomicrobia phyl nov. In: Krieg NR, Staley JT, Hedlund BP, Paster BJ, Ward N, Ludwig W et al. (eds), Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Vol 4. Springer Verlag: New York, NY, USA, pp 795–841.

Higgins M, Molino P, Mulvaney P & Wetherbee R (2003). The structure and nanomechanical properties of the adhesive mucilage that mediates diatom-substratum adhesion and motility. Journal of Phycology 39: 1181–1193.

Hildebrand F, Meyer A, & Eyre-Walker A (2010). Evidence of selection upon genomic GC-content in bacteria. PLoS Genet, 6(9), e1001107.

Holmes S (2003). Bootstrapping Phylogenetic Trees: Theory and Methods. Statistical Science Vol 18, N°2: 241-255.

Horton R.E (1945). «Erosional development of streams and their drainage basins; hydrophysical approach to quantitative morphology». Bulletin of the Geological Society of America, Nº 56, pp. 275-370.

Ibarra J.T, Rozzi R, Gilabert H, Anderson C.B, McGehee S.M & Bonacic C. (2009). Dinámica estacional y patrones de distribución de la avifauna asociada a humedales subantárticos en la Reserva de Biosfera Cabo de Hornos (54-55° S), Chile. Ornitología Neotropical, 20(3), 321-337.

Ibarra T, Fasola L, Macdonald D., Rozzi R, & Bonacic C (2009). Invasive american mink, Mustela vison, in wetlands of the Cape Horn Biosphere Reserve, southern Chile: what are they eating? Oryx, 43(01), 87–90.

ISSG (2010). Species profile: *D. geminata*. In: Glob. invasive species database. http://www.iucngisd.org/gisd/species.php?sc=775. Consultado 20/Junio/ 2016.

James, D.A,Mosel, K, Chipps S.R. (2014). The influence of light, stream gradient, and iron on *D. geminate* bloom development in the Black Hills, South Dakota. Hydrobiología. 721:117-127. DOI: 10.1007/s10750-013-1654.

Jaramillo Á (2005). Aves de Chile, Segunda Ed. Lynx Edicions.

Jaramillo A, Osman D, Caputo L, & Cardenas L (2015). Molecular evidence of a *D. geminata* (Bacillariophyceae) invasion in Chilean freshwater systems. Harmful Algae, 49, 117-123.

Kawecka B & Sanecki J. (2003). *D. geminata* in running waters of southern Poland–symptoms of change in water quality? Hydrobiologia 495:193–201.

Kilroy C (2004). A new alien diatom *D. geminata* (Lyngbye) Schmidt: its biology, distribution, effects and potential risks for New Zealand fresh waters. NIWA Client Report: CHC 2004-128, Christchurch.

Kilroy, C. (2005). Test to determine the effectiveness of methods for decontaminating materials that have been in contact with *D. geminata*. National Institute of Water and Atmospheric Research, New Zealand, Client Report, CHC2005-005, NIWA Project MAF05501.

Kilroy C, Snelder T & Sykes J. (2005). Likely environments in which the non-indigenous freshwater diatom, *D. geminata*, can survive in New Zealand.

Kilroy C, Biggs B, Blair N, Lambert P, Jarvie B & Smale D. (2005). Ecological studies on *D. geminata*. National Institute of Water & Atmospheric Research Ltd, Christchurch, New Zealand. Client Report: CHC2005-123.

Kilroy C & Dale M (2006). A comparison of sampling methods for the detection of the invasive alga Didymosphenia geminata in New Zealand rivers, NIWA. pp1-36.

Kilroy C (2007).Protocol for microscopic analysis of samples for the detection of *Didymosphenia geminate*. NIWA. pp1-127.

Kilroy C, Snelder TH, Floerl O, Vieglais C, Dey KL (2008). A rapid technique for assessing the suitability of areas for invasive species to New Zealand's rivers. Divers Distrib 14:262–272.

Kilroy C, Larned S, & Biggs B (2009). The non-indigenous diatom *D. geminata* alters benthic communities in New Zealand rivers. Freshwater Biology, 54(9), 1990-2002.

Kilroy & Botwell, (2011). Environmental control of stalk lengthe in the bloom-forming, freshwater benthic diatom *Didymosphenia geminata* (Bacillariophyceae). Phycological Society of America. 47. 981–989.

Kilroy & Unwin (2011). The arrival and spread of the bloom-forming, freshwater diatom, *Didymosphenia geminata*, in New Zealand. Aquatic Invasions. 6 (3). 249–262.

Kilroy C, & Bothwell M L. (2012). *D. geminata* growth rates and bloom formation in relation to ambient dissolved phosphorus concentration. Freshwater Biology, 57(4), 641-653.

Kilroy C & Bothwell M (2014). Attachment and short-term stalk development of *Didymosphenia geminata*: effects of light, temperature and nutrients. Diatom Research. 29(3). pp 237-248.

Kirkwood A.E, Troina S, Leland J, Edward McCauley E (2007). *Didymosphenia geminata* in two Alberta headwater rivers: an emerging invasive species that challenge conventional views on algal blooms development. Canadian Fishery and Aquatic Science. 64: 1703–1709.

Kociolek J.P & S.A. Spaulding (2000). Freshwater diatom biogeography Nova Hedwigia 71:223-241.

Krammer K & Lange-Bertalot H. (1986). Süsswasserflora von Mitteleuropa Bacillariophyceae (V.2). Naviculaceae (pt.1) Jena. Germany, Fisher.

Krammer K, Lange-Bertalot H, Bate N, Podzorski A, Bukowska J (1986) Bd. 2: Bacillariophyceae. Fischer Verlag, Stuttgart.

Krammer K & Lange-Bertalot H. (1991). Bacillariophyceae. 3. Teil: Centrales, Fragilariaceae, Eunotiaceae. In: Süsswasserflora von Mitteleuropa. p 576.

Krammer K (1997a). Die cymbelloiden Diatomeen. Teil 1. Allgemeines und Encyonema Part. Bibl Diatomol 36:1–382.

Krammer K (1997b). Die cymbelloiden Diatomeen. Teil 2. Encyonema part., Encyonopsis and Cymbellopsis. Bibl Diatomol 37:1–469.

Krammer K (2002). Cymbella. In: Diatoms of Europe. Diatoms of the European Inland Waters and Comparable habitats. p 584.

Kumar S, Stecher G & Tamura K (2016). MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger datasets. Molecular Biology and Evolution 33:1870-1874.

Lagerstedt M.A (2007). *Didymosphenia geminata,* an example of a biosecurity leak in New Zealand. Thesis in partial fulfilment of requirements for M.Sc. in Environmental Sciences, University of Canterbury, New Zealand. 94 p.

Lange-Bertalot H & Krammer K (1989). Achnanthes, eine Monographic der Gattung. In: Bibliotheca Diatomologica. Berlin, p 393.

Lange-Bertalot H (1993). 85 new *taxa* and much more than 100 taxonomic clarifications supplementary to SËßwasserflora von Mitleleeuropa. Berlin.

Lange-Bertalot H (1999). Neue kombinationen von taxa aus Achnanthes Bory (sensu lato). Iconogr Diatomol 6:276–289.

Lange-Bertalot H (2000). Transfer to the generic rank of Decussata patrick as a subgenusof Navicula bory sensu lato. Iconogr Diatomol 9:670–673.

Lange-Bertalot H (2001). Navicula sensu stricto, 10 Genera separated from Navicula sensu lato, Frustulia. In: Diatoms of Europe, 2. p 526.

Larned S, Biggs B, Blair N, Burns C, Jarvie B, Jellyman D, Kilroy C, Leathwick J, Lister K, Nagels J, SHallenberg M, Sutherland S, Sykes J, Thompson W, Vopel K & Wilcock B (2006). Ecology of *Didymosphenia geminata* in New Zealand. Habitat and ecosystem effects-Phase 2. National Institute of Water and Atmospheric Research. Client Report CHC2006-086, NIWA Project MAF06507.

Larned S, Arscott D, Blair N, Jarvie B, Jellyman D & Wilcock B (2007). Ecological studies of *D. geminata* in New Zealand.

Leone P, Cerda J, Sala S, & Reid B. (2014). Mink (Neovison vison) as a natural vector in the dispersal of the diatom *D. geminata*. Diatom Research, 29(3), 259–266.

MAAMA (2013) Catálogo Español de Especies Exóticas Invasoras: *D. geminata* (Lyngbye) M. Schmidt. http://www.magrama.gob.es/es/biodiversidad/temas/conservacion-de-especies/*D. geminatasphenia_geminata*_2013_tcm7-306901.pdf (Consultado 20/Junio/2016).

Madduma Bandara, C.M. (1974). «Drainage density and effective precipitation». Journal of Hydrology, Nº 21, pp. 187-190.

Magurran A (1988). Ecological diversity and its measurement, 179 pp. Princeton University Press, New Jersey.

MDDEP-MRNF Scientific Advisory Committee on *D. geminata* (2008). What Is *D. geminata* and How Can We Prevent It From Spreading In Our Rivers ?, 3rd edn. Gouvernement du Québec.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl

Melton, M.A. (1957). An Analysis of the Relation among Elements of Climate, Surface Properties and Geomorphology. Tech. Rep. No. 11, Dept. of Geology, Columbia University, New York.

MPI (2012) *D. geminata*. In: Pests Dis. http://www.biosecurity.govt.nz/pests/*D. geminata* Consultado 20/Junio/2016.

Naciones Unidas (1992). Convenio Sobre la Diversidad Biológica. Río de Janeiro, Brasil.

Nakov T, Ruck E, Galachyants Y, Spaulding S & Theriot E. (2014). Molecular phylogeny of the Cymbellales (Bacillariophyceae, Heterokontophyta) with a comparison of models for accommodating rate variation across sites. Phycologia 53 (4), 359-373.

NCH-ISO 17025 Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración. INN.

Norma Chilena-ISO5667/6 (2015). Calidad del agua – Muestreo -Guía para el muestreo de ríos y cursos de agua.

Palma A (2013). Guía para la identificación de invertebrados acuáticos.

Paradis E (2010). pegas: an R package for population genetics with an integrated-modular approach. Bioinformatics 26: 419-420.

Parasiewicz P, Gortázar J, Mateo M & García D (2009). MesoHABSIM: una herramienta eficaz para la gestión de ríos y cuencas fluviales. Tencología del Agua 309:20 – 26.

Pardo I, García L, Delgado C, Costas N & Abraín R (2010). Protocolos de muestreo de comunidades biológicas acuáticas fluviales en el ámbito de las Confederaciones Hidrográficas del Miño-Sil y Cantábrico. Convenio entre la Universidad de Vigo y las Confederaciones Hidrográficas del Miño-Sil y Cantábrico.

Parra O (2006). Estado de conocimiento de las algas dulceacuícolas de Chile (Excepto Bacillariophyceae). Gayana 70: 8-15.

Parra O, González M, Dellarossa V, Rivera P & Orellana M (1982). Manual taxonómico del fitoplancton de aguas continentales; con especial referencia al fitoplancton de Chile. Ediciones Universidad de Concepción, Concepción, Chile.

Parsons A, Hallock D, Seiders K, Ward B, Coffin C. & Welch K (2016). Standard Operating Procedures to Minimize the Spread of Invasive Species.

Patrick R & Reimer C (1975). The diatoms of the United States, exclusive of Alaska and Hawaii. In: Monographs of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia. Academy of Natural Sciences of Philadelphia, Philadelphia, Pennsylvania.

Patrick R, & Reimer C (1966). The diatoms of the United States, exclusive of Alaska & Hawaii, Volume 1-Fragilariaceae, Eunotiaceae, Achnanthaceae, Naviculaceae. Monograph No. 13.

Peet R (1975). Relative diversity indices. Ecology 56: 496-498.

Peredo-Parada M (2010). Implementación de una Clasificación Eco-Hidrológica de los ríos de Chile y su aplicación a la gestión ambiental. Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Valencia. 207 pp.

Puntí T (2007). Ecologia de les comunitats de quironòmids en rius mediterranis de referència. Tesis Doctoral. Departament d'Ecologia. Universitat de Barcelona.151 pp.

Quast C, Pruesse E, Yilmaz P, Gerken J, Schweer T, Yarza P & Glöckner F. O. (2013). The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools. Nucleic acids research, 41(D1), D590-D596.

Reid B, Hernández K, Frangópulos M, Bauer G, Lorca M, Kilroy C & Spaulding S. (2012). The invasion of the freshwater diatom *D. geminata* in Patagonia: prospects, strategies, and implications for biosecurity of invasive microorganisms in continental waters. Conservation Letters 5:432–440.

Resolución Exenta N°1070/2014 Establece Progama de Vigilancia, Detección y Control de la plaga D. geminata, deja sin efecto Resolución que indica. Servicio Nacional de Pesca, Gobierno de Chile, Valparaíso, 16 de abril 2014.

Resolución Exenta N°1342/2010 Declara Emergencia de Plaga la presencia de la microalga D. geminata en el sector que indica. Servicio Nacional de Pesca, Gobierno de Chile, Valparaíso, 6 de agosto 2010.

Resolución Exenta N°3064/2010. Declara área de plaga sectores de cuerpo de agua terrestres que indica. Servicio Nacional de Pesca, Gobierno de Chile, Valparaíso, 6 de octubre 2010.

Resolución Exenta N°332/2011 Establece Protocolo de Limpieza y Desinfección de fómites de la microalga D. geminata. Servicio Nacional de Pesca, Gobierno de Chile, Valpraíso, 14 de febrero 2011.

Rivera P (1983). A guide for references and distribution for the class Bacillariophyceae in Chile between 18º28'S and 58ºS. Bibliotheca Diatomologica: 1-386.

Rivera P, Gebauer M & Barrales HL (1990). A Guide for References and Distribution for the Class Bacillariophyceae in Chile between 18º28'S and 58ºS. Part II. Data from 1982 to 1988. Gayana Botanica 46: 155-198.

Rooney-Varga J.N, Giewat M.W, Savin M.C, LeGresley M & Martin J.L. (2005). Links between phytoplankton and bacterial community dynamics in a coastal marine environment. Microb. Ecol. 49:163-175.

Rost A, Fritsen C & Davis C. (2011). Distribution of freshwater diatom *D. geminata* in streams in the Sierra Nevada, USA, in relation to water chemistry and bedrock geology. Hydrobiologia 665:157–167.

Rottman J (1995). Guía de Identificación de Aves de Ambientes Acuáticos. Union de Ornitólogos de Chile (UNORCH), Santiago, Chile.

Round F (1993). A review & Methods for the use of Epilithic Diatoms for Detecting & Monitoring changes in River Water Quality. In: Methods for the Examination of Waters & Associated Materilas. London.

Round F E, Crawford R M, Mann D.G (1990). The diatoms: Biology and Morphology of the Genera.Cambridge University Press.

Rynearson T.A, Newton J.A, Armbrust E.V (2006). Spring bloom development, genetic variation, and population succession in the planktonic diatom Ditylum birghtwellii. Limnol Oceanogr 51:1249–1261.

Sanín C, Cadena CD, Maley JM, Lijtmaer DA, Tubaro PL, Chesser RT (2009) Paraphyly of Cinclodes fuscus (Aves: Passeriformes: Furnariidae): Implications for taxonomy and biogeography. Mol Phylogenet Evol 53:547–555. doi: 10.1016/j.ympev.2009.06.022.

Schäfer H, Abbas B, Witte H, & Muyzer G. (2002) Genetic diversity of 'satellite'bacteria present in cultures of marine diatoms. FEMS Microbiology Ecology, 42(1), 25-35.

Schafer, Ben Abbas, Harry Witte, Gerard Muyzer. (2002). Genetic diversity of 'satelite' bacteria present in cultures of marine diatoms. FEMS Microbiology Ecology. 42: 25-35.

Senciales J.M (1999). Redes fluviales. Metodología de Análisis. Estudios y Ensayos, 34. Universidad de Málaga, 337 pp.

SERNAPESCA/Amakaik-EcoHyd (2013). Monitoreo de la cobertura geográfica de la presencia de la especie de diatomea *D. geminata* en ríos de la zona del Alto Biobío.

SERNAPESCA/Amakaik-EcoHyd (2013). Monitoreo de la presencia de la especie Diatomea *D. geminata* en ríos de las regiones de Los Lagos y de Aysén (701-42-LE12).

SERNAPESCA/Amakaik-EcoHyd (2014). Evaluación multidisciplinaria de la dispersión de *Didymosphenia geminata* en el territorio nacional.

SERNAPESCA/Amakaik-EcoHyd (2014). Monitoreo y prospección de la presencia de *D. geminata* en ríos de las regiones de Los Lagos y Aysén.

Shannon C & Weaver W (1963). The mathematical theory of Comunication. University Illinois Press. Illinois, EEUU.

Skulberg O.M. (1982). Effects of stream regulation on algal vegetation. En: Lillehammer A y SJ Saltveit (eds) Regulated Rivers: 107-124. Columbia University Press, New York.

Spaulding S & Elwell L (2007). Increase in nuisance blooms and geographic expansion of the freshwater diatom *D. geminata*: recommendations for response. White Paper. USEPA Region, 8.

Spaulding S., & KociolekJ. (2000) Freshwater diatom biogeography. Nova hedwigia, 71(1), 223-242.

SUBPESCA/Amakaik-EcoHyd (2013). Prospección de *D. geminata* en cuerpos de agua de la Zona Centro-Sur (2012-26-DAC-8).

SUBPESCA/POCH-U.Chile (2010). Prospección de la presencia de *D. geminata* en las regiones XIV, X, XI y XII y elaboración de material de difusión tendiente a su control.

SUBPESCA/POCH-U.Chile (2011b). Prospección de la presencia de *D. geminata* en las regiones de La Araucanía y Los Ríos.

SUBPESCA/POCH-U.Chile (2012). Prospección de la presencia de *D. geminata* en la Subcuenca del Río Yelcho y las cuencas del Río Palena y Río Baker.

SUBPESCA/POCH-U.Chile, (2011a). Prospección de la presencia de *D. geminata* en las regiones de Los Lagos y Aysén.

Subsecretaría de Pesca y Acuicultura (2016). Manual para el monitoreo e identificación de la microalga bentónica *Didymosphenia geminata*. 2da Edición.

Sundareshwar P, Upadhayay S, Abessa M, Honomichl S, Berdanier B & Trennepohl A. (2011). *D. geminata*: Algal blooms in oligotrophic streams and rivers. Geophysical Research Letters, Vol. 38, L10405.

Sutherland W (2006). Ecological census techniques: A handbook, Second. Cmbridge University Press.

Tamura K, Nei M & Kumar S (2004). Prospects for inferring very large phylogenies by using the neighbor-joining method. Proceedings of the National Academy of Sciences (USA) 101:11030-11035.

Taylor & Bothwell (2014). The Origin of Invasive Microorganisms Matters for Science, Policy, and Management: The Case of *Didymosphenia geminate.* BioScience Advance Access. 64(6). 531-538.

Team (2014) R: a language and environment for statistical computing. Vienna: R Foundation for Statistical Computing.

Templeton A, Crandall K & Sing C (1992). A cladistic analysis of phenotypic association with haplotypes inferred from restriction endonuclease mapping and DNA sequence data. III. Cladogram estimation. Genetics, 132, 619–635.

Union Europea (2011). Estrategia de la UE sobre la Biodiversidad hasta 2020. Luxemburgo.

Victoriano P, González A & Schlatter R. (2006) Estado de conocimiento de las aves de aguas continentales de Chile. Gayana (Concepción) 70:140–162.

Villesen P. (2007) FaBox: an online toolbox for fasta sequences. Molecular Ecology Notes 7: 965–968.

Wetherbee R, Lind J.L, Burke J & Quatrano R.S (1998). The first kiss: establishment and control of initial adhesion by raphid diatoms. Journal of Phycology 34: 9–15.

Whitton B, Ellwood N & Kawecka B. (2008). Biology of the freshwater diatom *D. geminata*: a review. Hydrobiologia 630: 1-37.

Wolman, M. G. (1954). A method of sampling coarse river-bed material. American Geophysical Union, 951-956.

Yihui Chen, Yu Dai, Yilin Wang, Zhen Wu, Shuguang Xie, Yong Liu, Distribution of bacterial communities across plateau freshwater lake and upslope soils. (2016). Journal of Environmental Sciences. Vol 43: Pages 61-69. ISSN 1001-0742, http://dx.doi.org/10.1016/j.jes.2015.08.012.

Teléfonos: (56 2) 29800398 / Celular: (56 9) 9 249 58 49, contacto@amakaik.cl, Alcalde Eduardo Castillo Velasco 3197, www.amakaik.cl