

INFORME FINAL

Proyecto FIP 2013-25:

“Evaluación de *Didymosphenia geminata* (Didymo) en
cuerpos de agua de la zona centro-sur”

Elaborada para:



Fondo de Investigación Pesquera y Acuicultura

Presentada por:



AMAKAIK Consultoría Ambiental

Con fecha: 28 de diciembre de 2014

En conformidad.

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Carolina Díaz Pardo', with a stylized flourish below it.

Carolina Díaz Pardo
Jefe de Proyecto
AMAKAIK Consultoría Ambiental

Santiago, 28 de diciembre de 2014

ÍNDICE

Índice de Tablas.....	7
Índice de Figuras.....	10
Descripción de la propuesta.....	19
interacción de instituciones deNtro deL equipo de trabajo	20
.....	20
Resumen ejecutivo	21
<i>PRESENTACIÓN</i>	26
Objetivo general	30
Objetivos Específicos.....	30
Objetivos Específicos Extra.....	30
Objetivo Informe Final	31
<i>CAPÍTULO i: "Análisis de dispersión e impacto de <i>Didymosphenia geminata</i> en la zona centro-sur"</i>	32
ANTECEDENTES	32
Objetivo general.....	36
Objetivos específicos.....	36
Metodología de trabajo	37
Reuniones de coordinación.....	37
Actividades de terreno	38
Área de estudio	38

Selección de ríos y puntos de muestreo	40
Actividades de muestreo.....	45
Muestreo de variables físico químicas	50
Muestreo de variables hidromorfológicas	51
Reportes de terreno	53
Protocolos de bioseguridad y seguridad laboral.....	53
Bioseguridad.....	53
Protocolo de seguridad en terren	56
Análisis de muestras y datos	56
Perifiton.....	56
Diatomeas Bentónicas.....	59
Macroinvertebrados Bentónicos.....	60
Microalgas planctónicas.....	60
Análisis químicos de muestras de agua	61
Cartografía.....	62
Determinación de variables indirectas	63
Análisis estadístico	65
Resultados	74
Objetivos específicos 1 y 2:	74
Objetivo específico 3:	82
Observación de variables físicas del entorno.....	82
Parámetros físico químicos in situ	90
Parámetros químicos de laboratorio	99

VARIABLES HIDROLÓGICAS	106
VARIABLES GEOGRÁFICAS	113
Objetivo específico 4	125
Diatomeas bentónicas	125
Perifiton	132
Macroinvertebrados bentónicos	141
Objetivo específico 5	161
Análisis y discusión de resultados	173
Expansión y desarrollo de la plaga	173
Caracterización Físico-Química de sitios en presencia de <i>D. geminata</i>	175
Impacto de Didymo en las comunidades biológicas	178
Relación entre Mesohábitat y Didymo	180
Conclusiones	182
CAPÍTULO II: EVALUACIÓN DEL PROGRAMA DE VIGILANCIA Y CONTROL DE DIDYMO	184
ANTECEDENTES	184
MEDIDAS PROPUESTAS	186
Licencia de gestión de plagas hidrobiológicas	187
Curso de inducción a las plagas hidrobiológicas	188
Estructura de costos	193
Licencia de gestión de plagas hidrobiológicas	193
Cursos de inducción	194
Sustentabilidad Legal de la Propuesta	195
Comentarios	197

<i>CAPÍTULO III: CURSO-TALLER "GESTIÓN DE LA PLAGA DIDYMO Y BIOSEGURIDAD EN CHILE"</i>	198
Objetivo específico 4: "	198
Taller de difusión.....	199
Curso de capacitación	199
<i>CAPÍTULO IV: PRODUCTOS ESPERADOS</i>	203
Objetivo específico extra 4:.....	203
Objetivo específico extra 5:.....	203
<i>CAPÍTULO V: INNOVACIONES TÉCNICAS</i>	204
Objetivo específico extra 1:.....	204
Objetivo específico extra 2:.....	204
Objetivo específico extra 3:.....	205
<i>EPÍLOGO</i>	207
Referencias bibliográficas	209

Índice de Tablas

Tabla 1. Listado de cuencas y subcuencas muestreadas durante la 2 ^{da} campaña realizada por Amakaik-Ecohyd, señalando los puntos muestreados por cuenca y el tipo de muestreo en cada punto. Además se indica la presencia/ausencia de Didymo bentónico o plantónico.	41
Tabla 2. Cantidad y Modalidad de los puntos seleccionados por región y por cuenca, muestreados por Amakaik-Ecohyd durante las campañas 2013-2014.	44
Tabla 3. Listado de variables químicas analizadas en las regiones de Bío-Bío, La Araucanía y Los Ríos para el muestreo FIP de <i>Didymosphenia geminata</i>	62
Tabla 4. Reclasificación de los rangos de espesor y coberturas según las categorías establecidos en los muestreos	69
Tabla 5. Datos de densidad, cobertura y espesor obtenidos en las campañas de primavera y otoño asociados a su respectivo punto de muestreo.	69
Tabla 6. Parámetros físico-químicos considerados para el análisis de variación estacional.	71
Tabla 7. Presencia de Didymo para campañas de muestreo SUBPESCA 2012-2013, campaña de muestreo FIP primavera 2013 y campaña de muestreo FIP otoño 2014 por cuenca y subcuenca.	75
Tabla 8. Cantidad de sitios en presencia o ausencia de Didymo en función de categorías de variables físicas del entorno de interés para su colonización.....	87
Tabla 9. Estaciones asociadas a puntos de muestreo.	106
Tabla 10. Resultados análisis de consistencia	109
Tabla 11. Resumen análisis hidrológico. Presencia de Didymo: SI, ambas campañas de muestreo; SI(1) sólo campaña primavera 2013; SI(2) sólo campaña otoño 2014.	110
Tabla 12. Resumen variables geográficas	114
Tabla 13. Resultados test MRPP para agrupación de variables químicas según categorías de variables geográficas.	118

Tabla 14. Resultados test MRPP para determinar agrupación de especies de diatomeas bentónicas en función de variable geográficas.....	131
Tabla 15. Resumen con resultados de ANOVA de dos vías corregidas por permutaciones. Arriba indicadores comunitarios de diatomeas bentónicas según región del sitio y presencia de Didymo, y abajo, indicadores según estación del año y presencia de Didymo.	131
Tabla 16. Resultados test MRPP para determinar agrupación de géneros de perifiton en función de variables geográficas.....	139
Tabla 17. Resumen con resultados de ANOVA de dos vías corregidas por permutaciones. Arriba indicadores comunitarios de perifiton según región del sitio y presencia de Didymo, y abajo, indicadores según estación del año y presencia de Didymo.	139
Tabla 18. Resumen de ambas campañas de muestreo, se contrasta sitios con y sin Didymo, se muestra la riqueza, densidad (ind/m²) y diversidad promedio, sus errores estándar, máximos y mínimos registrados.....	144
Tabla 19. Resultados test MRPP para determinar agrupación de <i>taxa</i> de macroinvertebrados bentónicos en función de variable geográficas.....	145
Tabla 20. Resumen con resultados de ANOVA de dos vías corregidas por permutaciones. Arriba indicadores comunitarios de macroinvertebrados bentónicos según región del sitio y presencia de Didymo, y abajo, indicadores según estación del año y presencia de Didymo. .	148
Tabla 21. Resumen de resultados de análisis de componentes principales (PCA) para comunidad de microalgas bentónicas por mesohábitat.....	167
Tabla 22. Resultados test MRPP para determinar agrupación de la comunidad de perifiton en función del mesohábitat.	171
Tabla 23. Resumen con resultados de ANOVA de dos vías corregidas por permutaciones.....	171
Tabla 24. Posible impacto económico (US\$ Millones) y porcentual generado por el desarrollo de la plaga Didymo durante 8 años en Nueva Zelanda.....	184
Tabla 25. Detalle de módulos con su respectiva duración y responsable.....	192

Tabla 26. Cantidad de puntos muestreados para microalgas y macroinvertebrados bentónicos por región.....205

Índice de Figuras

Figura 1. Actividades de muestreo para el monitoreo, vigilancia y prospección de <i>Didymosphenia geminata</i>	46
Figura 2. Sistema de obtención de muestras de <i>Didymosphenia geminata</i> en el plancton.	49
Figura 3. Diagrama resumen de las medidas de bioseguridad para muestreos de <i>Didymosphenia geminata</i>	55
Figura 4. Mapa de sitios muestreado en la cuenca del río Itata, región de Bío-Bío.	76
Figura 5. Mapa de sitios muestreados en la cuenca del río Bío-Bío, región del Bío-Bío.	77
Figura 6. Mapa de sitios muestreados en la cuenca del río Imperial, región de la Araucanía.	78
Figura 7. Mapa de sitios muestreados en la cuenca del río Toltén, región de Araucanía.	79
Figura 8. Mapa de sitios muestreados en la cuenca del río Valdivia, región de los Ríos.....	80
Figura 9. Mapa de sitios muestreados en la cuenca del río Bueno, región de los Ríos.....	81
Figura 10. Observación <i>in situ</i> de variables físicas del entorno en la campaña de muestreo primavera 2013.	83
Figura 11. Observación <i>in situ</i> de variables físicas del entorno en la campaña de muestreo otoño 2014.....	84
Figura 12. Caracterización <i>in situ</i> del tipo de tramo de río muestreado de la campaña de muestreo primavera 2013. Gráficos torta por ítem con porcentaje de sitios muestreados por categoría.....	85
Figura 13. Caracterización <i>in situ</i> del tipo de tramo de río muestreado de la campaña de muestreo otoño 2014. Gráficos torta por ítem con porcentaje de sitios muestreados por categoría.....	86
Figura 14. Frecuencia de tipos sustratos en presencia (rojo) o ausencia (verde) de Didymo de la campaña de muestreo primavera 2013. En eje X, rangos de porcentaje por tipo de sustrato: 1 = "< 10%", 2 = "10% ≤ x < 25%", 3 = "25% ≤ x < 50%", 4 = "50% ≤ x < 75%", 5 = "≥ 75%"	88

Figura 15. Frecuencia de tipos de sustratos en presencia (rojo) o ausencia (verde) de Didymo de la campaña de muestreo otoño 2014. En el eje X, rangos de porcentaje por tipo de sustrato: 1 = "<10%", 2 = "10% ≤ x < 25%", 3 = "25% ≤ x < 50%", 4 = "50% ≤ x < 75%", 5 = "≥ 75%"89

Figura 16. Resultados para conductividad eléctrica (CE, arriba) y pH (abajo) por cuenca de la campaña de muestreo primavera 2013. En línea punteada se indica la media de todos los valores obtenidos por parámetro. No se muestra valor atípico extremo para AMK-NILHUE1 en cuenca del río Bueno en gráfica de CE.90

Figura 17. Resultados para conductividad eléctrica (CE, arriba) y pH (abajo) por cuenca de la campaña de muestreo otoño 2014. La línea punteada indica la media de todos los valores obtenidos por parámetro.91

Figura 18. Resultados para Temperatura del agua (arriba), Oxígeno disuelto (al medio) y Saturación de Oxígeno (abajo) por cuenca de la campaña primavera 2013. En línea punteada se indica la media de todos los valores obtenidos por parámetro.92

Figura 19. Resultados para Temperatura (arriba), Oxígeno disuelto (centro) y Saturación de Oxígeno (abajo) por cuenca de la campaña de muestreo otoño 2014. La línea punteada se indica la media de todos los valores obtenidos por parámetro.93

Figura 20. Resultados de parámetros físico-químicos *in situ* en función de presencia (SI)/ausencia (NO) de Didymo en la campaña de muestreo primavera 2013. Conductividad eléctrica (A), pH (B), Oxígeno disuelto (C), Saturación de Oxígeno (D) y Temperatura del agua (E).94

Figura 21. Resultados de parámetros físico químicos-*in situ* en función de presencia (rojo)/ausencia (verde) de Didymo de la campaña de muestreo otoño 2014. Conductividad eléctrica (A), pH (B), Oxígeno disuelto (C), Saturación de oxígeno (D) y Temperatura del agua (E).95

Figura 22. Velocidades de flujo superficial (arriba), media (al medio) y de fondo (abajo) por cuenca de la campaña de muestreo primavera 2013. Línea punteada señala límite de detección de molinete.96

Figura 23. Velocidades de flujo superficial (arriba), media (centro) y de fondo (abajo) de la campaña de muestreo otoño 2014. Línea punteada señala límite de detección del molinete. ...97

Figura 24. Velocidades de flujo superficial (arriba), media (al medio) y de fondo (abajo) en presencia (SI) o ausencia (NO) de Didymo de las campañas de muestreo primavera 2013 y otoño 2014. Línea punteada señala límite de detección de molinete.98

Figura 25. Resultados de distintas especies de fósforo por cuenca de la campaña de muestreo primavera 2013. Fósforo total (arriba), fosfato inorgánico (al medio) y fosfato orgánico (abajo). Línea punteada representa límite de detección por parámetro. Fosfato orgánico sin límite de detección dado que su estimación es matemática.100

Figura 26. Resultados de distintas especies de fósforo por cuenca de la campaña de muestreo otoño 2014. Fósforo total (arriba), fosfato inorgánico (al medio) y fosfato orgánico (abajo). Línea punteada representa límite de detección por parámetro. Fosfato orgánico sin límite de detección dado que su estimación es matemática.101

Figura 27. Resultados para Calcio (A), Hierro (B) y Sílice (C) por cuenca de la campaña de muestreo primavera 2013. Línea punteada representa límite de detección del parámetro. Gráficas sin límite de detección debido a que quedan fuera del rango visual de la gráfica.102

Figura 28. Resultados para Calcio (A), Hierro (B) y Sílice (C) por cuenca de la campaña de muestreo otoño 2014. Línea punteada representa límite de detección del parámetro.103

Figura 29. Resultados de parámetros químicos de laboratorio en función de presencia (rojo) o ausencia (verde) de Didymo en la campaña de muestreo primavera 2013. Fósforo total (A), Fosfato inorgánico (B), Fosfato orgánico (C), Calcio (D), Hierro (E) y Sílice (F).104

Figura 30. Resultados de parámetros químicos de laboratorio en función de presencia (rojo) o ausencia (verde) de Didymo en la campaña de muestreo otoño 2014. Fósforo total (A), Fosfato inorgánico (B), Fosfato orgánico (C), Calcio (D), Hierro (E) y Sílice (F).105

Figura 31. Frecuencia de sitios en presencia (SI)/ ausencia (NO) de Didymo por categoría de variable geográfica.117

Figura 32. Izquierda: PCA de variables químicas *in situ* y completa, agrupando los sitios por cuenca. Derecha: dendrogramas de similitud por cuenca en función de variables químicas.....118

Figura 33. Histograma de frecuencia de sitios en presencia (SI)/ ausencia (NO) en torno al LD1 del análisis realizado con el set de datos geográficos y de química *in situ*.119

Figura 34. Importancia y participación en el LD1 de cada variable y categoría utilizada. Valor absoluto refleja importancia de la variable y signo representa asociación a presencia (+) o ausencia (-).120

Figura 35. ROC-AUC, resumen gráfico de capacidad predictiva de nuestro modelo. LDA cercano a línea punteada representa predicción cercana al azar. LDA cercano a 1 representa buena capacidad de predicción.....121

Figura 36. Variación de la densidad de *D. geminata*, cobertura y espesor algal por punto de muestreo y por cuenca, junto con un diagrama unifilar de los cauces. El diagrama indica los cauces en donde se encuentran los puntos de muestreo, desde aguas arriba a aguas abajo en la cuenca. Las barras azules de los gráficos indican mayores números de la variable en primavera, y las barras amarillas indican mayores números de la variable en invierno.123

Figura 37. Resultados de componentes principales 1 y 2 para parámetros físico-químicos, agrupados por estación del año (otoño y primavera).124

Figura 38. Índices y parámetros comunitarios de diatomeas bentónicas por cuenca de la campaña de muestreo primavera 2013. Densidad total (cel/mm²) (A), Riqueza de especies (B), índice de diversidad de Shanon-Winner (C), índice de equitatividad de Evenness (D). Línea punteada indica media obtenida. En grafico A no se muestran datos atípicos extremos para la cuenca.126

Figura 39. Índices y parámetros comunitarios de diatomeas bentónicas por cuenca de la campaña de muestreo otoño 2014. Densidad total (cel/mm²) (A), Riqueza de especies (B), índice de diversidad de Shanon-Winner (C), índice de equitatividad de Evenness (D). Línea punteada indica media obtenida. En grafico A no se muestran datos atípicos extremos para la cuenca. .127

Figura 40. Índices y parámetros comunitarios de diatomeas bentónicas según presencia (rojo) o ausencia (verde) de Didymo por cuenca de la campaña de muestreo primavera 2013. Densidad total (cel/mm²) (A), Riqueza de especies (B), índice de diversidad de Shannon-Wiener (C), índice de equitatividad de Evenness (D). Línea punteada indica media obtenida para todos los datos.128

Figura 41. Índices y parámetros comunitarios de diatomeas bentónicas según presencia (rojo) o ausencia (verde) de Didymo por cuenca de la campaña de muestreo otoño 2014. Densidad total (cel/mm²) (A), Riqueza de especies (B), índice de diversidad de Shannon-Wiener (C), índice de equitatividad de Evenness (D). Línea punteada indica media obtenida para todos los datos.129

Figura 42. Eje 1 y Eje 2 de PCA de diatomeas bentónicas detectadas en las campañas de muestreo primavera 2013 y otoño 2014. (A) sitios agrupados en presencia (SI) /ausencia (NO) de Didymo, (B) sitios agrupados por cuencas, (C) sitios agrupados por campaña de muestreo y (D) especies detectadas con las que se realizó el análisis.130

Figura 43. Índices y parámetros comunitarios de microalgas bentónicas por cuenca de la campaña de muestreo primavera 2013. Densidad total (cel/mm²) (A), Riqueza de géneros (B), índice de diversidad de Shanon-Winner (C), índice de equitatividad de Evenness (D). Línea punteada muestra media obtenida. En gráfico A no se muestran datos atípicos extremos para las cuencas de Bio-bío, Bueno, Imperial, Toltén y Valdivia.....134

Figura 44. Índices y parámetros comunitarios de microalgas bentónicas por cuenca de la campaña de muestreo otoño 2014. Densidad total (cel/mm²) (A), Riqueza de géneros (B), índice de diversidad de Shanon-Winner (C), índice de equitatividad de Evenness (D). Línea punteada muestra media obtenida. En gráfico A no se muestran datos atípicos extremos para las cuencas de Bío-Bío, Bueno, Imperial, Toltén y Valdivia.....135

Figura 45. Índices comunitarios de microalgas bentónicas según presencia (SI) o ausencia (NO) de Didymo por cuenca de la campaña de muestreo primavera 2013. Densidad total (cel/mm²) (A), Riqueza de géneros (B), índice de diversidad de Shanon-Winner (C), índice de equitatividad

de Evenness (D). En grafico A no se muestran datos atípicos extremos para las cuencas de Bío-Bío, Toltén y Valdivia.	136
Figura 46. Índices comunitarios de microalgas bentónicas según presencia (SI) o ausencia (NO) de Didymo por cuenca de la campaña de muestreo otoño 2014. Densidad total (cel/mm ²) (A), Riqueza de géneros (B), índice de diversidad de Shanon-Winner (C), índice de equitatividad de Evenness (D). En grafico A no se muestran datos atípicos extremos para las cuencas de Bío-Bío, Toltén y Valdivia.	137
Figura 47. Eje 1 y Eje 2 de PCA de microalgas bentónicas detectadas en las campañas de muestreo primavera 2013 y otoño 2014. (A) sitios agrupados en presencia (SI) /ausencia (NO) de Didymo, (B) sitios agrupados por cuencas, (C) sitios agrupados por campaña de muestreo y (D) especies detectadas con las que se realizó el análisis.	138
Figura 48. Índices comunitarios de macroinvertebrados bentónicos según presencia (SI: color rojo) o ausencia (NO: color verde) de Didymo por cuenca de la campaña de muestreo primavera 2013. Densidad total (ind/m²) (arriba), Riqueza de <i>taxa</i>, índice de diversidad de Shannon-Wiener (abajo).	146
Figura 49. Índices comunitarios de macroinvertebrados bentónicos según presencia (SI: color rojo) o ausencia (NO: color verde) de Didymo por cuenca de la campaña de muestreo otoño 2014. Densidad total (ind/m²) (arriba), Riqueza de <i>taxa</i>, índice de diversidad de Shannon-Wiener (abajo).	147
Figura 50. Índices comunitarios de macroinvertebrados bentónicos según presencia (SI) o ausencia (NO) de Didymo por tramo de la campaña de muestreo primavera 2013. Densidad total (ind/m²) (arriba), Riqueza de <i>taxa</i>, índice de diversidad de Shannon-Wiener (abajo). ...	151
Figura 51. Índices comunitarios de macroinvertebrados bentónicos según presencia (SI) o ausencia (NO) de Didymo por tramo de la campaña de muestreo otoño 2014. Densidad total (ind/m²) (arriba), Riqueza de <i>taxa</i>, índice de diversidad de Shannon-Wiener (abajo).	154
Figura 52. Análisis de Correspondencia Canónica (CCA) para macroinvertebrados bentónicos y variables ambientales correspondiente al muestreo primavera 2013. Se indican las variables	

ambientales más correlacionadas con las dimensiones canónicas mediante vectores y como éstas se relacionan con el grupo de macroinvertebrados a nivel taxonómico de orden.....156

Figura 53. Análisis de Correspondencia Canónica (CCA) para macroinvertebrados bentónicos y variables ambientales correspondiente al muestreo primavera 2013. Se indican las variables ambientales más correlacionadas con las dimensiones canónicas mediante vectores y como estas se relacionan con las familias de macroinvertebrados.....157

Figura 54. Análisis de Correspondencia Canónica (CCA) para macroinvertebrados bentónicos y variables ambientales correspondiente al muestreo otoño. Se indican las variables ambientales más correlacionadas con las dimensiones canónicas mediante vectores.159

Figura 55. Análisis de Correspondencia Canónica (CCA) para macroinvertebrados bentónicos y variables ambientales correspondiente al muestreo otoño. Se indican las variables ambientales más correlacionadas con las dimensiones canónicas mediante vectores.160

Figura 56. Velocidad de la corriente de flujo (m/s) a distintas profundidades por mesohábitat y proyecto. FIP_13o correspondiente a muestreo otoño 2014 y FIP_13v correspondiente a muestreo primavera 2013.....162

Figura 57. Promedio e intervalos de confianza de abundancia de microalgas bentónicas por mesohábitat y proyecto. Arriba, en mesohábitat en ausencia de Didymo. Abajo, en mesohábitat con presencia de Didymo.....163

Figura 58. Promedio e intervalos de confianza de riqueza de microalgas bentónicas por mesohábitat y proyecto. Arriba, en mesohábitat en ausencia de Didymo. Abajo, en mesohábitat con presencia de Didymo.163

Figura 59. Promedio e intervalos de confianza de índice de diversidad Shannon-Wiener para microalgas bentónicas por mesohábitat y proyecto. Arriba, en mesohábitat en ausencia de Didymo. Abajo, en mesohábitat con presencia de Didymo.....164

Figura 60. Promedio e intervalos de confianza de índice de equitatividad para microalgas bentónicas por mesohábitat y proyecto. Arriba, en mesohábitat en ausencia de Didymo. Abajo, en mesohábitat con presencia de Didymo.....164

Figura 61. Géneros en los ejes 1 y 2 de análisis de componentes principales (PCA) para comunidad de perifiton por mesohábitat.....	165
Figura 62. Sitios en los ejes 1 y 2 de análisis de componentes principales (PCA) para comunidad de perifiton por mesohábitat, agrupados en función de la presencia de Didymo, cuenca de origen, proyecto en el que se obtuvo el dato y tipo de mesohábitat.....	166
Figura 63. Grosor de mucosidad en función de velocidad de flujo, agrupando sitios por distintas categorías.....	167
Figura 64. Densidad de perifiton en función de grosor de mucosidad, agrupando sitios por distintas categorías.	168
Figura 65. Índice de diversidad en función de grosor de mucosidad, agrupando sitios por distintas categorías.....	169
Figura 66. Grosor de mucosidad en función de densidad celular de Didymo.	170
Figura 67. Asistentes al curso-taller por ciudad.....	201

Índice de Anexos

ANEXO 01	Certificados de análisis químico emitidos por laboratorio
ANEXO 02	Resultados Químicos de Laboratorio
ANEXO 03	Resultados Fichas de Terreno
ANEXO 04	Reportes de Terreno
ANEXO 05	Resultados Diatomeas Bentónicas
ANEXO 06	Resultados Microalgas Bentónicas
ANEXO 07	Resultados Macroinvertebrados bentónicos
ANEXO 08	Resultados Fichas de Terreno Mesohábitat
ANEXO 09	Registro Fotográfico de Sitios con Presencia de Didymo
ANEXO 10	Registro Fotográfico Microalgas Bentónicas
ANEXO 11	Registro Fotográfico Diatomeas Bentónicas
ANEXO 12	Registro Fotográfico Macroinvertebrados Bentónicos
ANEXO 13	Protocolo Cartográfico
ANEXO 14	Resultados Cartográficos
ANEXO 15	Personal Participante por Actividad
ANEXO 16	Resumen Ejecutivo en Ingles
ANEXO 17	Resultados Variables Geográficas
ANEXO 18	Aplazamiento Taller/Curso Didymo

ANEXO 19	Carta FIP aprobación aplazamiento de talleres
ANEXO 20	Memoria de título Didymo FIP – Marcelo Villarroel USACH
ANEXO 21	Fotos curso-taller "Gestión de la plaga Didymo y bioseguridad en Chile"
ANEXO 22	Programa curso-taller "Gestión de la plaga Didymo y bioseguridad en Chile"
ANEXO 23	Asistencia a curso-taller "Gestión de la plaga Didymo y bioseguridad en Chile"
ANEXO 24	Difusión de curso-taller "Gestión de la plaga Didymo y bioseguridad en Chile"

DESCRIPCIÓN DE LA PROPUESTA

1.1. Nombre del Proyecto	"Evaluación de <i>Didymosphenia geminata</i> (Didymo) en cuerpos de agua de la zona centro-sur"
1.2. Área de impacto	Regiones del Bío-Bío, de La Araucanía y de Los Ríos.
1.3. Duración del Programa	17 meses
1.4. Fondos Requeridos	\$ 68.285.000.-
1.5. Unidad Técnica	FONDO DE INVESTIGACIÓN PESQUERA Y ACUICULTURA
1.6. Equipo Consultor	<p>Unidad Ejecutora Responsable: AMAKAIK Consultoría Ambiental</p> <p>Unidad Ejecutora Asociada: Plataforma de Investigación en Ecohidrología y Ecohidráulica, EcoHyd.</p> <p>Unidad Asesora: Investigadoras Senior de Universidad Católica de Temuco-Chile y Universidad de Buenos Aires-Argentina.</p>
1.7. Jefe de proyecto	Carolina Díaz Pardo

INTERACCIÓN DE INSTITUCIONES DENTRO DEL EQUIPO DE TRABAJO



Fondo de Investigación Pesquera y Acuicultura



Carolina Díaz P.
Lic. Ciencias Ambientales c/m Biología
Directora Ejecutiva AMAKAIK
Jefa Proyecto

Daniel Zamorano C.
Lic. Ciencias Ambientales c/m Biología.
Estudiante del programa de Magister en Biología, de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Chile.
Investigador AMAKAIK.

Diana Lillo L.
Lic. Ciencias Ambientales c/m Biología.
En desarrollo de tesis para la obtención del título profesional de Biólogo Ambiental.
Investigador AMAKAIK.

Carolina Fernández A.
Lic. en Biología
Lic. Ciencias Ambientales c/m Biología.
En desarrollo de tesis para la obtención del título profesional de Biólogo Ambiental.
Investigador AMAKAIK.

Úrsula Romero M.
Especialista en microalgas
Diplomado en Herramientas conceptuales y técnicas para el estudio y manejo de sistemas de aguas continentales en Chile.
Técnico Laboratorio AMAKAIK

Magali Olivares O.
Especialista en microalgas
Técnico Laboratorio AMAKAIK

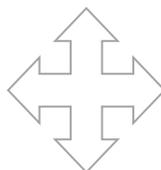


Matías Peredo P.
Dr. Ing. Hidráulica y Medio Ambiente. U. Politécnica de Valencia, España.
Magíster en Gestión y Planificación de Recursos Hídricos.
Diplomado en Evaluación Medioambiental
Jefe Área Ecohidráulica, EcoHyd.
Jefe Proyecto Alterno.

Diana Quevedo T.
Dr. Ing. Hidráulica y Medio Ambiente. U. Politécnica de Valencia, España.
Magíster en Hidrología General y Aplicada
Jefa Área Ecohidrología, EcoHyd

Paula Olea E.
Geógrafo, Magister (e) en Geomática
Diplomado en Herramientas conceptuales y técnicas para el estudio y manejo de sistemas de aguas continentales en Chile.
Investigadora EcoHyd

Cristóbal Mascaró M.
Ingeniero Forestal.
Investigador EcoHyd



Gladys Lara Cárdenas
Profesor Adjunto Universidad Católica de Temuco. Limnóloga Senior.
Asesor Nacional



Nora I Maidana
Profesora Adjunta; Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad de Buenos Aires.
Especialista en Diatomeas de Aguas Continentales. Asesor Internacional

RESUMEN EJECUTIVO

Didymosphenia geminata (Lyngbye) Schmidt es una diatomea unicelular bentónica, endémica de Hemisferio Norte, que habita principalmente en sustratos rocosos, a los que se mantiene adherida gracias a la producción de un polisacárido (Gretz, 2008) con el que forma un pie de mucílago (Cullis *et al.*, 2012). Esta alga puede llegar a cubrir hasta el 100% de los sustratos (Spaulding & Elwell, 2007), proliferando en lo que se denomina "Didymo" o "Moco de Roca". Dadas sus características como especie invasora y condiciones de dispersión, es de gran importancia conocer las condiciones en las que *D. geminata* se desarrolla, sean éstas físicas, químicas o biológicas, permitiendo inferir qué sistemas tienen más riesgo de ser invadidos, y por lo tanto, establecer medidas para evitar su propagación.

El presente estudio pretende ir más allá de la etapa prospectiva en la que se encuentra la investigación gubernamental respecto de la plaga, siendo su principal objetivo evaluar la presencia/ausencia de *Didymosphenia geminata*, en ríos de importancia para la acuicultura y pesca recreativa de las regiones del Biobío, de La Araucanía y de Los Ríos; y evaluar las medidas para su control. A lo largo del informe final se dan a conocer las actividades realizadas y los resultados obtenidos en cinco capítulos: "Análisis de dispersión e impacto de *Didymosphenia geminata* en la zona centro-sur", "Evaluación del programa de fiscalización de la plaga Didymo en Chile", "Curso-taller: Gestión de la Plaga Didymo y Bioseguridad en Chile", "Productos Esperados" e "Innovación Técnica".

Se realizaron dos campañas de muestreo. En la primera (primavera 2013) fueron seleccionadas 6 cuencas y 18 subcuencas cordilleranas en total, pertenecientes a las regiones antes mencionadas como área de estudio. Esta campaña finalmente cubrió un total de 92 puntos de muestreo (90 establecidos en las bases y propuesta técnica, más 2 extras solicitados por la Subsecretaría), de los cuales 27 corresponden de prospección, 51 a puntos de vigilancia y los últimos 14 monitoreo, es decir, puntos con registro previo de Didymo. Durante la segunda campaña (otoño 2014) se muestrearon los mismos sitios anteriormente seleccionados. Las

actividades de muestreo para cada sitio fueron realizadas de acuerdo a lo indicado en el manual oficial de la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura (SUBPESCA).

Estos 92 puntos fueron abordados bajo 2 modalidades de muestreo, muestreo tipo 1 (47 puntos) y tipo 2 (45 puntos). El muestreo tipo 1, corresponde a un muestreo basal (inspección visual, registro de parámetros *in situ*, muestra periférica y observación/medición de características/variables físicas del tramo muestreado). En tanto, el muestreo tipo 2 es un muestreo completo (incluye todas las actividades del muestreo tipo 1, muestra planctónica, muestra de diatomeas bentónicas, macroinvertebrados bentónicos y análisis químico). Las variables hidromorfológicas que fueron medidas son: velocidad superficial, velocidad media de la columna de agua y velocidad de fondo, además de medición de profundidad.

Una vez finalizada la campaña de terreno comenzaron las actividades de gabinete, que incluyen los análisis cartográficos, la determinación de variables indirectas (hidrológicas y geográficas) y análisis estadísticos, considerando la información colectada en terreno y producida en laboratorio y gabinete. Estos resultados son de tipo descriptivos y/o exploratorios, focalizados en la búsqueda de patrones de interés para el desarrollo de los objetivos del actual proyecto FIP. Paralelamente, se trabajó en la evaluación del programa de fiscalización de Didymo, considerando aspectos legales y económicos, y en la propuesta de un sistema de calificación a actores cercanos al entorno Didymo en términos de conocimiento de la plaga y bioseguridad.

Los resultados arrojan que del total de sitios muestreados, 19 de ellos se registra la presencia de Didymo en la primera campaña, perteneciendo estos a las cuencas de Bío-Bío (10 puntos), Toltén (1 punto) y Valdivia (9 puntos). Luego, en la segunda campaña, se detectó 1 nuevo sitio con presencia de Didymo en la cuenca Bío-Bío, en 4 de los 9 sitios en Valdivia y en el sitio de Toltén no se detectó Didymo en muestras bentónicas y se registró presencia de la plaga en 1 sitio en la cuenca del río Bueno. En la cuenca Valdivia y Toltén ha variado enormemente la densidad de la especie, mientras que en la cuenca Bío-Bío la plaga se mantiene estable.

Los parámetros físico-químicos *in situ* fueron suficientemente homogéneos en cuanto al pH y la conductividad eléctrica (CE), en tanto, el oxígeno disuelto (OD) y saturación de oxígeno, varían entre cuencas y campaña. Sin embargo, no se registró una tendencia ante la presencia/ausencia de Didymo y los parámetros físico-químicos evaluados. Respecto de las velocidades de flujo, éstas fueron mayores en la cuenca del río Bueno en ambas campañas y no se detectaron diferencias relevantes de la velocidad respecto a la presencia/ausencia de Didymo.

Los resultados obtenidos para los parámetros químicos a nivel de cuenca, indican que los valores más altos de fósforo total y fosfato inorgánico durante la 1^{ra} campaña fueron registrados en los ríos Bío-Bío y Bueno, mientras que en la 2^{da} campaña estos fueron observados en Itata, Imperial y Toltén. Las únicas especies químicas que revelan una relación entre los valores registrados y la presencia de Didymo son fósforo total y fosfato inorgánico, observándose mayores niveles en presencia de la plaga en la 1^{ra} campaña y menores en la 2^{da}.

El estudio de los datos químicos *in situ* y variables geográficas (estación del año, posición en la cuenca, geología, regulación hidrológica y orden de Strahler) mediante análisis de LDA y espacio ROC indica que las variables del tipo geográfico como la regulación hidrológica de tipo "Glacial" y "Glacial-lago", además de una posición en un "Tramo medio" de la cuenca, se asocian fuertemente a la presencia de Didymo.

Por su parte, los resultados biológicos revelan que las diatomeas bentónicas de la 1^{ra} campaña presentan mayor densidad, riqueza y diversidad en comparación con la 2^{da} campaña de muestreo. En general, indicadores comunitarios aumentan en presencia de Didymo, presentando un patrón ya encontrado en anteriores proyectos. Al comparar las diatomeas bentónicas entre región, estación del año y presencia/ausencia de Didymo los análisis indican que habría diferencias estacionales de la riqueza y densidad de diatomeas, además de presentar una riqueza y diversidad significativamente mayor en presencia de Didymo.

En cuanto a los resultados de perifiton, la mayor densidad se encuentra en la cuenca del río Imperial en la 1^{ra} campaña e Itata en la 2^{da}. La diversidad, riqueza y equitatividad aumenta en los

sitios con presencia de Didymo a excepción de la cuenca del río Toltén, lo que se corroboraría con el análisis de varianza, observando diferencias significativas. Por su parte, al comparar los parámetros comunitarios de perifiton entre región, estación del año y presencia/ausencia de Didymo se observan diferencias significativas de diversidad, riqueza y equitatividad de géneros entre regiones y entre estaciones del año.

Los resultados de los macroinvertebrados bentónicos indican que la riqueza de *taxa* y el índice de Shannon-Wiener son similares para las 6 cuencas durante la 1^{ra} campaña, disminuyendo en las cuencas Bueno, Itata y Valdivia durante la 2^{da}. La densidad de individuos es mayor durante la 1^{ra} campaña en todas las cuencas. De acuerdo al análisis de varianza, la presencia de Didymo no afectaría la riqueza y diversidad de macroinvertebrados, pero se observa mayor densidad de individuos en las cuencas Toltén y Valdivia en la 1^{ra} campaña. Sin embargo, en la 2^{da} campaña, no se ve afectada la densidad de individuos, pero aumenta la diversidad en las cuencas Bío-Bío y Bueno.

En cuanto al análisis de mesohábitat, es importante destacar la relación inversa entre grosor de mucílago y la densidad celular y velocidad de flujo. Se observa como la velocidad de la corriente es una variable que puede determinar el grosor del mucílago, evidenciando el rol del ciclo hidrológico como regulador de poblaciones bentónicas. Además, mayor cantidad de mucílago no refleja mayor densidad. Siguiendo a Jackson (2003), y considerando el pequeño grosor del mucílago (max. 3 cm), asumimos que detectamos comunidades en etapas iniciales de establecimiento, en donde disminuyen las densidades y aumenta la diversidad. Al realizar un análisis de PCA con la densidad de microalgas bentónicas por mesohabitat, no se observan agrupamientos diferentes.

De acuerdo al análisis de variación estacional de *D. geminata* existiría un aumento en la densidad celular, cobertura y espesor algal en primavera. A partir de esto, se define que sitios invadidos por la plaga estarían influenciados por cuerpos lacustres, relación que se podría dar debido a las características físicas e hidrológicas de éstos que estarían favoreciendo el establecimiento de Didymo (velocidad de la corriente, oxígeno disuelto, etc.).

Respecto a la evaluación del programa de fiscalización de Didymo, la educación surge como el mejor mecanismo para llevar a cabo un cambio profundo en la relación de la población con los ecosistemas. Por ello, se propone la realización de un curso de inducción de plagas, el cual pretende entregar una licencia de gestión de plagas hidrobiológicas, que daría cuenta de que el individuo posee los conocimientos necesarios para realizar actividades de pesca de manera responsable. A su vez, se definen los módulos del curso y la inversión requerida para este sistema.

Por otra parte, se informa sobre la realización del curso-taller "Gestión de la plaga Didymo y bioseguridad en Chile", realizado en noviembre en las regiones de estudio según compromisos realizados al inicio del proyecto. El éxito en la asistencia y en la recepción de los contenidos indica que la propuesta realizada en el capítulo de evaluación al programa de fiscalización está bien dirigida a difundir y educar a la ciudadanía respecto al estado de la plaga y la prevención en su dispersión.

El capítulo productos esperados se refiere a estado del envío de una publicación científica comprometida en la propuesta técnica y la versión digital actualizada del Manual Didymo de SUBPESCA. Todos estos productos están planificados a realizarse posterior al informe final. Las innovaciones tecnológicas referidas en el capítulo IV tratan sobre el reporte en terreno de la presencia de *D. geminata* y el análisis de nuevos componentes biológicos, perifiton, macroinvertebrados bentónicos y mesohábitat.

Hasta la fecha, se han realizado todas las actividades acordadas y en los plazos establecidos (FIP/AMAKAIK, 2013). Las campañas de muestreo y el análisis de muestras han sido realizados satisfactoriamente, mientras que los análisis y resultados asociados fueron explorados y estudiados de manera de obtener conclusiones robustas respecto al fenómeno Didymo en las regiones abordadas en el proyecto. Por otra parte, la propuesta del curso contribuye a instalar la discusión de Didymo a nivel transversal para así realizar un trabajo en conjunto con el fin de controlar el avance de dicha plaga. Esto se corrobora con el curso-taller impartido en noviembre en las regiones de estudio, el cual contó con una gran participación y difusión.

PRESENTACIÓN

Didymosphenia geminata (Lyngbye) Schmidt es una diatomea unicelular bentónica, endémica de Hemisferio Norte, que fue descrita por primera vez en las islas Faroe (Whitton *et al.*, 2009). *Didymosphenia geminata* habita principalmente en sustratos rocosos, a los que se mantiene adherida gracias a la producción de polisacáridos (Gretz, 2008) que le permite formar un pie de mucílago (Cullis *et al.*, 2012). Su capacidad de producir proliferaciones masivas conocidas como "Didymo" o "Moco de Roca" le otorga una gran capacidad invasiva, llegando a cubrir hasta un 100% de los sustratos (Spaulding & Elwell, 2007). Diversos estudios discuten las posibles consecuencias de esta plaga de difícil erradicación, observándose por ejemplo, una disminución de las comunidades de invertebrados bentónicos (Rivera *et al.*, 2013) lo que afecta la disponibilidad de alimento para la fauna íctica (Whitton *et al.*, 2009). Este claro impacto negativo de *Didymosphenia geminata* sobre la salud de los ecosistemas y por lo tanto la sustentabilidad ambiental de la cuenca, tiene implicancias ecológicas, económicas, sociales y estéticas (Kilroy *et al.*, 2005; Kilroy & Dale, 2006; Campbell, 2005; Branson, 2006; Cullis *et al.*, 2012).

Esta diatomea fue documentada por primera vez en Chile el año 1962 en el Lago Sarmiento y el Río Cisnes (Asprey *et al.*, 1964; Rivera, 1983), antecedente que resulta muy cuestionable, particularmente ante el no registro de la especie en sedimentos obtenidos desde el fondo del Lago Sarmiento (datos no publicados, Carolina Díaz). No hubo observación de la especie hasta Mayo del 2010 en la Subcuenca Futaleufú. Esto provocó que la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura mediante Resolución Ex N°3064/2010 declarara plaga de *Didymosphenia geminata* en sectores de la Subcuenca Futaleufú (Subsecretaría de Pesca y Acuicultura, 2010), a fin de poder destinar más recursos para realizar estudios y establecer medidas que permitan evitar su dispersión. Desde entonces, la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura (SUBPESCA) y el Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura (SERNAPESCA) han invertido esfuerzos y recursos en la realización de proyectos para la prospección y monitoreo de la plaga, generando campañas de difusión a nivel nacional, manuales de bioseguridad (Díaz *et al.*, 2012) e instalando puntos de

desinfección en pasos fronterizos del sur del país. Como resultado de las campañas de prospección, vigilancia y monitoreo, se han detectado nuevos focos en la zona centro-sur y austral del país. Entre el 2010 y 2011, se declaró plaga en las cuencas del río Palena y Yelcho, región de Los Lagos (Resolución Ex. 1342/2010) y en las cuencas de los ríos Aysén y Baker en la región de Aysén (Resolución Ex. 057/2011). Posteriormente, durante el 2012 y 2013, se evidenció la gran distribución de la plaga, registrándose puntos positivos para Didymo en las regiones de La Araucanía (cuencas Bío-Bío y Toltén; Resolución Ex. 2634/2012), Los Ríos (cuenca Valdivia, Resolución Ex. 3074/2012) y Magallanes (cuenca Río Grande, Resolución Ex. 1200/2013). A fines del 2013, se registró el límite norte de la extensión de la plaga hasta ahora, detectándose la presencia de *D. geminata* en sectores cercanos a las centrales hidroeléctricas Ralco y Pangue en la región del Bío-Bío (Resolución Ex. 301/2014).

Pese a los esfuerzos, los estudios hasta la fecha han reportado no encontrar patrones físico-químicos para la distribución de la especie (Subsecretaría de Pesca y Acuicultura /Poch-UChile, 2011a; Subsecretaría de Pesca y Acuicultura /Poch-UChile, 2011b; Subsecretaría de Pesca y Acuicultura /Poch-UChile, 2011c; Subsecretaría de Pesca y Acuicultura /Poch-UChile, 2012), por lo que es difícil inferir qué sistemas tienen más riesgo de ser invadidos y establecer medidas efectivas de protección para evitar la propagación a estos sistemas. Esto se suma a la poca comparabilidad de muchos datos debido al uso de distintas metodologías de muestreo y análisis. Frente a esto, AMAKAIK Consultoría Ambiental ha seguido, en todos sus muestreos, los lineamientos plasmados en el Manual para el Monitoreo e Identificación de la Microalga Bentónica *Didymosphenia geminata* publicado por SUBPESCA, que se ha propuesto como metodología estándar para el monitoreo de *D. geminata* en Chile.

El presente estudio pretende ir más allá de la etapa prospectiva en la que se encuentra la investigación gubernamental respecto de la plaga e intenta abordar algunas de las preguntas que se han generado durante estos años de trabajo con Didymo. De esta forma, el proyecto se compone de cuatro capítulos, orientados a evaluar la presencia/ausencia de *Didymosphenia geminata* en las regiones del Bío-Bío, Araucanía y Los Ríos, y evaluar medidas para su control. El

primero de éstos corresponde a "Análisis de dispersión e impacto de *Didymosphenia geminata* en la zona centro-sur", en el que se determina el desarrollo o evolución de la plaga en las regiones mencionadas y se caracterizan los parámetros físicos y químicos en los ríos estudiados para analizar posibles asociaciones con esta microalga. Para ello, se integran variables indirectas como hidrológicas y geográficas, y se evalúa el impacto de la plaga sobre distintas comunidades biológicas, tales como, perifiton, diatomeas bentónicas, macroinvertebrados bentónicos y microalgas planctónicas. El segundo capítulo consiste en "Evaluación del programa de fiscalización de la plaga Didymo en Chile", en el que se revisan antecedentes del programa de control y fiscalización y el marco legal de la plaga. Con ello, se pretende evaluar la ejecución de este programa y proponer medidas específicas, considerando el costo de su ejecución y el avance de la plaga. En el tercer capítulo, "Productos Esperados", se informa sobre el avance de los productos comprometidos en la propuesta técnica del proyecto, es decir, los cursos de entrenamientos en medidas de bioseguridad e identificación de *Didymosphenia geminata*, la publicación científica a partir de los resultados del proyecto y la versión digital actualizada del Manual Didymo SUBPESCA. Finalmente, el capítulo "Innovación Técnica" da cuenta de los análisis de componentes biológicos no estudiados a la fecha en Chile (microalgas y macroinvertebrados bentónicos), permitiendo poner a prueba los citados daños a las comunidades acuáticas, y de variables no consideradas anteriormente (mesohábitat) y su relación con *Didymosphenia geminata*, además de las ventajas de la determinación de la presencia/ausencia de Didymo en terreno.

Cabe destacar, que el presupuesto asignado para el estudio y el tiempo para su ejecución, han permitido desarrollar un monitoreo en dos periodos del año, involucrando puntos dentro de regiones de la zona centro-sur del país, situando a la plaga en un contexto estacional, lo que permite analizar, por ejemplo, posibles diferencias en la cobertura mucosa ante los cambios de caudal propios de la variabilidad climática del país. Por otra parte se integran una mayor cantidad de puntos de muestreo, los cuales consideran tanto monitoreo, vigilancia y prospección, de modo que exista una continuidad metodológica con los estudios realizados previamente.

El informe final expone y analiza todos los resultados obtenidos a partir de las dos campañas de muestro consideradas en este proyecto (primavera tardía 2013-1^{er} Informe de Avance y otoño 2014-2^{do} informe de avance). Con ello, es posible evaluar el desarrollo de la plaga y determinar la asociación de *Didymosphenia geminata* con los parámetros físico-químicos, incorporando distintas variables biológicas, además de relacionar los microambientes con la presencia de Didymo. Junto a esto, se evalúan y proponen medidas para el programa de control y fiscalización, considerando los patrones ecológicos y las potencialidades de gestión de los organismos competentes en el tema. Finalmente, se presenta el curso-taller "Gestión de la plaga Didymo y bioseguridad en Chile" realizado en las regiones de estudio.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar la presencia/ausencia de *Didymosphenia geminata*, en ríos de importancia para la acuicultura y pesca recreativa de las regiones del Bío-Bío, de La Araucanía y de Los Ríos; y evaluar las medidas para su control.

Objetivos Específicos

1. Determinar el desarrollo o evolución (vigilancia y monitoreo, respectivamente) de *Didymosphenia geminata* en cuencas positivas seleccionadas.
2. Prospeccionar la presencia/ausencia de *Didymosphenia geminata* en ríos seleccionados pertenecientes a subcuencas no considerados en estudios anteriores.
3. Caracterizar los parámetros físicos y químicos en cada río estudiado y efectuar su análisis para determinar asociación con *Didymosphenia geminata*.
4. Realizar cursos de entrenamiento en medidas de bioseguridad e identificación de *Didymosphenia geminata* orientados a técnicos que operan en laboratorios de análisis y en estudios de línea base.
5. Evaluar y proponer medidas específicas al programa de control y fiscalización que actualmente se aplica y estimar el costo de implementación por cuenca o región.

Objetivos Específicos Extra

1. Determinar en terreno la presencia/ausencia de *Didymosphenia geminata*, reportando esta información oportunamente al Consejo de Investigación Pesquera (en adelante CIP), o a quien corresponda, de modo que las autoridades puedan tomar las medidas pertinentes de manera inmediata y no una vez finalizado el proyecto.
2. Incorporar las variables biológicas de perifiton y macroinvertebrados al muestreo y posterior análisis de datos.
3. Evaluar el mesohábitat de los puntos de muestreo, de modo de relacionar los microambientes con la presencia de Didymo.

4. Preparar al menos una publicación científica a partir de los resultados del proyecto.
5. Diseñar una versión digital actualizada del Manual Didymo SUBPESCA, en condiciones para su posterior edición e impresión, sea por FIP o la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura.

Objetivo Informe Final

El objetivo general del Informe Final es presentar los resultados obtenidos correspondientes a las dos campañas de muestreo consideradas en este proyecto (primavera 2013 -resultados contenidos en el 1er Informe de Avance- y otoño 2014-resultados contenidos en el pre-informe final) y dar a conocer el avance de las actividades comprometidas en la propuesta técnica, las cuales involucran la evaluación del programa Didymo, el taller de difusión y el curso de capacitación.

CAPÍTULO I: "ANÁLISIS DE DISPERSIÓN E IMPACTO DE DIDYMOSPHENIA GEMINATA EN LA ZONA CENTRO-SUR"

ANTECEDENTES

Didymosphenia geminata ha sido descrita como la única diatomea de agua dulce que produce grandes cantidades de material mucilaginoso (Blanco & Ector, 2009), lo que puede alterar las condiciones físicas y biológicas de los sistemas acuáticos (Spaulding & Elwell, 2007). Desde la década del 2000, numerosos reportes en todo el mundo han dado cuenta del aumento en su distribución, observándose en regiones de norte América, Europa y Asia, como también en Nueva Zelanda, Chile y Argentina (Kawecka & Sanecki, 2003; Kumar *et al.*, 2009; Kilroy & Bothwell, 2011; Sastre *et al.*, 2013).

Según la experiencia neozelandesa, a nivel socioeconómico se estima que el sector mayormente afectado es el turismo, describiéndose justamente el factor antrópico como principal vector de dispersión para esta plaga (Reid & Torres, 2013), debido al desarrollo de actividades turísticas asociadas a los recursos acuáticos (kayaking, rafting y pesca deportiva) (Kilroy, 2004). Por esta razón, se han implementado diversas actividades tendientes a su control, enfocados principalmente a informar sobre las medidas de bioseguridad asociadas a estas prácticas deportivas que podrían transportar células de *D. geminata* en embarcaciones, trajes y aparejos de pesca.

Sin embargo, el avance de la plaga en países afectados señala que *Didymosphenia* ha logrado establecerse en ríos a pesar de las estrategias de contención (Bergey *et al.*, 2010), por lo que es necesario complementar las medidas de bioseguridad preventivas con estudios que permitan inferir los sistemas que tienen más riesgo de ser invadidos, conociendo las condiciones en las que la microalga coloniza y prolifera, sean éstas físicas, químicas o biológicas. A la fecha, se han reportado afloramientos bajo una variedad de condiciones ambientales (Kawecka & Sanecki,

2003; Spaulding & Elwell, 2007; Bhatt y col., 2008), por lo que no existe claridad respecto a los patrones físico-químicos en que se distribuye la especie (Reid & Torres, 2013).

Los estudios realizados en todo el mundo indican que generalmente *D. geminata* se encuentra en aguas frías y oligotróficas (Krammer & Lange-Bertalot, 1986; Kawecka & Sanecki, 2003), registrando proliferaciones en aguas con altas concentraciones de amonio, alta proporción N/Pi, en ríos con aportes de residuos agrícolas, industriales y urbanos, llegando a proponerse como clave para su presencia la proporción de P-PO₄ org./P-PO₄ inorg. (Kilroy & Dale, 2006; Lagerstedt, 2007; Kawecka & Sanecki, 2003; Whitton *et al.*, 2009; Sundareshwar *et al.*, 2011; Bothwell & Kilroy, 2011). El pH al que se han registrado floraciones de Didymo se restringe a ríos con aguas circumneutrales (Skulberg, 1982; Dufford *et al.*, 1987), mientras que, respecto de los metales, el hierro en altas concentraciones parece ser un factor importante para su proliferación (Kilroy, 2004; Sundareshwar *et al.*, 2011).

Un aspecto interesante de esta especie es que se ha descrito en sistemas en que el fósforo disponible limita la producción primaria (Sundareshwar *et al.*, 2011), lo que se considera como una paradoja ecológica, ya que los afloramientos masivos de microalgas suelen producirse en ambientes ricos de nutrientes como el fósforo o el nitrógeno. Frente a esto, se ha propuesto que la afinidad del mucilago con hierro, asociado a reacciones bioquímicas entre hierro y fósforo, aumentaría la disponibilidad biológica del fósforo, explicando por qué Didymo aflora en ambientes con bajos niveles de fósforo (Miller *et al.*, 2009).

Respecto de los factores físicos que han sido asociados al desarrollo de Didymo se encuentran: velocidad de flujo moderada, caudales no muy altos, estabilidad de sustrato, alcanzando un óptimo crecimiento sobre rocas y bolones y aguas no muy profundas con transparencia, que permita una alta luminosidad (Kilroy, 2004; Kilroy *et al.*, 2005; Larned *et al.*, 2006; Kilroy *et al.*, 2007; Lagerstedt, 2007, SUBPESCA/Amakaik-Ecohyd, 2012). En cuanto al sustrato en que *D. geminata* se desarrolla, un estudio comparativo indica que esta microalga coloniza más rápidamente sobre rocas ásperas que rocas lisas (Bergey *et al.*, 2009).

D. geminata se establece en ríos oligotróficos, rápidos y aluviales, es decir, ambientes con condiciones severas para el establecimiento de otros autótrofos bénticos (Biggs *et al.*, 2005; Larned *et al.*, 2011). Es por esto, que el estudio de los factores hidrológicos en los que se establece *D. geminata* es crucial para comprender la distribución y las zonas de riesgo de Didymo. De acuerdo al estudio de la interacción entre *D. geminata* y el ambiente hidrodinámico en que se desenvuelve, esta microalga reduciría el estrés y la turbulencia de velocidad bajo la superficie de la cobertura mucosa macroscópica, reduciendo a su vez, el riesgo de despegarse (Larned *et al.*, 2011). Además, la velocidad generada sobre la cobertura mucosa mejora el intercambio de materia orgánica. Por su parte, estudios en países invadidos han logrado determinar condiciones hidrológicas para el manejo de la plaga, de esta forma, flujos altos que perturben el lecho serían eficientes en la remoción física del Didymo (Miller *et al.*, 2009; Cullis, 2010).

Por otro lado, los estudios sobre el efecto de Didymo han arrojado diversos resultados, sin embargo, la mayoría de éstos indican que la colonización de *D. geminata* produce un fuerte impacto sobre las comunidades biológicas (Larson, 2007; Wyatt *et al.*, 2008, Spaulding *et al.*, 2010, Falasco & Bona, 2013). Por ejemplo, se ha reportado menor diversidad y equitatividad de diatomeas en sitios impactados por blooms de *D. geminata* (Larson y Carreiro, 2008), mientras que en otro estudio se indica que no hay un impacto significativo en la composición o diversidad del ensamble de diatomeas (Beltrami *et al.*, 2008). Sin embargo, otros estudios señalan cambios en la biomasa y estructura comunitaria de perifiton (Kilroy *et al.*, 2009; Gillis & Lavoie, 2014). El aumento en el material mucilaginoso proporcionaría un hábitat para muchas diatomeas pequeñas y otros microorganismos (Domozych *et al.*, 2010) y favorecería la colonización de diatomeas cosmopolitas (Kilroy *et al.*, 2009). De esta forma, *D. geminata* modificaría la estructura del ensamble y aumentaría la diversidad de diatomeas, sin embargo se requieren más muestreos para hacer análisis de mayor robustez (Gillis y Lavoie, 2014).

Los cambios producidos por la presencia de Didymo en la estructura comunitaria de perifiton, a su vez pueden producir cambios en la comunidad de macroinvertebrados (Larned *et al.*, 2006;

Kilroy *et al.*, 2009; Gillis & Chalifour, 2010; James *et al.*, 2010). En un principio, se registró una disminución en la riqueza y cambios en la dominancia de la estructura comunitaria de macroinvertebrados, posiblemente debido al desplazamiento de diatomeas esenciales (Kilroy, 2004). Al contrario, estudios en Nueva Zelanda y Norteamérica indican que los *blooms* de *D. geminata* se asociarían con un aumento en la densidad total de invertebrados y cambios en la estructura de la comunidad, en el que predominan desde efemerópteros, plecópteros y tricópteros, hasta comunidades de dípteros, crustáceos y oligoquetos, dependiendo de la dinámica de la colonización (Larned *et al.*, 2007; Kilroy *et al.*, 2009; Gillis & Chalifour, 2010; James *et al.*, 2010; Larned & Kilroy, 2014). Los mecanismos en que *D. geminata* contribuye a estos cambios en la comunidad de invertebrados no son claras, pero posiblemente se deba a la alteración en la disponibilidad de alimento, condiciones físicas del hábitat y química del agua (Larned & Kilroy, 2014).

A partir de estos antecedentes, se evaluó el desarrollo de la plaga en las regiones de Bío-Bío, Araucanía y Los Ríos a partir de la prospección, vigilancia y monitoreo realizados en 92 puntos de muestreos en las campañas de primavera 2013 y otoño 2014. Junto a ello, se analizaron los parámetros físicos y químicos de los puntos muestreos para determinar una posible asociación con *Didymosphenia geminata*, considerando distintas variables, tales como, hidrológicas, geográficas, mesohábitat, etc. y determinando el posible impacto de la plaga sobre las comunidades biológicas.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar los factores que determinan el proceso de dispersión de *Didymosphenia geminata* y determinar su impacto sobre las comunidades biológicas en las regiones del Bío-Bío, Araucanía y Los Ríos.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Determinar el desarrollo o evolución de la plaga en cuencas positivas seleccionadas.
2. Prospeccionar la presencia/ausencia de *Didymosphenia geminata* en ríos pertenecientes a subcuencas no consideradas en estudios anteriores.
3. Caracterizar los parámetros físicos y químicos en cada río estudiado y efectuar su análisis para determinar asociación con *Didymosphenia geminata*.
4. Evaluar el impacto de *Didymosphenia geminata* sobre las comunidades de diatomeas bentónicas, perifiton y macroinvertebrados bentónicos.
5. Evaluar el mesohábitat de los puntos de muestreo, de modo de relacionar los microambientes con la presencia de Didymo.

METODOLOGÍA DE TRABAJO

Reuniones de coordinación

La reunión de coordinación del proyecto se realizó el día 16 de octubre en oficinas del Fondo de Investigación Pesquera y Acuicultura en Valparaíso. A la reunión asistieron:

- Malú Zabando B., Profesional del Fondo de Investigación Pesquera y Acuicultura;
- Daniela Guajardo V., Profesional Plagas Hidrobiológicas de la Unidad de Gestión Sanitaria y Plagas, División de Acuicultura de la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura;
- Gonzalo Malhue F., Profesional del Departamento Administración Pesquera del Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura;
- Daniel Zamorano C., Investigador de AMAKAIK Consultoría Ambiental;
- Carolina Díaz P., Investigadora y Directora Ejecutiva de AMAKAIK Consultoría Ambiental.

En dicha reunión se realizó por parte del equipo consultor la presentación del proyecto, discutiendo en detalle los objetivos, metodologías y programa de actividades, entre otros, poniendo especial énfasis en los ítems en que los revisores realizaron observaciones. Para cada uno de estos ítems se efectuaron las aclaraciones correspondientes.

Respecto de la selección de puntos de muestreo, que era uno de los objetivos centrales de la reunión, se discutieron aspectos generales principalmente relacionados a la distribución de la cantidad de puntos a muestrear en las tres regiones objeto de estudio y relativos a las modalidades y tipos de muestreo: prospección/vigilancia/monitoreo y muestreo tipo 1/tipo 2. Dada la extensa jornada y requiriendo una revisión minuciosa de los ríos propuestos por cuenca, se decidió realizar la selección de puntos de muestreo en detalle mediante mensajería electrónica durante la semana siguiente.

Con el propósito de completar los objetivos de la reunión de coordinación, el día lunes 21 de octubre el equipo consultor envió a los participantes de la reunión previa un listado de cuencas, subcuencas y ríos posibles de prospectar, vigilar y monitorear en las campañas de terreno

correspondientes al proyecto, de los cuales se debían seleccionar los 90 puntos de muestreo comprometidos en la propuesta técnica que resultó adjudicada. Sin embargo, los profesionales de la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura catalogaron 97 de los puntos de muestreo propuestos como prioritarios. En base a ello, el equipo consultor propuso muestrear al menos 90 de los 97 puntos seleccionados y en lo posible la totalidad de ellos, pudiendo quedar sin muestrear aquellos puntos que presentaran alguna de las limitaciones logísticas descritas en la propuesta técnica (no poder acceder al punto de muestreo, punto con intervención antrópica reciente, etc). Esta selección final se realizaría durante la ejecución de la campaña de muestreo y sería informada de manera oportuna a través de los reportes electrónicos del estado de avance del muestreo.

Actividades de terreno

A continuación se describe la metodología de muestreo y las actividades de terreno realizadas a la fecha.

Área de estudio

Fueron seleccionadas 18 subcuencas cordilleranas en total, pertenecientes a 6 cuencas distribuidas en las regiones del Bío-Bío, La Araucanía y Los Ríos (Tabla 1), para determinar presencia/ausencia de *Didymosphenia geminata*. A continuación se explica la distribución de las cuencas y subcuencas consideradas en este proyecto.

- La Región de Bío-Bío presenta 12 cuencas en total, de las cuales sólo 2 pueden considerarse cordilleranas, las cuencas del río Itata y del río Bío-Bío, cada una con 4 subcuencas que podrían ser muestreadas. Técnicamente, en toda la región no hay subcuencas con registro previo de Didymo, pero sí a nivel de cuenca se puede considerar como contaminada la cuenca Bío-Bío, aún cuando la subcuenca que se encuentra con presencia de Didymo sea Alto Bío-Bío y pertenezca administrativamente a la Región de La Araucanía, ya que sus aguas escurren hacia la Región del Bío-Bío. De este modo fue considerado por el equipo consultor, para el cumplimiento de los objetivos de este proyecto, Itata y Bío-Bío, más Alto Bío-Bío como subcuenca positiva de

esta región (monitoreo de los puntos positivos y vigilancia de los negativos). En cada una de las dos primeras cuencas a muestrear fueron seleccionadas 3 subcuencas, entre éstas se encuentra la subcuenca del río Bío-Bío entre Ránquil y Duqueco que incluye el área aguas abajo y entre los embalses Pangue y Ralco, para evaluar el impacto (positivo o negativo) del cambio de condiciones en la propagación de la plaga en el río.

- En la Región de La Araucanía, hay 5 cuencas en total, de las cuales, al igual que en la Región del Bío-Bío, sólo 2 pueden considerarse cordilleranas. De las cuencas de los ríos Imperial y Toltén, fueron muestreadas 3 y 4 subcuencas respectivamente, dadas sus características físicas adecuadas tanto para el desarrollo de Didymo como para las actividades turísticas que se asumen como claves en la propagación de la plaga. En esta región, además del caso excepcional de la parte alta de la cuenca Bío-Bío (subcuenca Alto Bío-Bío, específicamente), sólo la cuenca Toltén tiene registro positivo de Didymo en el muestreo de 2012 (realizado por este mismo equipo consultor). Sin embargo, pese a los 18 puntos muestreados previamente (2011 y 2012), en esta cuenca sólo en uno hubo registro del alga en bentos y en dos muestras planctónicas, ambos tipos de registro en la subcuenca del río Pucón (específicamente en los ríos Pucón y Liucura).
- La Región de Los Ríos tiene 5 cuencas en total, de las cuales sólo dos se muestrearon: las cuencas del río Valdivia y del río Bueno, consideradas como cordilleranas. Cabe señalar que sólo la cuenca del río Valdivia ha resultado positiva para Didymo, específicamente las subcuencas Valdivia Alto y San Pedro (primavera 2012).

Araucanía y Los Ríos han sido muestreadas desde la primera campaña ejecutada en primavera 2010 en busca de Didymo, de modo que cuenta con un número de puntos que ha ido en considerable aumento en las sucesivas campañas de muestreo. En 2011 y 2012 se muestrearon 59 puntos en estas regiones (SUBPESCA/Poch-UChile, 2011b); en 2012-2013, se integró la cuenca Bío-Bío, muestreándose en total 97 puntos (SUBPESCA/Amakaik-Ecohyd, 2012; SUBPESCA-SERNAPESCA/ Amakaik-Ecohyd, 2012). En tanto, para el actual proyecto FIP, se

integró la región del Bío-Bío con sus cuencas Bío-Bío e Itata, alcanzando **92 puntos en cada campaña de muestreo**.

Selección de ríos y puntos de muestreo

En la reunión de coordinación, en conjunto con la unidad técnica, fue acordada la selección de un total de 90 puntos de muestreo (en modalidad de prospección, vigilancia y monitoreo), de los cuales 45 corresponden a puntos de tipo 1 y 45 de tipo 2. Se acordó la realización de puntos extra de tipo 1, todos de prospección (7 en campaña primavera y 9 en campaña otoño). Finalizada la 1^{ra} campaña, del total de 97 puntos se realizaron 92, de los cuales 27 eran puntos nunca antes muestreados (prospección), 51 eran puntos ya muestreados pero con diagnóstico negativo (vigilancia) y los últimos 14 eran puntos con registro de Didymo en los que fue medido el avance de la plaga (monitoreo) (Tabla 2). Durante la 2^{da} campaña se modificó la ubicación de 1 punto de muestreo (Traiguen2 por Diguí1B), existiendo así sólo 1 sitio de prospección y el resto de vigilancia o monitoreo. Los puntos de muestreo seleccionados se detallan en el Anexo 04.

Tal como se ejecutó el muestreo en las 3 campañas Didymo 2012-2013 (SUBPESCA, Araucanía y Los Ríos; SERNAPESCA Alto Bío-Bío, Araucanía y SERNAPESCA Los Lagos y Aysén), esta campaña consideró la realización en lo posible del muestreo de 2 puntos por río, un punto aguas arriba de tipo 1 o basal y otro aguas abajo, de tipo 2 o completo (Figura 1). Así, se ejecutaron 92 puntos muestreados en total por campaña, correspondiendo 47 a muestreo basal y 45 a muestreo completo, el detalle de la modalidad de muestreo por punto se indica en la Tabla 1. Cuando no fue posible muestrear uno de los ríos propuestos por razones impuestas por el trabajo en terreno (litoral inaccesible, cambio en las condiciones de acceso en los únicos tramos con las características adecuadas para muestrear, crecida del río, litoral modificado, etc.) o no fue posible realizar ambos puntos de muestreo propuestos en un río (considerando principalmente problemas de accesibilidad a un tramo lo suficientemente diferente o distante del otro punto en el mismo río), éste se reemplazó por un nuevo río o bien por un tercer punto en alguno de los

ríos de mayor extensión, de modo de cumplir con la distribución de puntos propuesta (90 puntos totales: 45 basales y 45 completos, más 7 puntos extras también basales).

Tabla 1. Listado de cuencas y subcuencas muestreadas durante la 2^{da} campaña realizada por Amakaik-Ecohyd, señalando los puntos muestreados por cuenca y el tipo de muestreo en cada punto. Además se indica la presencia/ausencia de *Didymo* bentónico o plantónico.

Región	Cuenca	Subcuenca	Código	Tipo de muestreo	Didymo	Huso	Este	Norte
Bío-Bío	Río Itata	Ñuble Bajo	F-AMK-NUBLE1	1	NO	19	253572	5958908
			F-AMK-NUBLE2	2	NO	19	228584	5953707
		Itata Medio	F-AMK-ITATA2	2	NO	19	195116	5926712
			F-AMK-ITATA1	1	NO	19	198465	5915240
			AMK-DIGUI1B	1	NO	19	224610	5910793
	Río Itata Alto (hasta Río Diguillín)	F-AMK-CHOLGN1	1	NO	19	255820	5888242	
	Río Bío-Bío	Río Laja Alto (hasta bajo junta Río Rucue)	F-AMK-CHOLGN2	2	NO	19	232306	5881395
			F-AMK-LAJA1	1	NO	19	265993	5867717
		Laja Bajo	F-AMK-LAJA2	2	NO	19	241216	5863221
		Río Bío-Bío entre Río Ránquil y Río Duqueco	F-AMK-BIOBIO1P	1	NO	19	238316	5824403
			F-AMK-CANICR1	1	NO	19	256895	5823704
			F-AMK-QUEUCO1	1	NO	19	278789	5821412
			F-AMK-QUEUCO2	2	NO	19	275095	5811466
			F-AMK-BIOBIO1	1	NO	19	263377	5808863
Río Bío-Bío Alto (hasta después junta Río Lamin)		F-AMK-BIOBIO2	2	SI	19	279120	5791346	
		PUNTO5-SERNAP	2	SI	19	298752	5768746	
	PUNTO4-SERNAP	2	NO	19	304713	5764284		
	AMK-SENAP2 BC	2	SI	19	299618	5753716		
	AMK-BALSRAHA	2	SI	19	303929	5746370		
	AMK-SERNAPLQM	1	SI	19	302651	5742711		
	F-LOLEN-SERNAP	2	SI	19	304806	5739125		
	TALLON-SERNAP	2	SI	19	307873	5735979		
	PUNTOX-SERNAP	2	SI	19	312939	5725239		
	AMK-LIUCURAN2	1	NO	19	318837	5720166		
	AMK-BIOBIO2	2	SI	19	318370	5718351		
Río Imperial	Río Lumaco	AMK-BIOBIO1	1	SI	19	307318	5713369	
		F-TRIGUEN1	1	NO	19	220095	5764827	
	Cautín Alto	AMK-CAUTIN2	2	NO	19	220511	5740181	

Región	Cuenca	Subcuenca	Código	Tipo de muestreo	Didymo	Huso	Este	Norte	
		(hasta antes junta R. Quepe)	AMK-CAUTIN1	1	NO	19	246035	5737412	
			F-PEUPEU1	1	NO	19	202601	5728832	
			F-TRUENO2	2	NO	19	229789	5724291	
			F-TRUENO1	1	NO	19	238489	5721117	
		Río Quepe	F-VILCUN1	1	NO	19	229005	5718617	
			F-CODIGUE1	1	NO	19	233490	5705194	
			F-QUEPE2	2	NO	19	185379	5694020	
	Río Toltén	Río Allipén	AMK-ALLIPEN1	1	NO	19	220258	5677302	
			AMK-CURACO2	2	NO	19	221772	5673908	
			AMK-CURACO1	1	NO	19	232447	5673200	
		Lago Villarrica y Toltén Alto	AMK-ALLIPEN2	2	NO	19	196107	5675713	
			AMK-TOLTEN2	2	NO	19	210107	5663705	
			AMK-PEDRGSO2	2	NO	19	212866	5659437	
			AMK-TOLTEN1	1	NO	19	214747	5652430	
			AMK-PEDRGSO1	1	NO	19	224116	5659109	
		Río Pucón	AMK-LIUCURAS1	1	NO	19	263473	5655511	
			AMK-CABURGUA2	1	NO	19	254617	5652105	
			AMK-LIUCURA2	2	NO	19	250755	5649885	
			F-CLARO1	1	NO	19	245922	5648826	
			F-RPUCONBALSA	2	NO	19	247950	5648811	
			AMK-PUCON2	2	NO	19	249501	5648695	
			AMK-MAICHIN1	1	NO	19	279823	5643926	
			AMK-PANQUI2	1	NO	19	272914	5641533	
		AMK-TRANCURA2	2	NO	19	280544	5632704		
		Los Ríos	Río Cruces	AMK-CRUCES1	1	NO	19	172296	5622152
				AMK-CRUCES2	2	NO	19	164563	5615101
				AMK-PUTRGL1	1	NO	19	169392	5599608
	AMK-MAFIL2			2	NO	19	161510	5599158	
	Río Valdivia Alto (hasta desagüe Lago Panguipulli)		AMK-LLANCAH1	1	NO	19	245473	5614865	
			AMK-ZAHUIL2	1	NO	19	223388	5611451	
AMK-HUENEHUE2			1	NO	19	222583	5610127		
AMK-CUACUA2			2	NO	19	251099	5600880		
AMK-LIQUINE2			2	NO	19	255770	5597447		
AMK-NELTUME1			1	NO	19	242962	5588478		
AMK-FUY1			2	SI	19	243533	5587436		
AMK-FUY2			2	SI	19	250037	5584509		
AMK-LLANQHUE2			2	SI	19	235834	5587370		
AMK-LLANQHUE1			2	SI	19	239636	5587013		
AMK-HUAHUM2			2	SI	19	268410	5564979		
AMK-HUAHUM1			1	SI	19	269118	5559329		

Región	Cuenca	Subcuenca	Código	Tipo de muestreo	Didymo	Huso	Este	Norte
Los Lagos	Río Bueno	R. San Pedro (entre desagüe L. Panguipulli y Bajo R. Quinchilca)	AMK-MANIO2	1	NO	19	205200	5597817
			AMK-SANPEDRO1	1	NO	19	203968	5591462
		R. San Pedro (entre desagüe L. Panguipulli y Bajo R. Quinchilca)	AMK-SANPEDRO2	2	SI	19	181260	5587702
			AMK-ENCO1	2	SI	19	232041	5583083
			AMK-ENCO2	2	SI	19	229891	5577589
			AMK-BCOENCO2	1	NO	19	229995	5577521
			AMK-QUINCHIL1	1	NO	19	194287	5576794
			AMK-QUINCHIL2	2	NO	19	187000	5575303
		Afluentes Lago Ranco	AMK-REMEHUE2	1	NO	19	196073	5573752
			AMK-FLORIN2	1	NO	19	227621	5554005
			AMK-CAUNAHUE2	1	NO	19	222564	5547587
			AMK-RININAHU2	1	NO	19	224840	5530295
			AMK-CHIHUIO2	1	NO	19	250049	5546818
			AMK-NELTUME2	2	NO	19	243968	5566102
	AMK-BCOMAIHU1		1	NO	19	243976	5546605	
	AMK-CURRINE2		1	NO	19	244521	5544205	
	AMK-CUMILAHUE1		1	NO	19	235553	5544952	
	AMK-CUMILAHU2		2	NO	19	232537	5543347	
	Río Bueno entre Lago Ranco y Río Pilmaiquén	AMK-CALCRRPE2	2	NO	19	222397	5542209	
		AMK-HUEINAHU2	1	NO	19	246187	5533373	
	Afluentes Lago Ranco	AMK-IGNAO1	1	NO	19	187183	5536302	
		AMK-BUENO2	2	NO	19	169519	5529165	
	Río Pilmaiquén	AMK-NILHUE1	2	NO	19	231006	5533777	
	Río Pilmaiquén	AMK-DPILMAQN2	2	NO	19	160186	5521828	

Tabla 2. Cantidad y Modalidad de los puntos seleccionados por región y por cuenca, muestreados por Amakaik-Ecohyd durante las campañas 2013-2014.

Región	Cuenca	Monitoreo	Prospección	Vigilancia	Total general
Bío-Bío	Río Bío-Bío	0	8	0	8
	Río Itata	0	6	0	6
	Total región	0	14	0	14
Araucanía	Río Bío-Bío	5	0	6	11
	Río Imperial	0	8	2	10
	Río Toltén	2	2	13	17
	Total región	7	10	21	38
Los Ríos	Río Bueno	0	0	14	14
	Río Valdivia	7	2	16	25
	Total región	7	2	30	39
Los Lagos	Río Bueno	0	1	0	1
	Total región	0	1	0	1
Total general		14	27	51	92

Como fue indicado en la Propuesta técnica de este proyecto (FIP/AMAKAIK, 2013), para cada río muestreado, tal como ocurrió en la campaña 2012, se señalan dos posibles (en algunos ríos se realizó sólo uno de ellos) tipos de muestreo distintos:

- Muestreo Tipo 1: muestreo basal, que considera el desarrollo de inspección visual, registro de parámetros *in situ*, obtención de muestra perifítica (comunidad microalgal bentónica completa) y observación/medición de características/variables físicas del tramo muestreado. Generalmente punto aguas arriba y sólo si no hay sospecha de Didymo (si la hay, fue realizado muestreo Tipo 2).
- Muestreo Tipo 2: muestreo completo, incluye todas las actividades del muestreo Tipo 1, a las que se suman la obtención de muestra planctónica, sólo con carácter diagnóstico de detección de Didymo, obtención de muestra de diatomeas bentónicas, macroinvertebrados bentónicos y colecta de agua para análisis químico. Punto preferentemente más aguas abajo, previamente prospectado y/o con sospecha de Didymo.

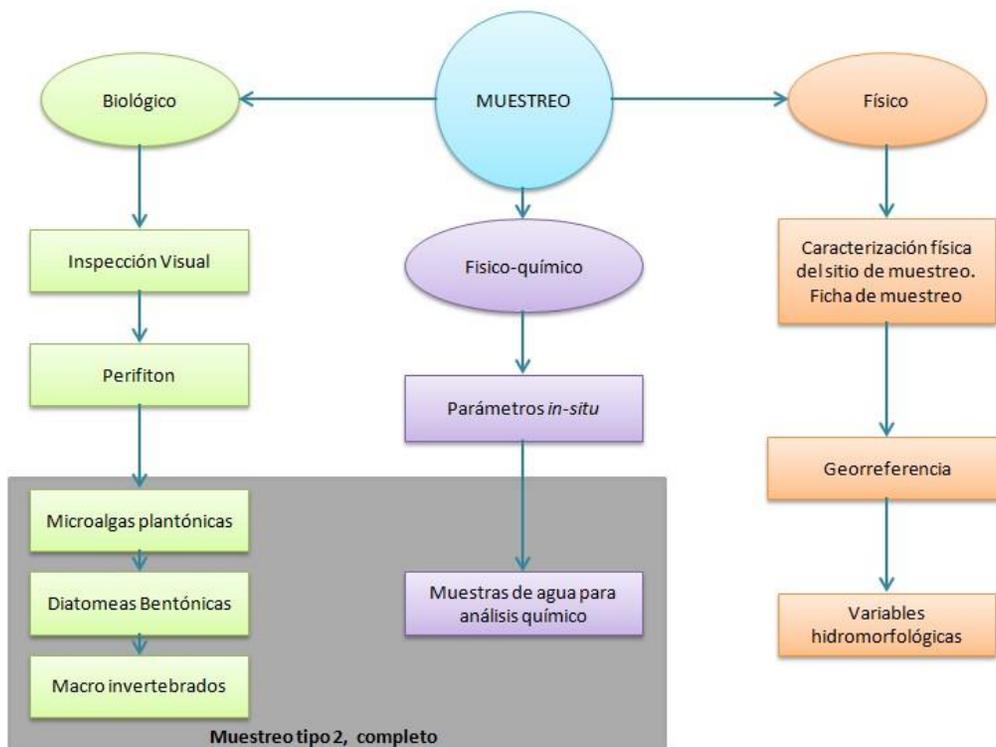
En caso de nuevos ríos y puntos en reemplazo de los que no sean posibles de muestrear, fueron consideradas las sugerencias de parte de lugareños y operadores turísticos respecto de, por ejemplo, actividades turísticas desarrolladas, migración de peces desde grandes ríos hacia cursos más pequeños para desovar, entre otros criterios mencionados en el "Manual para el Monitoreo e Identificación de la Microalga Bentónica *Didymosphenia geminata*", de la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura (SUBPESCA; Díaz *et al.*, 2012; en adelante Manual de SUBPESCA). Esto último ya que los ríos podrían haberse visto afectados en caso de que los peces transportaran células de *D. geminata* en sus escamas (hipótesis sugerida en una serie de informes y publicaciones sobre el tema). Mas detalles sobre los criterios de selección en la propuesta técnica (FIP/AMAKAIK, 2013).

Actividades de muestreo

Las actividades de muestreo para cada sitio fueron realizadas de acuerdo a lo indicado en el Manual de SUBPESCA. Sin embargo, siguiendo las sugerencias realizadas por nuestro equipo consultor en el Informe Final del Proyecto SUBPESCA 2012, fueron incorporados en este estudio algunos cambios que pretenden ayudar a optimizar los recursos y favorecer el análisis. En la Figura 1 se señalan las actividades de muestreo. En gris se destacan los cuatro tipos de muestra que fueron obtenidas sólo en el punto de muestreo tipo 2, correspondiente generalmente a aquellos puntos ya prospectados con el mismo tipo de muestreo y al punto más aguas abajo en los nuevos ríos a prospectar.

Cabe señalar que, como parte del muestreo, en todos los puntos se hizo el registro fotográfico de cada etapa del proceso, sobre todo de las características físicas del punto que definen el mesohábitat, como por ejemplo el tipo de sustrato muestreado.

Figura 1. Actividades de muestreo para el monitoreo, vigilancia y prospección de *Didymosphenia geminata*.



Modificado de Proyecto Prospección de *Didymosphenia geminata* en cuerpos de agua de la Zona Centro-Sur (2012-26-DAC-8), 2012.

Etapas de muestreo

El muestreo de un tramo del río, sea para monitoreo, vigilancia o prospección, puede ser descrita en tres acciones. a) La primera constituye una inspección visual y descripción del tramo en que se realizará el muestreo. b) La segunda acción corresponde al registro de los parámetros *in situ* y de variables hidromorfológicas y la obtención de la muestra de perifiton. c) La tercera acción corresponde a la obtención de muestras de agua para análisis químico y la toma de muestra de microalgas planctónicas, diatomeas bentónicas y macroinvertebrados bentónicos. Como se señala en la propuesta técnica (FIP/AMAKAIK, 2013) se agrega una cuarta acción (señalada a continuación como "Acción extra") correspondiente a la caracterización de el o los microambientes presentes en el río. A continuación se detalla la metodología utilizada y las actividades realizadas en cada acción.

- Primera acción: Inspección visual y descripción del tramo

Primero, es realizada una inspección visual del tramo, recorriendo alrededor de 300 metros, con el fin de identificar posibles lugares en que se podría encontrar *Didymosphenia geminata*. Luego de esto, se selecciona el tramo donde serán tomadas las muestras, el cual idealmente siempre debe constar de 100 metros paralelos al cauce del río (50 o 25 metros según factibilidad logística). Se hace un registro fotográfico georreferenciado de cada punto, el cual es incluido en una base de datos georreferenciada.

En paralelo a la inspección visual es descrito el sistema fluvial considerando tipo de sustrato en orillas, tipo de río (unicauce, multicauce, trenzado, etc.), mesohábitat presentes en el tramo inspeccionado (ritrónicas, medias y potámicas), presencia de vegetación ripariana que pueda dar sombra al tramo prospectado, entre otras, completando con esta información una ficha de terreno, previamente diseñada y de formato estándar para todos los sitios de muestreo (versión actualizada de la expuesta en el Manual de SUBPESCA; Anexo 03).

Cabe destacar que varios puntos de cada río se examinan en busca de un lugar con las condiciones óptimas para desarrollar el muestreo, dado que el objetivo es maximizar la probabilidad de registrar Didymo, si éste estuviera presente en el río. Por esta razón, observar alguna cobertura mucosa sospechosa en el río es un criterio de selección de sitio de muestreo automáticamente y por sobre los otros criterios. En caso de observar presencia de masa mucilaginosa en el sustrato se describe cualitativamente (en la ficha de cada punto o estación de muestreo) el porcentaje de cobertura y el grado de crecimiento hacia el centro del río, no superando una profundidad de 60 cm.

- Segunda acción: obtención de muestras de microalgas bentónicas, parámetros *in situ* y variables hidromorfológicas

En los transectos determinados por inspección visual, es muestreado preferentemente sustrato rocoso (comunidad perifítica) de acuerdo a la cobertura dominante, muestras que son enviadas al laboratorio AMAKAIK en Santiago para su análisis. Junto con la obtención de la muestra de perifiton, en esta etapa se registran los parámetros físico-químicos *in situ* y variables hidromorfológicas (Díaz *et al.*, 2012). El detalle de las metodologías está descrito en el ítem correspondiente.

- Tercera acción: obtención de muestra de microalgas planctónicas, diatomeas bentónicas, macroinvertebrados bentónicos y muestreo químico

Las muestras planctónicas se obtienen utilizando una red de fitoplancton diseñada específicamente para colectar Didymo en sistemas lóticos, la que posee al final de su cono receptor dos piezas ensamblables entre las que ubica una pequeña red que colecta la muestra de microalgas planctónicas (Figura 2). Esta pequeña red es la que se deposita en un frasco con agua del mismo río, se fija con lugol, hasta que la muestra alcance un leve color té (Hötzel & Croome, 1999). Posteriormente estos frascos son transportados a los laboratorios de AMAKAIK en Santiago, donde se realizan los análisis. Se obtienen muestras integradas de diatomeas bentónicas, las que son debidamente preparadas para su traslado al mismo laboratorio. Por su parte, las muestras de macroinvertebrados se colectan y preservan en recipientes plásticos rotulados (Pardo *et al.*, 2010) para la posterior identificación taxonómica de individuos en los laboratorios de AMAKAIK.

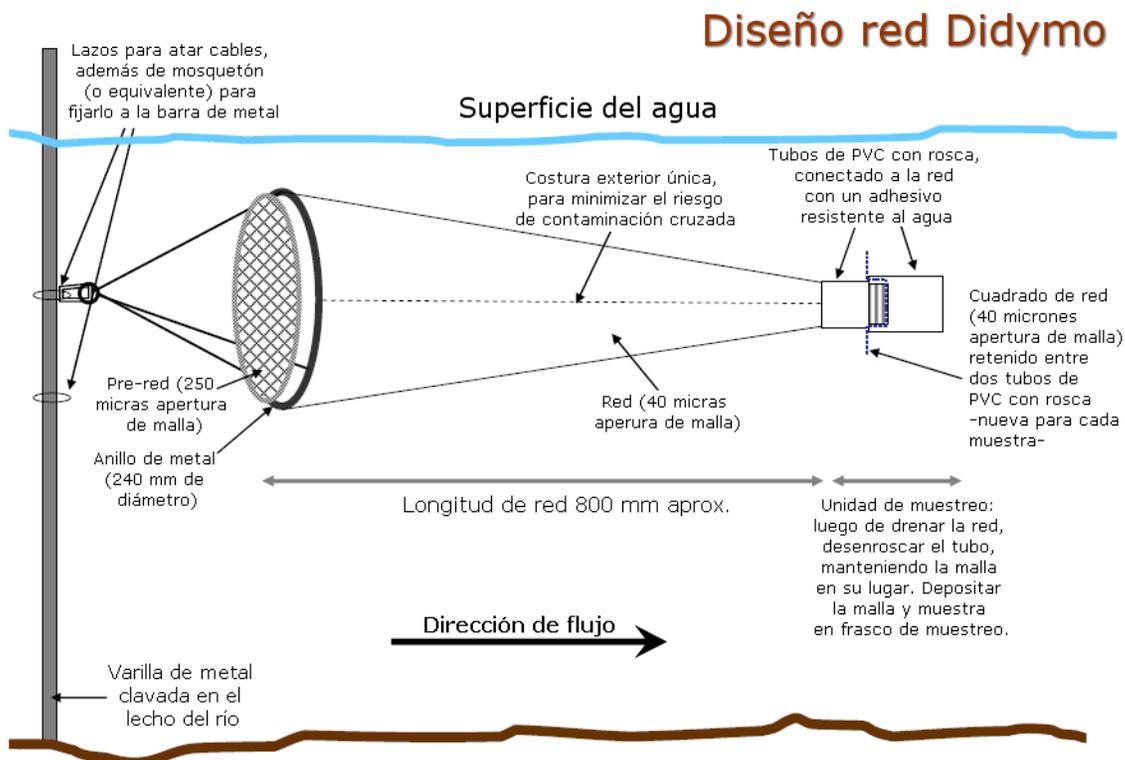
El detalle del muestreo de microalgas planctónicas, perifiton, diatomeas bentónicas y macroinvertebrados bentónicos se encuentra en la sección Análisis de muestras y datos.

Junto con la obtención de las muestras biológicas, en esta etapa se toman muestras de agua para realizar los análisis químicos, los que son descritos en el ítem correspondiente.

- Acción extra: muestreo de mesohábitat

De manera excepcional, en este proyecto se propuso estudiar la cobertura mucosa con mayor detalle, a modo de poder evaluar con mayor precisión la evolución del Didymo o de las otras microalgas que pudieran estar formando parte del mucílago detectado. Fue descrito así, el espesor de la cubierta mucosa y la distribución en microambientes dentro del transecto muestreado, obteniendo incluso muestras separadas (máximo 3 muestras) en cada mesohábitat dentro del punto de muestreo, para analizar perifiton. Paralelamente a la toma de muestras, fueron registrados los parámetros *in situ* y las variables hidromorfológicas del mesohábitat caracterizado, tal como se indica en la segunda acción.

Figura 2. Sistema de obtención de muestras de *Didymosphenia geminata* en el plancton.



Fuente: Díaz *et al.* 2012; modificado de Duncan *et al.*, 2007

Muestreo de variables físico químicas

Para dar cumplimiento al objetivo 3 de los Términos Técnicos de Referencia, se registraron los parámetros *in situ* y se obtuvieron muestras de agua para análisis químico, como se describe a continuación.

En cada uno de los 92 puntos de muestreo, se registraron *in situ* los parámetros físico-químicos temperatura (T°), pH, conductividad eléctrica (C.E.), oxígeno disuelto (O.D.) y porcentaje de saturación de oxígeno disuelto (%OD). Con el objetivo de validar los datos obtenidos, la medición de estos parámetros se realizó por medio de dos sondas, una sonda multiparamétrica WTW Modelo 340I y una sonda multiparamétrica HANNA Modelo HI 9828, ambas diseñadas para mediciones en terreno.

Cada uno de estos parámetros fue registrado en duplicado en cada sitio de muestreo a ambos extremos del tramo seleccionado. Los electrodos fueron calibrados antes de su uso en cada punto de muestreo, con las soluciones apropiadas adquiridas por AMAKAIK para estos equipos específicamente.

En cuanto al muestreo de agua superficial para el análisis químico en laboratorio, se obtuvieron muestras de agua en 45 puntos de muestreo. Los análisis realizados han sido propuestos por estudios previos y sugeridos en el Manual de SUBPESCA. Estos son: nitrato, nitrito, fosfato orgánico e inorgánico, silicato, y calcio. Además de estas variables, se analizó hierro, debido a su citada posible relación en el desarrollo de las abundantes masas mucilaginosas de Didymo (Kilroy, 2004; Sundareshwar *et al.*, 2011). Respecto del fósforo, dado que desde el laboratorio sólo es posible obtener los valores de fosfato inorgánico y fósforo total, se debe estimar las concentraciones de fosfato orgánico por medio de ecuaciones que utilizan los pesos moleculares. A partir del fosfato inorgánico, molécula compuesta de 4 átomos de oxígeno y 1 de fósforo, se extrae el valor de masa que correspondería al Fósforo, multiplicándolo por 0.32, obteniendo así el fósforo inorgánico. Este valor es sustraído del valor de fósforo total y se

obtiene el fósforo orgánico. Finalmente, al multiplicar el fósforo orgánico por 3.12, se obtiene el fosfato orgánico

Las muestras se mantuvieron a 4°C (hieleras con icepacks y permanente control de temperatura) hasta ser enviadas a los laboratorios de **ANAM, en Puerto Montt**. La cercanía del laboratorio con las regiones a muestrear permitió disminuir al mínimo el tiempo en que las muestras deben estar con cadena de frío hasta ser analizadas en el laboratorio. Esto es muy importante ya que, en muchos casos, los datos obtenidos son cuestionables porque es muy difícil mantener la cadena de frío bajo condiciones extremas del trabajo en terreno antes que las muestras puedan ser analizadas. El detalle de las metodologías a utilizar en cada análisis se encuentra en el ítem de Análisis de muestras y datos.

Muestreo de variables hidromorfológicas

Las variables hidromorfológicas que fueron medidas son las siguientes: velocidad superficial, velocidad media de la columna de agua y velocidad de fondo. Las velocidades (superficial, media y fondo) se midieron con un molinete digital modelo FP 101 (precisión 0,1 m/s, rango de medición entre 0,1 y 4,5 m/s). Esto se realizó en cada uno de los transectos definidos en el tramo prospectado (Díaz *et al.*, 2012).

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 (Charlton, 2008). 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 fue medida la velocidad a dos profundidades distintas, a 0,2 veces la profundidad y a 0,8 veces la profundidad. La velocidad media se determina mediante la siguiente fórmula:

$$V_m = \frac{V_{0,2} + V_{0,8}}{2}$$

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 midió la velocidad en tres puntos a 0,2, 0,6 y 0,8 veces la profundidad. Para estos casos, la velocidad media se determina mediante la siguiente fórmula:

$$V_m = \frac{V_{0,2} + V_{0,6} + V_{0,8}}{3}$$

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)

La profundidad se midió mediante una barra graduada milimétrica que posee el molinete. La profundidad se obtuvo para cada uno de los transectos definidos en el tramo siguiendo las consideraciones del Manual de SUBPESCA.

Se determinó la granulometría de una muestra de sustrato representativa de los transectos seleccionados en el tramo. Esta granulometría se realiza *in situ* bajo los parámetros de clasificación de sedimentos de la U.S.C.S. y que sea de interés para el estudio de *Didymosphenia geminata*. Además fue realizada una estimación mediante técnica fotográfica (Crozzoli & Batalla, 2003) del sustrato representativo.

Los valores de caudal considerados en este estudio son los registrados en las estaciones fluviométricas administradas por la Dirección General de Aguas, que se encuentran cercanas a los puntos de muestreo. Con esta misma información como una variable indirecta se caracterizó el régimen hidrológico de cada uno de los tramos prospectados, distinguiendo con especial énfasis a aquellos de origen lacustre, nival o pluvial. Esta variable puede tener un rol importante en la explicación de la presencia o ausencia de *Didymosphenia geminata* (Skulberg, 1982; Dufford *et al.*, 1987). Este análisis fue incluido en el Proyecto SUBPESCA 2012, que consideraba las regiones de Araucanía y Los Ríos, obteniéndose interesantes resultados (Anexo 4 de informe SUBPESCA/Amakaik-EcoHyd, 2013)

Reportes de terreno

Fueron informadas a las autoridades de SUBPESCA las condiciones biológicas, físicas y algunos asuntos de logística (por ejemplo acceso al punto de muestreo: público/privado o difícil en caso que lo haya sido) de cada uno de los ríos evaluados durante ambas campañas de muestreo. Los reportes enviados se encuentran en el Anexo 04 (otoño 2014) y 14 (primavera 2013).

Protocolos de bioseguridad y seguridad laboral

El equipo consultor se basó en el capítulo de bioseguridad del Manual de SUBPESCA, del cual la Jefa de este proyecto es primer autor, para la realización de la campaña de muestreo. Asimismo, el equipo consultor está capacitado mediante protocolos internos de seguridad laboral en terreno, los que constan de procedimientos y equipos de seguridad para prevenir y/o actuar en caso de emergencias.

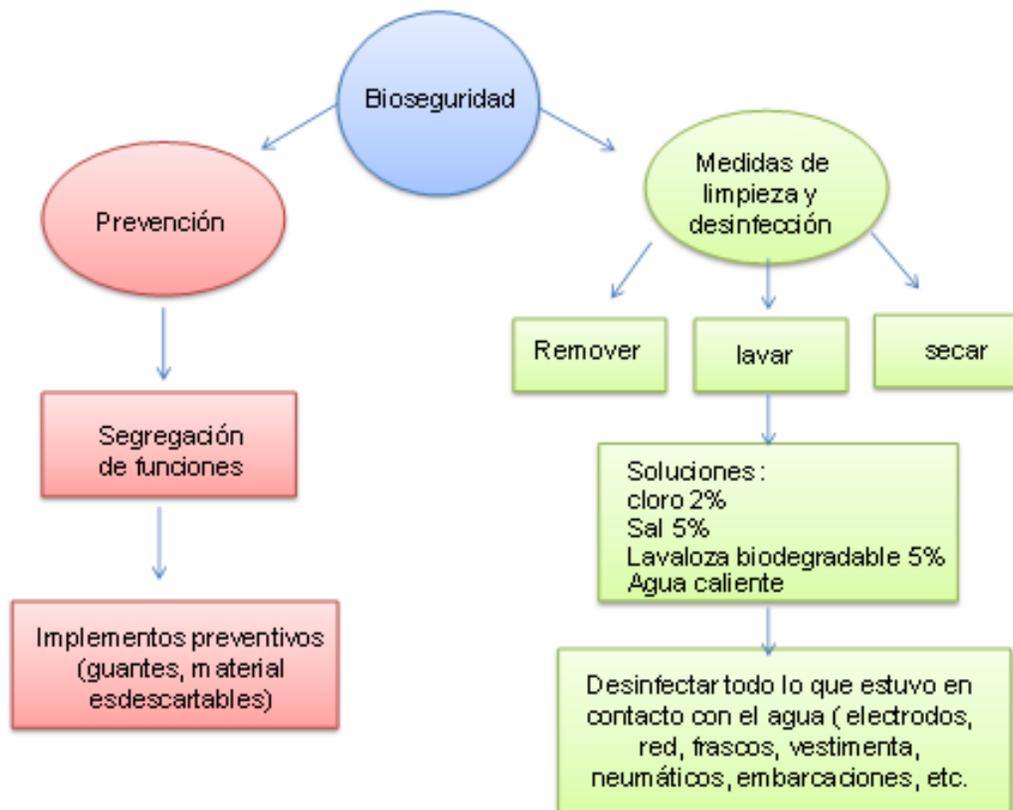
Bioseguridad

El procedimiento de bioseguridad se resume en la Figura 3. El protocolo de bioseguridad establece dos tipos de medidas, 1.- medidas de prevención y 2.- medidas de limpieza y desinfección. Dentro de las medidas de prevención se encuentran todas aquellas tendientes a evitar o disminuir el contacto con la plaga, en caso de estar eventualmente trabajando en ríos con presencia de *Didymosphenia geminata*. Ejemplos de ellas son la utilización de guantes y

materiales descartables para desarrollar actividades como la obtención de muestras (muestreadores descartables, espátulas descartables y jeringas plásticas para cada punto de muestreo, por ejemplo). Dentro de estas medidas de prevención la más importante es la segregación de funciones. El equipo de muestreo debe trabajar de manera diferenciada, ejecutando una parte todas las labores de obtención de muestras en el agua, definida como "parte húmeda" y la otra parte, definida como "parte seca", apoyando sin tener contacto con el río. La idea es que no todo el equipo trabaje innecesariamente en contacto directo con la plaga y reducir la contaminación del resto del material o implementos a utilizar en los siguientes puntos de muestreo.

Las medidas de limpieza y desinfección están descritas en los protocolos del NIWA de Nueva Zelanda y han sido adaptadas para Chile en el Manual de SUBPESCA. Estas medidas además deben aplicarse a todos los implementos que estuvieron en contacto con el agua, después del muestreo de cada punto, incluso entre puntos de muestreo de un mismo río. Es necesario chequear que no queden restos de mucílago en los implementos, vestimenta, bote, etc, luego todo el material que estuvo en contacto con el agua debe ser sumergido en alguna de las soluciones de limpieza y desinfección propuestas en el protocolo y que se resumen en Figura 3. Finalmente es necesario secar durante al menos 48 horas los implementos sometidos al procedimiento de limpieza. En el caso del desarrollo de muestreos extensivos en corto plazo, es necesario considerar varios sets de implementos y trajes para muestreo en agua, pudiendo intercalar su uso y dando tiempo así para que el material llegue a secarse.

Figura 3. Diagrama resumen de las medidas de bioseguridad para muestreos de *Didymosphenia geminata*.



Es muy importante considerar que cada vez que el material previamente desinfectado se reutilice, debe ser lavado una vez más en agua de río del sitio de muestreo antes de realizar el procedimiento de muestreo en él, de esta manera se evita alterar el contenido de células viables de la nueva muestra colectada. Otro factor importante, es la eliminación de las soluciones de limpieza. Éstas deben ser vertidas en el mismo sitio de muestreo antes de ser abandonado, de modo tal que no llegue a tener contacto con el curso de agua.

Protocolo de seguridad en terreno

El equipo consultor utilizó un protocolo en seguridad en terreno. Este protocolo está orientado a especificar procedimientos para prevenir accidentes y procedimientos en caso de accidentes, tanto en terreno, como en el traslado.

Los procedimientos para la prevención se focalizan principalmente en medidas cautelares como implementación de seguridad (chalecos salvavidas, cuerdas de seguridad, arnés, etc), así como prevención en el desplazamiento (controles continuos de desplazamiento del móvil de terreno por parte de una oficina considerada como base de operaciones; capacitación al personal de terreno sobre los límites máximo de velocidad, distinguiendo en carreteras como caminos de ripio).

En caso de emergencia, el personal de terreno lleva consigo un protocolo de seguridad en que se detallan los pasos a seguir para dar conocimiento e información de la emergencia, tanto a la oficina base como a instituciones como carabineros, bomberos, etc.

Análisis de muestras y datos

A continuación se describen las metodologías de obtención de muestras, análisis de éstas y las actividades realizadas en gabinete para la obtención de resultados preliminares.

Perifiton

Para el caso del perifiton (o microalgas bentónicas), una muestra integrada, de un área de 4 cm² o de 1 cc (en caso de presentar mucosidad abundante) fue depositada en un frasco o tubo, según correspondiera. Posteriormente la muestra fue fijada en terreno con la cantidad apropiada de lugol, de manera que permita fijar sin llegar a teñir demasiado los cloroplastos y así no entorpecer la correcta identificación de las microalgas. Se recomienda el uso de lugol a pesar de ser menos efectivo que otros fijadores porque los análisis se realizarán en un corto espacio de tiempo (Pardo *et al.*, 2010) y porque al ser menos agresivo, no llega a dañar las

microalgas con paredes blandas. Se utilizaron cepillos (área) o espátulas descartables (volumen) para raspado del material sobre el sustrato rocoso y se recolectaron en un frasco o tubo, según correspondiera, los que fueron debidamente etiquetados (etiquetas resistentes al agua) y sellados para evitar pérdida del material. Para cuantificar la biomasa bentónica se registró el número de superficies y/o volúmenes muestreados. Al conocer el área y/o volumen muestreado, los resultados son expresados en células/mm² o células/mm³. Preferentemente, se obtuvieron muestras en las estaciones que presentaron florecimiento de Didymo evidente o al menos sospecha. El volumen de esta floración medida en centímetros cúbicos fue siempre tomada con instrumentos descartables para evitar la contaminación cruzada entre los puntos de muestreo y para dar cumplimiento al protocolo de bioseguridad (Díaz *et al.*, 2012).

Las muestras de perifiton fueron analizadas en el laboratorio de AMAKAIK, Santiago, utilizando microscopios Axisostar II Plus, Zeiss, con objetivo de microscopía invertida de 200X. El microscopio 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.

Si bien las muestras de río presentan una baja concentración de microalgas, las muestras de perifiton obtenidas alcanzan una elevada concentración de organismos, materia orgánica y/o sedimento, y si a esto agregamos el recuento de diatomeas a nivel de género, microalgas que son siempre muy abundantes en las muestras, es necesario aplicar la metodología adecuada para realizar el análisis cuantitativo mediante la utilización de una cámara de Sedgewick-Rafter cuadrículada. Este procedimiento se encuentra detallado en Díaz *et al.* (2012).

Dependiendo de la densidad de microalgas se optó por contar transectos o cuadrículas de 1 microlitro. En este caso se realizaron 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 concentración por unidad de volumen de muestra (células/mm² o cel/mm³), mediante una ecuación cuyo resultado se multiplica o divide por el factor correspondiente (dilución o concentración).

Se utilizó para su clasificación taxonómica el apoyo de claves y guías disponibles, por ejemplo: Bourrelly (1968, 1970), Patrick & Reimer (1966), trabajos de Patricio Rivera para Chile, Guillermo Tell para Argentina, Parra y Bicudo (1996), Parra *et al.* (1982), Rivera (1983), Round (1993), Krammer & Lange-Bertalot (1986, 1991), Lange-Bertalot & Krammer (1989), Lange-Bertalot (1993, 1999, 2000, 2001) y Krammer (1997a, 1997b, 2002).

Se dejó registro fotográfico para cada muestra identificada mediante cámara adosada a microscopio y archivo digital en computador.

Cabe señalar que una alícuota de estas muestras se analizó *in situ* con microscopio óptico, a medida que éstas fueron obtenidas durante el desarrollo de cada campaña de terreno, con el único objetivo de determinar presencia/ausencia de Didymo. Esta información, junto con la evolución de las campañas de muestreo, fue reportada periódicamente al CIP y se encuentra en el Anexo 04 (otoño 2014) y 14 (primavera 2013) del presente informe. Esta mejora en la gestión de datos requiere la presencia de un especialista en reconocimiento de microalgas bentónicas durante la ejecución de las campañas de terreno, quien luego participa de la interpretación de resultados en los informes. Ello implica finalmente una integración total de la información, pudiendo relacionar directamente las características del sitio de muestreo y la comunidad bentónica asociada, validando fuertemente la interpretación y análisis de nuestros resultados. Este paso se considera fundamental no sólo para que el mandante reciba a tiempo la información y pueda reaccionar rápidamente ante nuevos registros de Didymo, sino también para determinar *in situ* cambios en la planificación de muestreo, lo que permite optimizar recursos al acotar el muestreo a los sitios de real interés.

Diatomeas Bentónicas

Cada muestra obtenida en terreno para este análisis fue inspeccionada para determinar la proporción del total de células viables dentro de la muestra y el porcentaje de células viables de *D. geminata*. Este porcentaje se usó posteriormente para corregir las densidades totales de diatomeas obtenidas para cada punto de muestreo y para corregir también la densidad de *D. geminata* en la muestra respecto de la proporción de ellas que estaba viva antes del procedimiento de digestión.

Posteriormente, se obtuvieron preparados permanentes de cada muestra recolectada en terreno, en los que se realizaron los recuentos correspondientes. La obtención de preparados permanentes se realiza a través de un tratamiento químico previo para la eliminación de materia orgánica. Este tratamiento es crucial para la correcta observación microscópica de los caracteres de importancia taxonómica en diatomeas, así como el montaje de la muestra con resina de índice de refracción 1,7. Esto, debido a que la taxonomía de diatomeas se basa en caracteres morfológicos del frústulo, los que no son observables con la metodología utilizada para el análisis de fitoplancton, así como tampoco es posible realizar este procedimiento de identificación a nivel de especie con un microscopio con un aumento inferior a 1000x.

El detalle de la metodología a aplicar en las actividades de preparación, análisis e identificación taxonómica de diatomeas, se detalla en el protocolo "Protocolo para el análisis de diatomeas en sistemas lóticos chilenos" (Díaz, 2010) y en el Manual de SUBPESCA (Díaz *et al.*, 2012), ambos elaborados por la especialista en diatomeas de aguas continentales de este proyecto.

En cada preparado permanente se hizo 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). Las muestras fueron analizadas en los laboratorios de AMAKAIK, utilizando microscopios Axisostar II Plus, Zeiss, que cuentan con conexión a un sistema de captura (Canon EOS) y análisis digital de imágenes (AxioVision, Zeiss), para una adecuada determinación taxonómica de los ejemplares. Este instrumental y la metodología de

análisis, incluyendo los criterios y bibliografía utilizada para la determinación taxonómica, también se encuentran descritos en el protocolo ya mencionado.

Macroinvertebrados Bentónicos

Para la extracción de la muestra de macroinvertebrados bentónicos se utilizó una red Surber de 250 μm de abertura de malla, con un área de muestreo de 30 x 30 cm. El muestreo se realizó situando la red en contra de la corriente y las muestras fueron obtenidas lavando sustrato rocoso bentónico dentro del área especificada, de manera que su contenido vaya hacia el interior de la red que contiene un colector en su extremo inferior. La muestra colectada fue almacenada en un frasco plástico debidamente etiquetado (etiquetas resistentes al agua para evitar confusión del material colectado). Las muestras fueron preservadas en alcohol al 96% (Pardo *et al.*, 2010; Palma, 2013) para la posterior identificación taxonómica de los individuos en los laboratorios de AMAKAIK en Santiago. Para ello se utilizó una lupa estereoscópica de aumento máximo de 40X y fueron identificados taxonómicamente hasta nivel de familia siguiendo el protocolo definido por Pardo *et al.* (2010).

Microalgas planctónicas

Para la obtención de la muestra planctónica, 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 200 μm ubicada en la abertura del cono evita que partículas de gran tamaño perjudiquen la obtención de la muestra planctónica. La red fue suspendida durante 10 minutos, sugeridos por NIWA (Kilroy & Dale, 2006 y Díaz *et al.*, 2012). Ésta se fija a un vástago quedando a una profundidad tal que queda completamente sumergida, pero no en contacto con el fondo, para que los sedimentos no ingresen a la muestra y perjudiquen el proceso de obtención y luego de análisis de ella (Figura 2). El material recolectado se vierte en un frasco, el que luego es debidamente tapado, sellado, etiquetado (etiquetas resistentes al agua), y fijado con lugol como se indicó previamente, para ser transportado a los laboratorios de AMAKAIK en Santiago, donde son almacenados.

Cabe señalar que en este proyecto la muestra planctónica sólo tiene un carácter diagnóstico para determinar la presencia/ausencia de Didymo aguas arriba del punto de muestreo. Este cambio, respecto de la metodología indicada en el manual, fue debidamente justificado en el Informe Final del Proyecto SUBPESCA 2012, señalando como principal razón que la comunidad de microalgas caracterizada en la muestra no necesariamente coexiste con *Didymosphenia geminata*, por lo que es imposible establecer cualquier asociación entre la presencia de la especie plaga y el resto de la comunidad planctónica. De esta manera, se analizó una alícuota de cada muestra durante el desarrollo de la campaña de muestreo, sólo cualitativamente, junto con las muestras de perifiton que fueron analizadas con el mismo objetivo, resultados que fueron reportados periódicamente a SUBPESCA. Así, una alícuota fue analizada con aumento de 400X para identificación de células de *Didymosphenia geminata* y registro fotográfico de los ejemplares, utilizando microscopios Axisostar II Plus, Zeiss, que cuentan con conexión a un sistema de captura (Canon EOS) y análisis digital de imágenes (AxioVision, Zeiss).

Análisis químicos de muestras de agua

Las muestras fueron enviadas a los laboratorios de ANAM, en Puerto Montt. Las metodologías de análisis empleadas por ANAM son de acuerdo al SM= "Standard Methods for Examination of Water & Wastewater" APHA, AWWA, WEF, 21th ED., 2005. La metodología y el respectivo límite de detección de cada analito se señalan en la tabla 3. Fósforo orgánico, fósforo inorgánico y fosfato orgánico son estimados a partir de los datos de laboratorio obtenidos para fosfato inorgánico y fósforo total utilizando pesos moleculares de ambas moléculas (SUBPESCA/Amakaik-Ecohyd, 2012).

Tabla 3. Listado de variables químicas analizadas en las regiones de Bío-Bío, La Araucanía y Los Ríos para el muestreo FIP de *Didymosphenia geminata*.

Componentes	Análisis	Límite de detección mg/L
Calcio Total	SM 3120B (2005)	1.78
Fósforo Total (P)	SM 4500-P E(2005)	0.0004
Fosfato Inorgánico (PO4-)	SM 4500-P E (2005)	0.001
Hierro total (Fe)	SM 3120 B (2005)	0.02
Nitrato (N-NO3-)	SM 4110B (2005)	0.046
Nitrito (N-NO2-)	SM 4110B (2005)	0.009
Sílice Total (SiO2)	SM 4500-SiO2 C(2005)	0.2

Fuente: Laboratorio ANAM.

Adicionalmente, ANAM participa de manera regular en programas de intercomparación nacionales e internacionales, permitiendo a sus clientes asegurar la competencia profesional bajo estándares reconocidos en el mundo (fuente: <https://www.anam.cl/certificaciones>).

Cartografía

Con los resultados se generaron mapas por sector representativo que señalan todos los puntos de muestreo, tanto de proyectos previos como los actuales, representando en distintos colores y con distinta simbología la presencia y ausencia de *D. geminata*.

Toda la información generada se adjunta en mapas con formato proyecto de ArcGis (mxd) y en formato JPG. Las coberturas fueron generadas en función del protocolo de productos cartográficos del Anexo 11. Cada una de estas coberturas digitales se adjunta en formato KML, las que pueden ser visualizadas mediante el Servicio de imágenes del planeta Google Earth™.

Determinación de variables indirectas

La metodología de determinación de variables indirectas se subdivide en dos secciones, variables hidrológicas y variables geográficas. Ambas se presentan a continuación:

Determinación de variables hidrológicas

Para realizar el análisis hidrológico fue necesario utilizar las variables fluviométricas de la red DGA, debido a que en los puntos de muestreo no se cuenta con información de caudales históricos.

- Selección de estaciones fluviométricas

Se realizó la selección de las estaciones fluviométricas más representativas para cada estación de muestreo. Para lo cual se utilizaron los siguientes criterios:

- Vigencia: se utilizaron aquellas que se encontraran vigentes al momento de realizar el estudio.
- Pertenencia al río: se asoció una estación fluviométrica al punto de muestreo siempre y cuando ambos pertenecieran al mismo río. En caso de no existir estación fluviométrica en el río a estudiar, se descartó realizar el análisis hidrológico dado la variabilidad existente entre un río y otro.
- Tipo de régimen hidrológico: se descartó asociar estación fluviométrica a puntos de muestreo en cuyos tramos existieran afluentes de importancia y cuyo régimen hidrológico fuera distinto al del punto de muestreo a simple vista.

- Análisis Hidrológico

El análisis hidrológico se desarrolló en dos etapas. Primero se realizó un análisis de consistencia de datos y luego un análisis estadístico. Estas etapas se describen a continuación:

- Análisis de Consistencia

Primero se asignó a cada estación en estudio una estación de apoyo, la que se utilizó para realizar el de consistencia de datos para corroborar y mejorar la calidad de los registros

fluviométricos a los que se asociaron los puntos de muestreo. Se seleccionaron estaciones de apoyo que tuvieran un régimen similar a la estación en estudio y que además tuvieran una longitud de registro comparable. La consistencia de los datos se verificó con un análisis de curvas de doble masa (James y Clayton, 1960). Finalmente se realizaron correlaciones lineales entre ambas estaciones para obtener una ecuación de regresión con la que se rellenaron datos faltantes.

- Tratamiento estadístico

Una vez que se completaron los registros fluviométricos válidos para las estaciones seleccionadas, se obtuvieron los promedios mensuales para cada año, seleccionando sólo aquellos meses con un registro igual o superior a veinte días. Aquellos meses en los cuales no se cumplía esta condición se excluyeron del análisis. Luego se ajustó los datos a una función de probabilidad de uso común en hidrología (Normal, Log. Normal, Gamma, Weibull, Gumbel, Log. Pearson Tipo III y General Extreme Value), eligiendo aquella que se ajustara mejor a los datos según un test de Chi Cuadrado.

Con cada mes ajustado a una función de probabilidad, se construyeron las curvas de variación estacional de caudales (CVE), con probabilidades de excedencia de 5%, 10%, 15%, 50%, 80%, 90% y 95%. Los ajustes a funciones de probabilidad y las curvas de variación estacional se realizaron en el software R versión 3.0.2 (R Core Team, 2013).

Una vez realizadas las CVE, éstas se estandarizaron dividiendo cada valor por la media anual del percentil 50, con el objetivo de poder obtener una relación cuantitativa que permita poder comparar la información obtenida.

Por último se obtuvieron los máximos y mínimos caudales diarios por año y respectivo período de ocurrencia (meses que acumulan la mayor frecuencia de estos valores extremos).

Determinación de variables geográficas

Se seleccionaron variables de importancia para estudiar su relación con Didymo. Estas son: distancia a lago, volcanes, caminos, orden de Strahler y altitud del punto de muestreo.

Las consideraciones tomadas en la selección de dichos parámetros fueron las siguientes:

- Distancia a lago: se consideró la menor distancia entre el punto de muestreo y el lago más cercano, que tuviera desagüe directo a éste o a un afluente de importancia.
- Distancia a volcanes: se consideró la distancia entre el punto de muestreo y el volcán más cercano que tuviera influencia directa en el régimen del río (aporte directo al río o a un afluente de importancia).
- Distancia a caminos: se consideró la menor distancia entre el punto de muestreo y el camino más cercano.
- Orden de Strahler: método que jerarquiza la red de drenaje, mediante la asignación de números enteros a la red fluvial en función de los afluentes que llegan al punto de interés (Strahler, 1957).
- Altitud: cota geográfica del punto de muestreo, medida en metros sobre el nivel del mar (m.s.n.m).

La información geográfica e hidrológica obtenida es transversal a la campaña de muestreo, debido a que caracteriza los sitios en función de variables que cambian a escala temporal geológica.

Análisis estadístico

Previo al análisis estadístico, se realizó la depuración de la base de datos para dar valor numérico a datos bajo el límite de detección. Dada la poca cantidad de réplicas por sitio, el mejor método para asignar un valor a estos datos es otorgar el valor medio entre 0 y el límite de detección. Si bien, no es el método más recomendado, es el óptimo en esta situación (Helsel & Cohn, 1988). Los valores sobre el máximo de detección, en dos mediciones de velocidad de flujo, fueron llevados al valor máximo.

En primer lugar, se realizó un tratamiento estadístico orientado hacia la descripción y resumen de los resultados preliminares, utilizando diferentes parámetros estadísticos y gráficas generales.

Los resultados para la caracterización de los sitios de muestreo realizada *in situ* fue transformada y graficada en porcentajes, logrando obtener un resumen de la condición general de los sitios de muestreo. Por otro lado, los parámetros físico-químicos obtenidos *in situ* y en laboratorio son presentados por medio de graficas de torta e histogramas de frecuencia. Dada las diferentes frecuencias de muestreos para sitios en presencia/ausencia de Didymo, los histogramas son graficados en diferentes escalas, optimizando la interpretación del resultado respecto del patrón obtenido.

El boxplot, gráfica utilizada para mostrar gran parte de nuestros resultados, se basa en cuartiles. Éste contiene información sobre la simetría de la distribución y permite definir el concepto de datos atípicos. El diagrama se construye dibujando un rectángulo, cuyos lados pasan por el primer y el tercer cuartil, con una línea vertical a la altura de la mediana. Finalmente se trazan los "bigotes" del diagrama que consisten en segmentos dibujados desde cada lado de la caja hasta el dato más extremo que aparezca entre el tercer o primer cuartil, y 1.5 veces el rango intercuartil. Las observaciones que están fuera de los bigotes se denominan datos atípicos. Para mejorar la comprensión de los boxplot, se agregaron líneas horizontales que señalan la media de todos los datos graficados y/o el límite de detección. El uso de estas líneas se detalla al pie de cada figura.

Con las matrices de densidad resultantes del recuento de muestras biológicas, se calcularon los índices comunitarios de diversidad de Shannon-Wiener y de equitatividad o Evenness. Además, por sitio, se estiman las densidades relativas para cada muestra biológica, presentando esta información por medio de histogramas y boxplots.

La matriz completa de datos fue utilizada para análisis estadísticos, asumiendo cada muestreo de un mismo sitio como dato independiente, aumentando las réplicas dentro de los análisis

estadísticos. A pesar de que no se detectó *D. geminata* a nivel microscópico en todos los sitios muestreados en otoño que previamente se habían declarados como invadidos, los datos de ambas campañas fueron incorporados a los análisis como positivos para Didymo, asumiendo que, una vez invadido, el sitio cuenta con las condiciones ideales para su establecimiento, y su presencia es estos sitios en menor a la que podemos detectar (0.007 cel/mm^2).

Los objetivos específicos de este capítulo fueron agrupados para mejorar los análisis estadísticos.

- Objetivos específicos 1 y 2: "Determinar el desarrollo o evolución de la plaga en cuencas positivas seleccionadas" y "Prospectar la presencia/ausencia de *Didymosphenia geminata* en río pertenecientes a subcuencas no consideradas en estudios anteriores".

En primer lugar, para evaluar el avance de la plaga por cuenca, se cuantifica la cantidad de nuevos sitios positivos, exhibiendo tablas resumen y los mapas respectivos, interpretando estos resultados tanto a nivel temporal como espacial. En segundo lugar, se determinó la evolución de Didymo en los sitios contaminados, estimando las diferencias en la densidad celular, la cobertura y extensión de mucilago entre las campañas primavera-otoño, determinando el aumento, mantención o disminución de la plaga.

- Objetivo específico 3: "Caracterizar los parámetros físicos y químicos en cada río estudiado y efectuar su análisis para determinar asociación con *Didymosphenia geminata*".

Para la caracterización general de las características físico-químicas de los sitios muestreados, se realizaron boxplot y gráficas de barras para todas las variables obtenidas. Además, se realizaron análisis según presencia/ausencia y densidad celular (cel/mm^2) de *D. geminata*.

Para establecer relaciones significativas entre los datos a escala geográfica (cuenca, estación del año muestreada, geología del suelo, etc.) y los parámetros físico-químicos muestreados, se ejecutó el Procedimiento de Respuesta Múltiple con Permutación (MRPP), el que proporciona

un test para determinar si existe diferencia significativa entre dos o más grupos de unidades de muestreo en función de una matriz de datos multivariados (Warton *et al.*, 2012), determinando si estos parámetros dependen, y en qué medida, de las características físicas del sector de muestreo. Este test nos proporciona dos indicadores, p-value, que indica si los grupos determinan diferencias significativas, y A (entre 1 y 0), el que indica la dispersión de los datos dentro de los grupos establecidos, por ejemplo, 1 si todos son exactamente iguales, o 0 si su dispersión es igual a la esperada por azar. De este forma, se deben observar ambos indicadores para determinar la validez del test. Se realizó el test para todas las variables geográficas categóricas utilizando los datos químicos *in situ* y los datos químicos completos (*in situ* y laboratorio). Dado que ninguna condición física estableció grupos significativos y lejanos del azar para ningún set de datos químicos, el resto de los análisis consideró datos químicos y físicos de manera independiente.

Para evaluar si las variables geográficas, físicas y químicas pueden o no determinar la presencia de Didymo, se realizaron análisis lineales discriminantes (LDA) con distintos set de datos. Este test genera ejes multivariados que maximizan la diferenciación entre grupos, en nuestro caso, presencia o ausencia de Didymo (Venables & Ripley, 2002). Para validar la capacidad predictiva de los LDA generados, se estimaron indicadores AUC de área bajo la curva, el cual nos indica la capacidad predictora de un modelo de dos categorías a través de la cantidad de aciertos y erróneos predichos (Hand, 2009). AUC igual a 1 indica predicción perfecta, AUC igual a 0.5 indica predicción similar al azar, siendo poco válido el modelo.

Por otra parte, se realizó un análisis de la variación estacional de *D. geminata* y los parámetros físico-químicos, el que contempla dos aspectos. Por una parte, se estudia la variación de la densidad celular de *D. geminata*, cobertura y espesor algal obtenidos en ambas campañas de terreno (primavera: 14 de noviembre al 13 de diciembre del 2013 y otoño: 7 al 30 de mayo del 2014). Por otra parte, se analiza la variación de los parámetros físico-químicos determinando una posible agrupación estacional de los sitios muestreados.

Para ello, se realizó una comparación de la densidad celular de *D. geminata* entre ambas campañas de muestreo mediante un análisis de varianza (ANOVA), previa transformación de los datos. De la base de datos general, se consideraron solo aquellos puntos de muestreo en los que se detectaron células viables de *D. geminata* en la campaña de primavera, totalizando 20 puntos de muestreo. Para efectos del análisis, los datos de densidad que resultaron nulos durante la campaña de invierno se reemplazaron por límite de detección (0,007cel/mm²). Este valor corresponde al mínimo valor de densidad, de cualquier microalga, registrado en las campañas realizadas por AMAKAIK.

A su vez, los valores de cobertura y espesor se reclasificaron para respetar un orden lógico y jerárquico, como se muestran en la Tabla 4.

Tabla 4. Reclasificación de los rangos de espesor y coberturas según las categorías establecidos en los muestreos

Espesor	Reclasificación	Cobertura	Reclasificación
1: Inicial	1	1: Pequeñas colonias	1
2: Mediana	2	2: Mediana	2
3: Alta	3	3: Alta	3
4: Ausente	0	4: Muy alta	4
		5: Ausente	0

Los datos empleados para realizar el análisis de muestreo en la Tabla 5.

Tabla 5. Datos de densidad, cobertura y espesor obtenidos en las campañas de primavera y otoño asociados a su respectivo punto de muestreo.

Código punto de muestreo	Densidad (cel/ mm ²)		Cobertura		Espesor	
	Primavera	Otoño	Primavera	Otoño	Primavera	Otoño
AMK-HUAHUM1	108.80	190.400	4	3	3	3
AMK-HUAHUM2	70.69	53.760	4	2	3	2
AMK-FUY2	130.67	0.311	2	2	2	2
AMK-FUY1	0.74	0.185	0	0	0	0
AMK-LLANQHUE1	87.83	0.007	2	0	2	0
AMK-LLANQHUE2	69.67	0.007	4	0	3	0

Código punto de muestreo	Densidad (cel/ mm ²)		Cobertura		Espesor	
	Primavera	Otoño	Primavera	Otoño	Primavera	Otoño
AMK-ENCO1	22.05	0.007	1	0	1	0
AMK-ENCO2	24.89	0.007	4	0	2	0
AMK-SANPEDRO2	132.69	0.007	4	0	3	0
F-RPUCONBALSA	67.20	0.007	1	0	1	0
AMK-BIOBIO1	4.80	0.007	1	2	1	2
AMK-BIOBIO2B	8.75	229.744	1	1	2	1
PUNTOX-SERNAP	5.23	0.652	1	1	1	1
TALLON-SERNAP	1.53	8.711	4	1	3	1
F-LOLEN-SERNAP	130.00	0.007	4	2	3	2
AMK-SERNAPLQM	12.13	0.007	2	1	2	2
AMK-BALSRAHA	16.00	6.400	4	0	3	0
AMK-SERNAP2BC	24.65	5.393	4	0	3	0
PUNTO5-SERNAP	667.80	7.040	3	0	2	0
F-AMK-BIOBIO2	100.80	19.200	4	3	3	2

La variación temporal se entiende como la diferencia evidenciada en la densidad (Ecuación 1), cobertura (Ecuación 2) y espesor (Ecuación 3), en cada punto de muestreo, entre ambas campañas.

$$\Delta d = dp - do$$

Ecuación 1

Donde:

Δd es el delta de la densidad de *D. geminata* (cel/mm²) entre las campañas inicial y final.

dp es la densidad de *D.geminata* obtenida en primavera (cel/mm²).

do es la densidad de *D.geminata* obtenida en otoño (cel/mm²).

$$\Delta c = cp - co$$

Ecuación 2

Donde:

Δc es el delta de la cobertura algal.

cp es el valor de la cobertura algal obtenido en primavera.

co es el valor de la cobertura algal obtenido en otoño.

$$\Delta e = ep - eo$$

Ecuación 3

Donde:

Δe es el delta del espesor algal.

ep es el valor del espesor algal obtenido en primavera.

eo es el valor del espesor algal obtenido en otoño.

El análisis se llevará a cabo con el apoyo de gráficos que indiquen las variaciones.

En cuanto al análisis de los parámetros físico-químicos, se consideraron datos *in situ* y en laboratorio (Tabla 6).

Tabla 6. Parámetros físico-químicos considerados para el análisis de variación estacional.

Parámetros	
Físico <i>in situ</i>	Temperatura del agua (°C)
	pH
	Conductividad eléctrica (uS/cm)
	Saturación de oxígeno (%)
Química laboratorio	Calcio (mg/L)
	Fosfato inorgánico (mg/L)
	Fósforo total (mg/L)
	Hierro (mg/L)
	Sílice (mg/L)

Para detectar posibles agrupaciones en los sitios de estudio, se realizó un PCA (Análisis de componente principales; Rodríguez, 2009), utilizando el paquete Ade4 del programa R Project

(3.1v). Este análisis agrupa los diferentes sitios de muestreo en función de su condición físico-química, permitiendo observar el nivel de similitud entre los puntos muestreados en la campaña primavera 2013 y otoño 2014. Gráficamente, los sitios fueron agrupados en los diferentes componentes en función de la campaña de muestreo, logrando observar el impacto de estas categorías en la diferenciación físico-química de los sitios.

- Objetivo específico 4: "Evaluar el impacto de *Didymosphenia geminata* sobre las comunidades de diatomeas bentónicas, perifiton y macroinvertebrados bentónicos."

En primer lugar, se muestran boxplot y análisis PCA para exponer los resultados por comunidad de manera exploratoria.

Para determinar diferencias significativas entre indicadores comunitarios de todas las comunidades, se realizaron ANOVAS de dos vías corregidos por permutaciones (Anderson & Legendre 1999), siendo una vía la presencia de Didymo, y la segunda vía la región del sitio o la estación del año.

Para determinar si la presencia de Didymo u otras variables categóricas físicas determinan cambios en las densidades de especies de cada comunidad, se realizaron test MRPP, señalado anteriormente.

Dada la importancia de los macroinvertebrados en este proyecto, por ser el primero en evaluar los potenciales impactos de *D. geminata* sobre las comunidades, se realizaron análisis en mayor profundidad que el resto de las comunidades biológicas. Con ello, se realizó un análisis de correspondencia canónica (CCA) con el objeto de determinar si *D. geminata* tiene algún efecto sobre la comunidad de macroinvertebrados.

En primera instancia, se elaboró una matriz de correlación en donde se incluyeron todas las variables ambientales tales como el grosor de Didymo y su densidad celular. La matriz reveló las variables con menor correlación entre sí, y aquellas más correlacionadas fueron eliminadas para evitar datos redundantes. Finalmente, el análisis de correlación se efectuó entre los datos

ecológicos de las comunidades de macroinvertebrados versus las variables del ambiente que resultaron más importantes (grosor y densidad de *D. geminata*, pH, conductividad eléctrica, oxígeno disuelto, saturación de oxígeno, temperatura del agua, fósforo orgánico, fósforo total, nitrato (NO₃), sílice (SiO₂), profundidad y velocidad de fondo).

- Objetivo específico 5: "Evaluar el mesohábitat de los puntos de muestreo, de modo de relacionar los microambientes con la presencia de Didymo."

Para determinar diferencias significativas entre indicadores comunitarios de perifiton, densidad celular de *Didymosphenia geminata* y cobertura mucosa por mesohábitat, se realizaron ANOVAS corregidos por permutaciones (Anderson & Legendre, 1999).

Para determinar si la presencia de Didymo o los mesohábitat determinan cambios en las densidades de especies de cada comunidad, se realizaron test MRPP evaluando cada agrupación.

RESULTADOS

A continuación se presentarán los resultados según los objetivos específicos correspondientes a este capítulo.

Objetivos específicos 1 y 2: "Determinar el desarrollo o evolución de la plaga en cuencas positivas seleccionadas" y "Prospectar la presencia/ausencia de *Didymosphenia geminata* en río pertenecientes a subcuencas no consideradas en estudios anteriores".

De un total de 92 sitios muestreados en la campaña de muestreo primavera 2013, 20 resultaron positivos para Didymo (Tabla 7), siendo las cuencas Bío-Bío (10), Toltén (1) y Valdivia (9) aquellas colonizadas por la plaga. En cuanto a la campaña de muestreo otoño 2014, 20 puntos presentaron Didymo en las cuencas Bío-Bío (11), Valdivia (8) y Bueno (1). Esta última no presentaba Didymo en muestreos de años anteriores.

Debido a problemas de acceso al punto F-TRIGUEN2 en la campaña otoño 2014, se añadió el punto de prospección AMK-DIGUI1 en la cuenca del río Itata. En esta cuenca no se detectó presencia de Didymo, siendo este el primer muestreo realizado en la zona (Figura 4). Se puede observar un rápido avance de la plaga en la cuenca del río Bío-Bío ya que en la campaña primavera 2013 se detectó presencia de Didymo en 5 puntos nuevos, a los que se añade un punto nuevo invadido según la campaña otoño 2014 (Figura 5). En la cuenca del río Imperial, a pesar de la gran cantidad de sitios prospectados/vigilados, no se detectó Didymo (Figura 6). La cuenca Toltén, invadida según el muestreo primavera 2013, no presentó Didymo en el muestreo otoño 2014 (Figura 7). En tanto, en la cuenca del río Valdivia, las nuevas presencias de Didymo se encuentran aguas arriba de sitios ya colonizados (Figura 8). Finalmente, la cuenca del río Bueno se encuentra invadida por Didymo en el punto AMK-CURRINE2 (Figura 9).

Un punto importante a mencionar es que de los 27 puntos prospectados en este estudio, sólo 2 presentaron Didymo, ambos pertenecientes a la subcuenca Río Bío-Bío entre Río Ránquil y Río Duqueco. Sumado a esto, 7 puntos de vigilancia (sitios que no habían registrado Didymo en

campañas previas) fueron positivos para Didymo por lo que, si bien hubo sitios previamente invadidos que no presentaron Didymo en la campaña de muestreo de otoño, se observa un avance de la plaga en esta zona (Tabla 7).

Tabla 7. Presencia de Didymo para campañas de muestreo SUBPESCA 2012-2013, campaña de muestreo FIP primavera 2013 y campaña de muestreo FIP otoño 2014 por cuenca y subcuenca.

Cuenca	Subcuenca	Campaña FIP primavera 2013, Presencia de Didymo													
		Prospección		NO		SI		NO		SI		NO		SI	
		NO	SI	NO	SI	NO	SI	NO	SI	NO	SI	NO	SI	NO	SI
Río Itata	Itata Medio	1		2											
	Ñuble Bajo			2											
	Río Itata Alto (hasta Río Diguillín)			2											
Río Bío-Bío	Laja Bajo			1											
	Río Bío-Bío Alto (hasta después junta Río Lamín)							2			4				5
	Río Bío-Bío entre Río Ránquil y Río Duqueco			4	1		1								
	Río Laja Alto (hasta bajo junta Río Rucue)			1											
Río Imperial	Cautín Alto (hasta antes junta R. Quepe)			3				2							
	Río Lumaco			1											
	Río Quepe			3											
Río Toltén	Lago Villarrica y Toltén Alto							4							
	Río Allipén							4							
	Río Pucón			1		1		6				1			
Río Valdivia	R. San Pedro (entre desagüe L. Panguipulli y Bajo R. Quinchilca)							6				1		1	1
	Río Cruces			2				2							
	Río Valdivia Alto (hasta desagüe Lago Panguipulli)							6			2			2	2
Río Bueno	Afluentes Lago Ranco							11	1						
	Río Bueno entre Lago Ranco y Río Pilmaiquén							2							
	Río Pilmaiquén			1											

Figura 4. Mapa de sitios muestreado en la cuenca del río Itata, región de Bío-Bío.

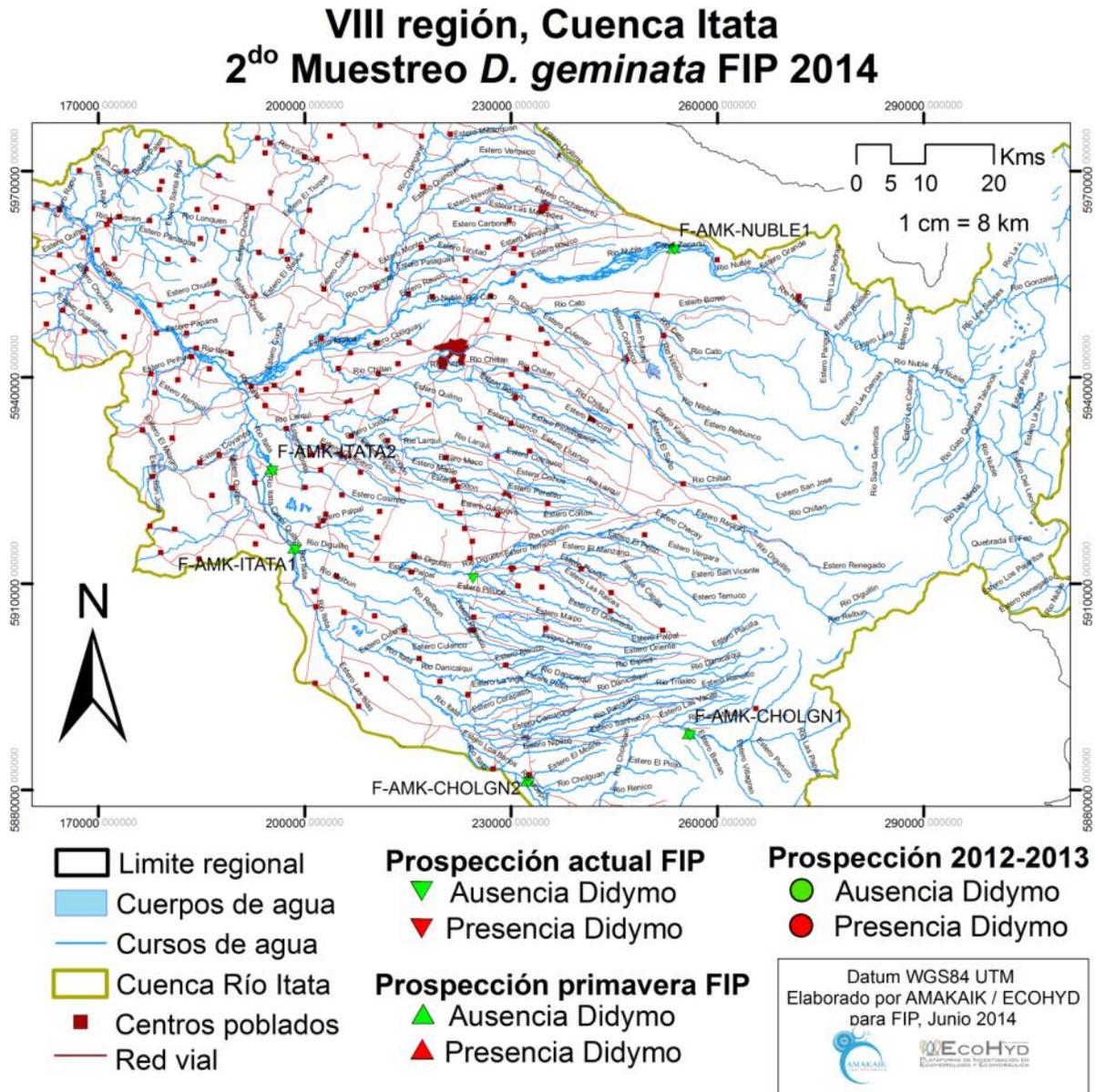


Figura 5. Mapa de sitios muestreados en la cuenca del río Bío-Bío, región del Bío-Bío.

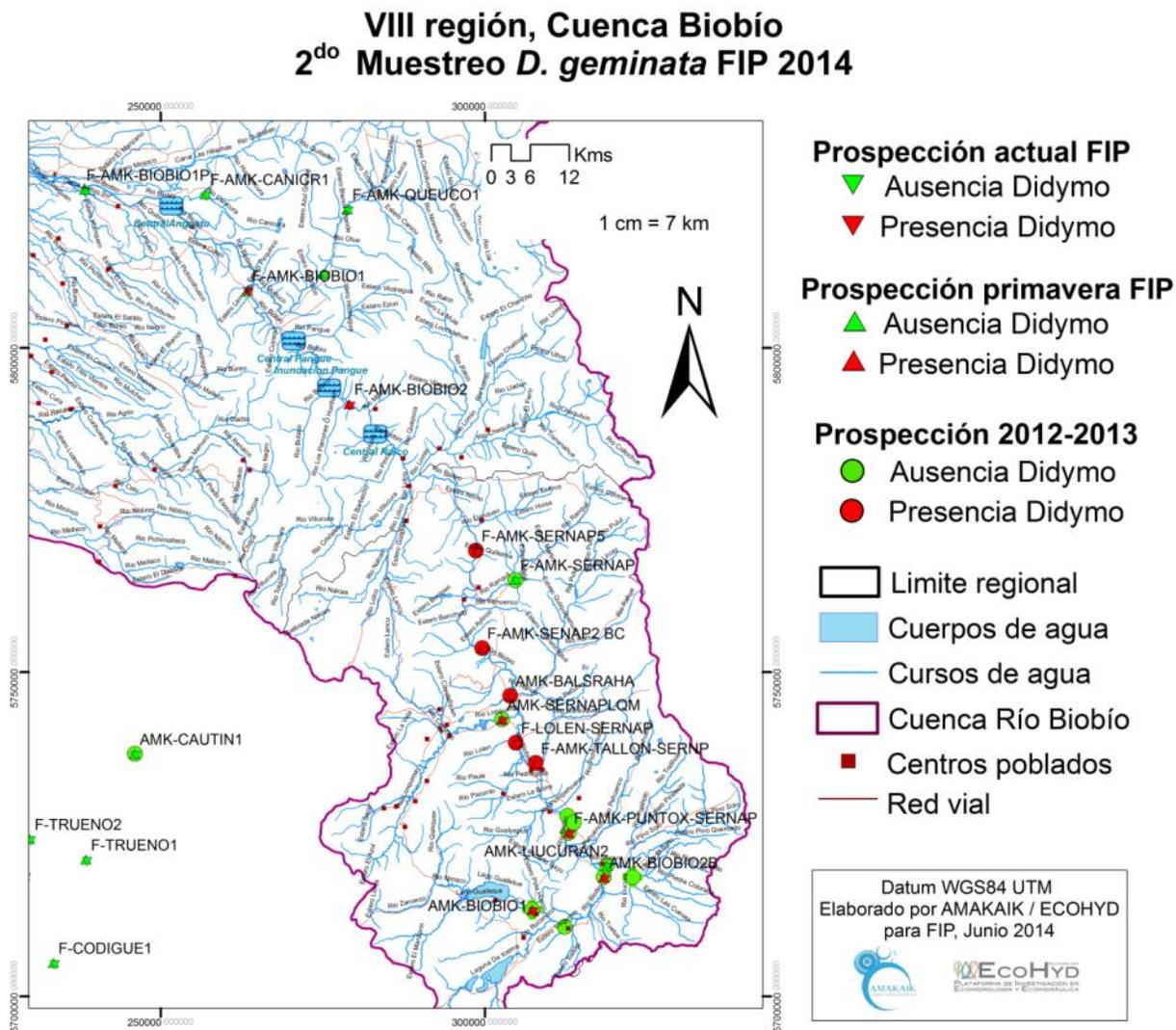


Figura 6. Mapa de sitios muestreados en la cuenca del río Imperial, región de la Araucanía.

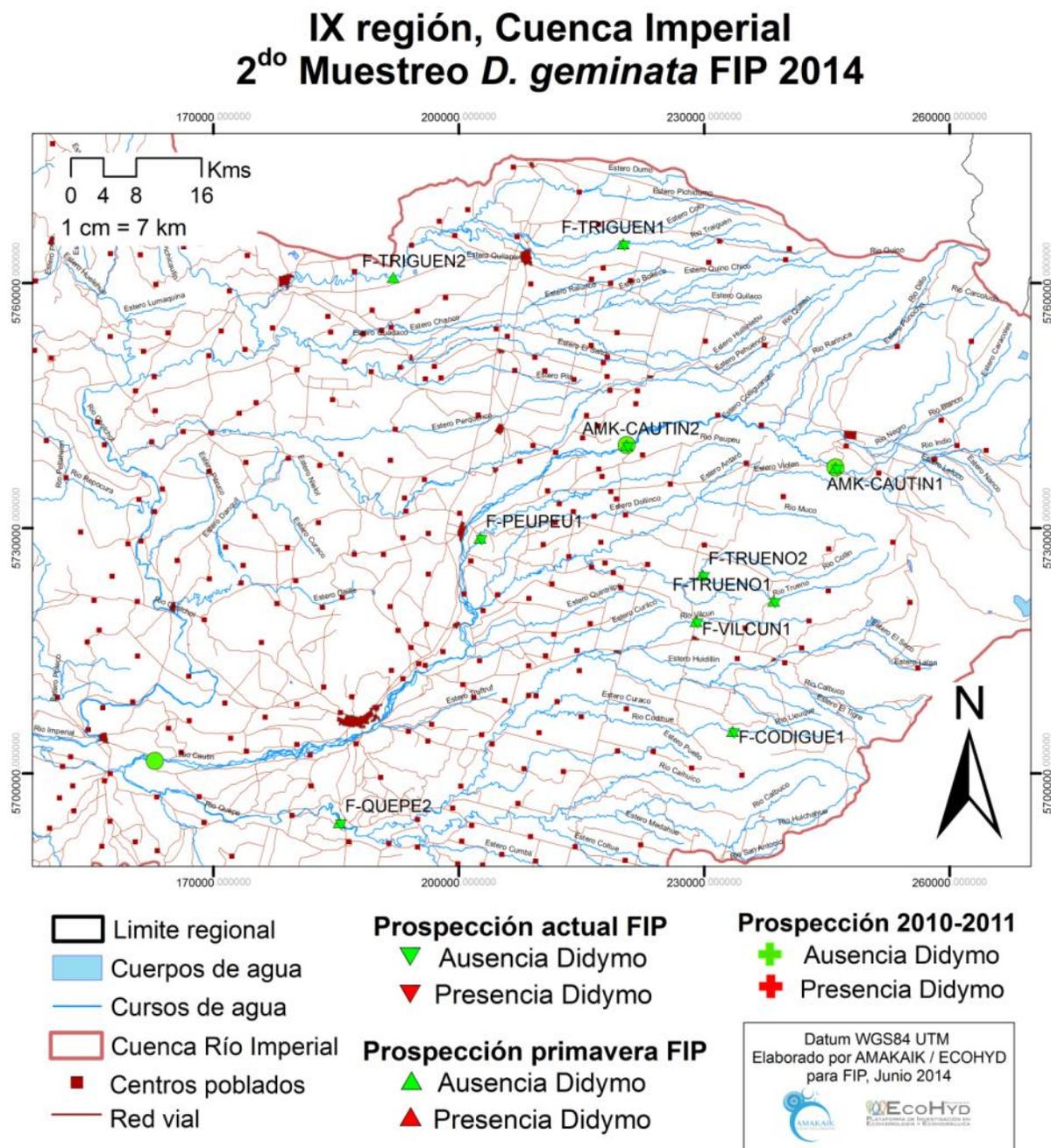


Figura 7. Mapa de sitios muestreados en la cuenca del río Toltén, región de Araucanía.

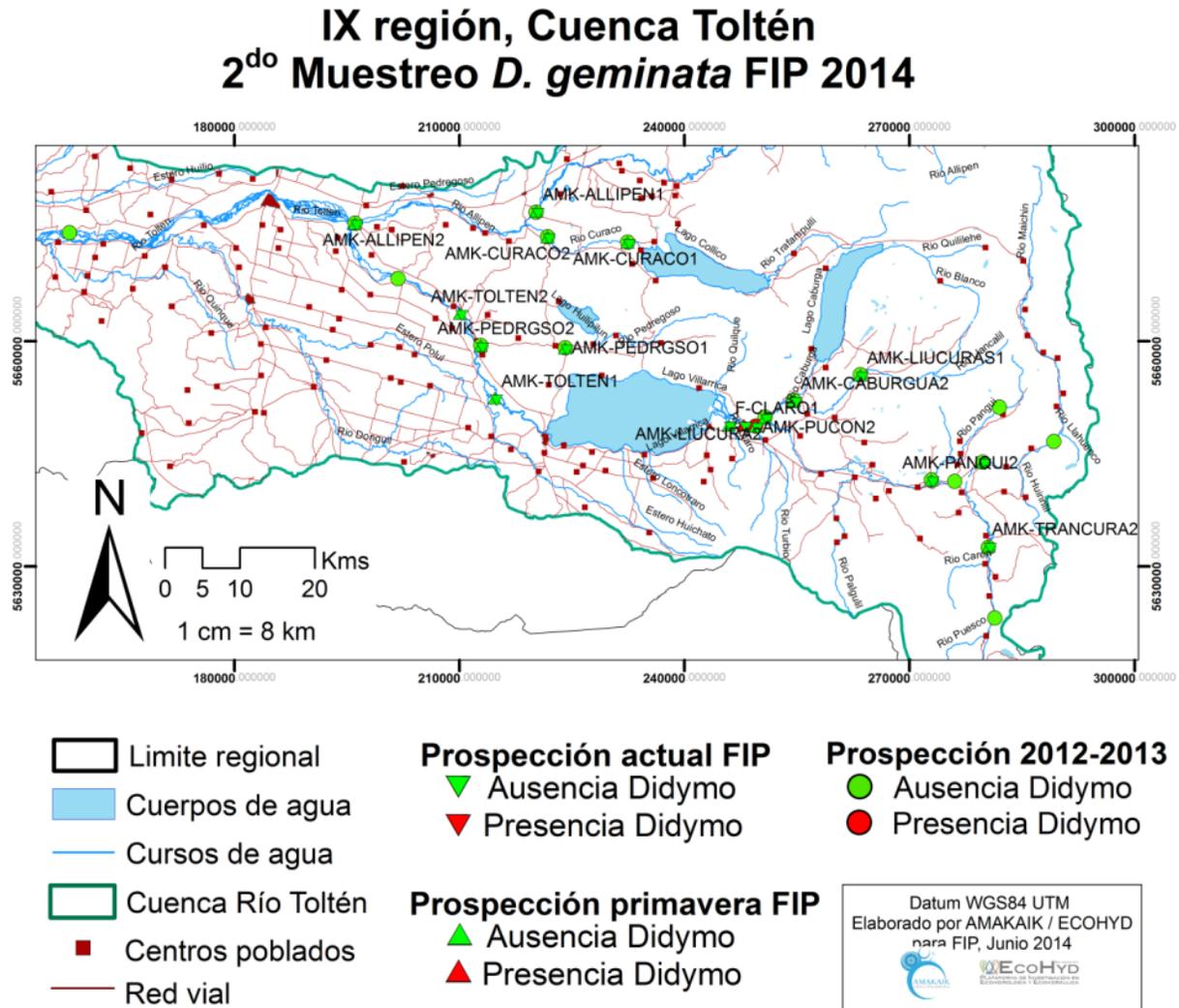


Figura 8. Mapa de sitios muestreados en la cuenca del río Valdivia, región de los Ríos.

XIV región, Cuenca Valdivia 2^{do} Muestreo *D. geminata* FIP 2014

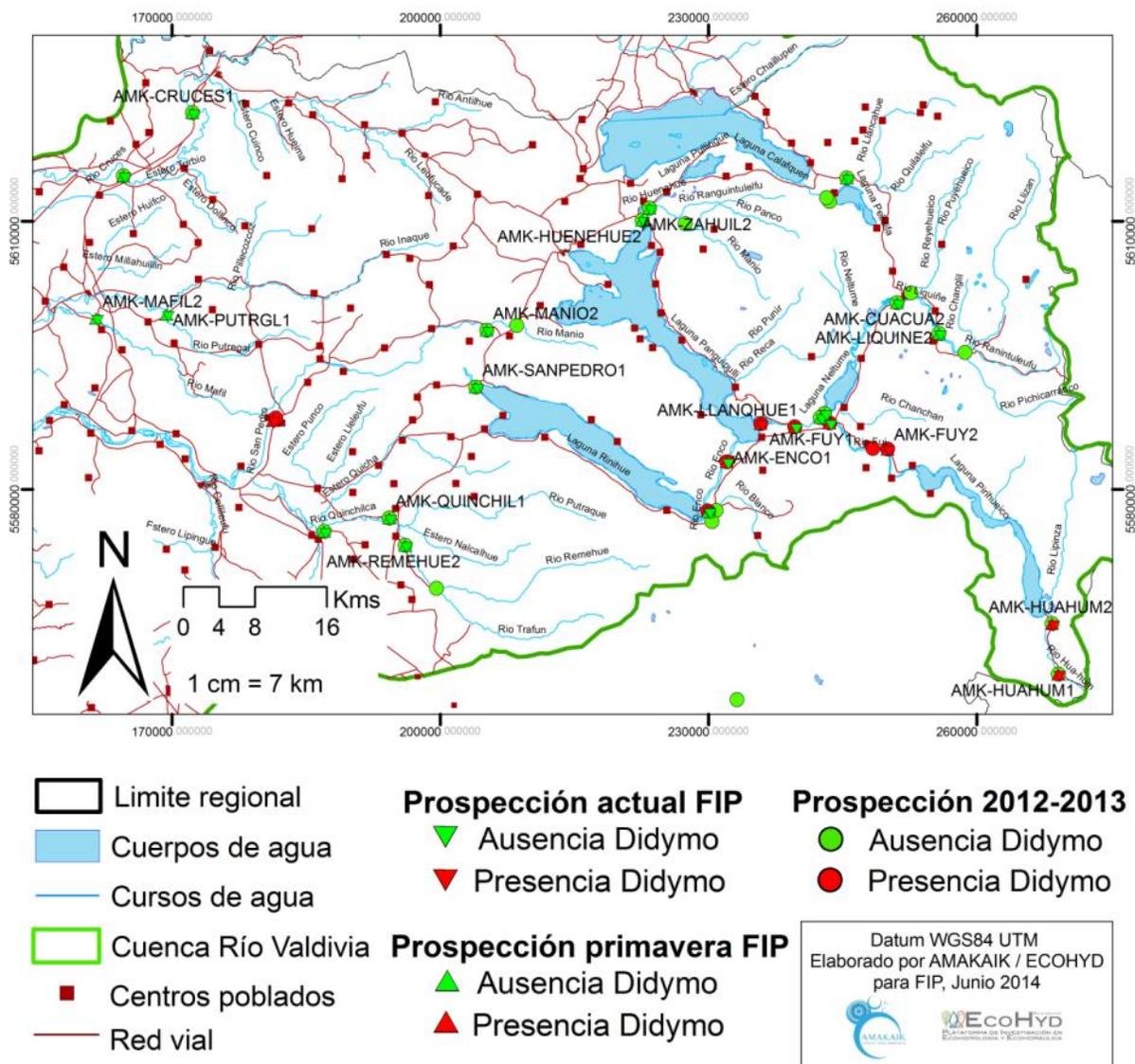
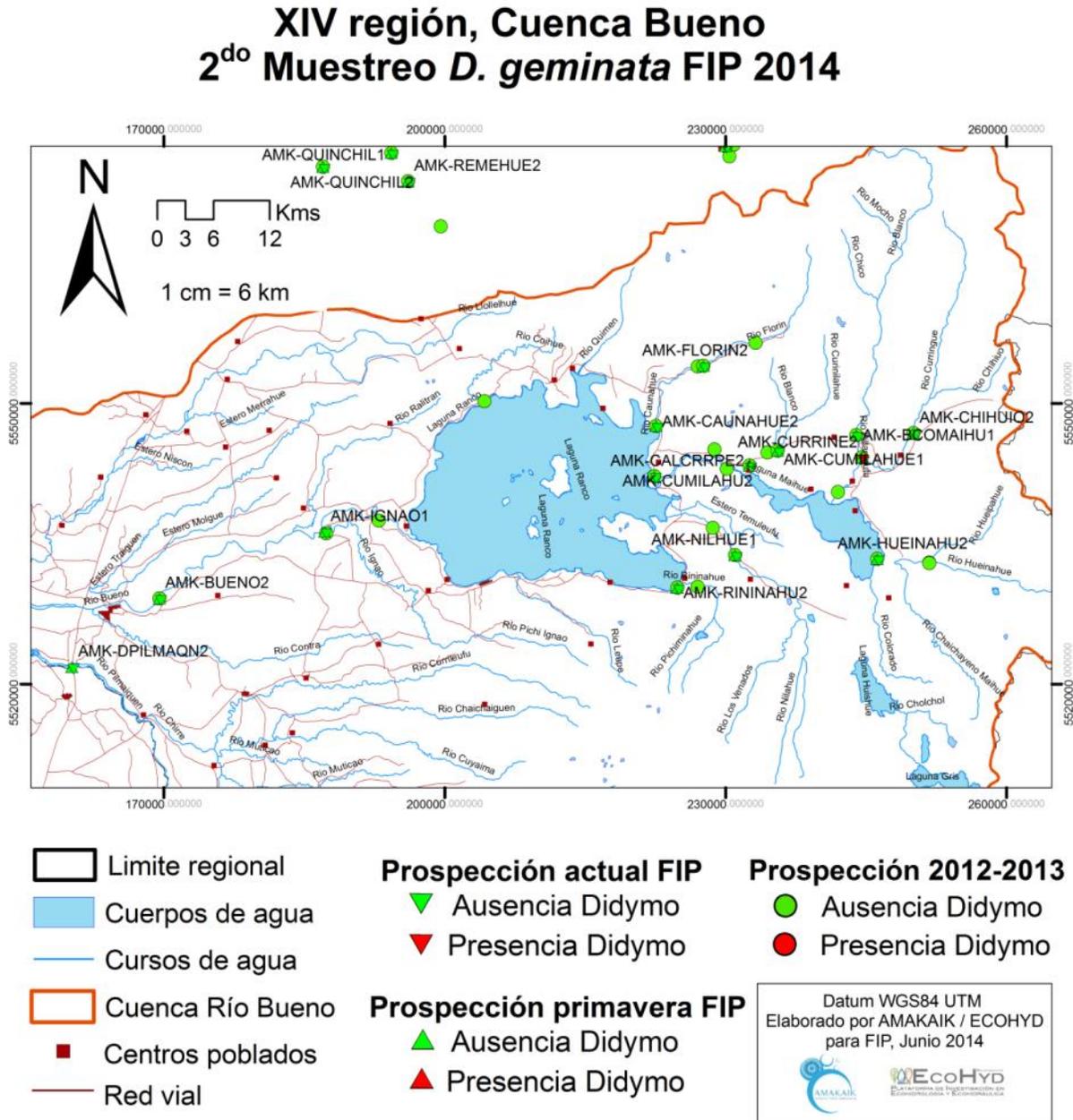


Figura 9. Mapa de sitios muestreados en la cuenca del río Bueno, región de los Ríos.



Objetivo específico 3: "Caracterizar los parámetros físicos y químicos en cada río estudiado y efectuar su análisis para determinar asociación con *Didymosphenia geminata*."

A continuación se presentan los resultados de la descripción de las variables físicas y químicas obtenidas en terreno, laboratorio y gabinete para ambas campañas de muestreo. Con ello, se consideran las variables físicas del entorno, parámetros físico químicos *in situ*, parámetros químicos, variables hidrológicas y variables geográficas. Además se evaluó la variación estacional de *Didymosphenia geminata*.

Observación de variables físicas del entorno

No se observaron mayores diferencias en las variables físicas evaluadas *in situ*, entre ambas campañas de muestreo (Figura 10, Figura 11 y Anexo 03). Alrededor del 70% de los sitios muestreados presentaron exposición completa del tramo y aguas transparentes. Por otra parte, más del 81% de los sitios presentaron aguas contaminadas, ya fuera con espumas, basura, descargas externas o material alóctono. Este último punto demuestra la fuerte presencia antrópica en los sitios muestreados, debido a la mayor densidad poblacional de las regiones seleccionadas para el muestreo. En la categoría "otros" se encuentran, en su mayoría, ríos de aguas limpias. Las condiciones meteorológicas entre campañas de muestreos difirieron de acuerdo a lo esperable por cambio de estación, presentando un 75% de sitios de muestreo con condiciones despejadas en la campaña de primavera 2013 y sólo un 31% en la campaña de otoño 2014.

Gran parte de los sitios se caracterizó por presentar tramos del tipo rabiones y pozas, mientras que los tramos como gradas, pozas y cascadas estuvieron menos representados (Figura 12, Figura 13). Por otro lado, el tipo de hábitat fue algo más variable, presentando mayormente sitios de hábitat rápido-profundo y rápido-somero. Con respecto a la forma del canal en que se ubicaron los sitios de muestreo, principalmente fueron de forma sinuosa. Lo anterior, concuerda con la mayor cantidad de tramos del tipo rabiones y pozas, ya que es habitual que estos tramos tengan formas sinuosas.

Figura 10. Observación *in situ* de variables físicas del entorno en la campaña de muestreo primavera 2013.

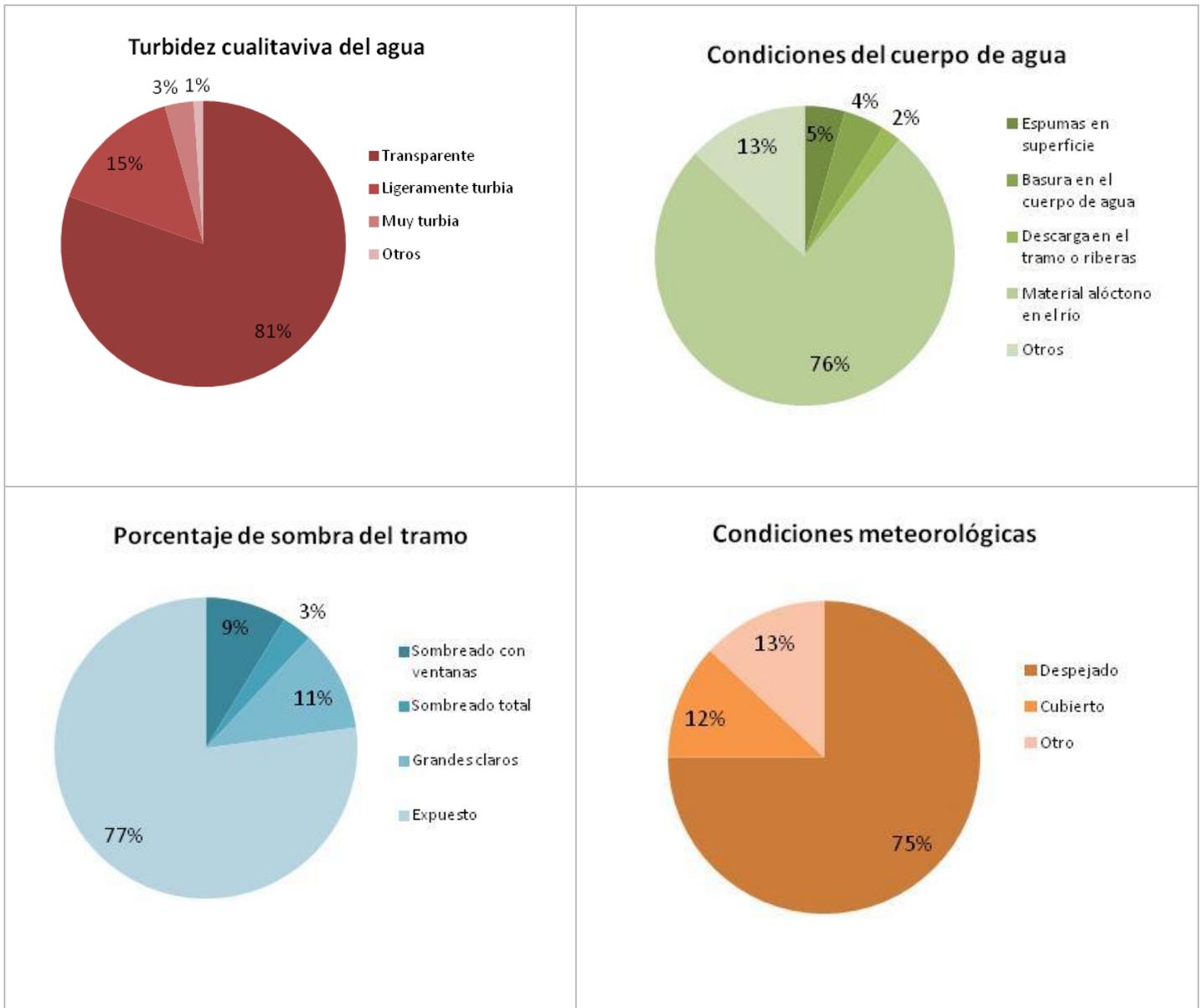


Figura 11. Observación *in situ* de variables físicas del entorno en la campaña de muestreo otoño 2014.

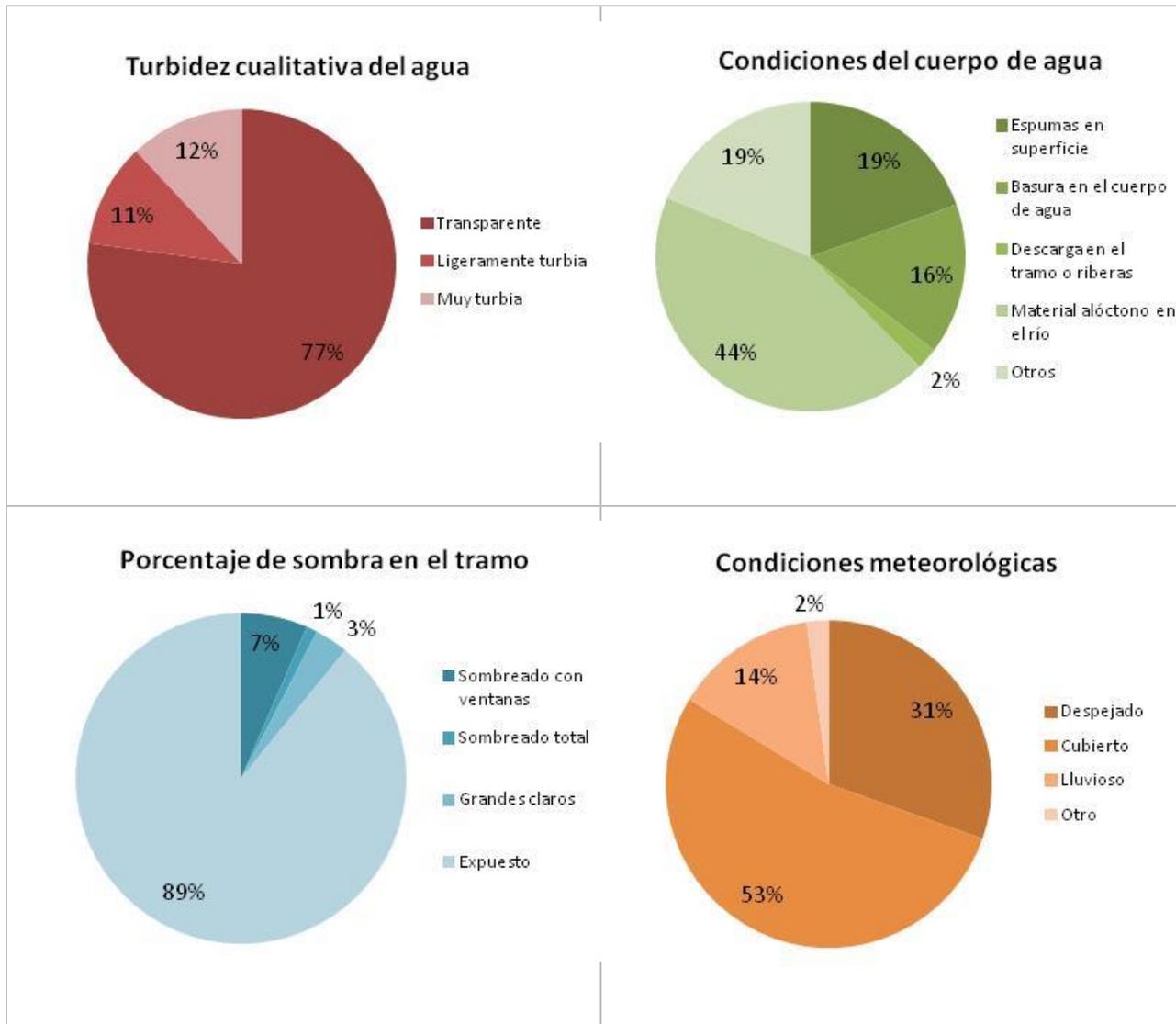


Figura 12. Caracterización *in situ* del tipo de tramo de río muestreado de la campaña de muestreo primavera 2013. Gráficos torta por ítem con porcentaje de sitios muestreados por categoría.

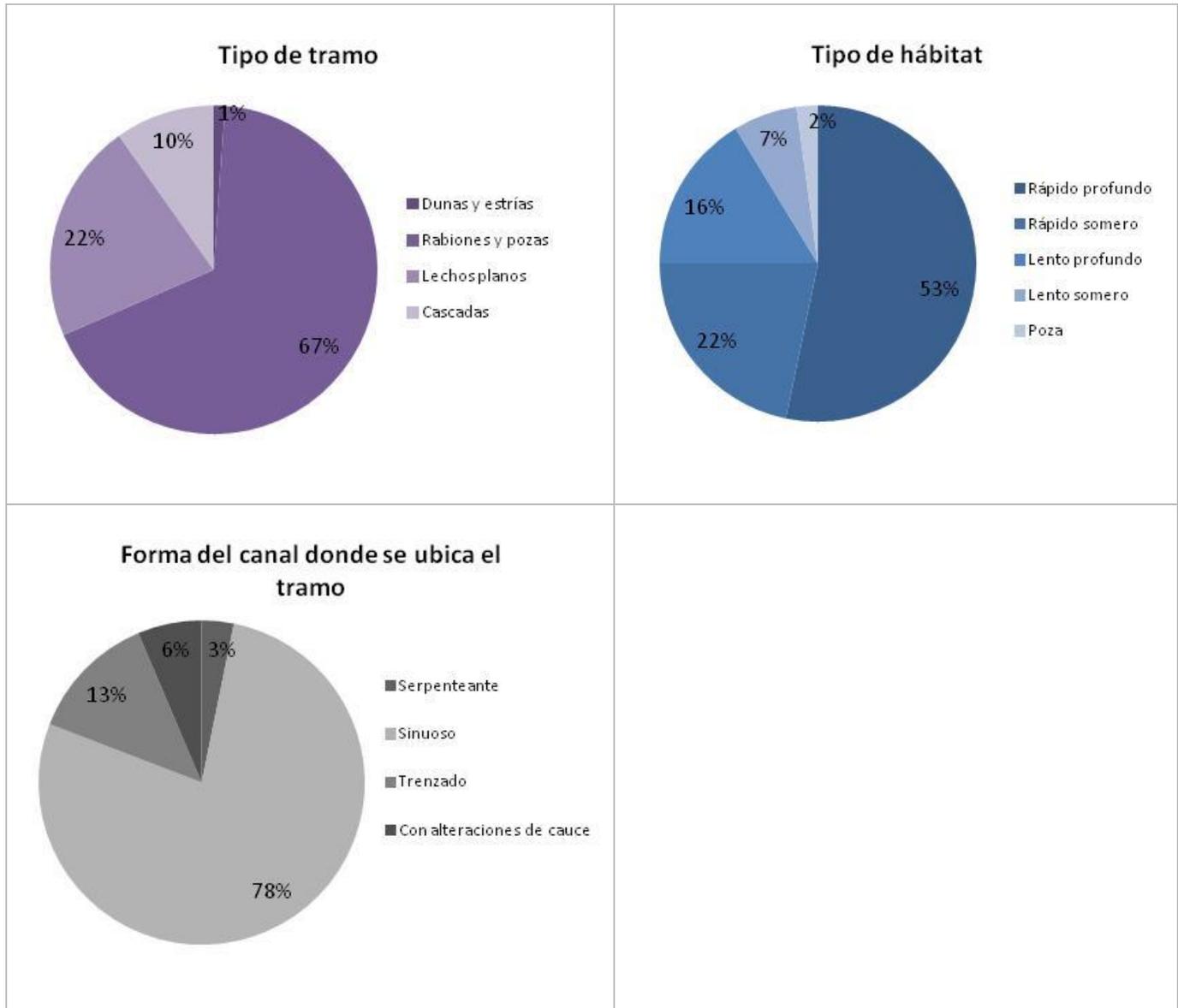
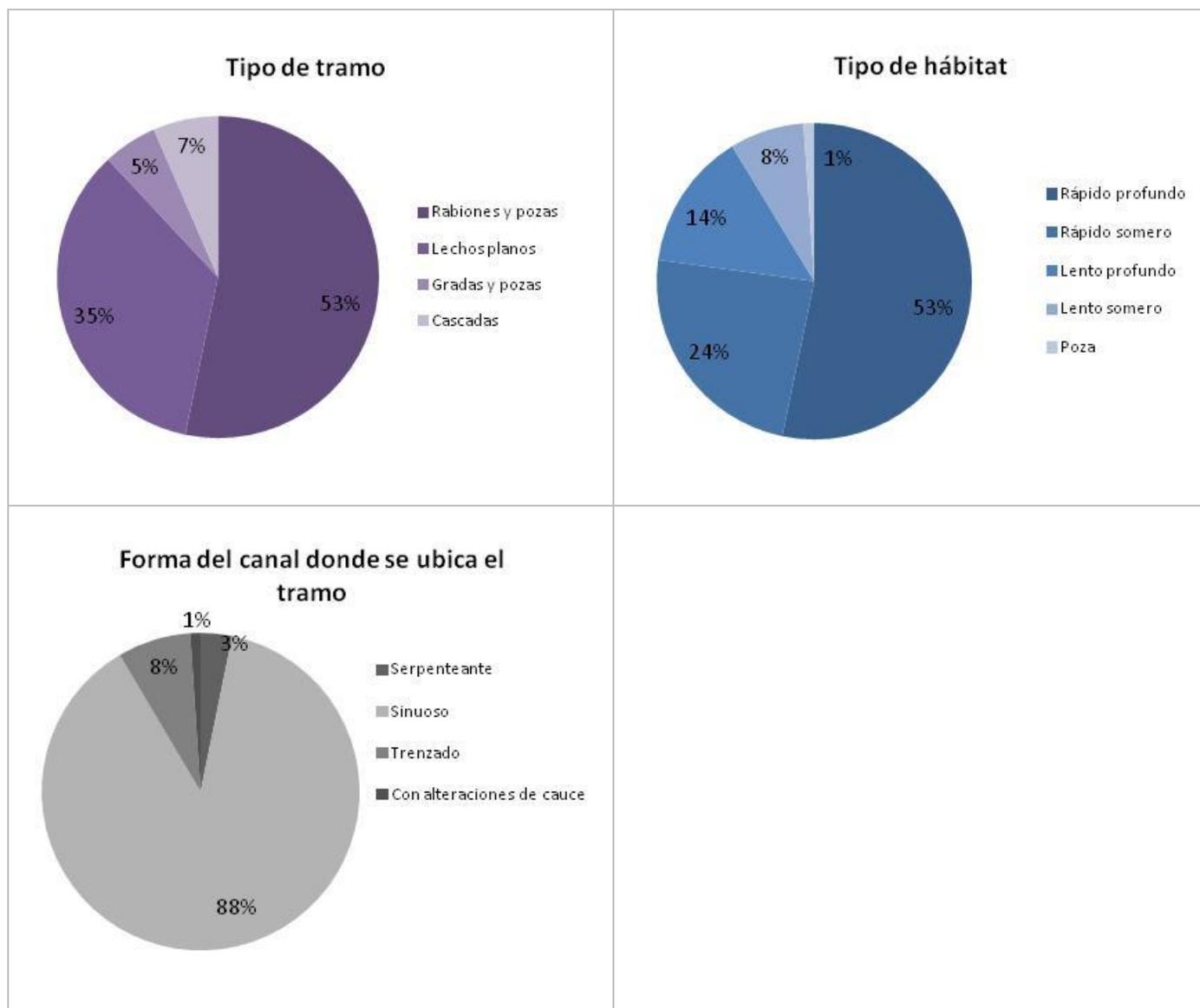


Figura 13. Caracterización *in situ* del tipo de tramo de río muestreado de la campaña de muestreo otoño 2014.

Gráficos torta por ítem con porcentaje de sitios muestreados por categoría.



Con respecto a la observación *in situ* de variables físicas del entorno y la presencia de Didymo, no se observan marcadas diferencias en la frecuencia de presencia o ausencia de la plaga en función a las categorías de cada ítem, evidenciando escasa relación entre rasgos físicos del tramo y Didymo (Tabla 8). Sin embargo, debe tenerse presente que el muestreo es sesgado hacia condiciones supuestamente favorables para el desarrollo de Didymo (ej: tramos sombríos no son muestreados).

Tabla 8. Cantidad de sitios en presencia o ausencia de Didymo en función de categorías de variables físicas del entorno de interés para su colonización.

	Campaña primavera 2013		Campaña otoño 2014	
	Presencia de Didymo		Presencia de Didymo	
Tipo de hábitat	NO	SI	NO	SI
1. Rápido profundo	34	15	42	7
2. Rápido somero	20	0	15	7
3. Lento profundo	10	5	8	5
4. Lento somero	6	0	6	1
5. Poza	2	0	1	0
Tipo de tramo	NO	SI	NO	SI
1. Duna y estrías	1	0	0	0
2. Rabiones y poza	49	13	40	9
3. Lechos planos	14	6	23	9
4. Gradas y pozas	0	0	3	2
5. Cascadas	8	1	6	0
Turbidez cualitativa del agua	NO	SI	NO	SI
1. Transparente	55	19	53	18
2. Ligeramente turbia	13	1	8	2
3. Muy turbia	3	0	11	0
4. Otros	1	0	0	0
Forma del canal donde se ubica el tramo	NO	SI	NO	SI
1. Serpenteante	3	0	1	1
2. Sinuoso	52	18	64	17
3. Trenzado (islas de tierra internamente)	10	2	5	2
4. Encajonado	3	0	0	0
2 y 4	3	0	0	0
1 y 2	0	0	1	0
2 y 5	0	0	1	0

Cuando graficamos histogramas de frecuencia de cada tipo de sustrato en función de la presencia o ausencia de Didymo, no se logran observar grandes diferencias, existiendo un patrón similar de sustrato en ambas condiciones y campañas de muestreo (Figura 14, Figura 15). De esta manera, la presencia de Didymo no estaría determinada por cierto tipo de sustrato.

Figura 14. Frecuencia de tipos sustratos en presencia (rojo) o ausencia (verde) de Didymo de la campaña de muestreo primavera 2013. En eje X, rangos de porcentaje por tipo de sustrato: 1 = "< 10%", 2 = "10% ≤ x < 25%", 3 = "25% ≤ x < 50%", 4 = "50% ≤ x < 75%", 5 = "≥ 75%".

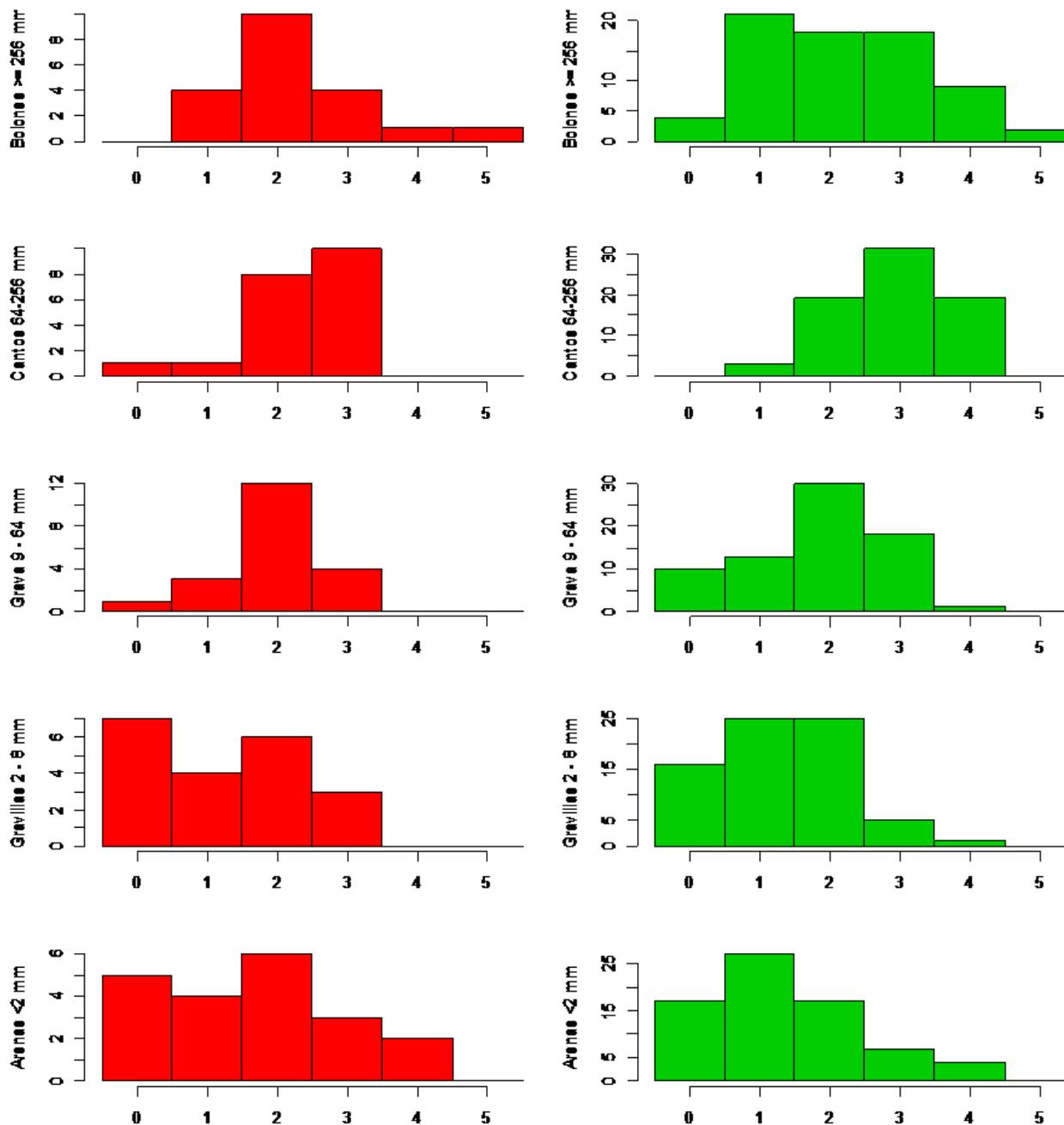
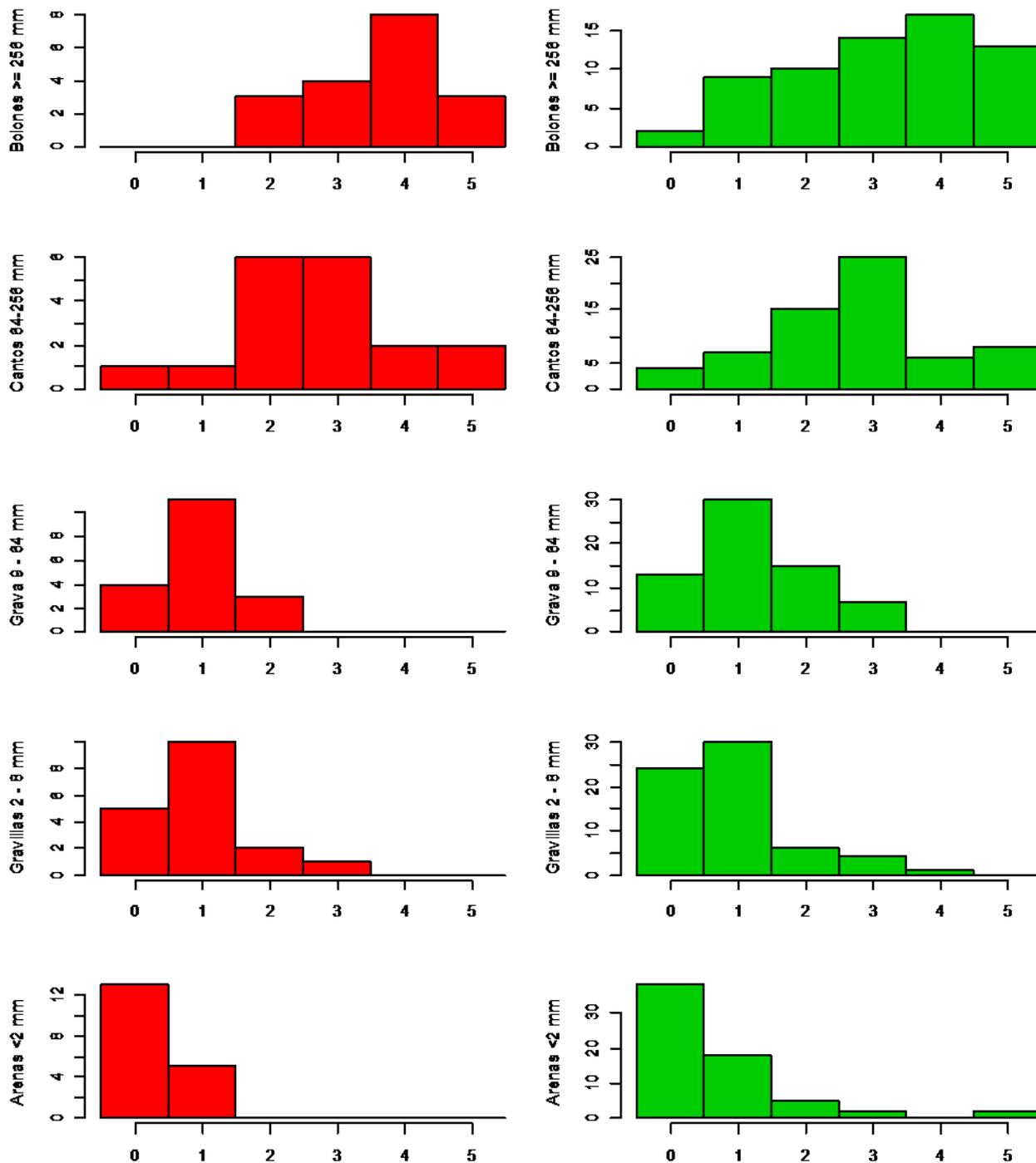


Figura 15. Frecuencia de tipos de sustratos en presencia (rojo) o ausencia (verde) de Didymo de la campaña de muestreo otoño 2014. En el eje X, rangos de porcentaje por tipo de sustrato: 1 = "<10%", 2 = "10% ≤ x < 25%", 3 = "25% ≤ x < 50%", 4 = "50% ≤ x < 75%", 5 = "≥ 75%".



Parámetros físico químicos in situ

En promedio la conductividad eléctrica (CE) y el pH presentaron valores homogéneos a lo largo de los diferentes sitios de estudio exceptuando la estación AMK-NILHUE1, que presentó valores atípicos de CE (288 $\mu\text{S}/\text{cm}$ y 178.25 $\mu\text{S}/\text{cm}$, campañas primavera 2013 y otoño 2014, respectivamente) y la cuenca del río Bueno que presentó valores más alcalinos en ambas campañas de muestreo (Figura 16, Figura 17). Estos parámetros estarían asociados a la velocidad de corriente, precipitaciones y geología del lugar, es decir, dependerían de las características hidrológicas del área, sin embargo, para determinar si estos valores atípicos corresponden a características intrínsecas de la cuenca o son producto de irregularidades en las mediciones se requiere una caracterización más profunda del sustrato y la categorización hidrológica de los ríos de estudio.

Figura 16. Resultados para conductividad eléctrica (CE, arriba) y pH (abajo) por cuenca de la campaña de muestreo primavera 2013. En línea punteada se indica la media de todos los valores obtenidos por parámetro.

No se muestra valor atípico extremo para AMK-NILHUE1 en cuenca del río Bueno en gráfica de CE.

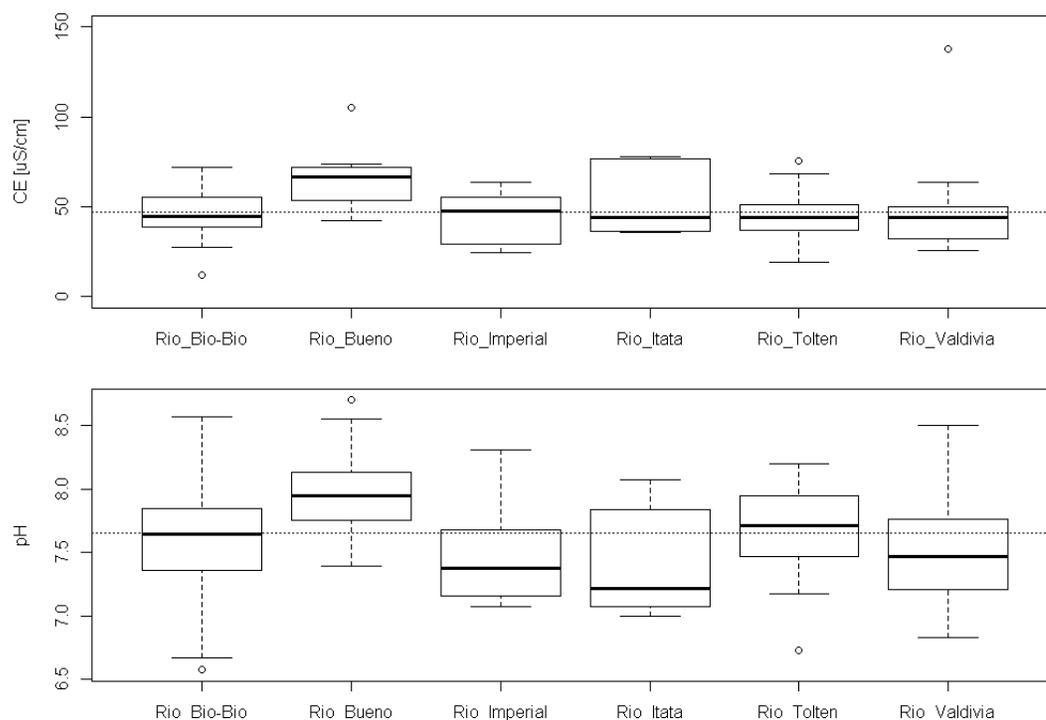
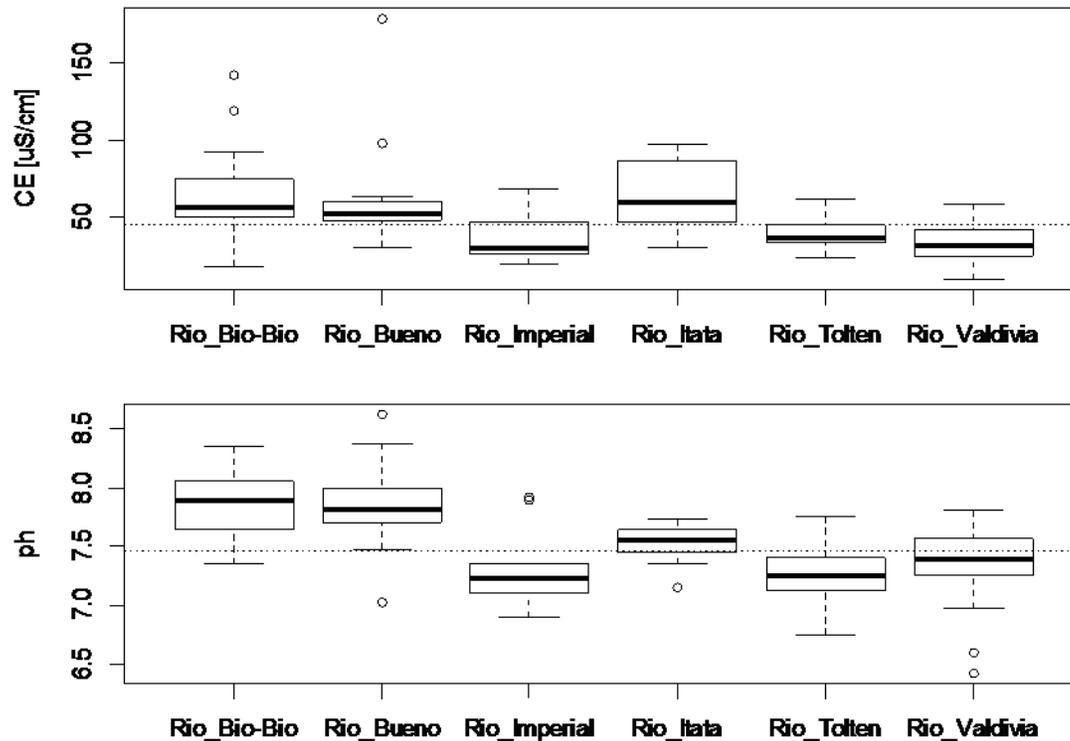


Figura 17. Resultados para conductividad eléctrica (CE, arriba) y pH (abajo) por cuenca de la campaña de muestreo otoño 2014. La línea punteada indica la media de todos los valores obtenidos por parámetro.



Las menores temperaturas del agua se registraron en la cuenca Imperial en la campaña de primavera 2013 y en la cuenca Bío-Bío en la campaña de otoño 2014. En cuanto a las mediciones de oxígeno disuelto (OD) y saturación de oxígeno, las cuencas del río Imperial y río Itata presentaron los mayores valores en las campañas de primavera y otoño, respectivamente (Figura 18, Figura 19).

Figura 18. Resultados para Temperatura del agua (arriba), Oxígeno disuelto (al medio) y Saturación de Oxígeno (abajo) por cuenca de la campaña primavera 2013. En línea punteada se indica la media de todos los valores obtenidos por parámetro.

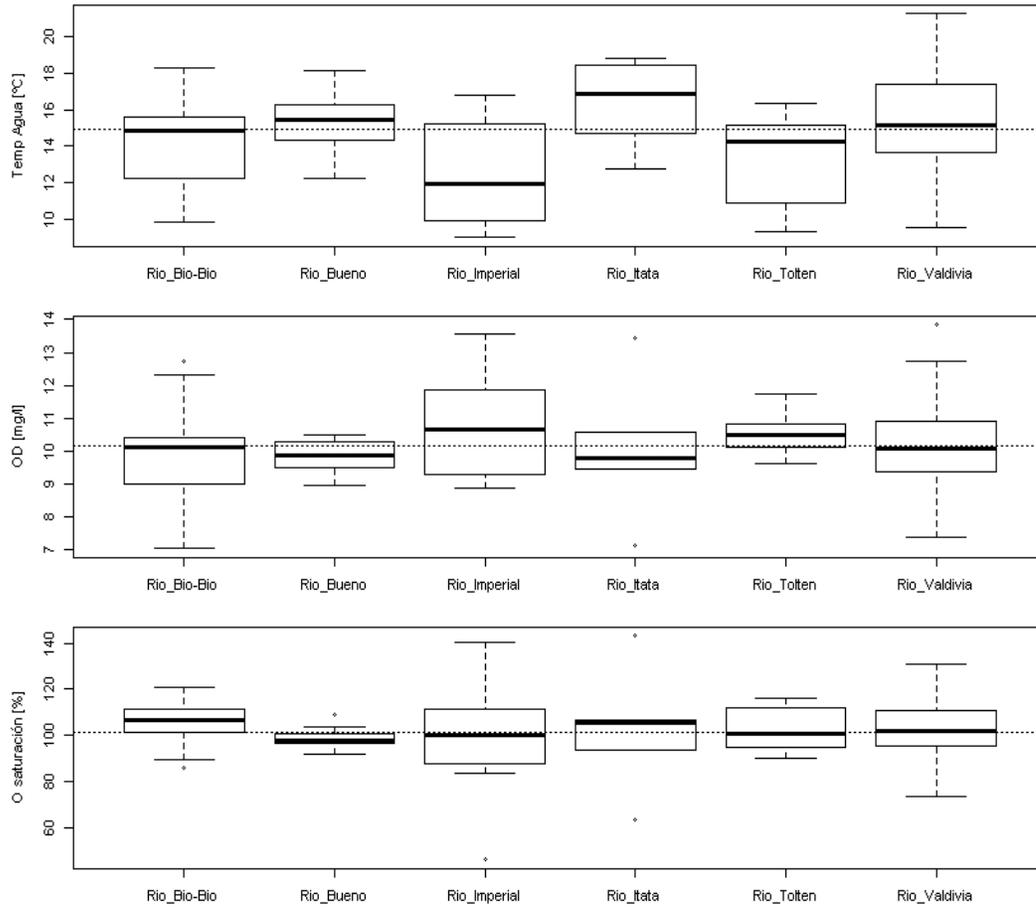
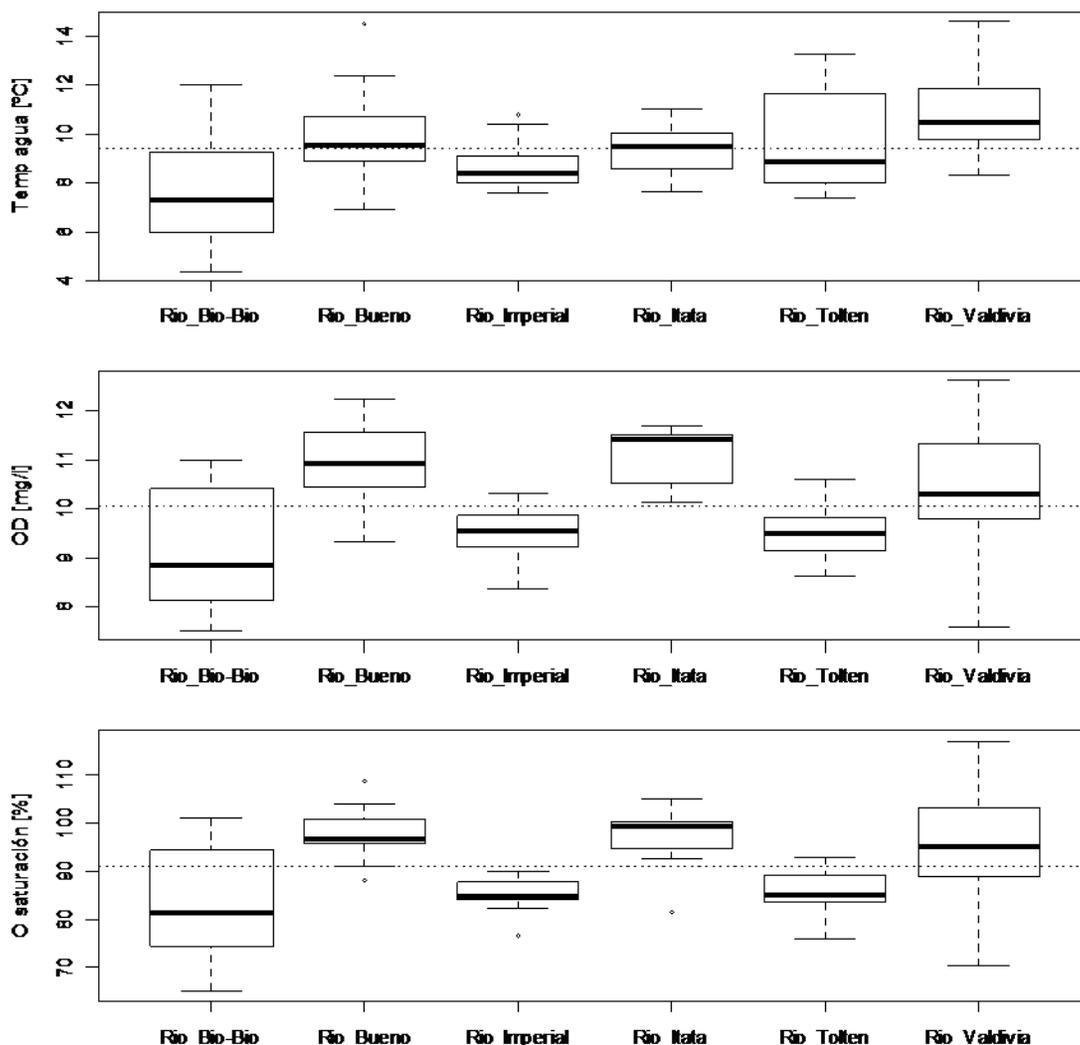


Figura 19. Resultados para Temperatura (arriba), Oxígeno disuelto (centro) y Saturación de Oxígeno (abajo) por cuenca de la campaña de muestreo otoño 2014. La línea punteada se indica la media de todos los valores obtenidos por parámetro.



Al analizar la relación entre *Didymosphenia geminata* y los parámetros *in situ* registrados, se puede observar que no existen diferencias, tanto del promedio como la distribución de los datos de estos parámetros, en presencia o ausencia de la microalga en ninguna de las campañas de muestreo (Figura 20, Figura 21).

Figura 20. Resultados de parámetros físico-químicos *in situ* en función de presencia (SI)/ausencia (NO) de Didymo en la campaña de muestreo primavera 2013. Conductividad eléctrica (A), pH (B), Oxígeno disuelto (C), Saturación de Oxígeno (D) y Temperatura del agua (E).

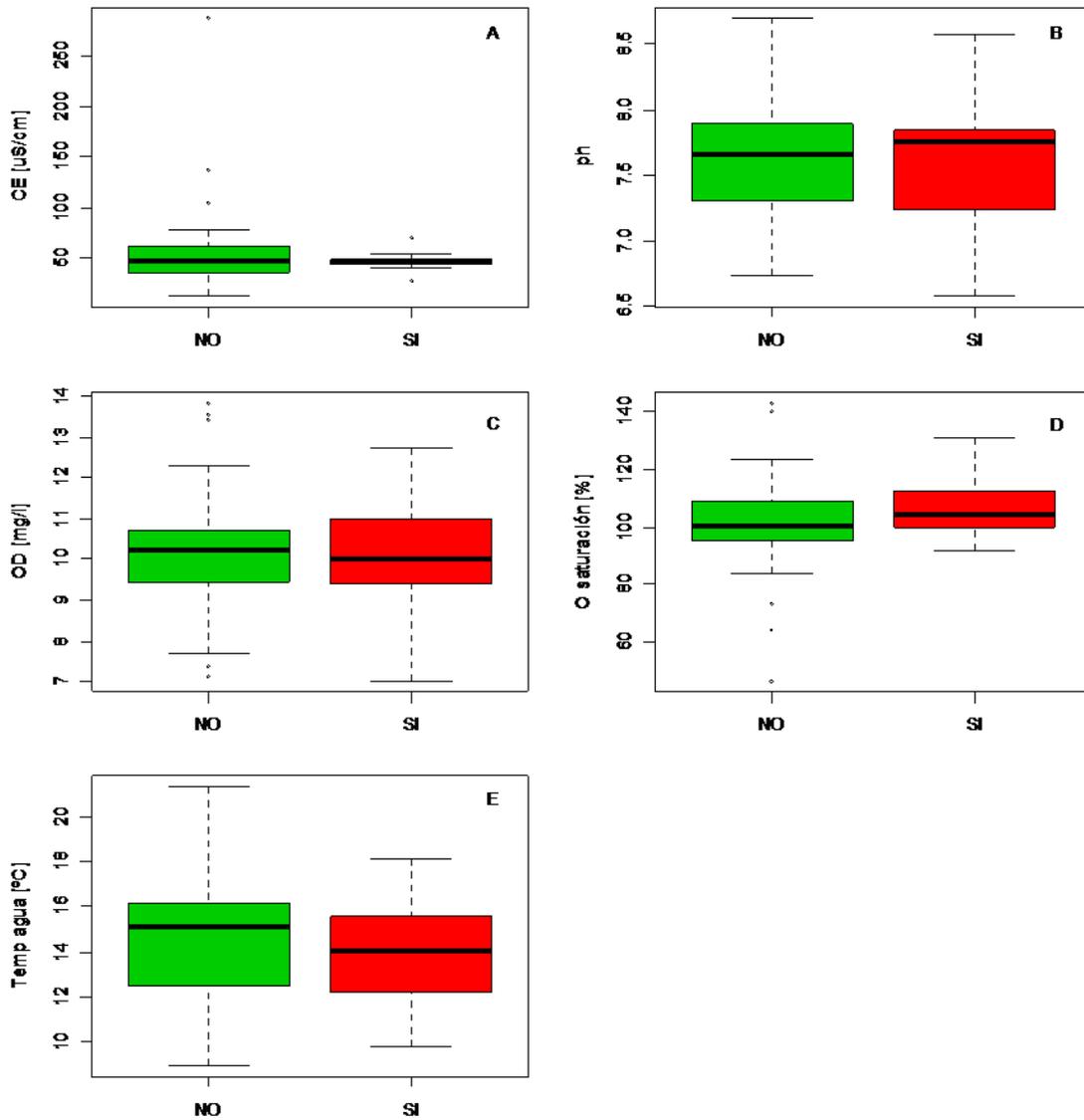
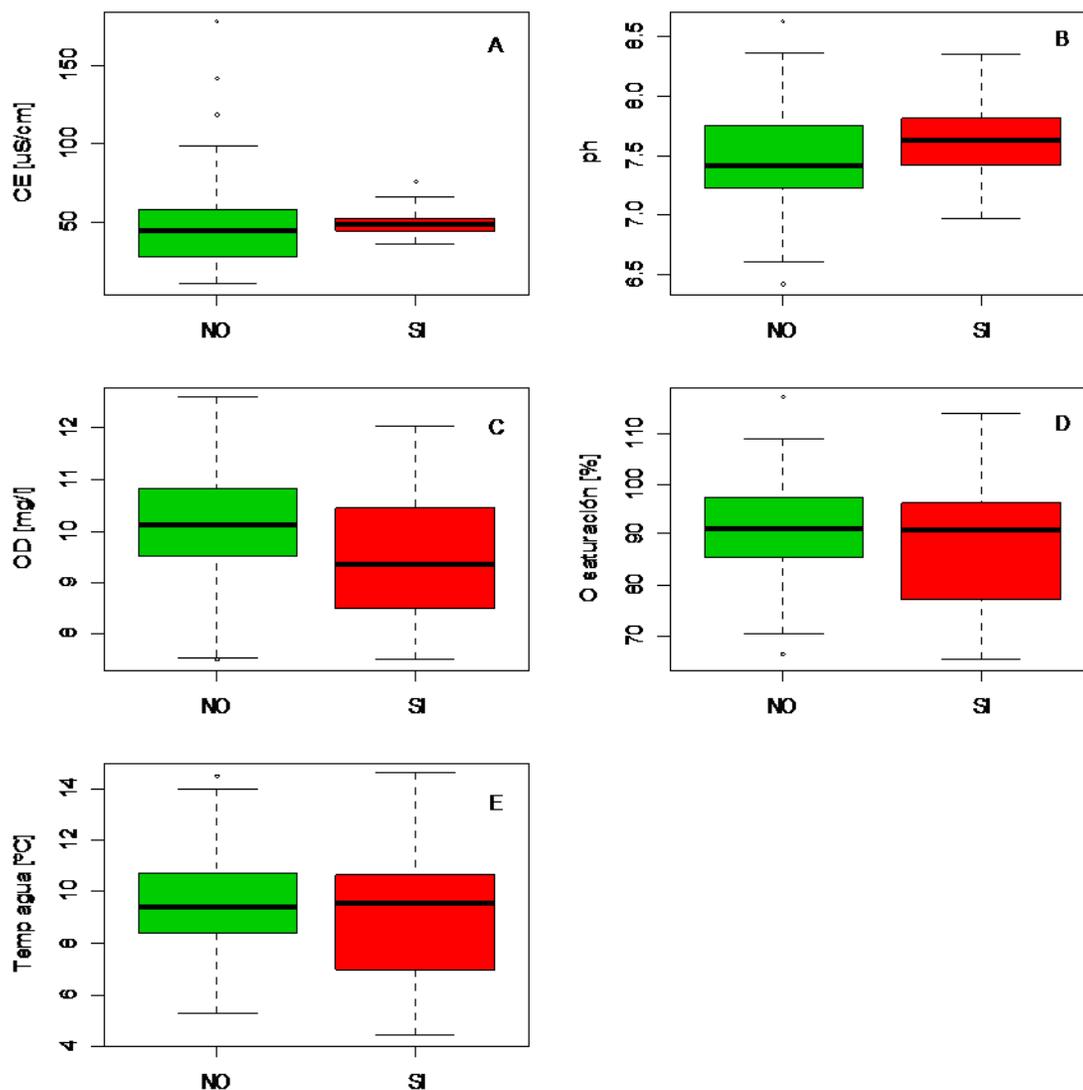


Figura 21. Resultados de parámetros físico químicos *in situ* en función de presencia (rojo)/ ausencia (verde) de Didymo de la campaña de muestreo otoño 2014. Conductividad eléctrica (A), pH (B), Oxígeno disuelto (C), Saturación de oxígeno (D) y Temperatura del agua (E).



Las velocidades de flujo medidas en terreno (superficial, media y de fondo) fueron homogéneas entre las cuencas de estudio, presentando un leve aumento en el promedio de la cuenca del río Bueno en la campaña de primavera 2013 (Figura 22) y un mayor rango de velocidad superficial en las cuencas Bío-Bío y Valdivia en la campaña de otoño 2014 (Figura 23). Con respecto a la

asociación de velocidades de flujo con la presencia/ausencia de Didymo, no se detectaron diferencias relevantes para ninguna de las campañas de muestreo (Figura 24).

Figura 22. Velocidades de flujo superficial (arriba), media (al medio) y de fondo (abajo) por cuenca de la campaña de muestreo primavera 2013. Línea punteada señala límite de detección de molinete.

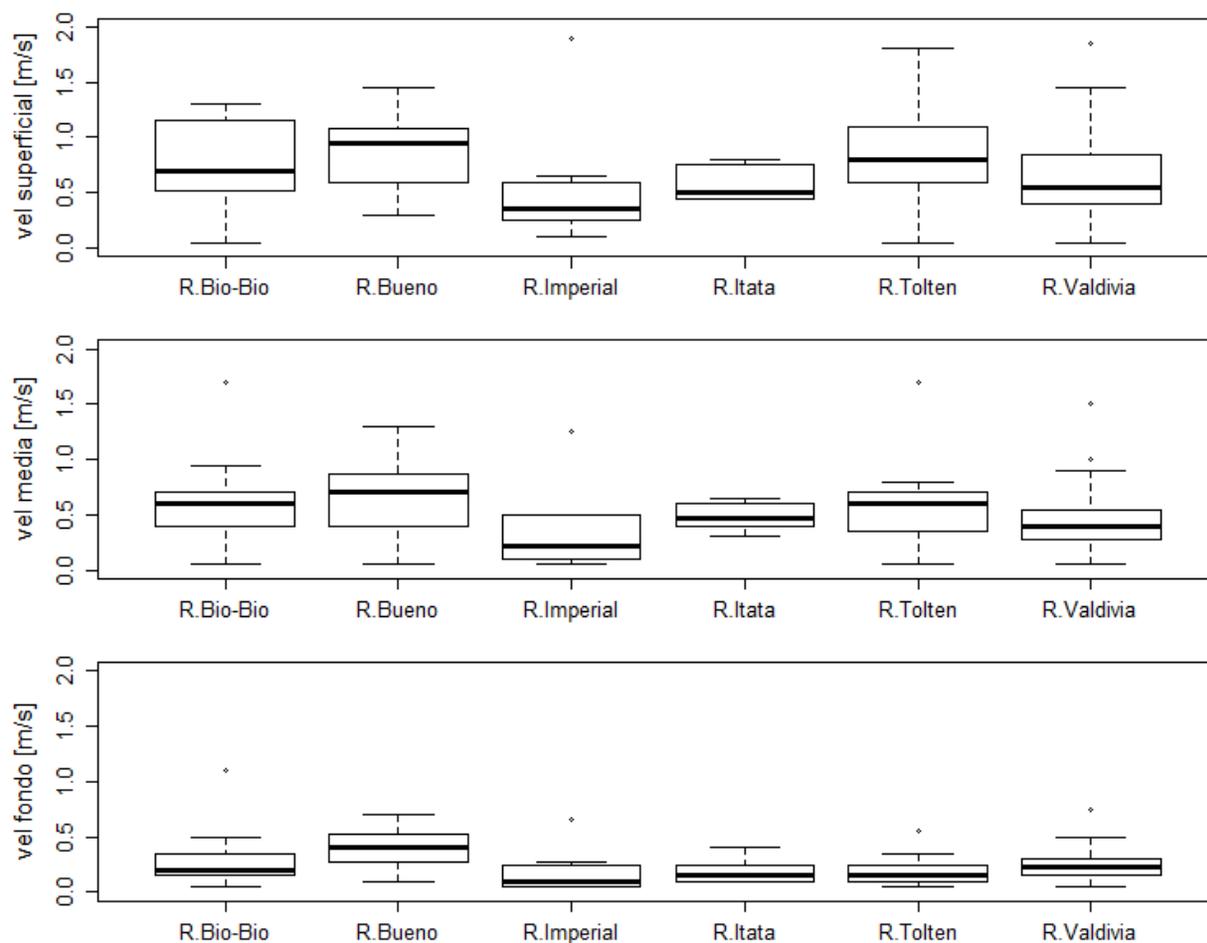


Figura 23. Velocidades de flujo superficial (arriba), media (centro) y de fondo (abajo) de la campaña de muestreo otoño 2014. Línea punteada señala límite de detección del molinete.

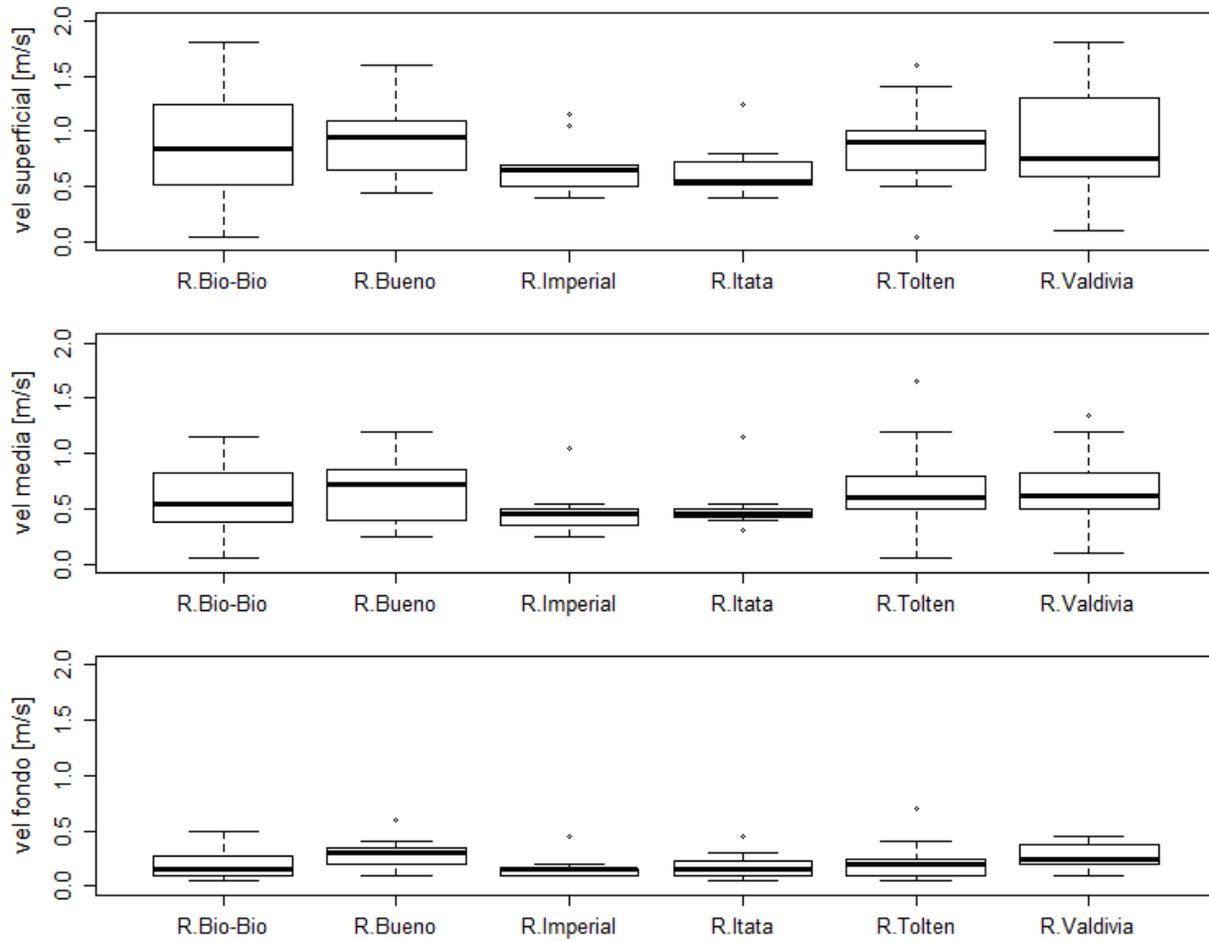
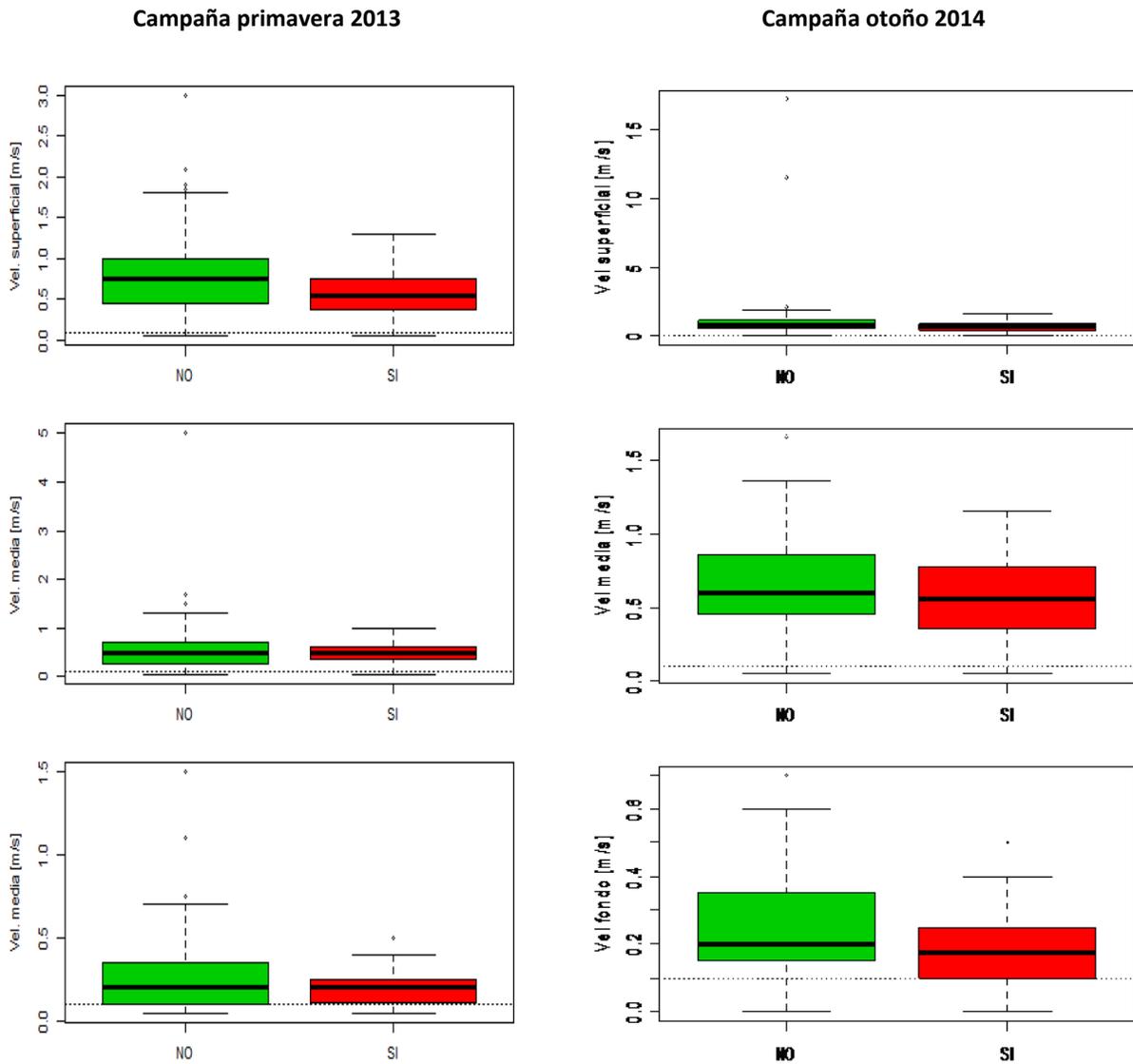


Figura 24. Velocidades de flujo superficial (arriba), media (al medio) y de fondo (abajo) en presencia (SI) o ausencia (NO) de Didymo de las campañas de muestreo primavera 2013 y otoño 2014. Línea punteada señala límite de detección de molinete.



Parámetros químicos de laboratorio

De los parámetros medidos en los laboratorios de ANAM, Nitrito estuvo bajo el límite de detección en todos los sitios muestreados para ambas campañas de muestreo, siendo excluido de los análisis. Lo mismo ocurrió con Nitrato en la campaña otoño 2014, mientras que sólo un 18% de los sitios de muestreos presentaron valores sobre el nivel de detección en la campaña primavera 2013.

A nivel de cuenca, los valores más altos de fósforo total y fosfato inorgánico fueron registrados en río Bío-Bío en la campaña de primavera 2013 y en río Toltén en la campaña de otoño 2014 (Figura 25, Figura 26). Por su parte, el fosfato orgánico presentó mayores valores en río Bueno y río Imperial en las campañas primavera y otoño, respectivamente. Dado que fósforo inorgánico y fósforo orgánico son obtenidos por medio de ecuaciones aplicadas a los datos de fosfato y fósforo total, el patrón de respuesta es lineal y su análisis no es atinente. Los valores registrados para Hierro y Sílice fueron bastante homogéneos en ambas campañas (Figura 27, Figura 28), exceptuando la cuenca del Bío-Bío que presentó un mayor valor de Calcio en la campaña de otoño 2014 (Figura 28). AMK-NILHUE1, sitio muestreado en la cuenca del río Bueno, presentó los valores más altos para Sílice y Calcio, coincidiendo con la alta CE obtenida y validando el registro *in situ* en la campaña de primavera (este río aún trae aguas abajo gran cantidad de piedra pómez desde la erupción del Cordón Caulle en 2011).

Figura 25. Resultados de distintas especies de fósforo por cuenca de la campaña de muestreo primavera 2013. Fósforo total (arriba), fosfato inorgánico (al medio) y fosfato orgánico (abajo). Línea punteada representa límite de detección por parámetro. Fosfato orgánico sin límite de detección dado que su estimación es matemática.

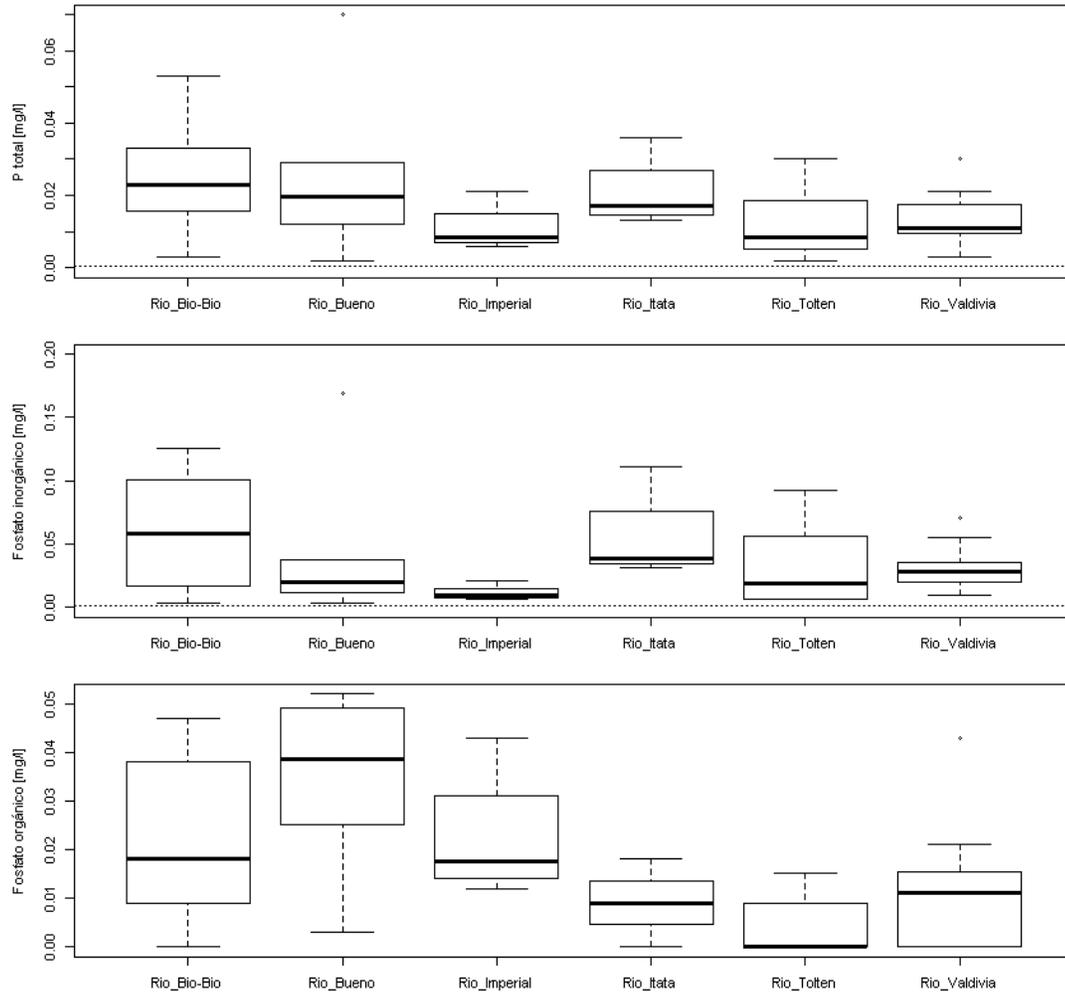


Figura 26. Resultados de distintas especies de fósforo por cuenca de la campaña de muestreo otoño 2014. Fósforo total (arriba), fosfato inorgánico (al medio) y fosfato orgánico (abajo). Línea punteada representa límite de detección por parámetro. Fosfato orgánico sin límite de detección dado que su estimación es matemática.

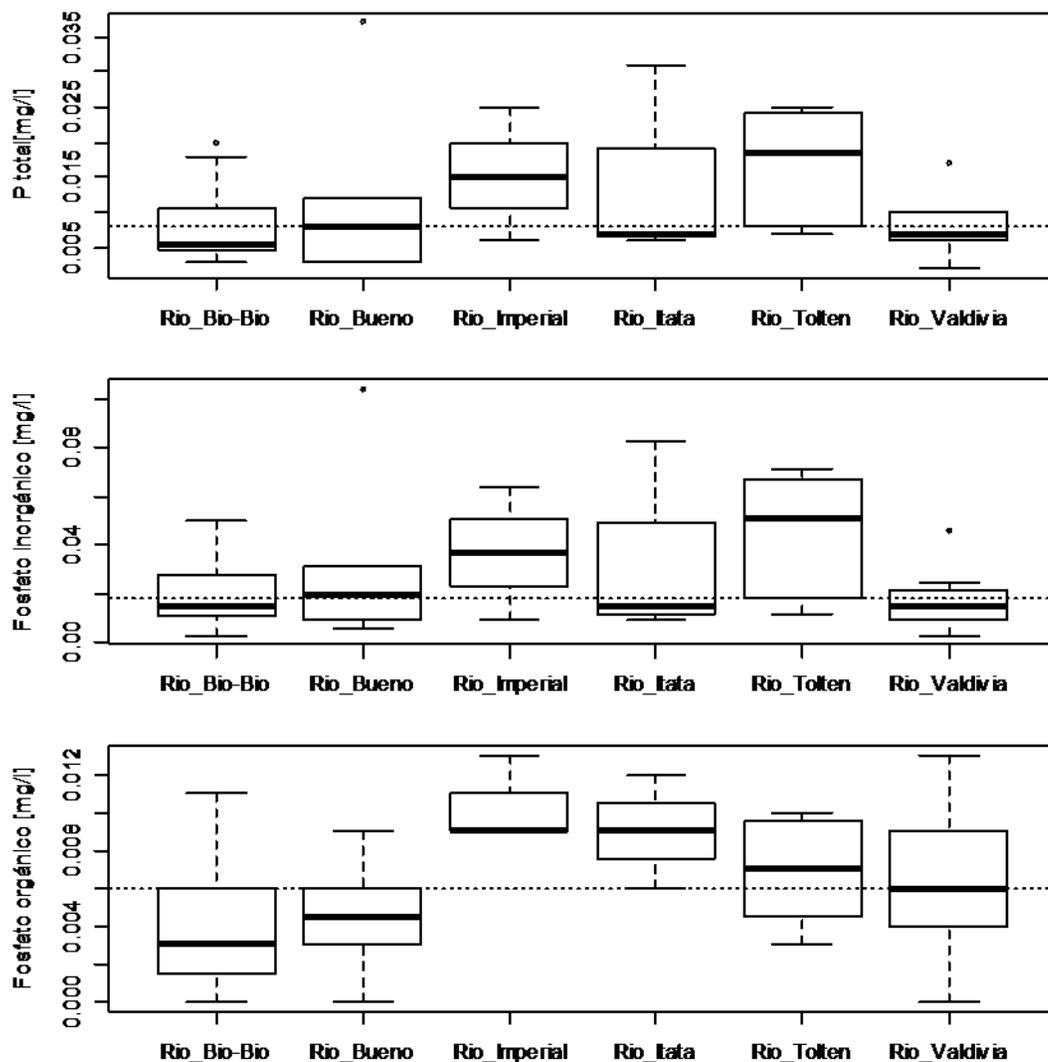


Figura 27. Resultados para Calcio (A), Hierro (B) y Sílice (C) por cuenca de la campaña de muestreo primavera 2013. Línea punteada representa límite de detección del parámetro. Gráficas sin límite de detección debido a que quedan fuera del rango visual de la gráfica.

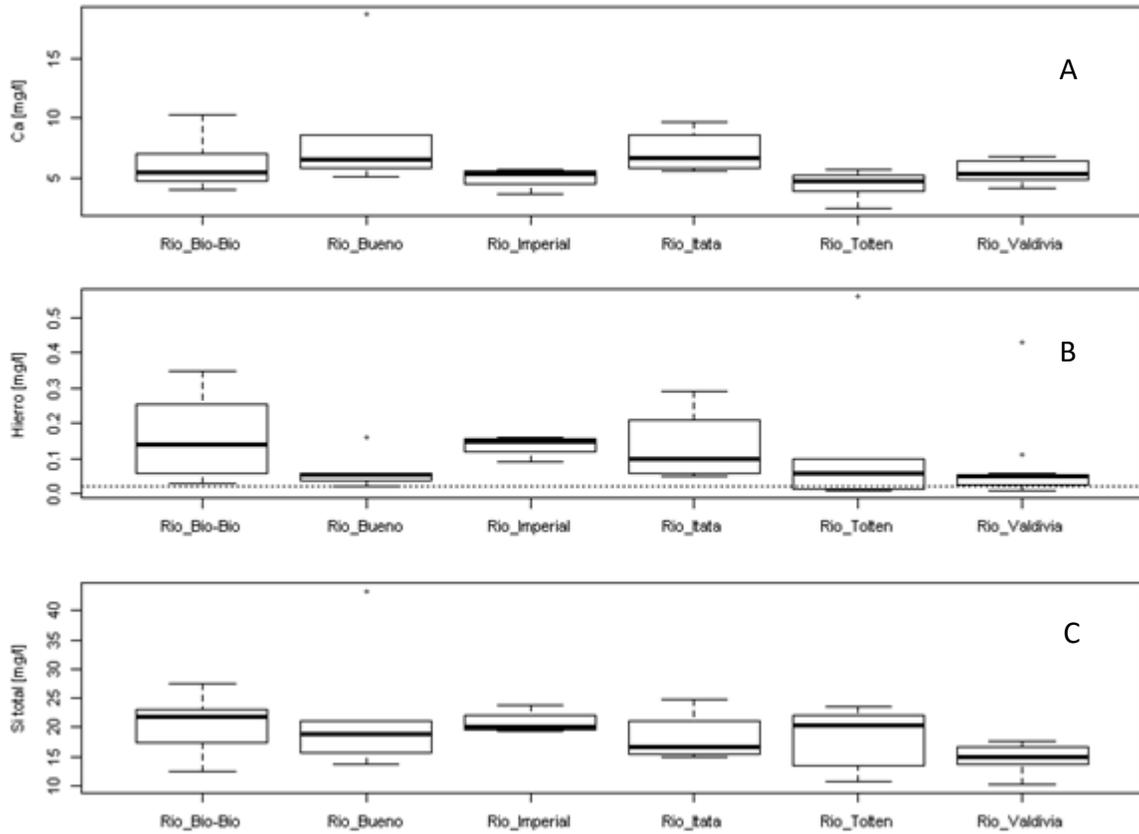
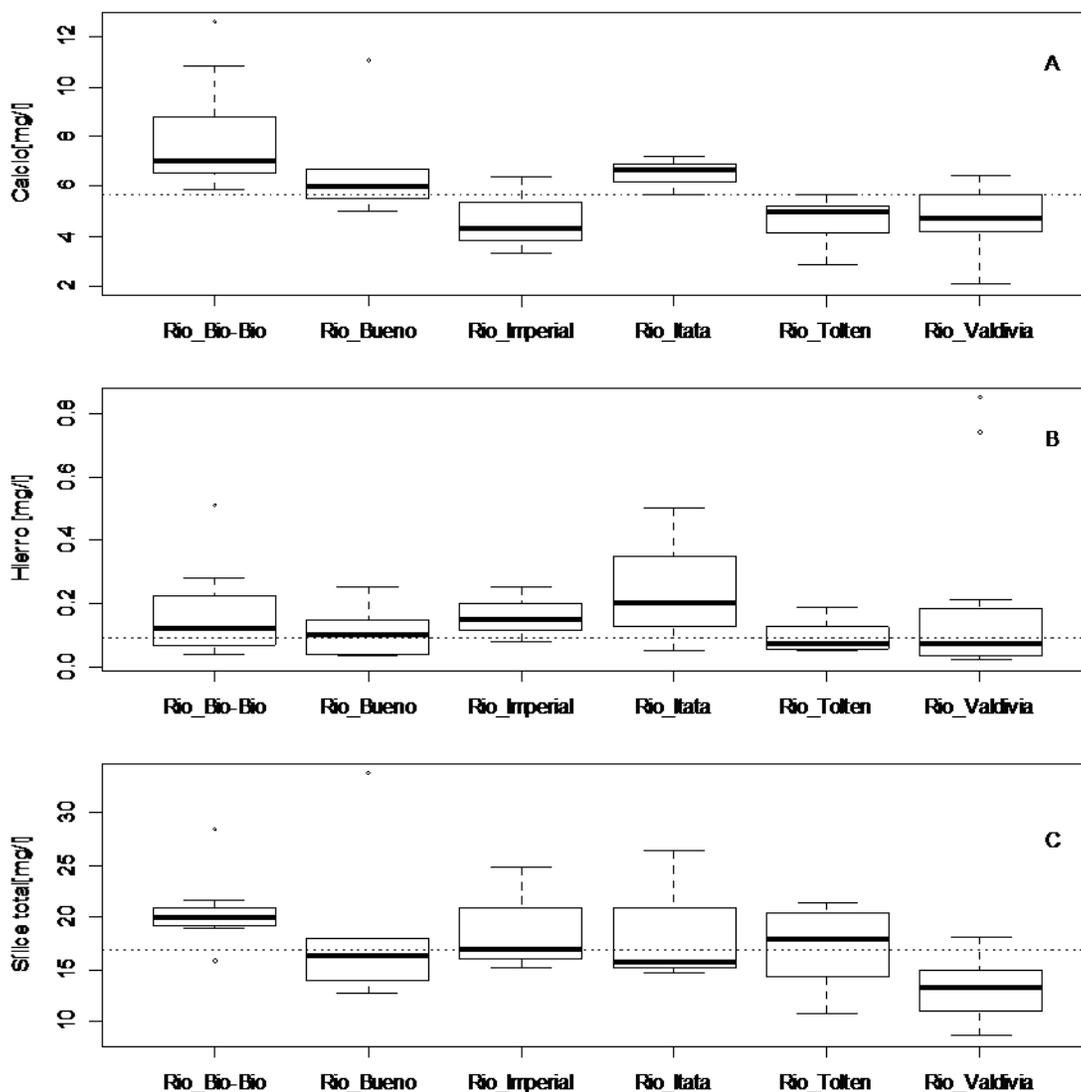


Figura 28. Resultados para Calcio (A), Hierro (B) y Sílice (C) por cuenca de la campaña de muestreo otoño 2014.

Línea punteada representa límite de detección del parámetro.



Cuando relacionamos los parámetros químicos obtenidos en función de Didymo, podemos observar mayores niveles de fósforo total y fosfato inorgánico en presencia de la plaga para la campaña primavera 2013, no así en la campaña otoño 2014 (Figura 29, Figura 30). Las magnitudes de estos parámetros no varían en ausencia de Didymo y disminuyen en presencia

de Didymo entre ambas campañas de muestreo. Para el resto de las especies químicas, no se observa una relación entre los valores registrados y Didymo en la campaña de primavera, mientras que en la campaña de otoño hay una disminución de Fosfato orgánico y un leve aumento de Calcio en presencia de Didymo (Figura 30).

Figura 29. Resultados de parámetros químicos de laboratorio en función de presencia (rojo) o ausencia (verde) de Didymo en la campaña de muestreo primavera 2013. Fósforo total (A), Fosfato inorgánico (B), Fosfato orgánico (C), Calcio (D), Hierro (E) y Sílice (F).

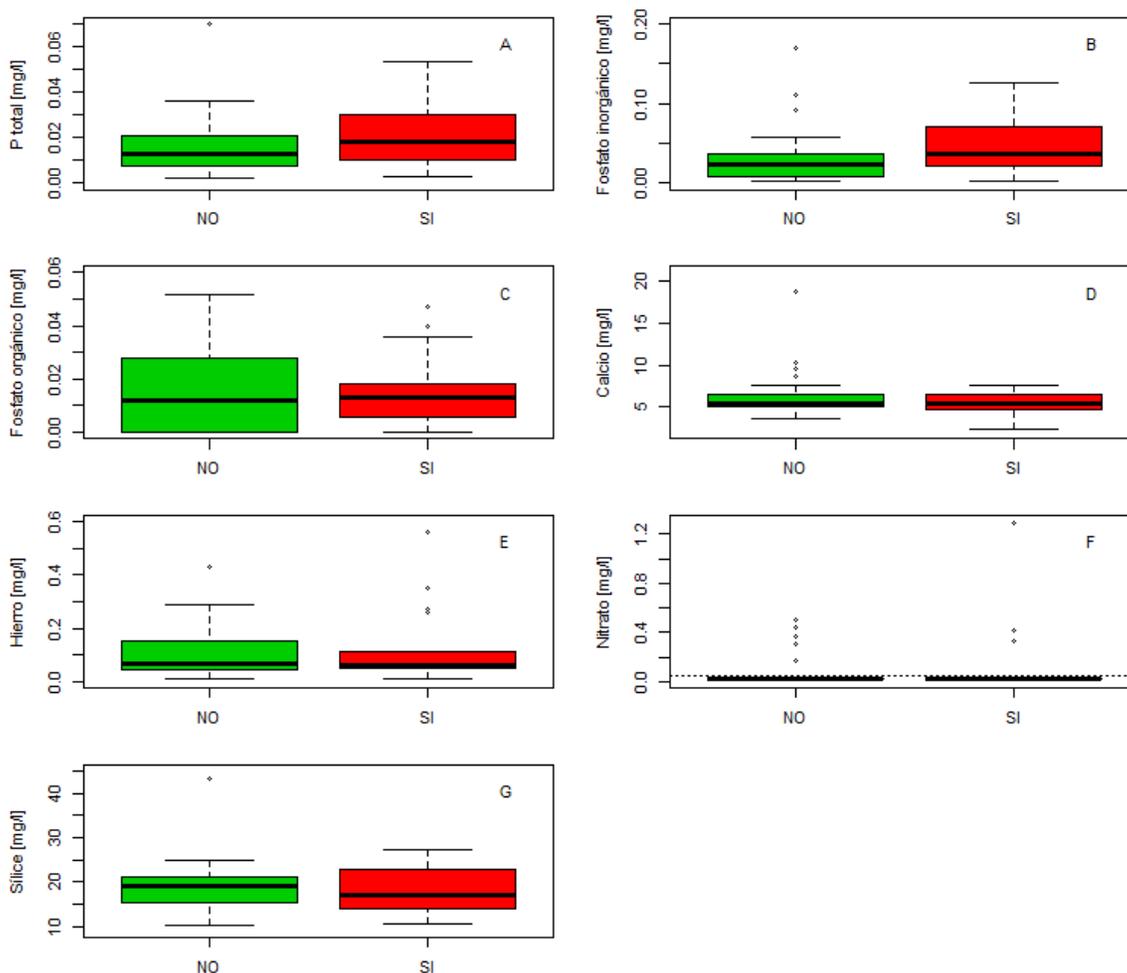
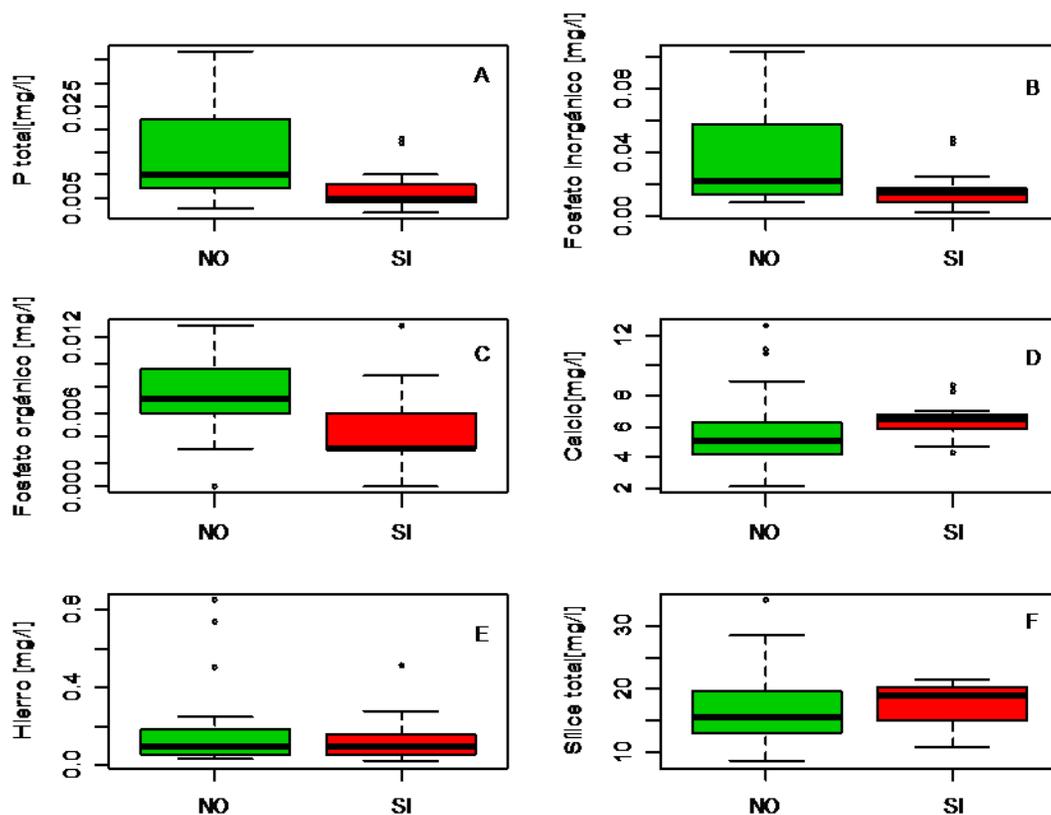


Figura 30. Resultados de parámetros químicos de laboratorio en función de presencia (rojo) o ausencia (verde) de Didymo en la campaña de muestreo otoño 2014. Fósforo total (A), Fosfato inorgánico (B), Fosfato orgánico (C), Calcio (D), Hierro (E) y Sílice (F).



Variables hidrológicas

A continuación en la Tabla 9 se muestran las estaciones asociadas a cada sitio de muestreo. Además se muestra la distancia en línea recta entre ambos y la ubicación de la estación respecto al punto de muestreo. Del total de puntos, sólo el 50% fue posible de asociar a una estación fluviométrica.

Tabla 9. Estaciones asociadas a puntos de muestreo.

Cuenca	Código	Estación fluviométrica	Código estación	Distancia a punto (m)	Ubicación estación
Río Itata	F-AMK-NUBLE2	RÍO ÑUBLE EN SAN FABIÁN N 2	08106002-9	45786.31	Aguas arriba
	F-AMK-NUBLE1	RÍO ÑUBLE EN SAN FABIÁN N 2	08106002-9	23161.65	Aguas arriba
	F-AMK-ITATA2	RÍO ITATA EN GENERAL CRUZ	08124001-9	20784.22	Aguas arriba
	F-AMK-ITATA1	RÍO ITATA EN GENERAL CRUZ	08124001-9	8841.65	Aguas arriba
	F-AMK-CHOLGN1	RÍO ITATA EN CHOLGUÁN	08123001-3	28891.47	Aguas arriba
	F-AMK-CHOLGN2	RÍO ITATA EN CHOLGUÁN	08123001-4	5294.82	Aguas arriba
Río Bío-Bío	F-AMK-LAJA2	-	-	-	-
	F-AMK-LAJA1	-	-	-	-
	F-AMK-CANICR1	-	-	-	-
	F-AMK-QUEUCO1	-	-	-	-
	F-AMK-QUEUCO2	-	-	-	-
	F-AMK-BIOBIO1	RÍO BÍO-BÍO EN RUCALHUE	08317001-8	6280.29	Aguas arriba
	F-AMK-BIOBIO1	RÍO BÍO-BÍO EN RUCALHUE	08317001-8	23397.59	Aguas abajo
	F-AMK-BIOBIO2	RÍO BÍO-BÍO ANTE JUNTA HUIRI HUIRI	08312001-0	29456.32	Aguas arriba
	PUNTO5-SERNAP	RÍO BÍO-BÍO EN LLANQUEN	08307002-1	589.96	Aguas abajo
	PUNTO4-SERNAP	-	-	-	-
	AMK-SENAP2 BC	RÍO BÍO-BÍO EN LLANQUEN	08307002-1	15644.37	Aguas abajo
	AMK-BALSRAHA	RÍO BÍO-BÍO EN LLANQUEN	08307002-1	23552.39	Aguas abajo
	AMK-SERNAPLQM	RÍO LONQUIMAY ANTES JUNTA RÍO BÍO-BÍO	08304001-7	2593.24	Aguas abajo
	F-LOLEN-SERNAP	-	-	-	-
	TALLON-SERNAP	-	-	-	-
	PUNTOX-SERNAP	-	-	-	-
Río Imperial	AMK-LIUCURAN2	-	-	-	-
	AMK-BIOBIO2	-	-	-	-
	AMK-BIOBIO1	-	-	-	-
Río Imperial	F-TRIGUEN1	RÍO TRAIQUÉN EN VICTORIA	09104001-8	11079.81	Aguas arriba
	F-TRIGUEN2	RÍO TRAIQUÉN EN VICTORIA	09104001-9	17342.74	Aguas abajo

Cuenca	Código	Estación fluviométrica	Código estación	Distancia a punto (m)	Ubicación estación
	AMK-CAUTIN1	RÍO CAUTIN EN RARI-RUCA	09123001-1	9994.03	Aguas abajo
	AMK-CAUTIN2	RÍO CAUTIN EN RARI-RUCA	09123001-1	16827.19	Aguas arriba
	F-PEUPEU1	-	-	-	-
	F-TRUENO2	RÍO COLLIN EN CODAHUE	09126001-8	7547.423534	Aguas abajo
	F-TRUENO1	RÍO COLLIN EN CODAHUE	09126001-8	16661.29845	Aguas abajo
	F-VILCUN1	-	-	-	-
	F-CODIGUE1	-	-	-	-
	F-QUEPE2	RÍO QUEPE EN QUEPE	09135001-7	3178.98	Aguas arriba
Río Toltén	AMK-ALLIPEN1	RÍO ALLIPÉN EN LOS LAURELES	09404001-9	158.68	Aguas arriba
	AMK-CURACO2	RÍO CURACO EN COLICO	09405001-4	3593.47	Aguas abajo
	AMK-CURACO1	RÍO CURACO EN COLICO	09405001-4	7922.06	Aguas arriba
	AMK-TOLTEN2	RÍO TOLTÉN EN VILLARICA	09420001-6	19345.15	Aguas arriba
	AMK-ALLIPEN2	RÍO ALLIPÉN EN LOS LAURELES	09404001-9	24281.84	Aguas arriba
	AMK-LIUCURAS1	RÍO LIUCURA EN LIUCURA	09416001-4	8527.50	Aguas abajo
	AMK-PEDRGSO1	-	-	-	-
	AMK-MAICHIN1	RÍO TRANCURA ANTES RÍO LLAFENCO	09414001-3	18349.95	Aguas abajo
	AMK-PEDRGSO2	-	-	-	-
	AMK-TOLTEN1	RÍO TOLTÉN EN VILLARRICA	09420001-6	7820.97	Aguas arriba
	AMK-PANQUI2	-	-	-	-
	F-CLARO1	-	-	-	-
	F-RPUCONBALSA	-	-	-	-
	AMK-PUCON2	-	-	-	-
	AMK-CABURGUA2	-	-	-	-
	AMK-LIUCURA2	-	-	-	-
	AMK-TRANCURA2	RÍO TRANCURA EN CURARREHUE	09412001-2	7874.99	Aguas abajo
Río Valdivia	AMK-LLANCAH1	-	-	-	-
	AMK-CRUCES1	RÍO CRUCES EN RUCACO	10134001-5	10330.61	Aguas abajo
	AMK-CRUCES2	RÍO CRUCES EN RUCACO	10134001-5	480.37	Aguas arriba
	AMK-LIQUINE2	RÍO LIQUIÑE EN LIQUIÑE	10102001-0	895.25	Aguas abajo
	AMK-CUACUA2	RÍO LIQUIÑE EN LIQUIÑE	10102001-0	5126.08	Aguas arriba
	AMK-ZAHUIL2	-	-	-	-
	AMK-HUENEHUE2	-	-	-	-
	AMK-PUTRGL1	-	-	-	-
	AMK-LLANQHUE2	-	-	-	-
	AMK-MAFIL2	-	-	-	-
	AMK-MANIO2	-	-	-	-
	AMK-SANPEDRO2	RÍO SAN PEDRO EN DESAGÜE LAGO RIÑIHUE	10111001-K	22904.28	Aguas arriba

Cuenca	Código	Estación fluviométrica	Código estación	Distancia a punto (m)	Ubicación estación
	AMK-SANPEDRO1	RÍO SAN PEDRO EN DESAGÜE LAGO RIÑIHUE	10111001-K	115.11	Aguas arriba
	AMK-LLANQHUE1	-	-	-	-
	AMK-NELTUME1	-	-	-	-
	AMK-FUY1	RÍO FUY EN DESAGÜE LAGO PIRIHUEICO	10100002-8	10341.49	Aguas arriba
	AMK-FUY2	RÍO FUY EN DESAGÜE LAGO PIRIHUEICO	10100002-8	3259.46	Aguas arriba
	AMK-HUAHUM2	RÍO HUAHUM EN LA FRONTERA	10100006-0	7974.08	Aguas arriba
	AMK-HUAHUM1	RÍO HUAHUM EN LA FRONTERA	10100006-0	3041.77	Aguas arriba
	AMK-ENCO1	-	-	-	-
	AMK-ENCO2	-	-	-	-
	AMK-BCOENCO2	-	-	-	-
	AMK-QUINCHIL1	-	-	-	-
	AMK-QUINCHIL2	-	-	-	-
	AMK-REMEHUE2	-	-	-	-
Río Bueno	AMK-NELTUME2	-	-	-	-
	AMK-BCOMAIHU1	-	-	-	-
	AMK-CURRINE2	-	-	-	-
	AMK-FLORIN2	RÍO CAUNAHUE CAMINO A LLIFÉN	10305001-4	6268.58	Aguas abajo
	AMK-CHIHUIO2	-	-	-	-
	AMK-CAUNAHUE2	RÍO CAUNAHUE CAMINO A LLIFÉN	10305001-4	2346.75	Aguas abajo
	AMK-RININAHU2	-	-	-	-
	AMK-CUMILAHUE1	-	-	-	-
	AMK-CUMILAHU2	-	-	-	-
	AMK-CALCRRPE2	RÍO CALCURRUPE EN DESEMBOCADURA	10304001-9	668.26	Aguas arriba
	AMK-HUEINAHU2	-	-	-	-
	AMK-BUENO2	RÍO BUENO EN BUENO	10311001-7	5469.95	Aguas abajo
	AMK-IGNAO1	RÍO BUENO EN BUENO	10311001-7	24318.65	Aguas abajo
	AMK-NILHUE1	RÍO NILAHUE EN MAYAY	10306001-K	1870.95	Aguas abajo
AMK-DPILMAQN2	RÍO PILMAIQUÉN EN SAN PABLO	10328001-K	1691.10	Aguas arriba	

Respecto del análisis de consistencia, las curvas de doble masa muestran una buena relación entre ambas estaciones, lo que permite concluir que no hay cambios en la tendencia de los datos. Así se puede asumir que los registros son confiables para su utilización en el posterior análisis de correlación.

Con el relleno de datos se redujo considerablemente la cantidad de datos faltantes, esta reducción se muestra de manera porcentual en la Tabla 10.

Tabla 10. Resultados análisis de consistencia

Nombre Estación	Long. Registro	% Falt. Original	Nombre Estación de apoyo	% Falt. Modificado
RÍO ÑUBLE EN SAN FABIÁN N 2	1999-2012	5.21	RÍO ÑUBLE EN LA PUNILLA	0.83
RÍO ITATA EN CHOLGUÁN	1985-2012	5.40	RÍO ITATA EN GENERAL CRUZ	0.46
RÍO ITATA EN GENERAL CRUZ	1956-2012	17.33	RÍO ITATA EN CHOLGUÁN	3.65
RÍO BÍO-BÍO EN RUCALHUE	1943-2012	7.85	RÍO BIOBIO EN COIHUE	6.78
RÍO BÍO-BÍO EN LLANQUÉN	2002-2012	0.00	RÍO LONQUIMAY ANTES JUNTA RÍO BÍO-BÍO	-
RÍO LONQUIMAY ANTES JUNTA RÍO BÍO-BÍO	1987-2012	5.72	RÍO BÍO-BÍO EN LLANQUÉN	0.03
RÍO TRAIQUÉN EN VICTORIA	1955-2012	5.81	RÍO QUINO EN LONGITUDINAL	2.51
RÍO QUEPE EN QUEPE	1981-2012	2.01	RÍO HUICAHUE EN FAJA 24000	0.49
RÍO TOLTÉN EN VILLARRICA	1962-2012	4.39	RÍO CURACO EN COLICO	3.45
RÍO CAUTIN EN RARI-RUCA	1970-2012	5.88	RÍO BLANCO EN CURACAUTÍN	5.55
RÍO COLLIN EN CODAHUE	1997-2012	9.26	RÍO MUCO EN PUENTE MUCO	0
RÍO LIUCURA EN LIUCURA	1977-2012	8.07	RÍO TRANCURA ANTES RÍO LLAFENCO	0.51
RÍO TRANCURA ANTES RÍO LLAFENCO	1977-2012	1.16	RÍO TRANCURA EN CURARREHUE	0.49
RÍO TRANCURA EN CURARREHUE	1977-2012	3.84	RÍO TRANCURA ANTES RÍO LLAFENCO	0.49
RÍO ALLIPÉN EN LOS LAURELES	1985-2012	2.61	RÍO CURACO EN COLICO	0.6
RÍO CURACO EN COLICO	1987-2012	18.85	RÍO ALLIPÉN EN LOS LAURELES	0.021
RÍO SAN PEDRO EN DESAGÜE LAGO RIÑIHUE	1985-2012	2.19	RÍO FUY EN DESAGÜE LAGO PIREHUEICO	1.46
RÍO CAUNAHUE CAMINO A LLIFÉN	1997-2012	7.28	RÍO NILAHUE EN MAYAY	0
RÍO CALCURRUPE EN DESEMBOCADURA	1986-2012	6.24	RÍO SAN PEDRO EN DESAGÜE LAGO	0
RÍO NILAHUE EN MAYAY	1987-2012	2.62	RÍO CAUNAHUE CAMINO A LLIFÉN	2.48
RÍO CRUCES EN RUCACO	1994-2012	4.22	RÍO INAQUE EN MÁFIL	0.01
RÍO BUENO EN BUENO	2002-2012	1.69	RÍO PILMAIQUEN EN SAN PABLO	0
RÍO LIQUINE EN LIQUIÑE	1994-2012	2.58	RÍO TRANCURA EN CURARREHUE	0.29
RÍO HUAHUM EN LA FRONTERA	2002-2012	10.09	RÍO FUY EN DESAGÜE LAGO PIREHUEICO	6.79
RÍO PILMAIQUEN EN SAN PABLO	1978-2012	5.28	RÍO DAMAS EN TACAMO	2.93
RÍO FUY EN DESAGÜE LAGO PIREHUEICO	2002-2012	20.90	RÍO HUAHUM EN LA FRONTERA	6.79
RÍO BÍO-BÍO EN HUIRI HUIRI	2003-2012	16.42	RÍO BÍO-BÍO ANTE JUNTA PANGUE	8.4

En la Tabla 11 se presenta el resumen de resultados obtenidos del análisis hidrológico. En ella se señalan los puntos de muestreo asociados a estaciones fluviométricas, con información respecto a presencia o ausencia de Didymo. También se aprecia el tipo de régimen hidrológico. En cuanto a magnitudes, se presenta el promedio de caudales diarios registrados en la serie histórica de cada estación, el promedio de los máximos anuales, promedio de mínimos anuales, así como los períodos que acumulan mayor frecuencia en la ocurrencia de estos eventos extremos. También, la relación existente entre el mayor caudal mensual con probabilidad de excedencia del 5% y el promedio anual, y el menor caudal mensual con probabilidad de excedencia del 95% con el promedio anual.

Se puede apreciar que el régimen asociado a los puntos en que se detectó la presencia de Didymo son en gran parte del tipo pluvio-nival. Por otro lado, no se detectó Didymo cuando el régimen hidrológico presenta mayor variabilidad (sólo pluvial). Gran parte de los sitios con cambios en la presencia de Didymo en muestras bentónicas entre ambas campañas no ha sido caracterizado hidrológicamente debido a la falta de información disponible.

Tabla 11. Resumen análisis hidrológico. Presencia de Didymo: SI, ambas campañas de muestreo; SI(1) sólo campaña primavera 2013; SI(2) sólo campaña otoño 2014.

Cuenca	Código	Didymo	Régimen	Promedio Histórico (m ³ /s)	Promedio Q máx Anuales (m ³ /s)	Meses de ocurrencia máx.	Promedio Q mín Anuales (m ³ /s)	Meses de ocurrencia mín.	Max Q5%	Min Q95%
Río Itata	F-AMK-NUBLE2	NO	Pluvio-Nival	138.3	667.22	Junio a Octubre	22.07	Marzo a Mayo	4.2	0.1
	F-AMK-NUBLE1	NO	Pluvio-Nival	138.3	667.22	Junio a Octubre	22.07	Marzo a Mayo	4.2	0.1
	F-AMK-ITATA2	NO	Pluvial	83.31	540.76	Mayo a Septiembre	13.4	Diciembre a Marzo	4	0.1
	F-AMK-ITATA1	NO	Pluvial	83.31	540.76	Mayo a Septiembre	13.4	Diciembre a Marzo	4	0.1
	F-AMK-CHOLGN1	NO	Pluvial	365.33	1186.58	Junio a Septiembre	96.33	Enero a Mayo	3.4	0.25
	F-AMK-CHOLGN2	NO	Pluvial	365.33	1186.58	Junio a Septiembre	96.33	Enero a Mayo	3.4	0.25
Río Bío-Bío	F-AMK-BIOBIO1	NO	Pluvio-Nival	110.78	621.63	Mayo a Septiembre	28.31	Febrero a Mayo	3.2	0.15
	F-AMK-BIOBIO1	SI(2)	Pluvio-Nival	110.78	621.63	Mayo a Septiembre	28.31	Febrero a Mayo	3.2	0.15

Cuenca	Código	Didymo	Régimen	Promedio Histórico (m3/s)	Promedio Q máx Anuales (m3/s)	Meses de ocurrencia máx.	Promedio Q mín Anuales (m3/s)	Meses de ocurrencia mín.	Max Q5%	Min Q95%
	F-AMK-BIOBIO2	SI	Pluvio-Nival	96.27	954.06	Abril a Agosto	14.97	Abril a Mayo	4	0.06
	PUNTO5-SERNAP	SI	Pluvio-Nival	251.27	952.12	Junio a Noviembre	33.25	Abril a Mayo	2.8	0.2
	AMK-SENAP2 BC	SI	Pluvio-Nival	251.27	952.12	Junio a Noviembre	33.25	Abril a Mayo	2.8	0.2
	AMK-BALSRAHA	SI	Pluvio-Nival	251.27	952.12	Junio a Noviembre	33.25	Abril a Mayo	2.8	0.2
	AMK-SERNAPLQM	SI	Pluvio-Nival	26.41	160.14	Junio a Agosto	5.46	Marzo a Mayo	3.6	0.11
Río Imperial	F-TRIGUEN1	NO	Pluvial	76.76	314.21	Junio a Noviembre	1.71	Febrero a Abril	3.8	0.01
	F-TRIGUEN2	NO	Pluvial	76.76	314.21	Junio a Noviembre	1.71	Febrero a Abril	3.8	0.01
	AMK-CAUTIN1	NO	Pluvio-Nival	79.14	576.23	Junio a Agosto	8.78	Febrero a Abril	4.6	0.1
	AMK-CAUTIN2	NO	Pluvio-Nival	79.14	576.23	Junio a Agosto	8.78	Febrero a Abril	4.6	0.1
	F-TRUENO2	NO	Pluvial	30.45	209.39	Mayo a Septiembre	6.46	Enero a Mayo	3.4	0.15
	F-TRUENO1	NO	Pluvial	30.45	209.39	Mayo a Septiembre	6.46	Enero a Mayo	3.4	0.15
	F-QUEPE2	NO	Pluvial	4.41	35.3	Junio a Agosto	0.27	Enero a Abril	5.2	0.01
Río Toltén	AMK-ALLIPEN1	NO	Pluvial	90.02	441.05	Mayo a Agosto	31.4	Febrero a Mayo	3	0.24
	AMK-CURACO2	NO	Pluvial	29.69	201.64	Mayo a Noviembre	5.62	Enero a Abril	3.4	0.15
	AMK-CURACO1	NO	Pluvial	29.69	201.64	Mayo a Noviembre	5.62	Enero a Abril	3.4	0.15
	AMK-TOLTEN2	NO	Lacustre	41.7	459.85	Mayo a Julio	6.37	Febrero a Mayo	4.8	0.03
	AMK-ALLIPEN2	NO	Pluvial	90.02	441.05	Mayo a Agosto	31.4	Febrero a Mayo	3	0.24
	AMK-LIUCURAS1	NO	Pluvio-Nival	45.72	243.1	Mayo a Octubre	7.25	Enero a Mayo	3.8	0.04
	AMK-MAICHIN1	NO	Pluvio-Nival	13.17	125.7	Junio a Septiembre	1.97	Enero a Abril	4.2	0.1
	AMK-TOLTEN1	NO	Lacustre	41.7	459.85	Mayo a Julio	6.37	Febrero a Mayo	4.8	0.03
	AMK-TRANCURA2	NO	Pluvio-Nival	38.24	354.71	Mayo a Septiembre	5.07	Enero a Abril	3.8	0.04
Río Valdivia	AMK-CRUCES1	NO	Pluvial	55.4	202.57	Mayo a Noviembre	11.46	Marzo a Abril	3.2	0.02
	AMK-CRUCES2	NO	Pluvial	55.4	202.57	Mayo a Noviembre	11.46	Marzo a Abril	3.2	0.02

Cuenca	Código	Didymo	Régimen	Promedio Histórico (m3/s)	Promedio Q máx Anuales (m3/s)	Meses de ocurrencia máx.	Promedio Q mín Anuales (m3/s)	Meses de ocurrencia mín.	Max Q5%	Min Q95%
	AMK-LIQUINE2	NO	Pluvio-Nival	250.63	619.05	Junio a Octubre	98.35	Marzo a Mayo	2.6	0.3
	AMK-CUACUA2	NO	Pluvio-Nival	250.63	619.05	Junio a Octubre	98.35	Marzo a Mayo	2.6	0.3
	AMK-SANPEDRO2	SI	Lacustre	40.17	459.85	Mayo a Julio	6.42	Febrero a Mayo	4.8	0.03
	AMK-SANPEDRO1	NO	Lacustre	40.17	459.85	Mayo a Julio	6.42	Febrero a Mayo	4.8	0.03
	AMK-FUY1	SI(1)	Pluvio-Nival	353.66	806.08	Junio a Octubre	133.26	Marzo y Abril	3.6	0.4
	AMK-FUY2	SI	Pluvio-Nival	353.66	806.08	Junio a Octubre	133.26	Marzo y Abril	3.6	0.4
	AMK-HUAHUM2	SI	Pluvio-Nival	126.49	705.03	Mayo a Septiembre	42.66	Diciembre a Mayo	2.8	0.35
	AMK-HUAHUM1	SI	Pluvio-Nival	126.49	705.03	Mayo a Septiembre	42.66	Diciembre a Mayo	2.8	0.35
Río Bueno	AMK-FLORIN2	NO	Pluvio-Nival	40.65	307.84	Mayo a Octubre	10.03	Febrero a Abril	3.6	0.1
	AMK-CAUNAHUE2	NO	Pluvio-Nival	40.65	307.84	Mayo a Octubre	10.03	Febrero a Abril	3.6	0.1
	AMK-CALCRRPE2	NO	Lacustre	176.93	716.08	Mayo a Octubre	57.64	Enero a Abril	2.8	0.3
	AMK-BUENO2	NO	Pluvial	57.47	582.08	Mayo a Agosto	5	Diciembre a Abril	3.2	0.05
	AMK-IGNAO1	NO	Pluvial	57.47	582.08	Mayo a Agosto	5	Diciembre a Abril	3.2	0.05
	AMK-NILHUE1	NO	Pluvio-Nival	36.1	294.11	Mayo a Agosto	12.03	Febrero a Mayo	3.2	0.3
	AMK-DPILMAQN2	NO	Pluvial	170.14	662.82	Mayo a Septiembre	50.46	Diciembre a Mayo	2.8	0.2

Variables geográficas

Se presentan resumen de resultados por cuenca:

- Cuenca del Río Itata: 7 puntos de muestreo pertenecen a esta cuenca. No existen lagos de importancia para ser asociados. La distancia a volcanes se asocia a 2 puntos. La máxima distancia a caminos es menor a tres kilómetros. La altitud mínima es 40 m.s.n.m. y la máxima 472 m.s.n.m. Por último, predomina un orden de Strahler igual a 4.
- Cuenca del Río Bío-Bío: de 19 puntos muestreados, 13 reciben aporte directo de algún lago. En cuanto a volcanes, se asocia esta variable a 9 puntos. La máxima distancia a caminos bordea los 5 kilómetros. La altitud mínima es 222 m.s.n.m. y la máxima 1125 m.s.n.m. Respecto al orden de Strahler, predominan órdenes 3 y 4.
- Cuenca del Río Imperial: a esta cuenca pertenecen 10 puntos. No existen lagos de importancia. Tres puntos presentan relación con volcanes. La máxima distancia a caminos es aproximadamente 2 kilómetros. La altitud mínima es 29 m.s.n.m. y la máxima 444 m.s.n.m. Se registran órdenes de Strahler entre 1 y 4.
- Cuenca del Río Toltén: existen 17 puntos de muestreo, de los cuales 10 reciben influencia directa de lagos. Siete puntos reciben aporte directo de volcanes. La máxima distancia a caminos bordea los 2 kilómetros. La altitud mínima es 28 m.s.n.m. y la máxima 393 m.s.n.m. El orden de Strahler varía entre 2 y 5.
- Cuenca del Río Valdivia: de 25 puntos, 11 se asocian a lagos de importancia. En cuanto a volcanes, 11 puntos reciben aporte de estos. La máxima distancia a caminos es menor a 2 kilómetros. La altitud mínima es 19 m.s.n.m. y la máxima 614 m.s.n.m. Predominan números de Strahler de 3 y 4.
- Cuenca del Río Bueno: a esta cuenca pertenecen 15 puntos. Cuatro de ellos tienen relación directa con algún lago. Diez puntos se asocian la variable volcanes. La máxima distancia a caminos bordea los 10 kilómetros. La altitud mínima es 13 m.s.n.m. y la máxima 295 m.s.n.m. El orden de Strahler varía en 1 y 4.

El resumen de las variables geográficas se presenta en la Tabla 12.

Tabla 12. Resumen variables geográficas

Cuenca	Código	Distancia lagos (m)	Distancia glaciares (m)	Distancia caminos (m)	Orden de Strahler	Altitud
Río Itata	F-AMK-NUBLE2	-	104754.10	2361.75	4	127
	F-AMK-NUBLE1	-	69153.37	78.80	4	271
	F-AMK-ITATA2	-	-	206.29	4	40
	F-AMK-ITATA1	-	-	175.19	4	47
	F-AMK-CHOLGN1	-	-	1118.70	2	472
	F-AMK-CHOLGN2	-	-	1322.68	3	237
Río Bío-Bío	F-AMK-LAJA2	58241.34	53211.75	1266.73	3	319
	F-AMK-LAJA1	29500.13	25367.67	490.23	3	560
	F-AMK-CANICR1	-	-	1324.26	2	338
	F-AMK-QUEUCO1	-	-	272.14	3	577
	F-AMK-QUEUCO2	-	-	712.42	3	500
	F-AMK-BIOBIO1	-	69025.71	106.61	4	222
	F-AMK-BIOBIO1	162620.39	29030.67	72.32	3	345
	F-AMK-BIOBIO2	135635.73	50355.05	5131.70	3	530
	PUNTO5-SERNAP	97341.68	77860.09	419.17	4	728
	PUNTO4-SERNAP	-	-	158.36	2	961
	AMK-SENAP2 BC	75888.92	55495.88	366.62	4	822
	AMK-BALSRAHA	64248.04	44766.45	412.13	4	865
	AMK-SERNAPLQM	-	38590.74	355.37	3	892
	F-LOLEN-SERNAP	55622.19	-	178.08	4	892
	TALLON-SERNAP	49450.41	-	475.81	4	920
	PUNTOX-SERNAP	33988.24	-	18.20	4	982
	AMK-LIUCURAN2	-	-	-	4	1032
	AMK-BIOBIO2	23229.95	-	365.78	2	1024
	AMK-BIOBIO1	4602.91	-	1292.72	3	1125
Río Imperial	F-TRIGUEN1	-	-	2071.64	2	423
	F-TRIGUEN2	-	-	494.98	3	208
	AMK-CAUTIN1	-	29173.76	231.31	3	29
	AMK-CAUTIN2	-	55150.27	490.72	4	312
	F-PEUPEU1	-	-	836.83	2	201
	F-TRUENO2	-	-	959.18	2	285
	F-TRUENO1	-	-	230.88	2	444
	F-VILCUN1	-	-	106.34	1	383
	F-CODIGUE1	-	-	1166.95	1	427
	F-QUEPE2	-	104147.64	200.61	4	63

Cuenca	Código	Distancia lagos (m)	Distancia glaciares (m)	Distancia caminos (m)	Orden de Strahler	Altitud
Río Toltén	AMK-ALLIPEN1	-	67796.14	673.46	4	202
	AMK-CURACO2	16553.83	-	134.01	4	219
	AMK-CURACO1	2964.46	-	182.28	4	311
	AMK-TOLTEN2	25232.49	-	666.20	5	28
	AMK-ALLIPEN2	-	96002.09	445.81	5	104
	AMK-LIUCURAS1	-	-	335.60	3	361
	AMK-PEDRGSO1	7577.93	-	305.27	2	291
	AMK-MAICHIN1	-	53208.85	54.57	4	519
	AMK-PEDRGSO2	20731.30	-	111.94	2	172
	AMK-TOLTEN1	9691.53	-	2074.47	5	128
	AMK-PANQUI2	-	63578.46	198.22	4	376
	F-CLARO1	-	-	767.97	3	226
	F-RPUCONBALSA	17822.51	16884.24	158.21	5	231
	AMK-PUCON2	15986.69	15048.42	1709.89	5	383
	AMK-CABURGUA2	7174.37	-	1012.60	3	277
	AMK-LIUCURA2	14257.93	-	311.07	4	260
	AMK-TRANCURA2	-	26756.92	363.17	3	393
	Río Valdivia	AMK-LLANCAH1	-	20574.36	491.82	3
AMK-CRUCES1		-	85662.75	232.05	3	52
AMK-CRUCES2		-	114868.13	87.54	3	19
AMK-LIQUINE2		-	35940.16	230.75	4	228
AMK-CUACUA2		-	42977.99	167.25	4	210
AMK-ZAHUIL2		-	-	951.46	3	138
AMK-HUENEHUE2		9398.07	-	510.93	3	129
AMK-PUTRGL1		-	-	147.96	1	
AMK-LLANQHUE2		7647.64	11845.33	1360.33	4	137
AMK-MAFIL2		-	-	201.72	2	
AMK-MANIO2		-	-	1274.33	1	257
AMK-SANPEDRO2		29037.99	-	323.20	4	34
AMK-SANPEDRO1		0.00	-	1011.33	4	110
AMK-LLANQHUE1		3848.33	8046.02	210.58	4	179
AMK-NELTUME1		938.23	-	1405.45	4	199
AMK-FUY1		24293.80	8404.43	519.52	4	209
AMK-FUY2		14709.76	16259.44	176.21	4	508
AMK-HUAHUM2		-	-	123.76	4	616
AMK-HUAHUM1		-	-	687.61	4	614
AMK-ENCO1		2867.50	-	895.58	4	128
AMK-ENCO2	10038.70	13572.15	894.03	4	114	
AMK-BCOENCO2	10038.70	13572.15	894.03	4	125	

Cuenca	Código	Distancia lagos (m)	Distancia glaciares (m)	Distancia caminos (m)	Orden de Strahler	Altitud
	AMK-QUINCHIL1	-	-	518.70	3	101
	AMK-QUINCHIL2	-	-	170.72	3	61
	AMK-REMEHUE2	-	-	26.04	2	118
Río Bueno	AMK-NELTUME2	-	6469.93	10325.04	1	205
	AMK-BCOMAIHU1	-	24583.59	236.79	3	170
	AMK-CURRINE2	-	27045.42	222.76	3	146
	AMK-FLORIN2	-	21881.83	70.82	2	154
	AMK-CHIHUIO2	-	-	453.60	2	295
	AMK-CAUNAHUE2	-	32281.60	669.76	3	67
	AMK-RININAHU2	-	-	68.80	1	64
	AMK-CUMILAHUE1	-	-	164.66	2	124
	AMK-CUMILAHU2	-	-	144.41	2	101
	AMK-CALCRRPE2	15484.13	-	415.90	4	70
	AMK-HUEINAHU2	-	18378.86	2490.60	3	95
	AMK-BUENO2	46992.56	78835.95	599.58	4	13
	AMK-IGNAO1	16041.00	47884.40	466.01	2	53
	AMK-NILHUE1	-	32477.56	293.15	2	128
	AMK-DPILMAQN2	22402.48	78006.48	53.29	3	

En la Figura 31 se resume la totalidad de las variables geográficas obtenidas para los sitios muestreados. En general, todas las variables presentan homogénea frecuencia de sitios por subcategoría, exceptuando por las variables Clima y Pendiente, las que indican que, gran parte de los sitios cuentan con un clima "Muy Humedo" (> 2000mm. de precipitación efectiva anual), y pendiente "Baja" (<0.02% de pendiente) (Ver más detalles de las clasificaciones en Peredo-Parada, 2009).

En la Tabla 13 se observa el resumen del test MRPP. Sus resultados indican que, a pesar de que ciertos factores físicos se agrupan de manera significativa en función de las variables químicas, su dispersión A es muy cercana a 0, siendo similar a lo esperado por azar.

En la Figura 32 se observa un PCA de variables químicas agrupando los sitios por cuenca. Si bien, la agrupación es significativa, las cuencas se encuentran altamente solapadas,

expresando el resultado obtenido en el Índice A. En general, la cuenca del río Bueno se logra diferenciar del resto dado el aumento de los valores de CE registrados.

Figura 31. Frecuencia de sitios en presencia (SI)/ ausencia (NO) de Didymo por categoría de variable geográfica.

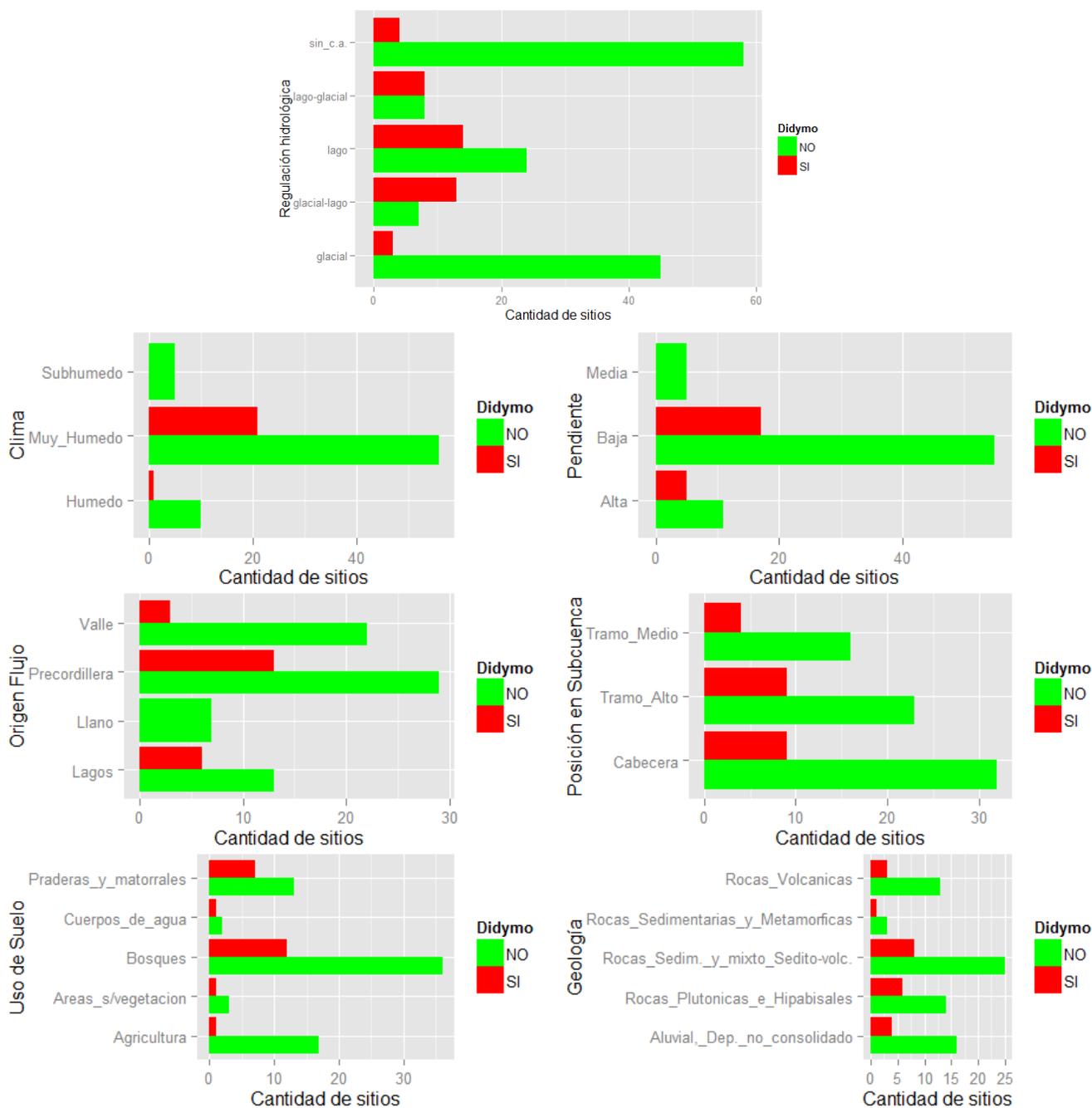
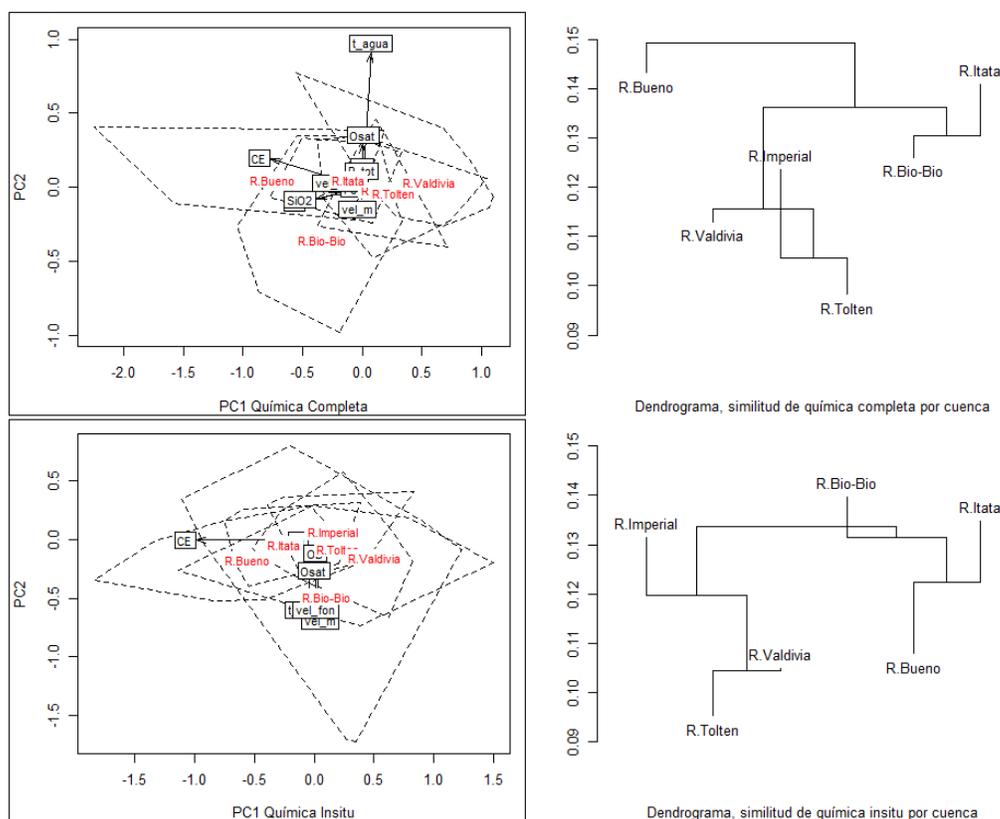


Tabla 13. Resultados test MRPP para agrupación de variables químicas según categorías de variables geográficas.

Variable agrupante	Química <i>in situ</i>		Química completa	
	A	p-value	A	p-value
Cuenca	0.07314	0.001	0.07083	0.001
Estación del año	0.04436	0.001	0.04035	0.001
Uso de suelo	0.01292	0.026	0.02178	0.05
Pendiente	0.00569	0.086	0.002136	0.323
Clima	0.01066	0.024	0.008376	0.126
Origen de Flujo	0.02348	0.001	0.006278	0.21
Geología	0.01421	0.016	0.03147	0.008
Posición en la cuenca	0.005717	0.078	0.0004639	0.424
Regulación hidrológica	0.02082	0.004	0.01617	0.07
Strahler	0.02151	0.002	0.01882	0.063

Figura 32. Izquierda: PCA de variables químicas *in situ* y completa, agrupando los sitios por cuenca. Derecha: dendrogramas de similitud por cuenca en función de variables químicas.



Para el análisis LDA se utilizaron dos set de datos, el primero con química completa y el segundo con química *in situ*, además de las variables geográficas: estación del año,

posición en la cuenca, geología, regulación hidrológica y orden de Strahler. El índice de AUC para el primer análisis fue solo de un 0.65, cercano a lo predicho por azar, sin embargo, el índice AUC para el segundo es de un 0.95, representando un modelo con gran capacidad de predicción.

En la Figura 33 y Figura 35 se resumen los resultados del análisis LDA y de espacio ROC. Las variables que más explicaron variabilidad en el LDA fueron de tipo geográfico, así, regulación hidrológica de tipo "Glacial" y "Glacial-lago", además de una posición en un "Tramo medio" de la cuenca, se asocian fuertemente a la presencia de Didymo (Figura 34).

Figura 33. Histograma de frecuencia de sitios en presencia (SI)/ ausencia (NO) en torno al LD1 del análisis realizado con el set de datos geográficos y de química *in situ*.

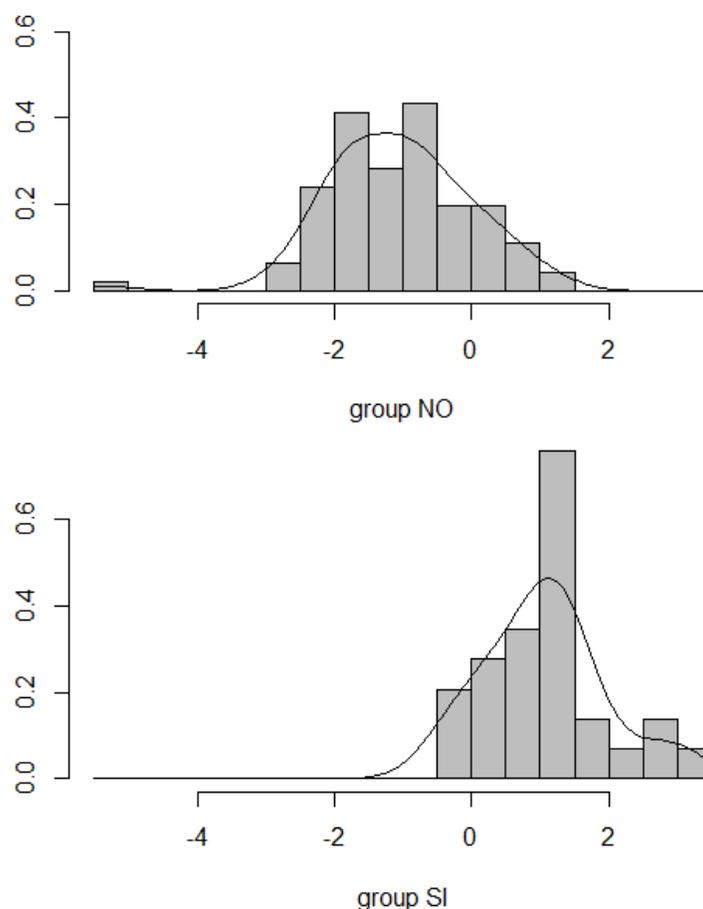


Figura 34. Importancia y participación en el LD1 de cada variable y categoría utilizada. Valor absoluto refleja importancia de la variable y signo representa asociación a presencia (+) o ausencia (-).

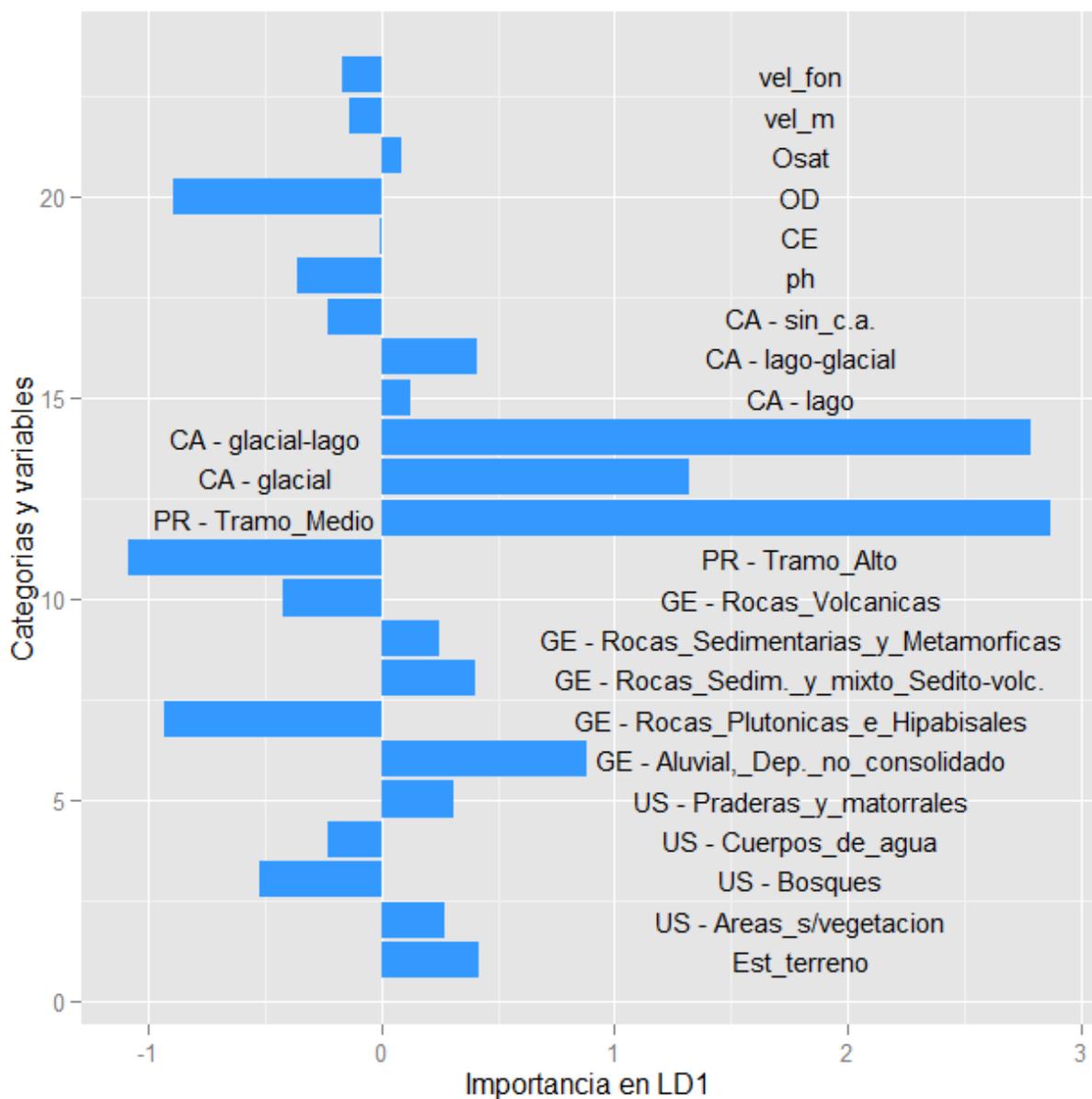
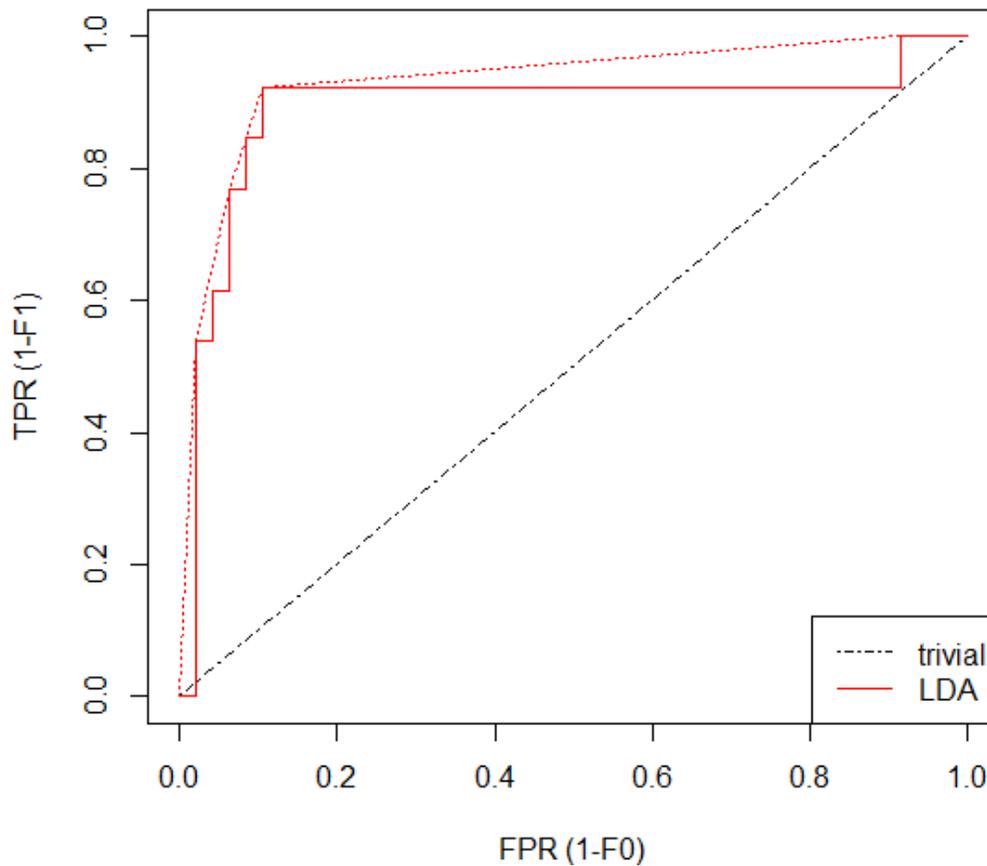


Figura 35. ROC-AUC, resumen gráfico de capacidad predictiva de nuestro modelo. LDA cercano a línea punteada representa predicción cercana al azar. LDA cercano a 1 representa buena capacidad de predicción.



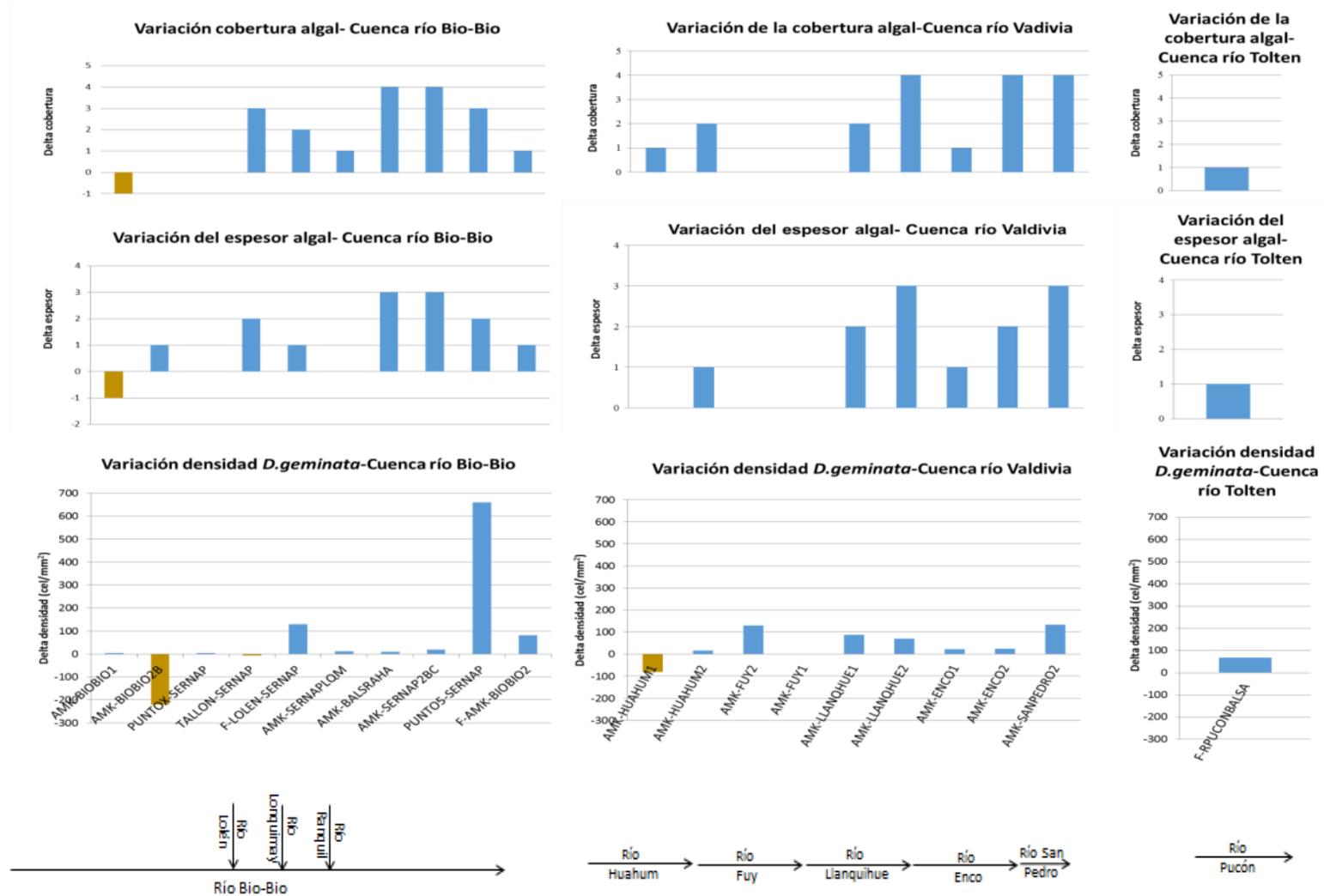
Finalmente, los resultados del análisis de la variación estacional de *D. geminata* indican que según el análisis de varianza, la densidad celular de la especie es significativamente mayor en primavera que en otoño (ANOVA: $F = 2.24$, $P = 0.0004$).

En la Figura 36 se evidencia notoriamente que la densidad, la cobertura y el espesor son mayores en primavera que en otoño a excepción de tres puntos de muestreo. Asimismo, se evidencia que tanto la cobertura como el espesor se comportan de forma similar en 17 de los 20 puntos, ya que ambas variables disminuyeron o se mantuvieron sin variación entre ambos muestreos. En cuanto a la densidad, se comportó de forma similar a la cobertura y al espesor en 12 puntos.

Los puntos de muestreo que presentaron una mayor densidad de la diatomea en otoño no presentan una clara asociación con el espesor ni con la cobertura, sino más bien parecieran presentar una relación inversamente proporcional, es decir, mientras la densidad aumentó en otoño, la cobertura y/o el espesor disminuyeron o se mantuvieron sin variación. De la misma forma ocurrió en cuatro puntos de muestreo en donde la densidad fue mayor en primavera en donde no se reflejó una variación en la cobertura ni en el espesor en la campaña de otoño.

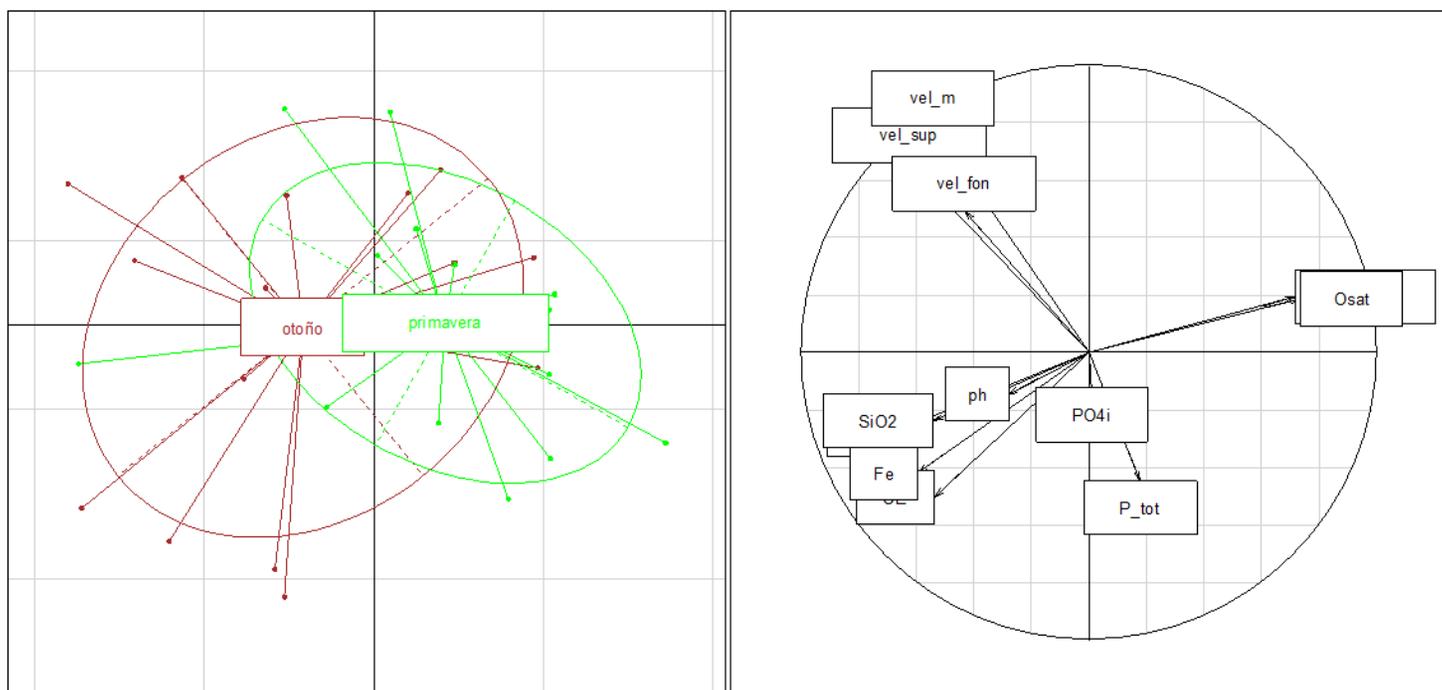
Los puntos de muestreo ubicados en la cuenca del río Valdivia se caracterizan por estar fuertemente influenciados por cuerpos lacustres. En el diagrama unifilar de la cuenca (Figura 36) cada punta de flecha indica la influencia de un lago entre los puntos de muestreo. Cabe señalar que aguas arriba del punto AMK-HUAHUM1 hay un lago perteneciente a Argentina. Entonces, se evidencia que la densidad de *D. geminata* en los puntos inmediatamente aguas abajo de un lago es mayor que la densidad en el punto que le sigue (aguas abajo), a excepción de la estación AMK-SANPEDRO2 cuyo punto aguas arriba y más cercano al lago (AMK-SANPEDRO1) no presentó *D. geminata* en ninguna de las campañas.

Figura 36. Variación de la densidad de *D. geminata*, cobertura y espesor algal por punto de muestreo y por cuenca, junto con un diagrama unifilar de los cauces. El diagrama indica los cauces en donde se encuentran los puntos de muestreo, desde aguas arriba a aguas abajo en la cuenca. Las barras azules de los gráficos indican mayores números de la variable en primavera, y las barras amarillas indican mayores números de la variable en invierno.



El análisis PCA realizado con los parámetros físico-químicos, explica un 46.4% de la varianza de los datos en sus dos primeros ejes (Figura 37). De acuerdo a los resultados, la saturación de oxígeno y la temperatura del agua serían los parámetros que mejor explican la varianza de los sitios de muestreo, mientras que las velocidades media y superficial también influenciarían en esta variación. Paralelamente, se puede observar un agrupamiento de ambas campañas de muestreo en torno a estas variables.

Figura 37. Resultados de componentes principales 1 y 2 para parámetros físico-químicos, agrupados por estación del año (otoño y primavera).



Objetivo específico 4: "Evaluar el impacto de *Didymosphenia geminata* sobre las comunidades de diatomeas bentónicas, perifiton y macroinvertebrados bentónicos."

A continuación se presentan los resultados obtenidos respecto a diatomeas bentónicas, perifiton y macroinvertebrados bentónicos de ambas campañas de muestreo.

Diatomeas bentónicas

Las densidades totales utilizadas para los análisis de diatomeas bentónicas fueron corregidas por porcentajes de células viables estimadas en laboratorio. Sí bien, la riqueza y los índices de diversidad y equitatividad son similares entre las 6 cuencas muestreadas en la campaña primavera 2013 (Figura 38), la densidad celular fue considerablemente mayor en las cuencas de Valdivia y Bío-Bío, ambas cuencas con presencia de Didymo, sin embargo, no se observan mayores diferencias en los parámetros comunitarios según presencia o ausencia de Didymo, excepto en la cuenca Bío-Bío, que presenta un notorio aumento de la diversidad y riqueza de especies en presencia de la plaga (Figura 40). De manera similar, en el periodo de otoño 2014, la cuenca Bío-Bío presentaría una mayor densidad celular, mientras que en la cuenca Valdivia presentaría sitios con mayor riqueza (Figura 39). En esta campaña, de manera cualitativa, se puede observar un aumento en los parámetros comunitarios de diatomeas bentónicas en presencia de Didymo (Figura 41), sin embargo, hasta el momento no hay una cantidad de sitios invadidos suficientes para comprobar estadísticamente esta diferencia.

El análisis PCA realizado con la comunidad de diatomeas bentónicas, explica sobre un 80% de la varianza de los datos en sus dos primeros ejes, validando el análisis (Figura 42). Por cuenca, Valdivia se diferencia fuertemente del resto debido a su comunidad. Del mismo modo, los sitios con presencia de Didymo también se diferencian de los sitios con ausencia de Didymo, influenciado posiblemente por la gran presencia de puntos positivos en Valdivia. Finalmente, *Didymosphenia geminata* se agrupa con otras especies de diatomeas, tales como *Tabellaria flocculosa*, *Flagilaria capucina* y *Synedra acus*.

Figura 38. Índices y parámetros comunitarios de diatomeas bentónicas por cuenca de la campaña de muestreo primavera 2013. Densidad total (cel/mm^2) (A), Riqueza de especies (B), índice de diversidad de Shanon-Winner (C), índice de equitatividad de Evenness (D). Línea punteada indica media obtenida. En gráfico A no se muestran datos atípicos extremos para la cuenca.

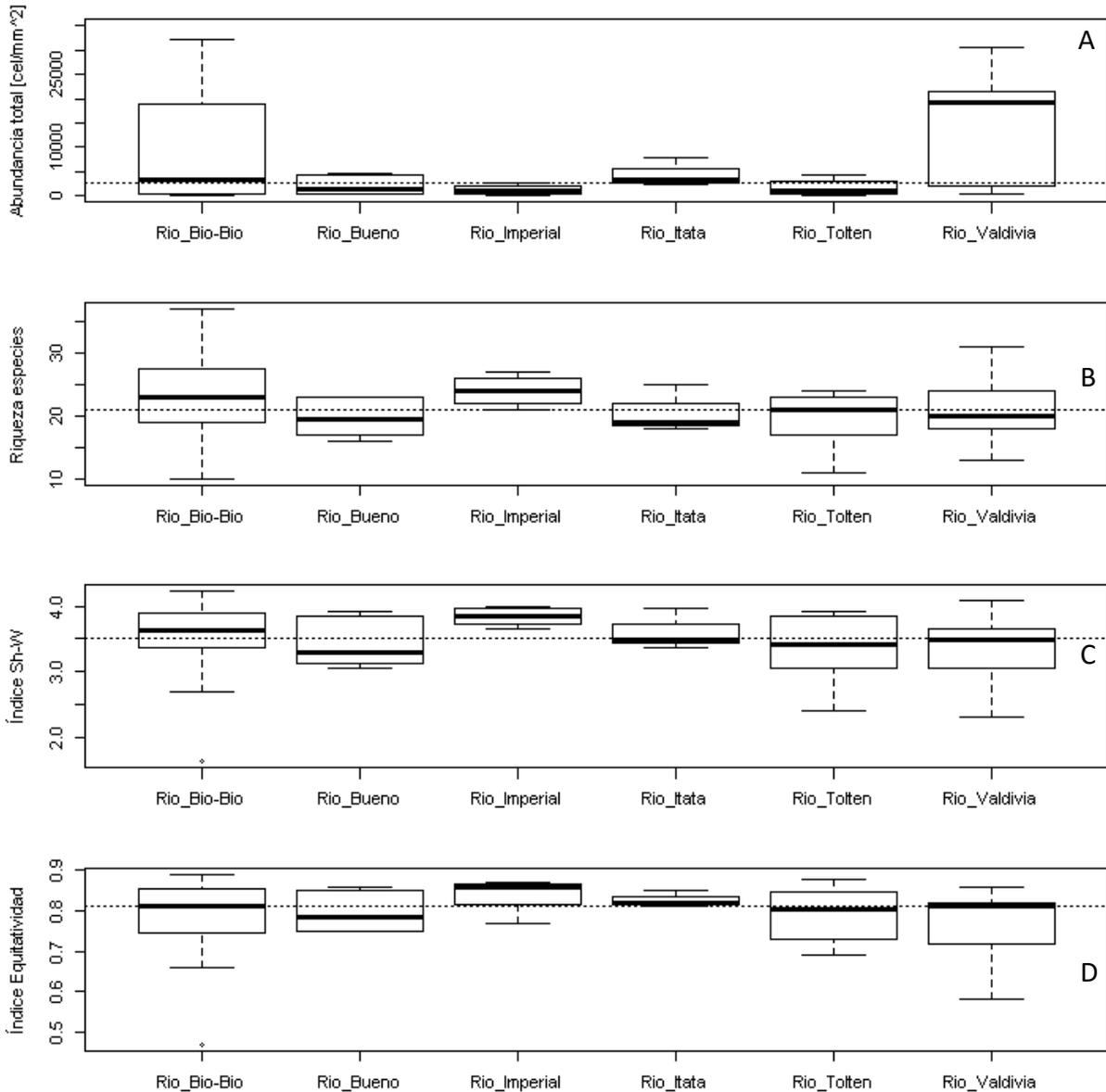


Figura 39. Índices y parámetros comunitarios de diatomeas bentónicas por cuenca de la campaña de muestreo otoño 2014. Densidad total (cel/mm²) (A), Riqueza de especies (B), índice de diversidad de Shanon-Winner (C), índice de equitatividad de Evenness (D). Línea punteada indica media obtenida. En grafico A no se muestran datos atípicos extremos para la cuenca.

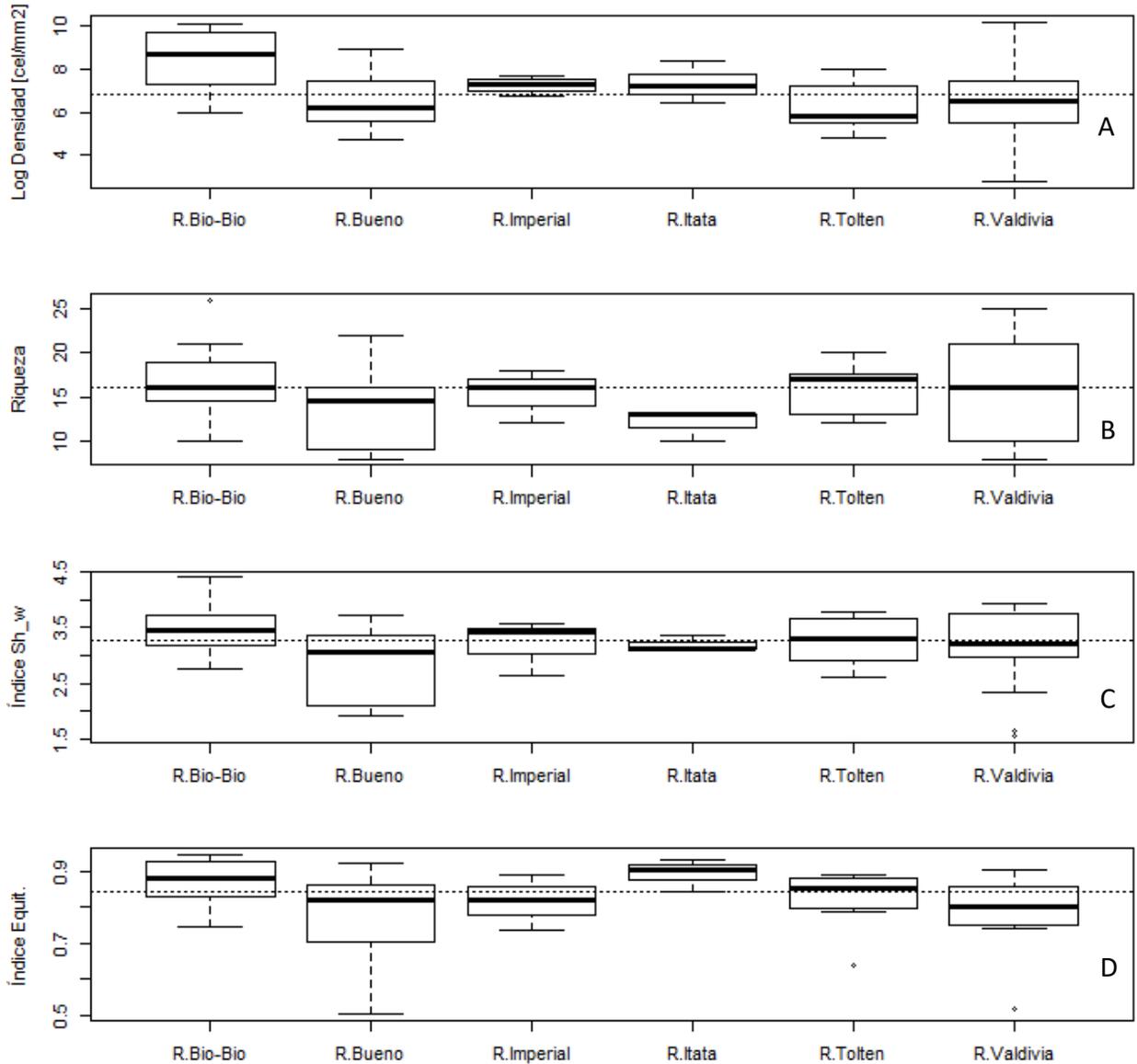


Figura 40. Índices y parámetros comunitarios de diatomeas bentónicas según presencia (rojo) o ausencia (verde) de Didymo por cuenca de la campaña de muestreo primavera 2013. Densidad total (cel/mm²) (A), Riqueza de especies (B), índice de diversidad de Shannon-Wiener (C), índice de equitatividad de Evenness (D). Línea punteada indica media obtenida para todos los datos.

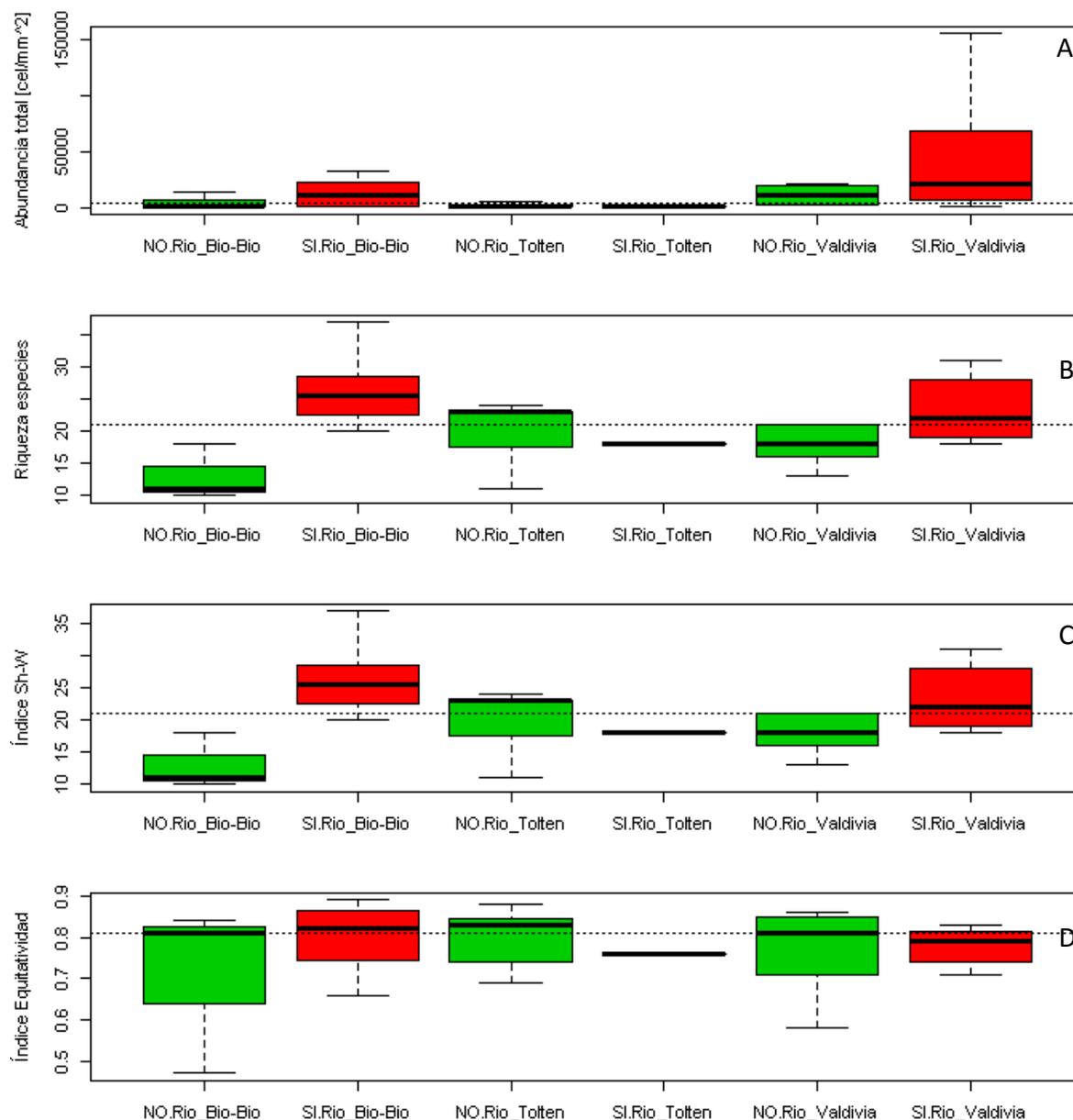


Figura 41. Índices y parámetros comunitarios de diatomeas bentónicas según presencia (rojo) o ausencia (verde) de Didymo por cuenca de la campaña de muestreo otoño 2014. Densidad total (cel/mm²) (A), Riqueza de especies (B), índice de diversidad de Shannon-Wiener (C), índice de equitatividad de Evenness (D). Línea punteada indica media obtenida para todos los datos.

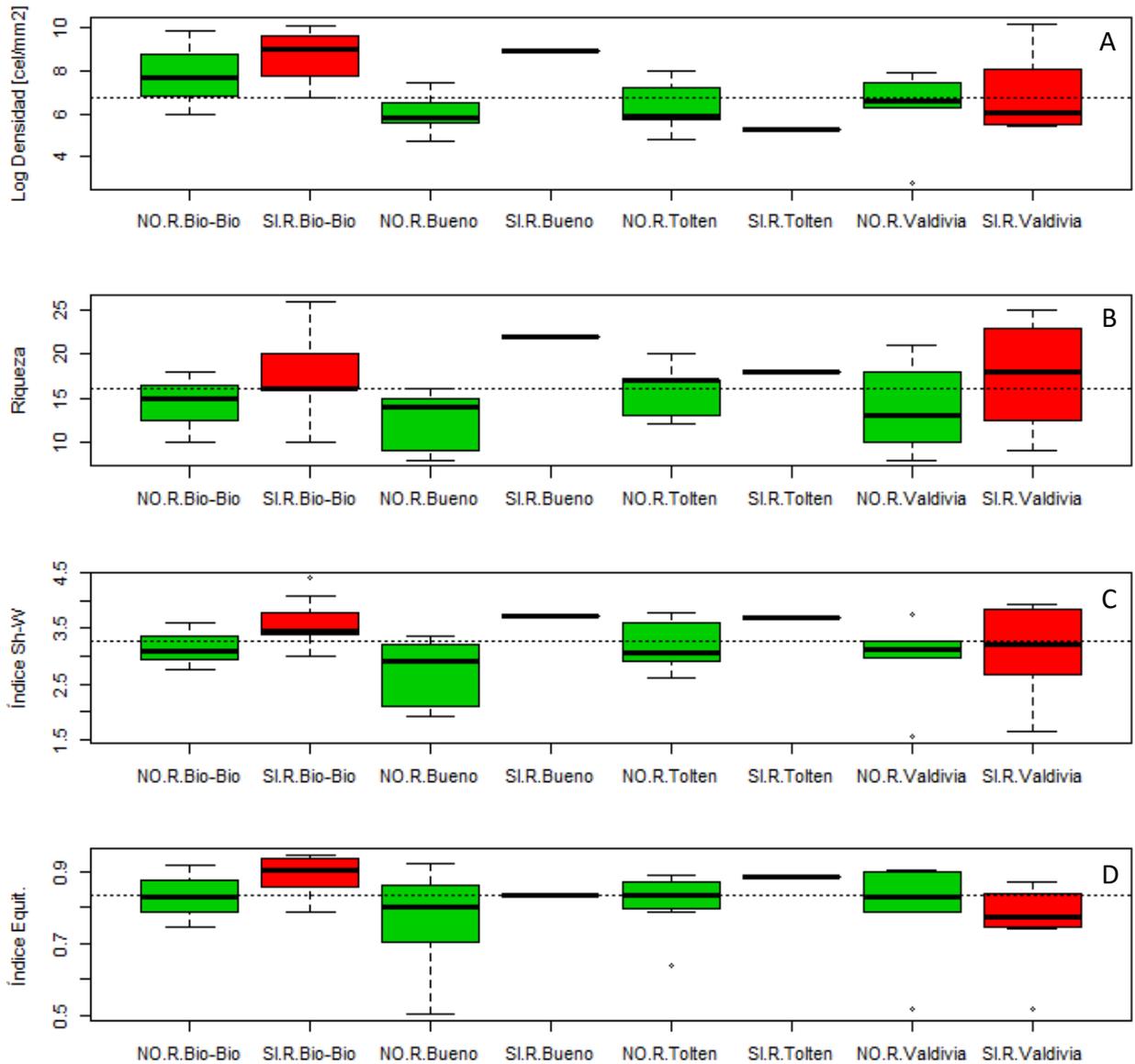


Figura 42. Eje 1 y Eje 2 de PCA de diatomeas bentónicas detectadas en las campañas de muestreo primavera 2013 y otoño 2014. (A) sitios agrupados en presencia (SI) /ausencia (NO) de Didymo, (B) sitios agrupados por cuencas, (C) sitios agrupados por campaña de muestreo y (D) especies detectadas con las que se realizó el análisis.

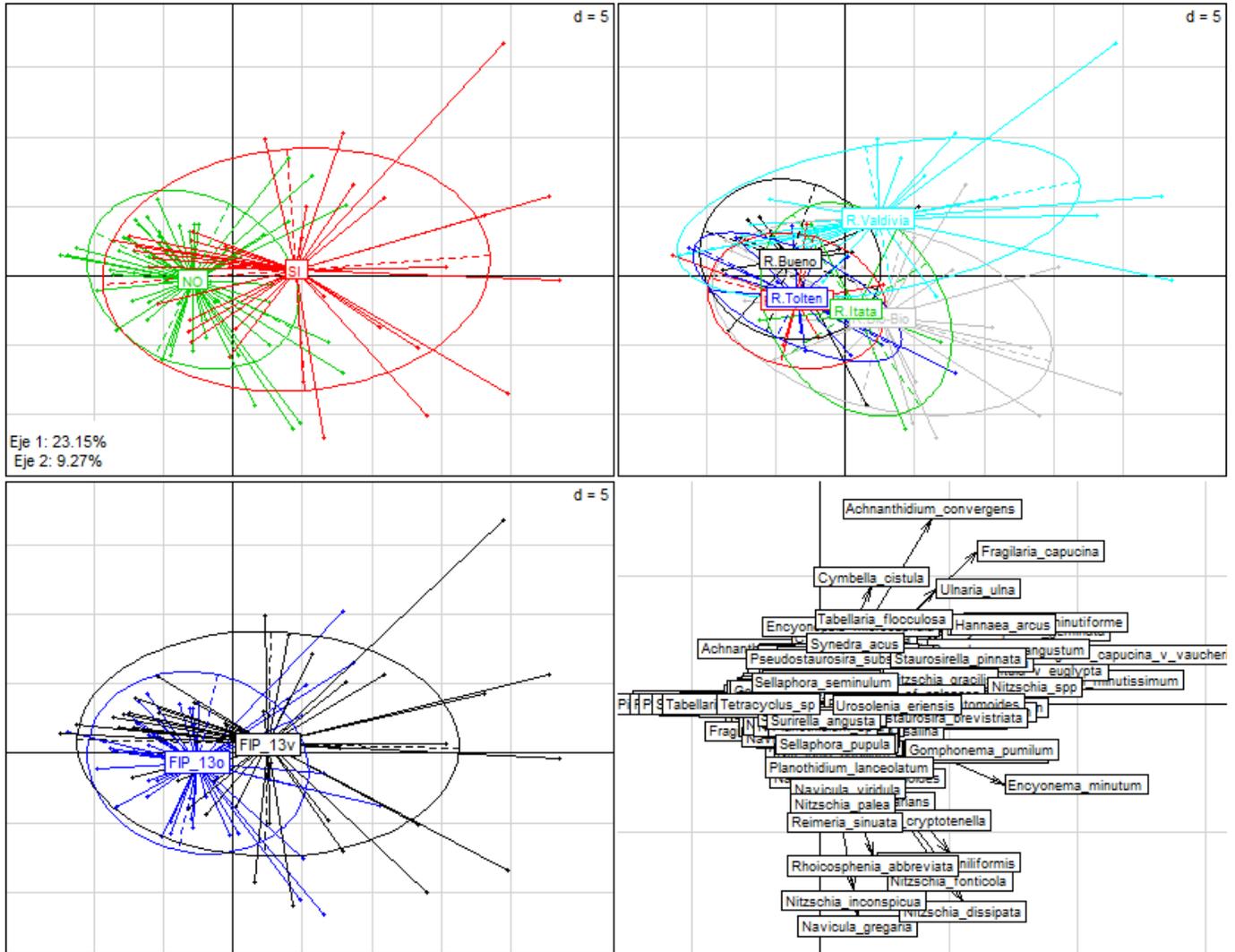


Tabla 14. Resultados test MRPP para determinar agrupación de especies de diatomeas bentónicas en función de variable geográficas.

Variable agrupante	A	p-value
Didymo (P/A)	0.0558	0.001
Cuenca	0.0640	0.004
Estación año	0.0212	0.010
Didymo*Estación año	0.0965	0.010

Tabla 15. Resumen con resultados de ANOVA de dos vías corregidas por permutaciones. Arriba indicadores comunitarios de diatomeas bentónicas según región del sitio y presencia de Didymo, y abajo, indicadores según estación del año y presencia de Didymo.

Análisis por región						
Riqueza	GL	Promedio cuadrados	F	Número perm.	P paramétrico	P perm.
Didymo	1	13368789096	11.694	999	0.001	0.024
Región	2	5579968064	4.881	999	0.010	0.030
Interacción	2	4355157626	3.810	999	0.026	0.046
Residuales	84	1143203479				
Densidad	GL	Promedio cuadrados	F	Número perm.	P paramétrico	P perm.
Didymo	1	284.574	10.012	999	0.002	0.004
Región	2	8.506	0.299	999	0.742	0.748
Interacción	2	10.568	0.372	999	0.691	0.709
Residuales	84	28.423				
Diversidad	GL	Promedio cuadrados	F	Número perm.	P paramétrico	P perm.
Didymo	1	0.829	2.830	999	0.096	0.091
Región	2	0.812	2.774	999	0.068	0.077
Interacción	2	0.080	0.273	999	0.762	0.749
Residuales	84	0.292				
Equitatividad	GL	Promedio cuadrados	F	Número perm.	P paramétrico	P perm.
Didymo	1	3.157 e-5	0.004	999	0.953	0.942
Región	2	2.60e-2	2.915	999	0.060	0.056
Interacción	2	6.910e-3	0.775	999	0.464	0.447
Residuales	84	8.912e-3				
Análisis por estación del año						

Riqueza	GL	Promedio cuadrados	F	Número perm.	P paramétrico	P perm.
Didymo	1	370.202	17.732	999	<0.001	0.001
Estación año	1	621.382	29.764	999	<0.001	0.001
Interacción	1	10.321	0.494	999	0.484	0.475
Residuales	86	20.877				
Densidad	GL	Promedio cuadrados	F	Número perm.	P paramétrico	P perm.
Didymo	1	18607538710	15.906	999	<0.001	0.001
Estación año	1	8882700224	7.592	999	0.007	0.003
Interacción	1	5678974748	4.854	999	0.030	0.018
Residuales	86	1169877901				
Diversidad	GL	Promedio cuadrados	F	Número perm.	P paramétrico	P perm.
Didymo	1	2.471	8.425	999	0.005	0.004
Estación año	1	0.632	2.154	999	0.145	0.163
Interacción	1	0.221	0.754	999	0.387	0.378
Residuales	86	0.293				
Equitatividad	GL	Promedio cuadrados	F	Número perm.	P paramétrico	P perm.
Didymo	1	0.013	1.441	999	0.233	0.259
Estación año	1	0.037	4.124	999	0.045	0.053
Interacción	1	0.015	1.623	999	0.206	0.195
Residuales	86	0.009				

Perifiton

Como primer resultado se presentan los diferentes índices comunitarios estimados por cuenca. La densidad de microalgas bentónicas no difirió entre las distintas cuencas en ambas campañas de muestreo. La riqueza de géneros, el índice de diversidad de Shannon-Wiener y el índice de equitatividad de Evenness son similares en todas las cuencas registradas en primavera 2013, destacando una pequeña disminución de estos parámetros en la cuenca del río Valdivia (Figura 43). En tanto, en la campaña otoño 2014, estos parámetros variaron levemente (Figura 44).

Cuando relacionamos estos índices comunitarios con la presencia/ausencia de Didymo por cuenca, podemos observar que, para las cuencas Valdivia y Bío-Bío aumenta la diversidad,

equitatividad y riqueza de géneros en presencia de Didymo en ambas campañas de muestreo (Figura 45, Figura 46). En la cuenca del río Bueno se observa un aumento significativo de la riqueza y diversidad de géneros en presencia de Didymo, sin embargo sólo una estación se encontró invadida para esta cuenca en la campaña otoño 2014. Respecto a la densidad total de células, en la cuenca Toltén se observaron diferencias en presencia/ausencia de Didymo en la campaña primavera 2013, a diferencia del resto de las cuencas.

Figura 43. Índices y parámetros comunitarios de microalgas bentónicas por cuenca de la campaña de muestreo primavera 2013. Densidad total (cel/mm²) (A), Riqueza de géneros (B), índice de diversidad de Shanon-Winner (C), índice de equitatividad de Evenness (D). Línea punteada muestra media obtenida. En gráfico A no se muestran datos atípicos extremos para las cuencas de Bio-bío, Bueno, Imperial, Toltén y Valdivia.

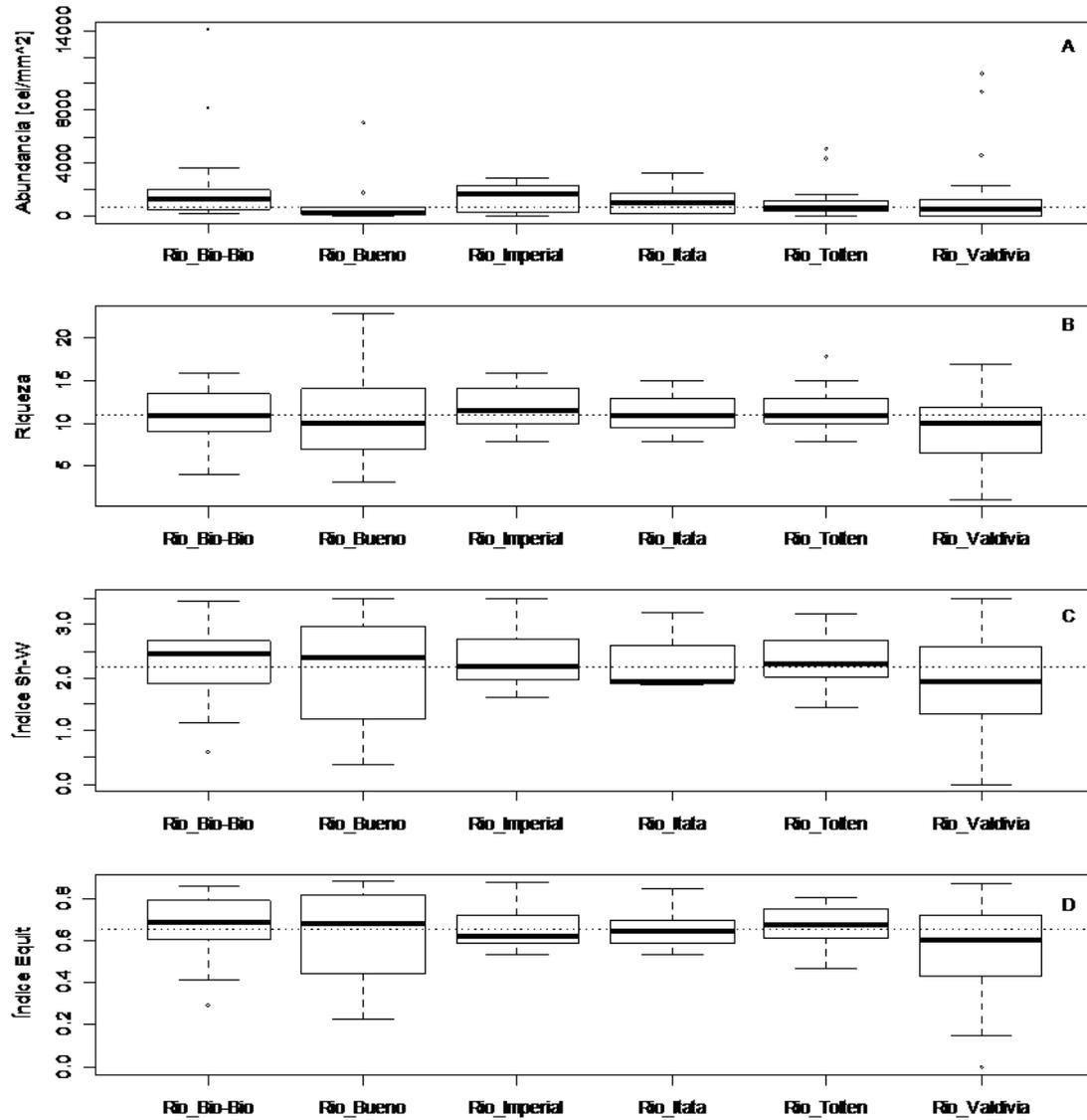


Figura 44. Índices y parámetros comunitarios de microalgas bentónicas por cuenca de la campaña de muestreo otoño 2014. Densidad total (cel/mm²) (A), Riqueza de géneros (B), índice de diversidad de Shanon-Winner (C), índice de equitatividad de Evenness (D). Línea punteada muestra media obtenida. En gráfico A no se muestran datos atípicos extremos para las cuencas de Bío-Bío, Bueno, Imperial, Toltén y Valdivia.

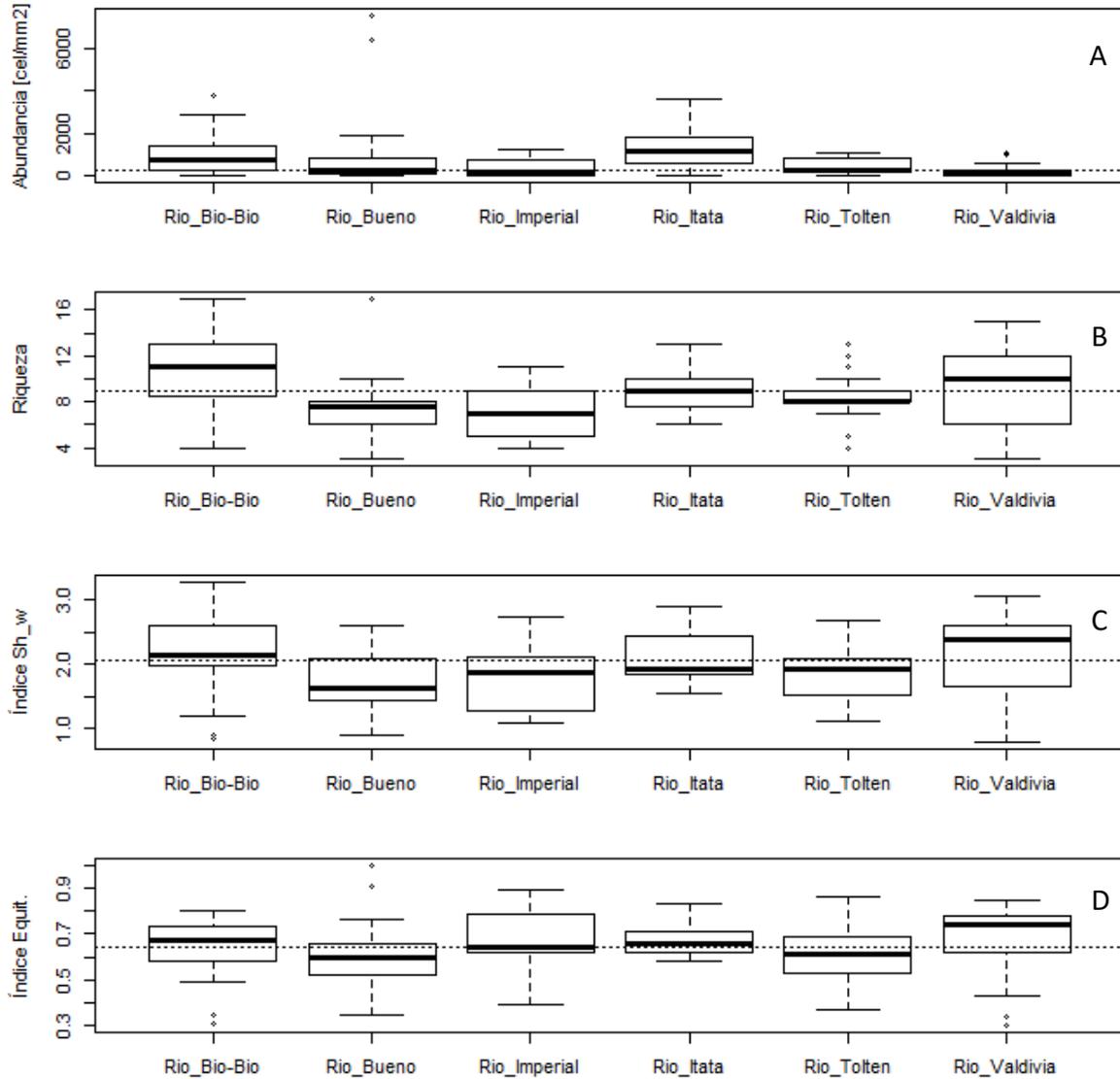


Figura 45. Índices comunitarios de microalgas bentónicas según presencia (SI) o ausencia (NO) de Didymo por cuenca de la campaña de muestreo primavera 2013. Densidad total (cel/mm²) (A), Riqueza de géneros (B), índice de diversidad de Shanon-Winner (C), índice de equitatividad de Evenness (D). En grafico A no se muestran datos atípicos extremos para las cuencas de Bío-Bío, Toltén y Valdivia.

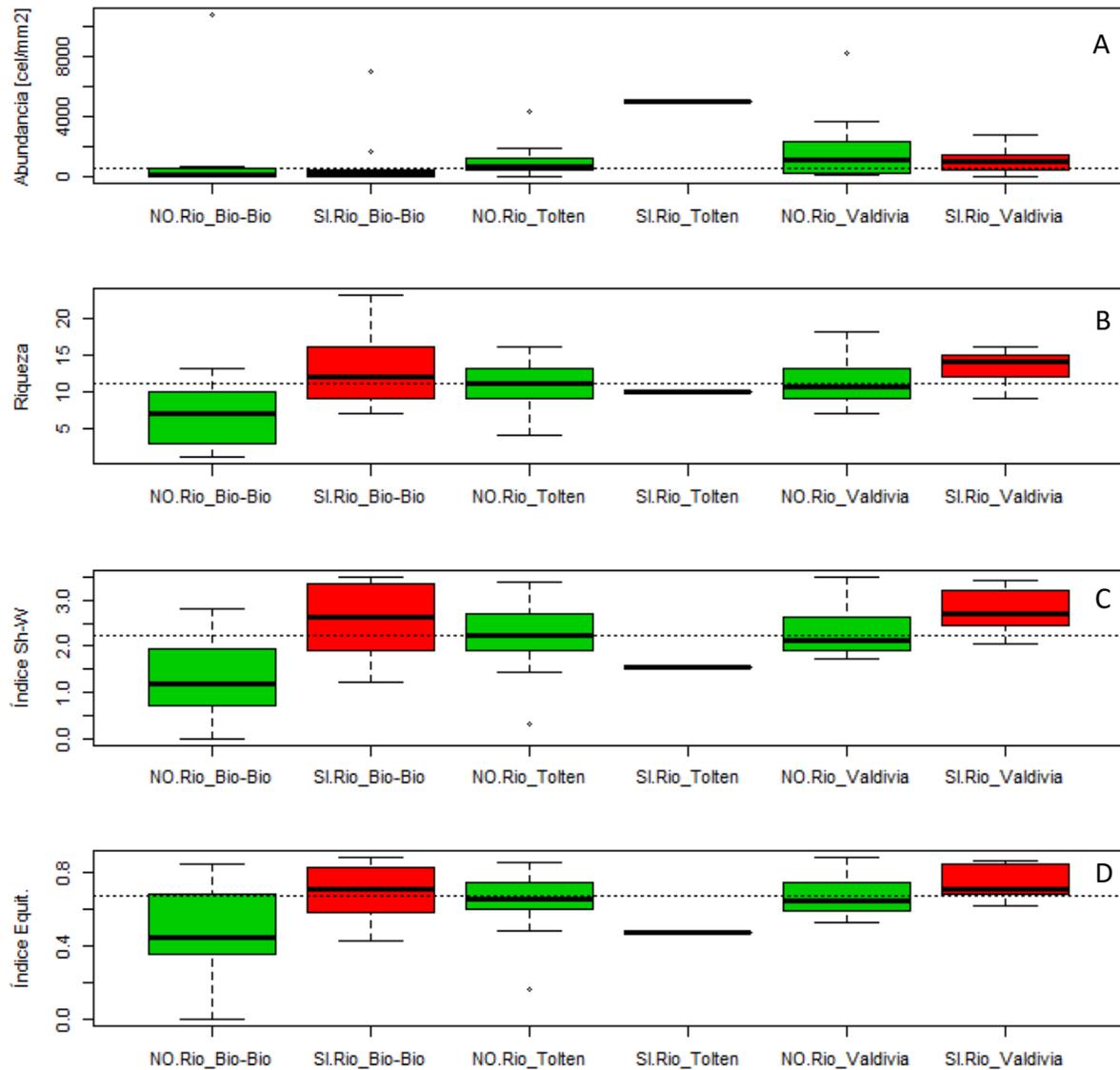
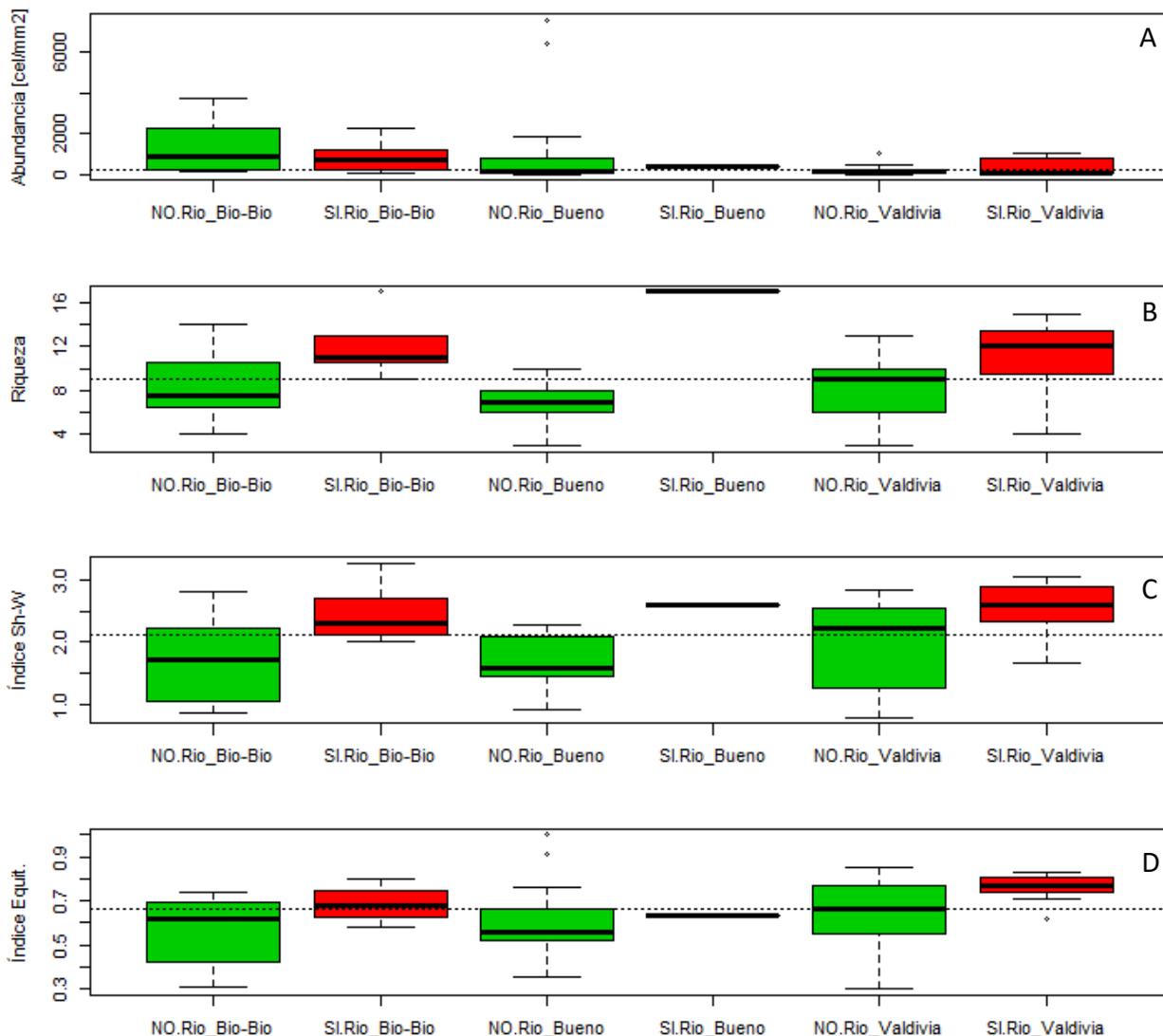


Figura 46. Índices comunitarios de microalgas bentónicas según presencia (SI) o ausencia (NO) de Didymo por cuenca de la campaña de muestreo otoño 2014. Densidad total (cel/mm²) (A), Riqueza de géneros (B), índice de diversidad de Shanon-Winner (C), índice de equitatividad de Evenness (D). En grafico A no se muestran datos atípicos extremos para las cuencas de Bío-Bío, Toltén y Valdivia.



El análisis exploratorio PCA, generado a partir de las densidades de microalgas bentónicas detectadas en ambas campañas de muestreo, explica sólo un 31% de la variabilidad de los datos en sus dos primeros ejes (Figura 47). Se observa una diferencia entre los sitios con presencia/ausencia de Didymo en función de su comunidad microalgal, similar a lo que ocurre por campaña de muestreo. De acuerdo al análisis por cuenca, éstas no estarían generando una diferenciación de la comunidad microalgal, mientras que los datos indican una cercanía entre el género *Didymosphenia* y los géneros *Gomphonema* y *Melosira*, entre otros, en los ejes del PCA.

Figura 47. Eje 1 y Eje 2 de PCA de microalgas bentónicas detectadas en las campañas de muestreo primavera 2013 y otoño 2014. (A) sitios agrupados en presencia (SI) /ausencia (NO) de Didymo, (B) sitios agrupados por cuencas, (C) sitios agrupados por campaña de muestreo y (D) especies detectadas con las que se realizó el análisis.

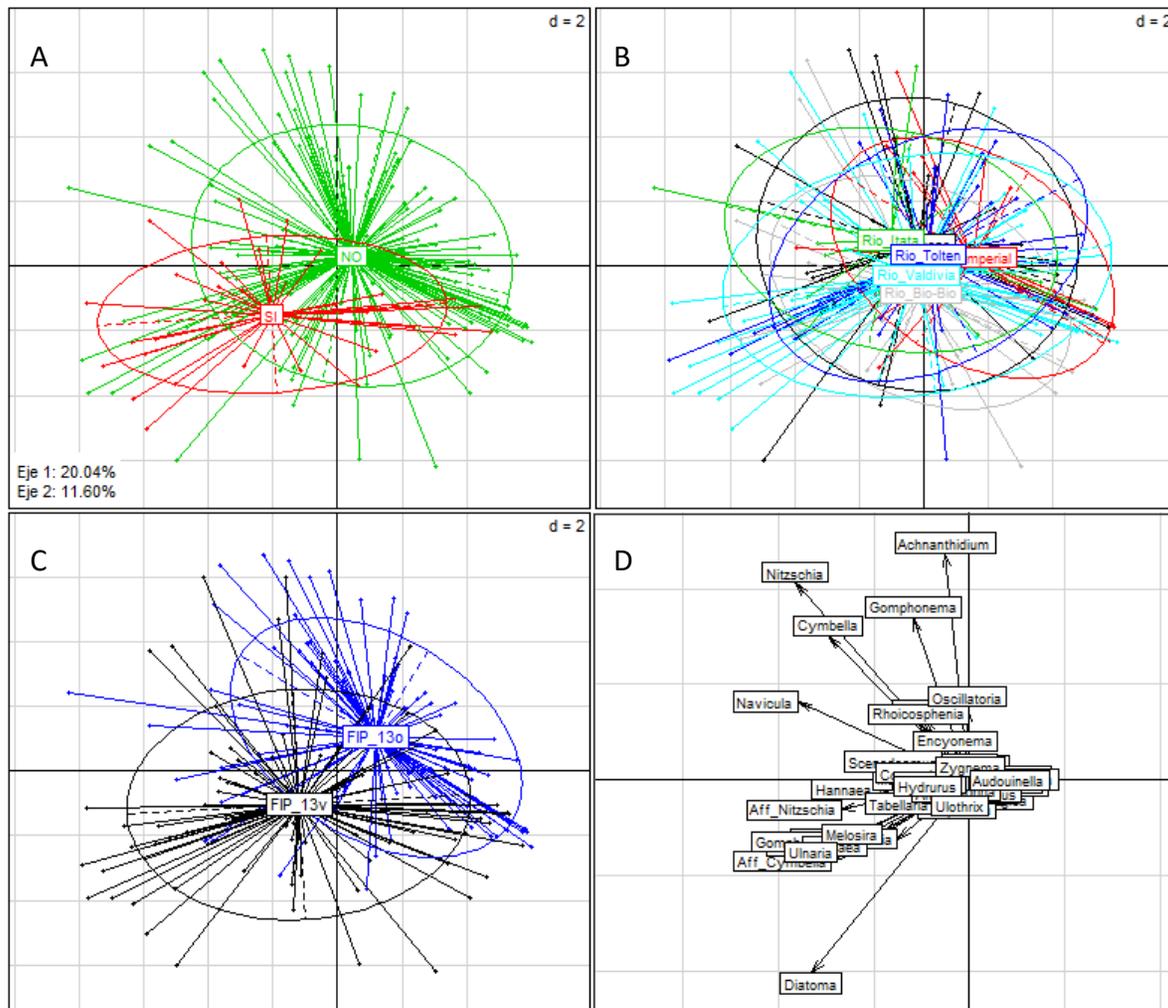


Tabla 16. Resultados test MRPP para determinar agrupación de géneros de perifiton en función de variables geográficas.

Variable agrupante	A	p-value
Cuenca	0.0021	0.285
Estación año	0.0105	0.002
Didymo	0.0009	0.249
Didymo*Estación año	0.0107	0.008

Tabla 17. Resumen con resultados de ANOVA de dos vías corregidas por permutaciones. Arriba indicadores comunitarios de perifiton según región del sitio y presencia de Didymo, y abajo, indicadores según estación del año y presencia de Didymo.

Análisis por región						
Densidad	GL	Promedio cuadrados	F	Número perm.	P paramétrico	P perm.
Didymo	2	2324491	0.654	999	0.420	0.360
Región	1	8391409	2.360	999	0.097	0.115
Interacción	2	4298256	1.209	999	0.301	0.244
Residuales	178	3555159				
Diversidad	GL	Promedio cuadrados	F	Número perm.	P paramétrico	P perm.
Didymo	2	3.423	7.989	999	0.006	0.007
Región	1	1.666	3.843	999	0.023	0.023
Interacción	2	0.591	1.363	999	0.259	0.265
Residuales	178	0.433				
Equitatividad	GL	Promedio cuadrados	F	Número perm.	P paramétrico	P perm.
Didymo	2	0.050	2.022	999	0.157	0.164
Región	1	0.057	2.327	999	0.101	0.096
Interacción	2	0.013	0.544	999	0.581	0.539
Residuales	178	0.025				

Riqueza	GL	Promedio cuadrados	F	Número perm.	P paramétrico	P perm.
Didymo	2	130.811	13.322	999	<0.001	0.001
Región	1	46.772	4.763	999	0.010	0.009
Interacción	2	15.368	1.565	999	0.212	0.215
Residuales	178	9.819				
Análisis por estación del año						
Densidad	GL	Promedio cuadrados	F	Número perm.	P paramétrico	P perm.
Didymo	1	611680.37	0.174	999	0.677	0.708
Estación	1	13541112.02	3.861	999	0.051	0.051
Interacción	1	80215.87	0.023	999	0.880	0.887
Residuales	180	3507497.37				
Diversidad	GL	Promedio cuadrados	F	Número perm.	P paramétrico	P perm.
Didymo	1	10.622	24.114	999	<0.001	0.001
Estación	1	0.431	0.979	999	0.323	0.337
Interacción	1	0.128	0.290	999	0.591	0.607
Residuales	180	0.441				
Equitatividad	GL	Promedio cuadrados	F	Número perm.	P paramétrico	P perm.
Didymo	1	0.172	6.899	999	0.009	0.011
Estación	1	0.004	0.141	999	0.708	0.734
Interacción	1	0.001	0.030	999	0.861	0.859
Residuales	180	0.025				
Riqueza	GL	Promedio cuadrados	F	Número perm.	P paramétrico	P perm.
Didymo	1	387.244	40.334	999	<0.001	0.001
Estación	1	46.943	4.889	999	0.028	0.023
Interacción	1	6.945	0.723	999	0.396	0.398
Residuales	180	9.601				

Macroinvertebrados bentónicos

En la campaña correspondiente a primavera tardía (2013) se obtuvieron muestras de macroinvertebrados en 43 estaciones, de las cuales, 27 se encontraron libres de la plaga y 16 fueron positivas para *D. geminata*.

Los macroinvertebrados bentónicos en esta campaña exhibieron una densidad de 17672.6 ind/m² y una riqueza total de 45 *taxa* distribuidos en 4 *Phylum* (*Annelida*, *Crustacea*, *Mollusca*, y *Arthropoda*). El *Phylum Arthropoda* fue aquel que concentró la mayor riqueza de *taxa* siendo la *Clase Insecta* la que tuvo la mayor representación con 34 familias, integradas por los órdenes *Coleóptera* (4 familias), *Díptera* (7 familias), *Ephemeroptera* (5 familias), *Megaloptera* (3 familias), *Odonata* (1 familia), *Plecóptera* (4 familias) y *Trichoptera* (10 familias). Los macroinvertebrados con mayor abundancia fueron aquellos que tuvieron una densidad igual o superior al 5%, con respecto al total de individuos. Éstos, corresponden a: *Oligochaeta*, *Elmidae*, *Chironomidae*, *Tipulidae*, *Baetidae*, *Leptophlebiidae*, *Hydropsychidae*; en conjunto estos 7 *taxa* representan el 82% del total de individuos presentes en el área de estudio.

Los *taxa* con mayor frecuencia de aparición fueron aquellos que se encontraron en el 50% o más de las estaciones de monitoreo, sin tomar en cuenta su densidad, sin embargo, estos *taxa* coinciden con aquellos que fueron identificados con la mayor abundancia. En este caso, los macroinvertebrados con mayor frecuencia de aparición son los siete ya nombrados a los que se le agrega *Aeglidae*, *Chiliniidae* y *Acari*. Cabe destacar que las familias de *Chironomidae* y *Leptophlebiidae* se encontraron presentes en más del 90% de las estaciones de monitoreo.

En la campaña correspondiente a otoño (2014) se obtuvieron muestras de macroinvertebrados en 44 estaciones, de las cuales, 30 se encontraron libres de la plaga y 14 fueron positivas para *D. geminata*.

Los macroinvertebrados bentónicos en este periodo presentaron una densidad de 25504.44 ind/m² y una riqueza total de 44 *taxa* distribuidos en 5 *Phylum* (*Annelida*, *Crustacea*, *Mollusca*,

Platyhelminthes y *Arthropoda*). El *Phylum Arthropoda* fue aquel que concentró la mayor riqueza de *taxa* siendo la *Clase Insecta* la que tuvo la mayor representación con 31 familias, integradas por los órdenes *Coleoptera* (2 familias), *Diptera* (8 familias), *Ephemeroptera* (4 familias), *Megaloptera* (1 familia), *Odonata* (1 familia), *Plecóptera* (5 familias) y *Trichoptera* (10 familias). Los macroinvertebrados con mayor densidad de individuos fueron: *Oligochaeta*, *Elmidae*, *Chironomidae*, *Baetidae*, *Leptophlebiidae*, *Grypopteriidae*, *Hydropsychidae* los que en conjunto representan el 88% del total de individuos presentes en el área de estudio. En este caso, los macroinvertebrados con mayor frecuencia de aparición son los 7 ya nombrados a los que se le agrega *Aeglidae*.

Parámetros comunitarios en presencia y ausencia de *D. geminata*

De acuerdo a los resultados, el muestreo de primavera (2013) reveló que los sitios negativos para *D. geminata* concentraron una densidad total de 10584.81 ind/m² y una riqueza de 42 *taxa*. Siendo la riqueza promedio de [11.63 ± 0.71] *taxa*, el máximo fue de 19 familias registradas en la estación AMK-LIUCURA2, región de la Araucanía, cuenca del Río Toltén; el mínimo fue de 2 familias halladas en la estación F-AMK-QUEUCO2, región del Biobío, cuenca del Río Biobío. La densidad promedio de macroinvertebrados por estación fue de [392.03 ± 51.35] ind/m², registrando un máximo en la estación AMK-PEDRGSO2, región de la Araucanía, cuenca del Río Toltén con 1020 ind/m²; la mínima densidad se halló en F-AMK-QUEUCO2 con 11.11 ind/m². La diversidad promedio en sitios sin *Didymo* fue de [1.61 ± 0.07], la máxima diversidad se encontró en la estación F-AMK-NUBLE2, región del Biobío, cuenca del Río Itata con un índice de Shannon-Wiener de 2.13, mientras que la menor diversidad se registró en la estación, F-AMK-QUEUCO2 con un índice de 0.64 (Tabla 18).

Por otro lado los sitios que resultaron positivos para *D. geminata* presentaron una densidad total de 7087.78 ind/m² y una riqueza de 31 *taxa*. La riqueza promedio fue de [10.44 ± 0.96] *taxa*. La estación que exhibió el máximo de riqueza correspondió a AMK-FUY2, región de los Ríos, cuenca del Río Valdivia, con 19 familias; el mínimo se registró en la estación F-AMK-SERNAP2BC, región de la Araucanía, cuenca Biobío con 2 *taxa*. En cuanto a la densidad, sitios

con Didymo en promedio presentaron $[442.99 \pm 86.38]$ ind/m²; el máximo fue de 1074.07 ind/m² en la estación AMK-ENCO2, región de Los Ríos, cuenca del Río Valdivia; la mínima densidad se encontró en la estación F-AMK-SERNAP2BC con 83.33 ind/m². Finalmente, la diversidad promedio fue de $[1.51 \pm 0.11]$; el máximo se encontró en la estación AMK-FUY2 con un índice de Shannon-Wiener de 2.28; el mínimo se presentó en la estación F-AMK-SERNAP2BC con un valor de 0.64 (Tabla 18).

De acuerdo a los resultados, el muestreo de otoño (2014) reveló que los sitios negativos para *D. geminata* concentraron una densidad total de 18858.89 ind/m² y una riqueza de 41 *taxa*. La riqueza promedio encontrada fue de $[10.47 \pm 0.95]$; la mayor riqueza se encontró en la estación AMK-TRANCURA2, región de La Araucanía cuenca del Río Tolten, con un total de 20 familias; el mínimo fue de 1 *taxa* y se halló en la estación AMK-NELTUME2, región de los Ríos, cuenca del Valdivia. La densidad de macroinvertebrados promedio por estación fue de $[628.63 \pm 212.58]$ ind/m²; el máximo lo registro la estación AMK-SERNAPLQM, región de La Araucanía, cuenca del Biobío con 6046.67 ind/m² y la mínima densidad fue registrada en la estación AMK-NELTUME2 con 2.22 ind/m². Por su parte, la diversidad promedio por estación fue de $[1.45 \pm 0.09]$, con un máximo en la estación AMK-TRANCURA2, región de la Araucanía, cuenca del Río Imperial con un índice de Shannon-Wiener de 2.15 y un mínimo en la estación AMK-NELTUME2 con un índice de cero, debido que esta estación presento solo una familia (Tabla 18).

Los sitios que resultaron positivos para *D. geminata* durante la campaña de monitoreo de otoño presentaron una densidad total de 6.645,56 ind/m² y una riqueza de 31 *taxa*. La riqueza promedio fue $[11.43 \pm 0.95]$; la estación que exhibió la mayor riqueza de *taxa* fue F-AMK-BIOBIO2, región del Biobío, cuenca del Biobío con 17 familias y la mínima se registró en la estación AMK-LLANQHUE2, Región de los Ríos cuenca del Valdivia con 5 *taxa*. La densidad promedio por estación fue de $[474.68 \pm 136.56]$ ind/m², con un máximo de 1872.22 ind/m² perteneciente a la estación F-AMK-BIOBIO2 y un mínimo en la estación AMK-LLANQHUE2 con 20 ind/m². La diversidad promedio fue de $[1.8 \pm 0.06]$, presentando un máximo en la estación F-

AMK-SERNAP5 con un índice de Shannon-Wiener de 2.13, mientras que el mínimo fue de 1,43 y lo presentó la estación AMK-LLANQHUE2 (Tabla 18).

En la Tabla 18 se muestra un resumen de la riqueza, densidad y diversidad en presencia y ausencia de *D. geminata* para ambas campañas de muestreo. En la campaña primavera (2013) se observa que en general, existe mayor riqueza y diversidad promedio en los sitios sin Didymo y una mayor densidad promedio en los sitios con Didymo, sin embargo, al analizar de manera individual las estaciones, aquellas con Didymo presentan máximos y mínimos de riqueza, densidad y diversidad mayores que en los sitios sin Didymo. La campaña otoño (2014) muestra mayor riqueza y diversidad promedio en sitios con Didymo y mayor densidad promedio en sitios sin Didymo, los valores máximos de los parámetros comunitarios se encuentran en sitios sin Didymo. A pesar de esto, el análisis de MRPP de macroinvertebrados no indica diferencias significativas entre sitios con presencia o ausencia de *D. geminata* (Tabla 19).

Tabla 18. Resumen de ambas campañas de muestreo, se contrasta sitios con y sin Didymo, se muestra la riqueza, densidad (ind/m²) y diversidad promedio, sus errores estándar, máximos y mínimos registrados.

Presencia/Ausencia Didymo		Muestreo Primavera (2013)			Muestreo Otoño (2014)		
		Riqueza	Densidad	Diversidad	Riqueza	Densidad	Diversidad
Sin Didymo	Promedio	11.63	392.03	1.61	10.47	628.63	1.45
	Error	0.71	51.35	0.07	0.95	212.58	0.09
	Máx.	19	1020	2.13	20	6046.67	2.15
	Mín.	2	11.11	0.64	1	2.22	0
Con Didymo	Promedio	10.44	442.99	1.51	11.43	474.68	1.8
	Error	0.96	86.38	0.11	0.95	136.56	0.06
	Máx.	19	1074.07	2.28	17	1872.22	2.13
	Mín.	2	83.33	0.64	5	20	1.43

Tabla 19. Resultados test MRPP para determinar agrupación de *taxa* de macroinvertebrados bentónicos en función de variable geográficas.

Variable agrupante	A	p-value
Didymo	-0.0025	0.777
Cuenca	0.0191	0.023
Estación año	0.0119	0.014
Didymo*Estación año	0.0059	0.146

Parámetros comunitarios por cuenca

A nivel de cuenca, en primavera se observó que tanto la riqueza de *taxa* como la densidad fueron bastante similares en todas las cuencas siendo la del Río Biobío la que presento la mayor riqueza, seguido de la cuenca del Río Tolten, Valdivia, Bueno, Imperial e Itata. Las mayores densidades se registraron en la cuenca del Río Valdivia seguido del Tolten, Biobío, Imperial, Bueno e Itata. Las cuencas invadidas por Didymo presentaron mayor riqueza y densidad de macroinvertebrados que aquellas cuencas sin Didymo (Figura 48). Sin embargo, la diversidad fue levemente mayor en sitios sin Didymo.

Algo similar se observó en otoño, donde tanto la riqueza de *taxa* como la densidad fueron bastante similares en todas las cuencas siendo la del Río Biobío la que presento la mayor riqueza seguido de la cuenca del Río Tolten, Imperial, Valdivia, Bueno e Itata. Las mayores densidades se registraron en la cuenca del Río Biobío seguido del Tolten, Imperial, Bueno, Itata y Valdivia. Las cuencas invadidas por Didymo presentaron menor riqueza, densidad y diversidad de macroinvertebrados (Figura 49).

Figura 48. Índices comunitarios de macroinvertebrados bentónicos según presencia (SI: color rojo) o ausencia (NO: color verde) de Didymo por cuenca de la campaña de muestreo primavera 2013. Densidad total (ind/m²) (arriba), Riqueza de *taxa*, índice de diversidad de Shannon-Wiener (abajo).

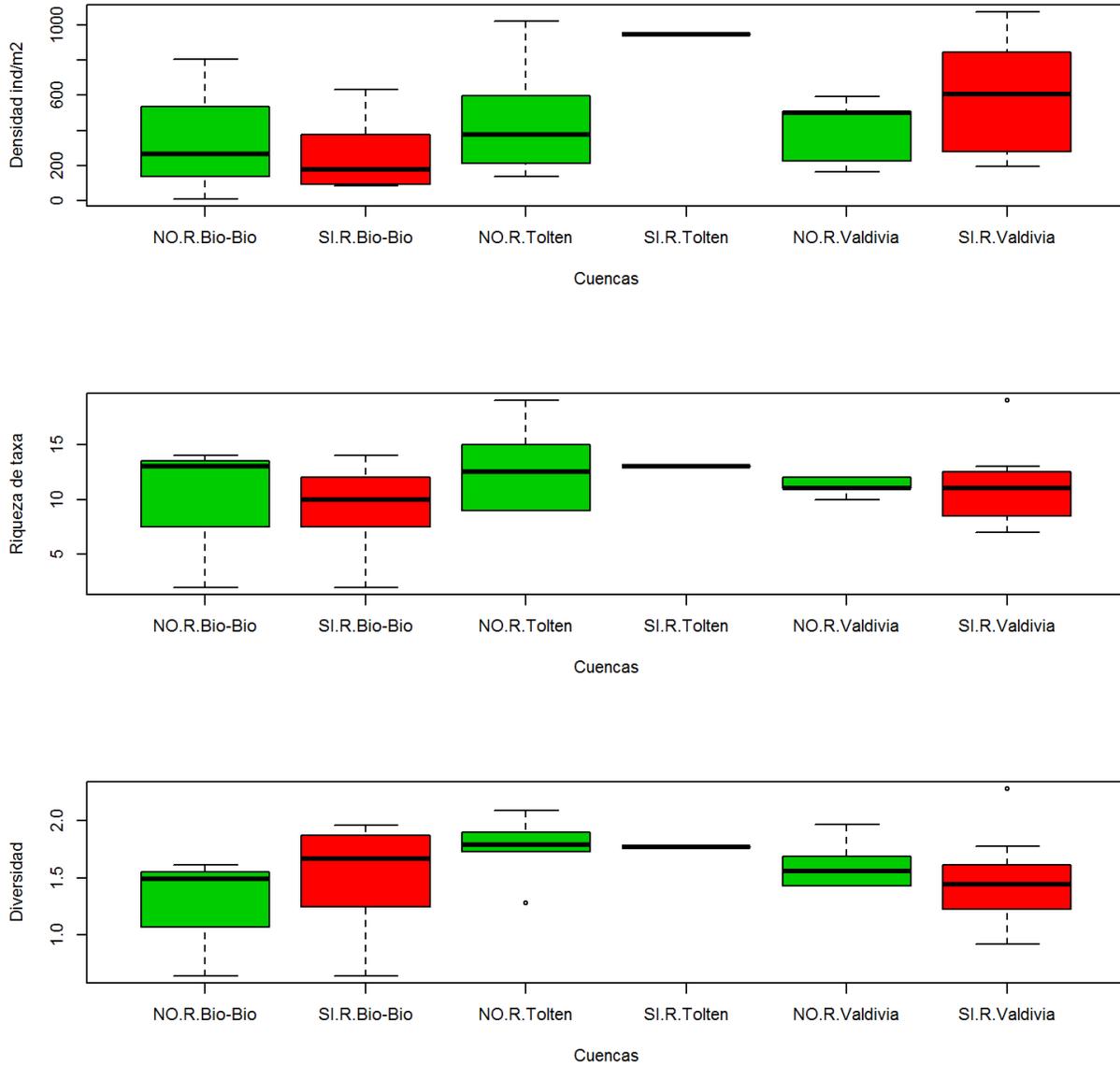
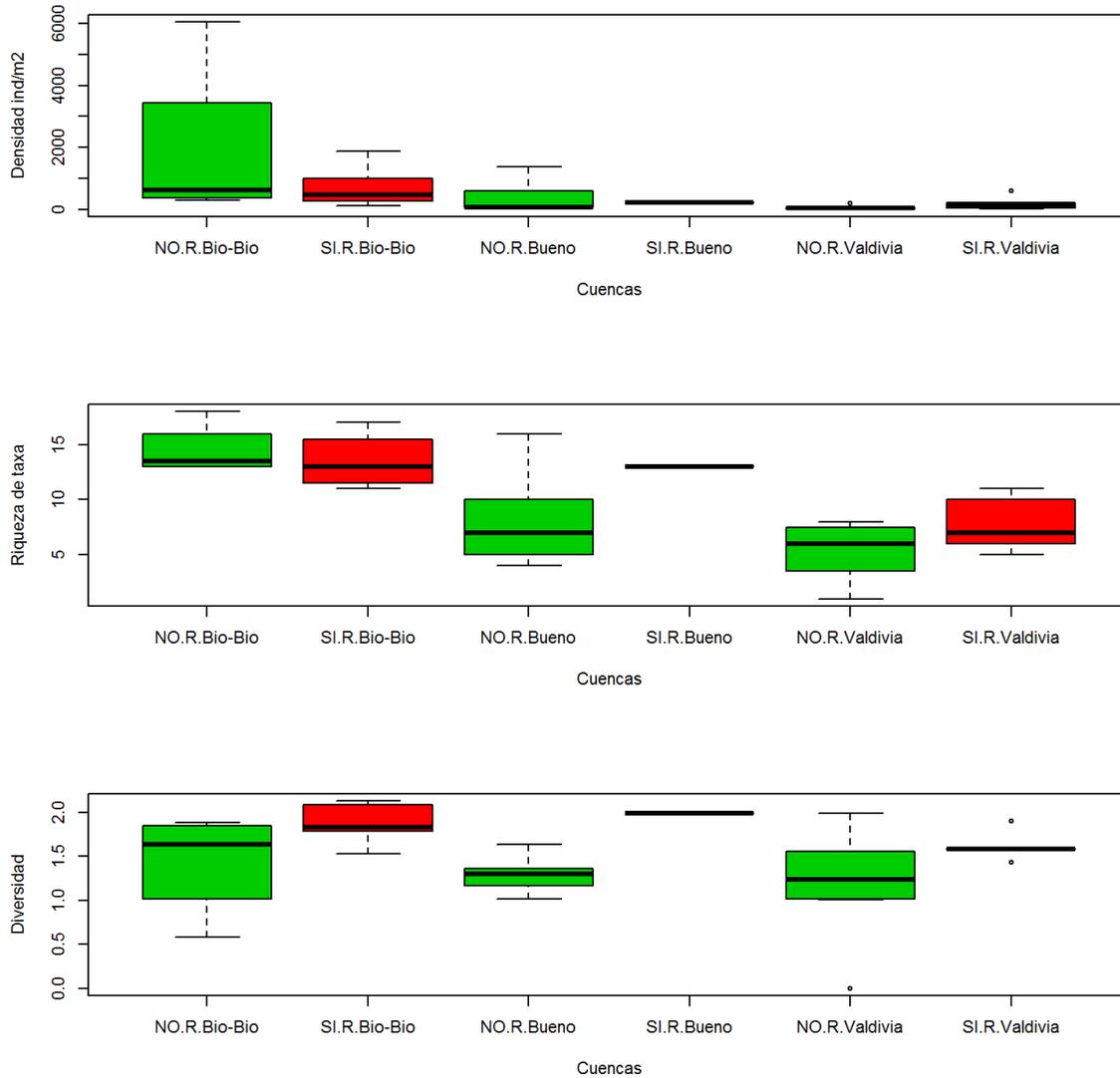


Figura 49. Índices comunitarios de macroinvertebrados bentónicos según presencia (SI: color rojo) o ausencia (NO: color verde) de Didymo por cuenca de la campaña de muestreo otoño 2014. Densidad total (ind/m²) (arriba), Riqueza de taxa, índice de diversidad de Shannon-Wiener (abajo).



Si bien, a partir de estos resultados se observan variaciones en los parámetros comunitarios en presencia y ausencia de Didymo y entre cuencas, el análisis de varianza realizado indica que no hay diferencias significativas entre estos grupos, excepto en la riqueza por región (Tabla 20).

Tabla 20. Resumen con resultados de ANOVA de dos vías corregidas por permutaciones. Arriba indicadores comunitarios de macroinvertebrados bentónicos según región del sitio y presencia de Didymo, y abajo, indicadores según estación del año y presencia de Didymo.

Análisis por cuenca						
Diversidad	GL	Promedio cuadrados	F	Número perm.	P paramétrico	P perm.
Didymo	2	0.357	2.112	999	0.150	0.136
Región	1	0.556	3.290	999	0.042	0.050
Interacción	2	0.103	0.612	999	0.544	0.548
Residuales	81	0.169				
Densidad	GL	Promedio cuadrados	F	Número perm.	P paramétrico	P perm.
Didymo	2	281412.2	0.573	999	0.451	0.362
Región	1	857513.2	1.686	999	0.192	0.131
Interacción	2	1044414.4	2.054	999	0.135	0.085
Residuales	81	508507.3				
Riqueza	GL	Promedio cuadrados	F	Número perm.	P paramétrico	P perm.
Didymo	2	9.690	0.613	999	0.438	0.451
Región	1	76.639	4.851	999	0.010	0.007
Interacción	2	25.824	1.635	999	0.201	0.194
Residuales	81	15.798				
Análisis por estación del año						
Densidad	GL	Promedio cuadrados	F	Número perm.	P paramétrico	P perm.
Didymo	1	44813.87	0.084	999	0.773	0.814
Estación	1	268268.19	0.502	999	0.480	0.521
Interacción	1	216858.38	0.406	999	0.526	0.592
Residuales	83	534108.56				
Riqueza	GL	Promedio cuadrados	F	Número perm.	P paramétrico	P perm.
Didymo	1	0.801	0.044	999	0.834	0.842
Estación	1	0.021	0.001	999	0.973	0.981
Interacción	1	20.090	1.105	999	0.296	0.288
Residuales	83	18.179				

Diversidad	GL	Promedio cuadrados	F	Número perm.	P paramétrico	P perm.
Didymo	1	0.267	1.516	999	0.222	0.212
Estación	1	0.010	0.057	999	0.812	0.799
Interacción	1	0.532	3.019	999	0.086	0.076
Residuales	83	0.176				

Parámetros comunitarios por tramo

La campaña realizada en primavera en sitios en presencia y en ausencia de *D. geminata* por tramo, presento los siguientes resultados.

Cabecera

Los sitios de cabecera sin Didymo exhibieron una riqueza total de 34 *taxa* y una densidad de 2728.89 ind/m². Se presentó una riqueza promedio de [11.4 ± 1.7], el máximo y el mínimo encontrado fue de 19 y de 2 *taxa* respectivamente. La densidad de macroinvertebrados bentónicos en promedio fue de [272.9 ± 62.59] ind/m², el máximo registrado corresponde a 595.5 ind/m² y el mínimo de 11.11 ind/m². La diversidad promedio hallada fue de [1.5 ± 0.14], con un máximo de 1.9 y un mínimo de 0.63.

Los sitios de la cabecera con presencia de Didymo mostraron una riqueza de *taxa* de 23 y una densidad total de 1325.93 ind/m². Presentaron una riqueza promedio de [12.75 ± 2.43], el máximo de *taxa* al igual que en los sitios sin Didymo fue de 19 familias y el mínimo de 8 *taxa*. La densidad de macroinvertebrados bentónicos en promedio fue de [331.48 ± 112.55] ind/m², el máximo registrado corresponde a 637.04 ind/m² y un mínimo de 95.56 ind/m². La diversidad promedio encontrada fue de [1.83 ± 0.18], un máximo de 2.28 y un mínimo de 1.45. En la cabecera hubo mayor riqueza y densidad total en los sitios sin Didymo, sin embargo hubo mayor riqueza, densidad y diversidad promedio por estación en sitios con Didymo.

En general, sitios de cabecera con Didymo registraron mayor riqueza, densidad y diversidad (Figura 50).

Tramo Alto

El tramo alto en sitios sin Didymo exhibió una riqueza total de 36 *taxa* y una densidad de 5784.81 ind/m². Se presentó una riqueza promedio de [12.73 ± 0.52], el máximo de *taxa* encontrado fue de 15 familias y el mínimo de 10. La densidad de macroinvertebrados bentónicos en promedio fue de [525.89 ± 70.14] ind/ m², el máximo registrado corresponde a 929.63 ind/m² y un mínimo de 191.11 ind/m². La diversidad promedio encontrada fue de [1.67 ± 0.08], un máximo de 2.13 y un mínimo de 1.43.

El tramo alto en sitios con Didymo exhibe una riqueza total de 23 *taxa* y una densidad de 2690 ind/m². Los sitios con Didymo presentaron una riqueza promedio de [9.14 ± 1.37], el máximo de *taxa* encontrado fue de 12 familias y el mínimo de 2. La densidad de macroinvertebrados bentónicos en promedio fue de [384.29 ± 136.61], el máximo registrado corresponde a 1055.56, ind/ m² y un mínimo de 83.33 ind/m². La diversidad promedio encontrada fue de [1.43 ± 0.18], un máximo de 1.95 y un mínimo de 0.64.

En el tramo alto se exhibe mayor riqueza, densidad y diversidad total y promedio en sitios sin Didymo (Figura 50).

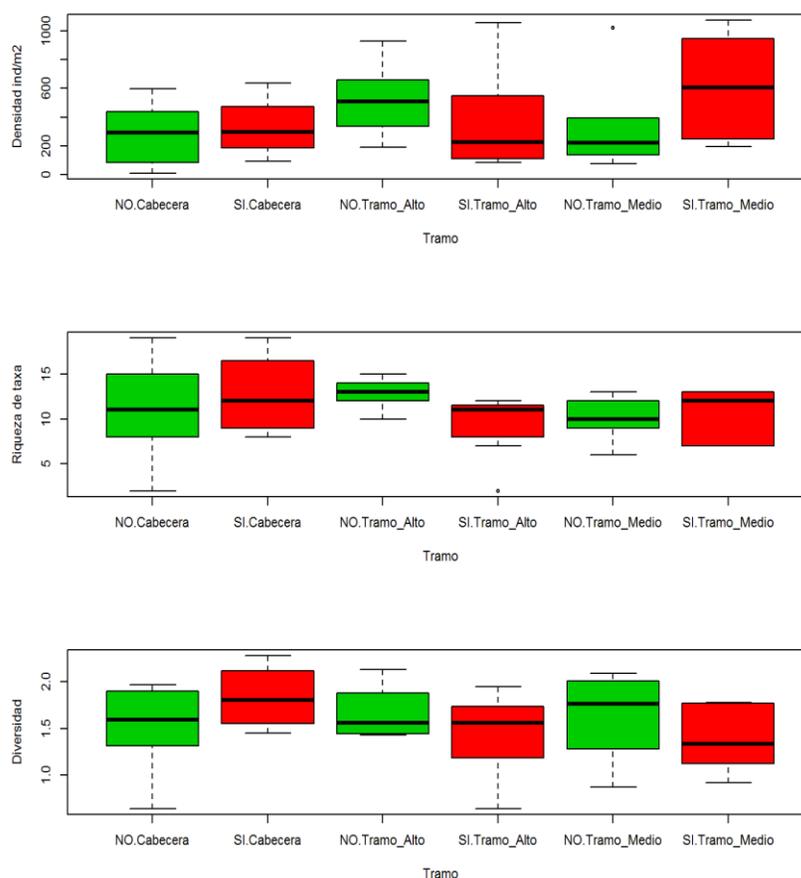
Tramo medio

En los tramos medios los sitios sin Didymo presentaron una riqueza de 22 familias y una densidad total de 2071.11 ind/m². Presentó una riqueza promedio de [10 ± 1.03], el máximo de *taxa* encontrado es de 13 familias y el mínimo de 6. La densidad de macroinvertebrados bentónicos en promedio fue de [345.9 ± 142.01] ind/m², el máximo registrado correspondió a 1020 ind/m² y un mínimo de 75.56 ind/m². La diversidad promedio encontrada fue de [1.63 ± 0.19], un máximo de 2,09 y un mínimo de 0.87.

Los sitios con Didymo presentaron una riqueza total de 23 *taxa* y una densidad total de 3071.85 ind/m². Los sitios con Didymo presentaron una riqueza promedio de [10.45 ± 1.4], con un máximo de 13 familias y el mínimo de 7. La densidad de macroinvertebrados bentónicos en promedio fue de [614.37 ± 178.06] ind/m², el máximo registrado correspondió a 1074.07, ind/m² y un mínimo de 193.33 ind/m². La diversidad promedio encontrada fue de [1.38 ± 0.17], un máximo de 1.78 y un mínimo de 0.92.

En el tramo medio los sitios con y sin Didymo son bastante similares, sin embargo, los sitios con Didymo poseen mayor densidad y riqueza de *taxa* total y en promedio. No obstante, sitios sin Didymo del tramo medio poseen mayor diversidad (Figura 50).

Figura 50. Índices comunitarios de macroinvertebrados bentónicos según presencia (SI) o ausencia (NO) de Didymo por tramo de la campaña de muestreo primavera 2013. Densidad total (ind/m²) (arriba), Riqueza de *taxa*, índice de diversidad de Shannon-Wiener (abajo).



La campaña realizada en otoño en sitios en presencia y en ausencia de *D. geminata* por tramo, presento los siguientes resultados.

Cabecera

Los sitios de cabecera sin Didymo exhibieron una riqueza total de 34 *taxa* y una densidad de 10191.01 ind/m². Se presentó una riqueza promedio de [11.6 ± 1.9], el máximo y el mínimo encontrado fue de 20 y de 1 *taxa* respectivamente. La densidad de macroinvertebrados bentónicos en promedio fue de [1019.11 ± 579.39] ind/m², el máximo corresponde a 6046.67 ind/m² y el mínimo de 2.22 ind/m². La diversidad promedio hallada fue de [1.38 ± 0.215], con un máximo de 2.1 y un mínimo de 0.

Los sitios de la cabecera con presencia de Didymo mostraron una riqueza de *taxa* de 28 y una densidad total de 2256.62 ind/m². Presentaron una riqueza promedio de [11.33 ± 1.23], el máximo de *taxa* al igual que en los sitios sin Didymo fue de 16 familias y el mínimo de 7 *taxa*. La densidad de macroinvertebrados bentónicos en promedio fue de [376.11 ± 114.86] ind/m², el máximo corresponde a 842.22 ind/m² y el mínimo a 127.78 ind/m². La diversidad promedio encontrada fue de [1.73 ± 0.08], un máximo de 1.99 y un mínimo de 1.53.

En la cabecera de los ríos se observó mayor riqueza, densidad total y promedio en sitios sin Didymo, mientras que la diversidad promedio fue mayor en sitios con Didymo (Figura 51).

Tramo Alto

Los sitios sin Didymo presentaron una riqueza promedio de [10.18 ± 1.45], con un máximo de 18 familias y un mínimo de 4. La densidad de macroinvertebrados bentónicos en promedio fue de [562.02 ± 234.37] ind/m², el máximo registrado correspondió a 2537.78 ind/m² y un mínimo de 13.33 ind/m². La diversidad promedio encontrada fue de [1.52 ± 0.11], un máximo de 1.99 y un mínimo de 1.02.

Los sitios con Didymo presentaron una riqueza total de 24 *taxa* y una densidad total de 4330.01 ind/m². La riqueza promedio fue de [13.5 ± 0.89], el máximo de *taxa* encontrado fue de 17 familias y el mínimo de 11. La densidad de macroinvertebrados bentónicos en promedio fue de [721.67 ± 269.4], con un máximo registrado de 1872.22 ind/m² y un mínimo de 122.22 ind/m². La diversidad promedio encontrada fue de [1.96 ± 0.06], un máximo de 2.13 y un mínimo de 1.78.

En el tramo alto se observó mayor riqueza, densidad total en sitios sin Didymo, sin embargo la riqueza y densidad promedio es mayor en sitios con Didymo así como la diversidad (Figura 51).

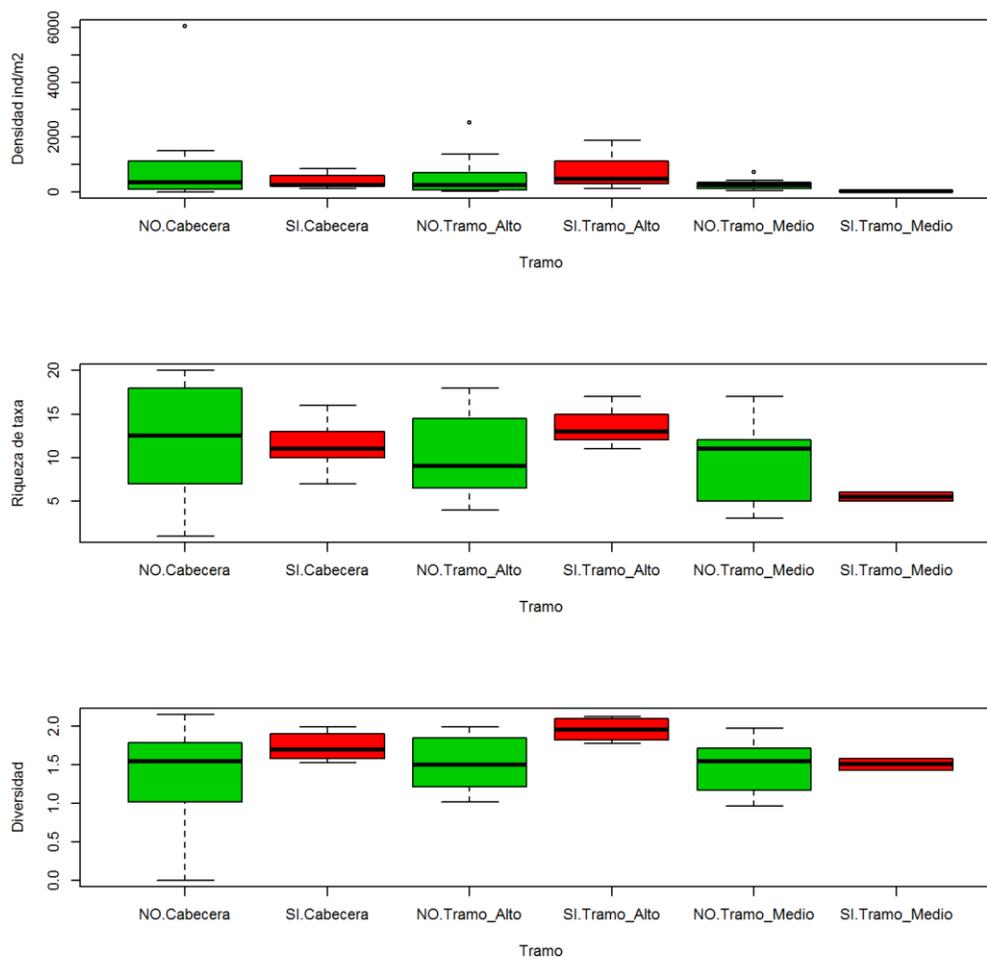
Tramo Medio

Los sitios sin Didymo exhiben una riqueza de 28 familias y una densidad total de 2485.52 ind/m². Una riqueza promedio de [9.5 ± 1.6], un máximo de 17 familias y un mínimo de 3. La densidad de macroinvertebrados bentónicos en promedio fue de [276.17 ± 71.57] ind/m², el máximo registrado correspondió a 727.78 ind/m² y un mínimo de 33.33 ind/m². La diversidad promedio encontrada fue de [1.44 ± 0.12], el máximo de 1.9 y el mínimo de 0.96.

Los sitios con Didymo presentaron una riqueza total de 7 *taxa* y una densidad total de 58.88 ind/m². La riqueza promedio fue de [5.5 ± 0.5], con un máximo de 6 familias y un mínimo de 5. La densidad de macroinvertebrados bentónicos en promedio fue de [29.4 ± 9.45], el máximo registrado fue de 38.89 ind/m² y un mínimo de 20 ind/m². La diversidad promedio encontrada fue de [1.51 ± 0.08], un máximo de 1.58 y un mínimo de 1.43.

En el tramo medio se observó mayor riqueza, densidad en sitios sin Didymo, sin embargo la diversidad promedio fue mayor en sitios con Didymo (Figura 51).

Figura 51. Índices comunitarios de macroinvertebrados bentónicos según presencia (SI) o ausencia (NO) de Didymo por tramo de la campaña de muestreo otoño 2014. Densidad total (ind/m²) (arriba), Riqueza de taxa, índice de diversidad de Shannon-Wiener (abajo).



Análisis Estadístico

Campaña monitoreo primavera 2013

Se realizaron dos análisis de correspondencia canónica (CCA) para observar el comportamiento de la comunidad de macroinvertebrados bentónicos a lo largo del gradiente ambiental. El primer análisis corresponde a la relación existente entre la comunidad de macroinvertebrados (agrupados a nivel taxonómico de orden) versus el gradiente ambiental (Figura 52). Dicho análisis mostro una varianza explicada por cada eje canónico (CCA1: 34% y CCA2: 20%), lo que

en su conjunto explica el 54% de la variabilidad de los datos. El segundo, CCA corresponde a la relación de la comunidad de macroinvertebrados (agrupados a nivel taxonómico de familia) versus el gradiente ambiental (Figura 53). Dicho análisis mostro una varianza explicada por cada eje canónico (CCA1: 24% y CCA2: 17%), lo que en su conjunto explica el 41% de la variabilidad de los datos.

En ambos casos las variables ambientales que contribuyeron en mayor proporción al CCA1 fueron el NO₃, pH, saturación de oxígeno, profundidad, velocidad de fondo y grosor Didymo. Por otro lado, las variables ambientales que contribuyen en mayor proporción al CCA2 son NO₃, velocidad de fondo, profundidad, oxígeno disuelto, saturación de oxígeno y grosor Didymo.

En la Figura 52 y Figura 53 no se logra observar la riqueza, diversidad y densidad de macroinvertebrados debido a que estas variables se agruparon en el origen del CCA, lo que significa que dichos parámetros comunitarios no se encuentran asociados al gradiente ambiental o por lo menos no a las variables consideradas en este análisis.

En la Figura 52 se observa que el orden de macroinvertebrados que se encuentran directamente relacionadas al grosor del Didymo es *Oligochaeta*, sin embargo en la Figura 53 se puede percibir que además de *Oligochaeta* también existe una relación aunque en menor porcentaje con *Simuliidae*, *Physidae*, *Sphaeriidae* y *Chironomidae*. En la Figura 52 también es posible observar que los grupos que se encuentran inversamente relacionadas al grosor del Didymo son: Los *Trichopteros*, *Plecópteros*, *Bivalvia*, *Megaloptera*, *Coleóptera*. En la Figura 53 se observa que son específicamente las familias de *Ecnomidae*, *Glossosomatidae*, *Hydrobiosidae*, *Perlidae*, *Hyriidae*, *Corydalida*, *Elmidae*.

Las familias de macroinvertebrados que se encuentran directamente relacionadas a la densidad de *D. geminata* son los *Ephemeroptera* y *Gastropoda* (Figura 52), específicamente, *Ameletopsidae*, *Chilinae*, *Leptophlebiidae*, *Hydrobiidae*, *Baetidae* (Figura 53). Los grupos que se encuentran directamente relacionados a la densidad de *D. geminata* son díptera y *Acari* (Figura 52), específicamente, *Chironomidae*, *Acari* y *Ceratopogonidae* (Figura 53).

Figura 52. Análisis de Correspondencia Canónica (CCA) para macroinvertebrados bentónicos y variables ambientales correspondiente al muestreo primavera 2013. Se indican las variables ambientales más correlacionadas con las dimensiones canónicas mediante vectores y como éstas se relacionan con el grupo de macroinvertebrados a nivel taxonómico de orden.

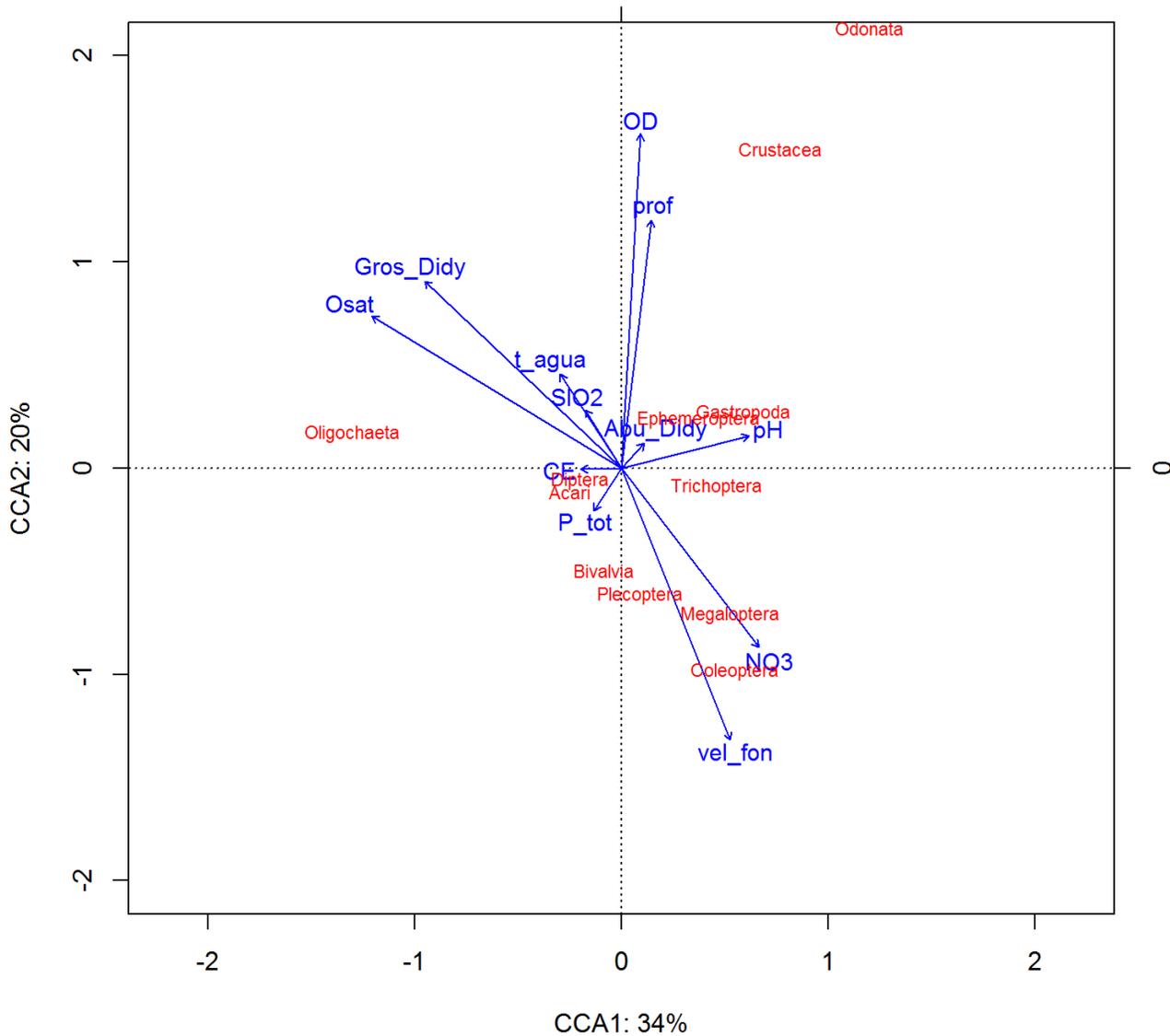
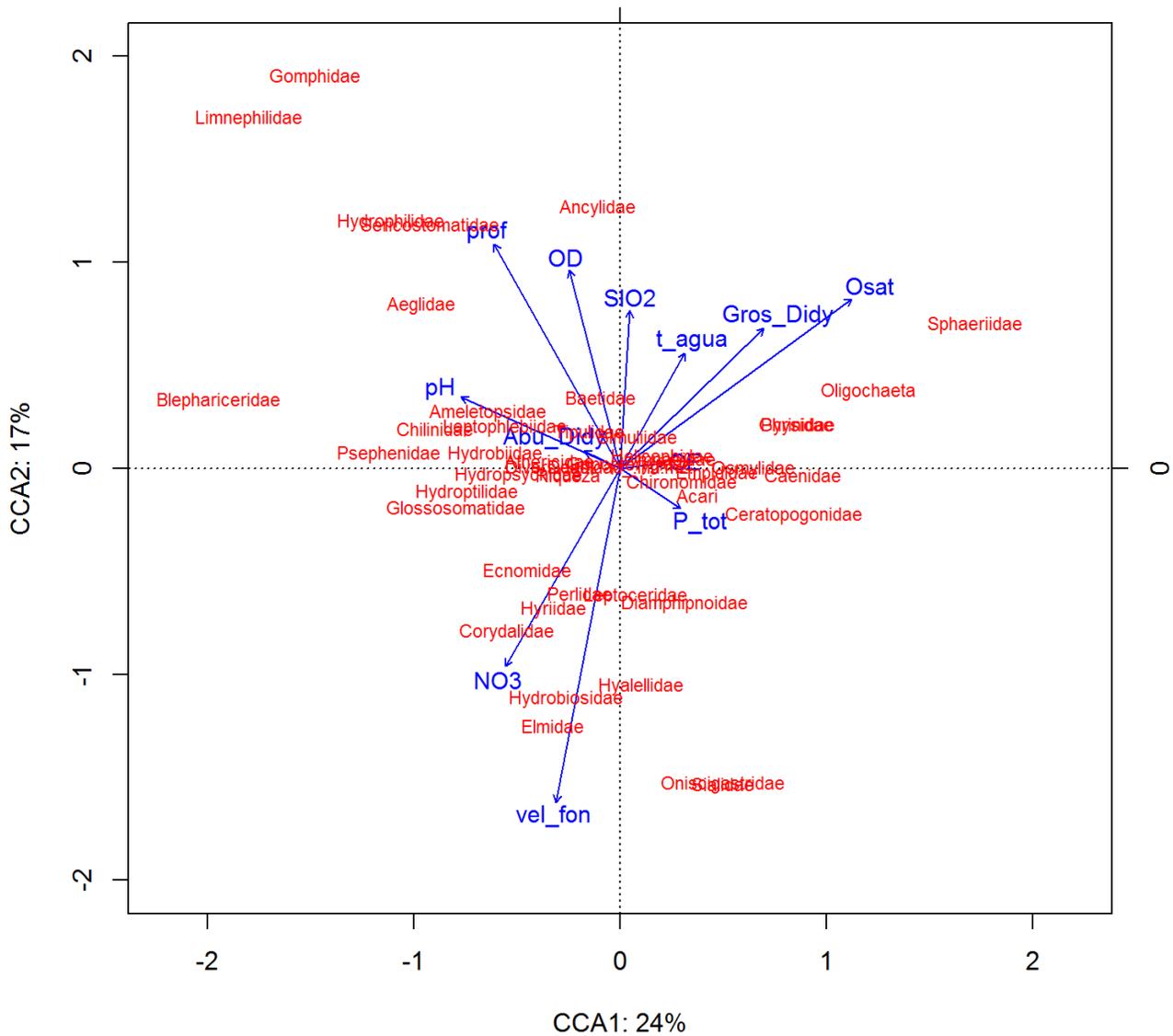


Figura 53. Análisis de Correspondencia Canónica (CCA) para macroinvertebrados bentónicos y variables ambientales correspondiente al muestreo primavera 2013. Se indican las variables ambientales más correlacionadas con las dimensiones canónicas mediante vectores y como estas se relacionan con las familias de macroinvertebrados.



Campaña monitoreo otoño 2014

El análisis estadístico aplicado a los resultados del muestreo de otoño muestra la varianza explicada por cada eje canónico (CCA1: 48% y CCA2: 23%), lo que en su conjunto explica el 71% de la variabilidad de los datos (Figura 54). El segundo análisis, mostro una varianza explicada por cada eje canónico (CCA1: 34% y CCA2: 18%), lo que en su conjunto explica el 52% de la variabilidad de los datos (Figura 55). Las variables ambientales que contribuyen en mayor proporción al CCA1 son el grosor y la densidad de Didymo, pH, oxígeno disuelto y saturación de oxígeno, velocidad de fondo y temperatura del agua (Figura 54). Las variables ambientales que contribuyen en mayor proporción al CCA2 son NO₃, densidad *D. geminata*, SiO₂ y fósforo total (Figura 55). El análisis correspondiente al muestreo de otoño tampoco refleja relación entre la riqueza, diversidad y densidad de macroinvertebrados con las variables ambientales.

En la Figura 54 se observa que los órdenes de macroinvertebrados que se encuentran directamente relacionados al grosor del Didymo son *Hirudinea*, *Oligochaeta*, *Gastropoda*, *Acari* y *Diptera*, estos grupos también se encuentran muy correlacionados con SiO₂, sin embargo al observar la Figura 55 se puede observar que estos grupos corresponden a *Lymnaeidae*, *Physidae*, *Acari*, *Hydrobiidae*, *Caenidae*, *Chironomidae*, *Empididae*. En la Figura 54 también es posible distinguir que los grupos que se encuentran inversamente relacionadas al grosor del Didymo son los *Trichopteros*, concretamente la familia *Hydropsychidae*.

Las familias de macroinvertebrados que se encuentran directamente relacionadas a la densidad de *D. geminata* son los *Ephemeroptera*, *Crustacea*, *Turbellaria*, *Collembola*, *Plecóptera* particularmente a las familias *Dugesiidae*, *Elmidae* y *Grypopterigidae* (Figura 55). Los grupos que se encuentran inversamente relacionados a la densidad de *D. geminata* son *Megaloptera* (Figura 54).

Figura 54. Análisis de Correspondencia Canónica (CCA) para macroinvertebrados bentónicos y variables ambientales correspondiente al muestreo otoño. Se indican las variables ambientales más correlacionadas con las dimensiones canónicas mediante vectores.

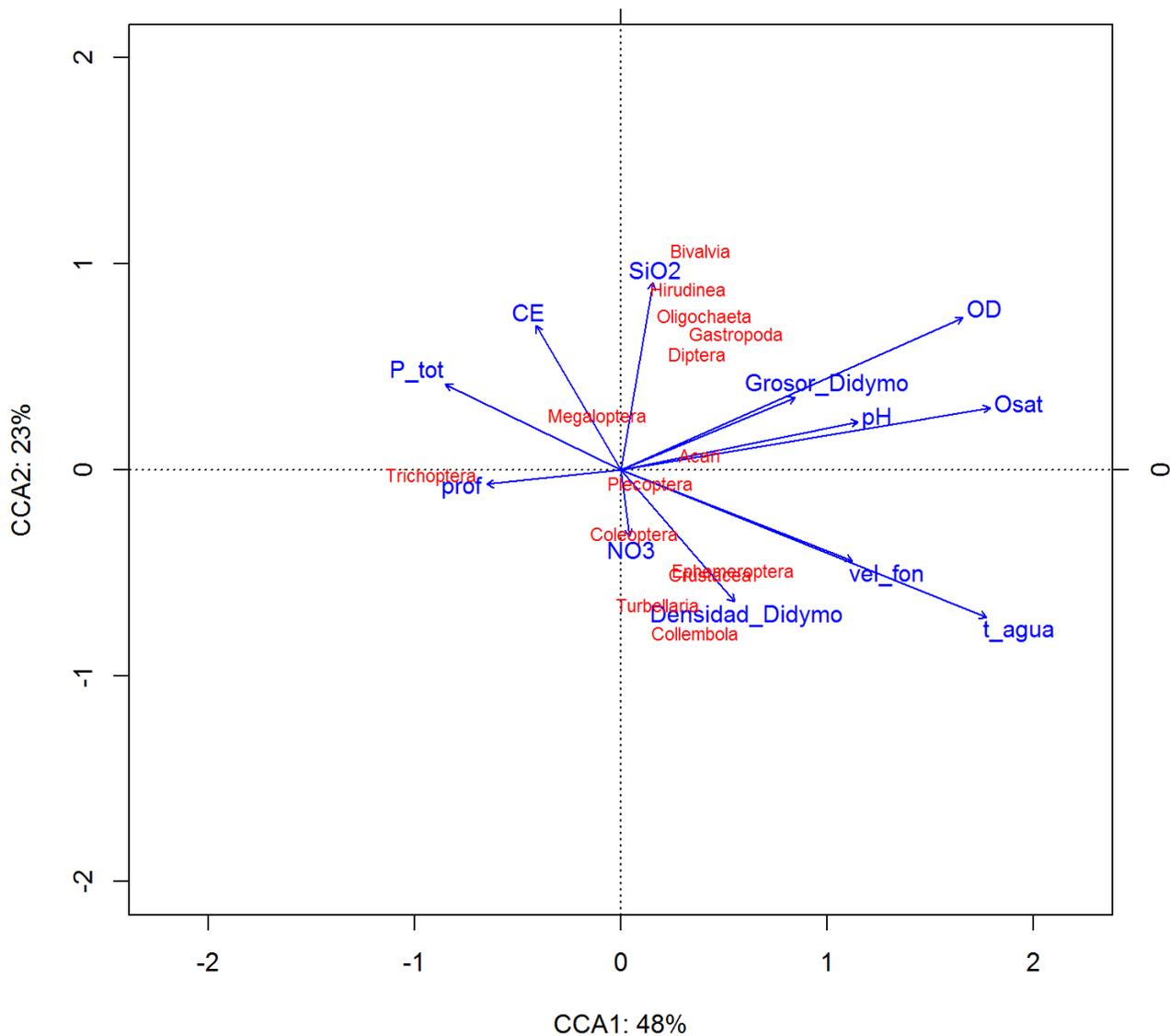
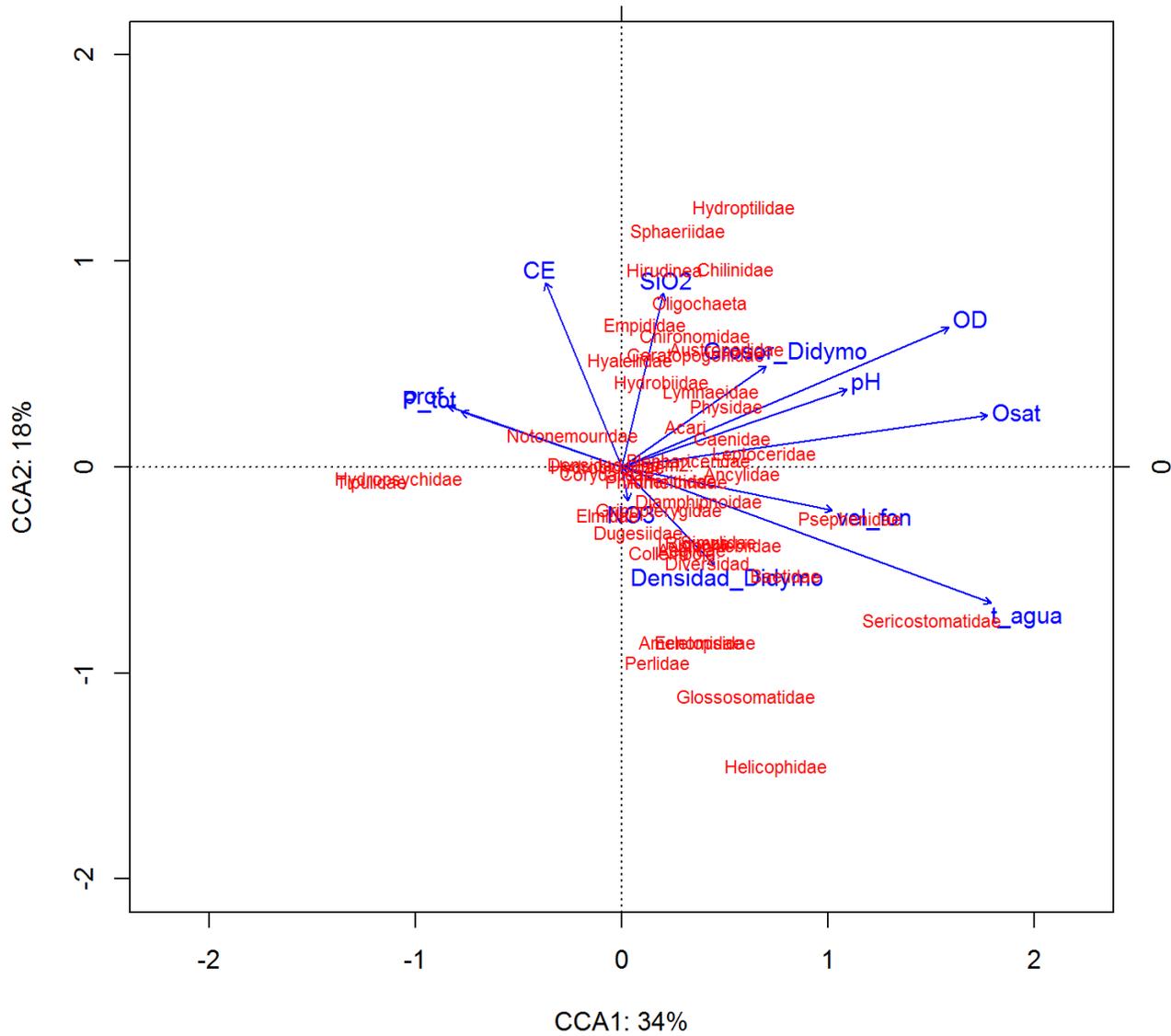


Figura 55. Análisis de Correspondencia Canónica (CCA) para macroinvertebrados bentónicos y variables ambientales correspondiente al muestreo otoño. Se indican las variables ambientales más correlacionadas con las dimensiones canónicas mediante vectores.

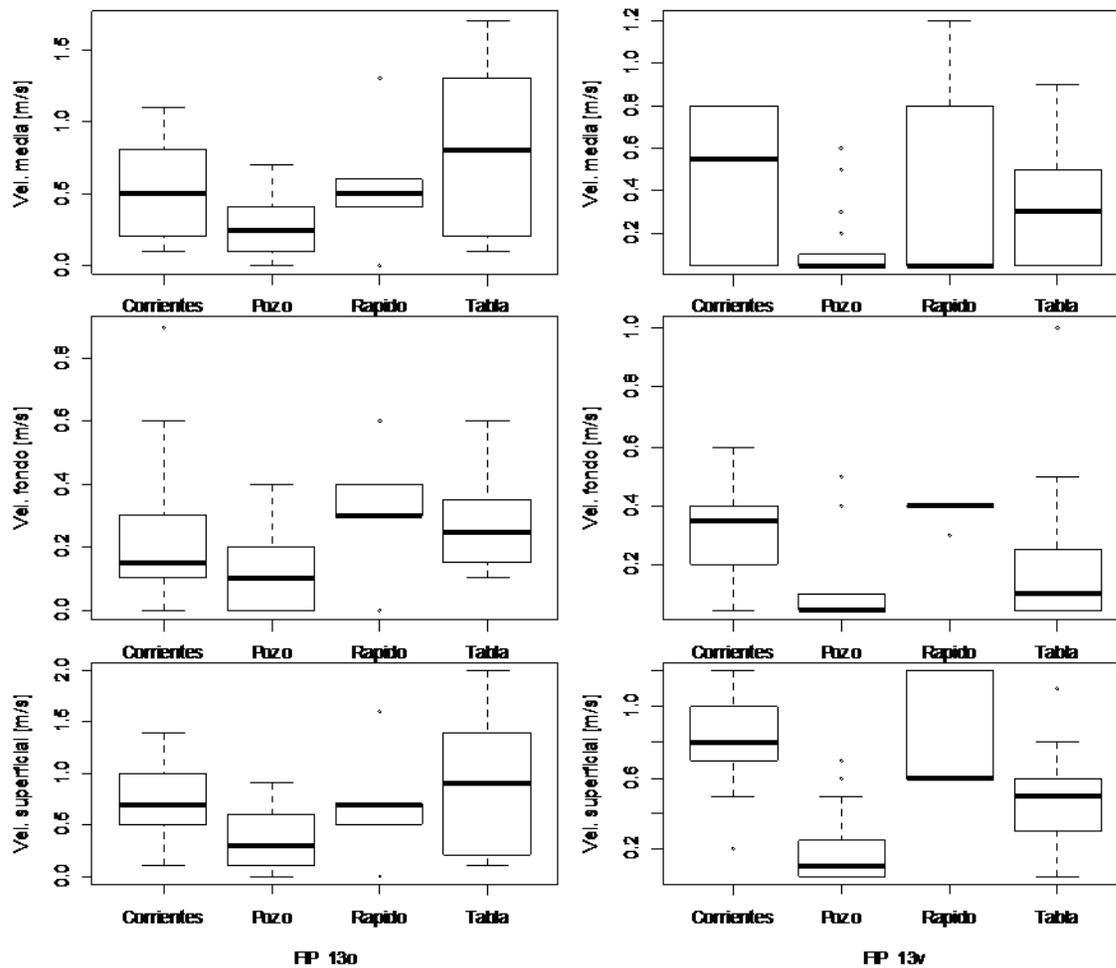


Objetivo específico 5: "Evaluar el mesohábitat de los puntos de muestreo, de modo de relacionar los microambientes con la presencia de Didymo".

La evaluación del mesohábitat fue realizada en la campaña primavera 2013 y repetida en otoño 2014, de acuerdo al cronograma del proyecto.

Respecto de la caracterización hidráulica de los mesohábitat, podemos ver en la Figura 56 que, ambas campañas de muestreo y velocidades, mesohábitat tipo Pozo cuentan con menores velocidades de flujo. Durante el muestreo FIP primavera, el resto de los mesohábitat presentaron gran variabilidad en sus velocidades de flujo, siendo mayor en sitios Corrientes y Rápido. Para el muestreo FIP otoño, las velocidades presentaron menor variabilidad por mesohábitat y entre mesohábitats, siendo mayor en sitios Tabla y Rápido.

Figura 56. Velocidad de la corriente de flujo (m/s) a distintas profundidades por mesohábitat y proyecto. FIP_13o correspondiente a muestreo otoño 2014 y FIP_13v correspondiente a muestreo primavera 2013.



Los indicadores comunitarios estimados para la comunidad de perifiton no presentaron gran variación entre mesohábitat o muestreo, solo destacándose el aumento de la densidad celular en sitios sin Didymo durante el muestreo realizado en otoño (Figura 57). Si bien, se observan cambios en la riqueza de *taxa*, diversidad y equitatividad por mesohábitat, sus intervalos de confianza se encuentran solapados, reflejando cambios poco representativos (Figura 58, Figura 59, Figura 60).

Figura 57. Promedio e intervalos de confianza de abundancia de microalgas bentónicas por mesohábitat y proyecto. Arriba, en mesohábitat en ausencia de Didymo. Abajo, en mesohábitat con presencia de Didymo.

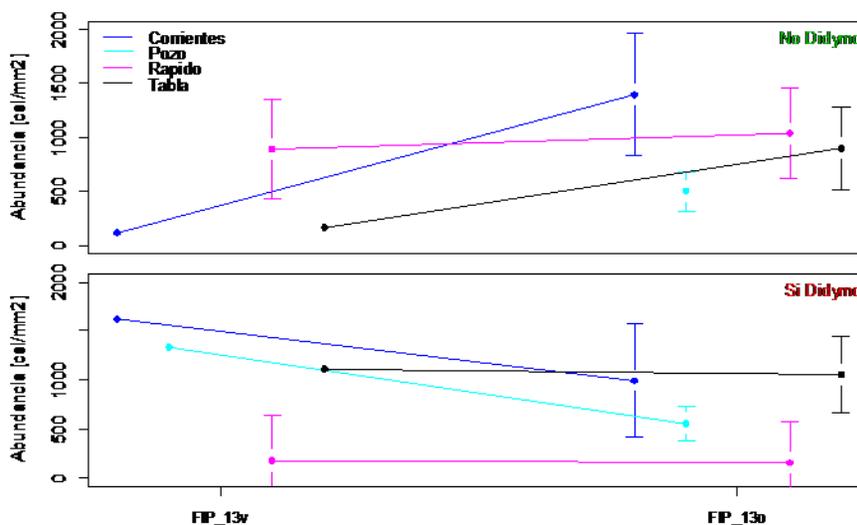


Figura 58. Promedio e intervalos de confianza de riqueza de microalgas bentónicas por mesohábitat y proyecto. Arriba, en mesohábitat en ausencia de Didymo. Abajo, en mesohábitat con presencia de Didymo.

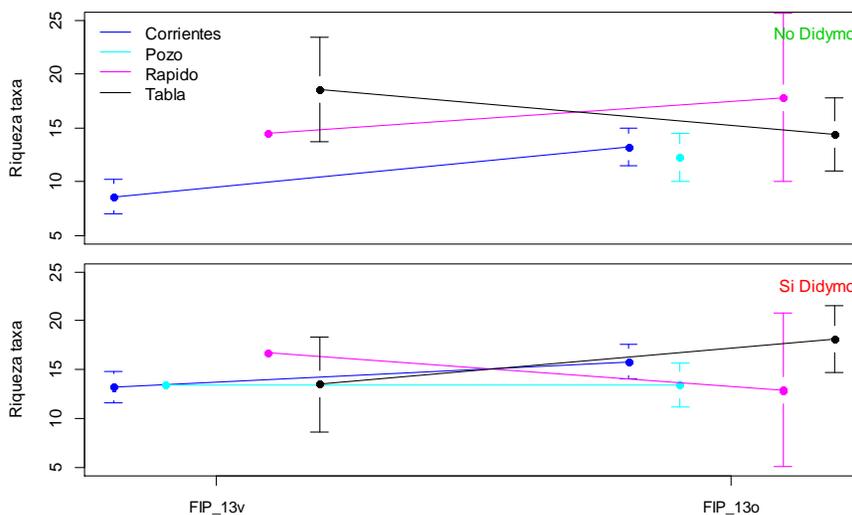


Figura 59. Promedio e intervalos de confianza de índice de diversidad Shannon-Wiener para microalgas bentónicas por mesohábitat y proyecto. Arriba, en mesohábitat en ausencia de Didymo. Abajo, en mesohábitat con presencia de Didymo.

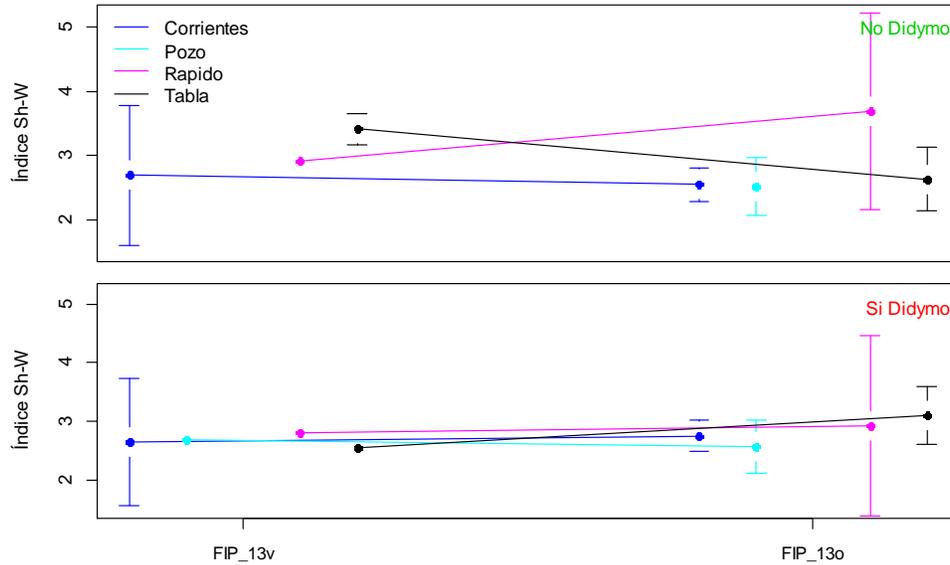
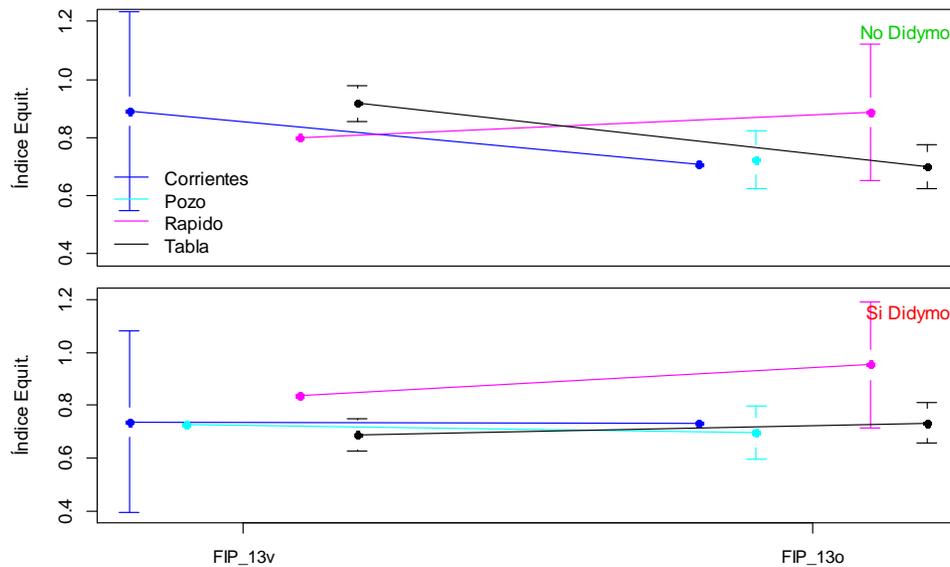


Figura 60. Promedio e intervalos de confianza de índice de equitatividad para microalgas bentónicas por mesohábitat y proyecto. Arriba, en mesohábitat en ausencia de Didymo. Abajo, en mesohábitat con presencia de Didymo.



Análisis de componentes principales por comunidad de mesohábitat explica un 18% en sus dos primeros ejes (Tabla 21). *Didymosphenia* se asocia a géneros como *Navicula*, *Fragilaria* y *Diatoma* (Figura 61). Cuando se agrupan los mesohábitat por distintos atributos, observamos como el proyecto genera la mayor diferenciación, posiblemente determinado por la disminución de mesohábitat con presencia de Didymo detectable (Figura 62).

Figura 61. Géneros en los ejes 1 y 2 de análisis de componentes principales (PCA) para comunidad de perifiton por mesohábitat.

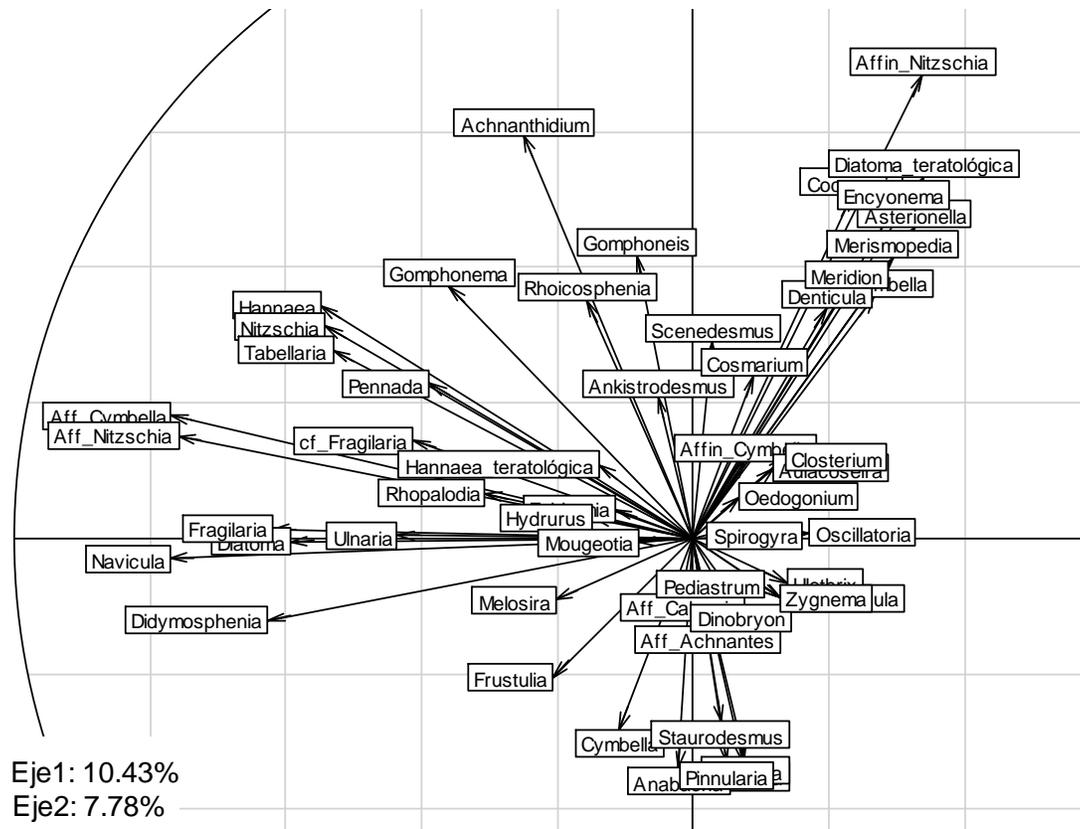


Figura 62. Sitios en los ejes 1 y 2 de análisis de componentes principales (PCA) para comunidad de perifiton por mesohábitat, agrupados en función de la presencia de Didymo, cuenca de origen, proyecto en el que se obtuvo el dato y tipo de mesohábitat.

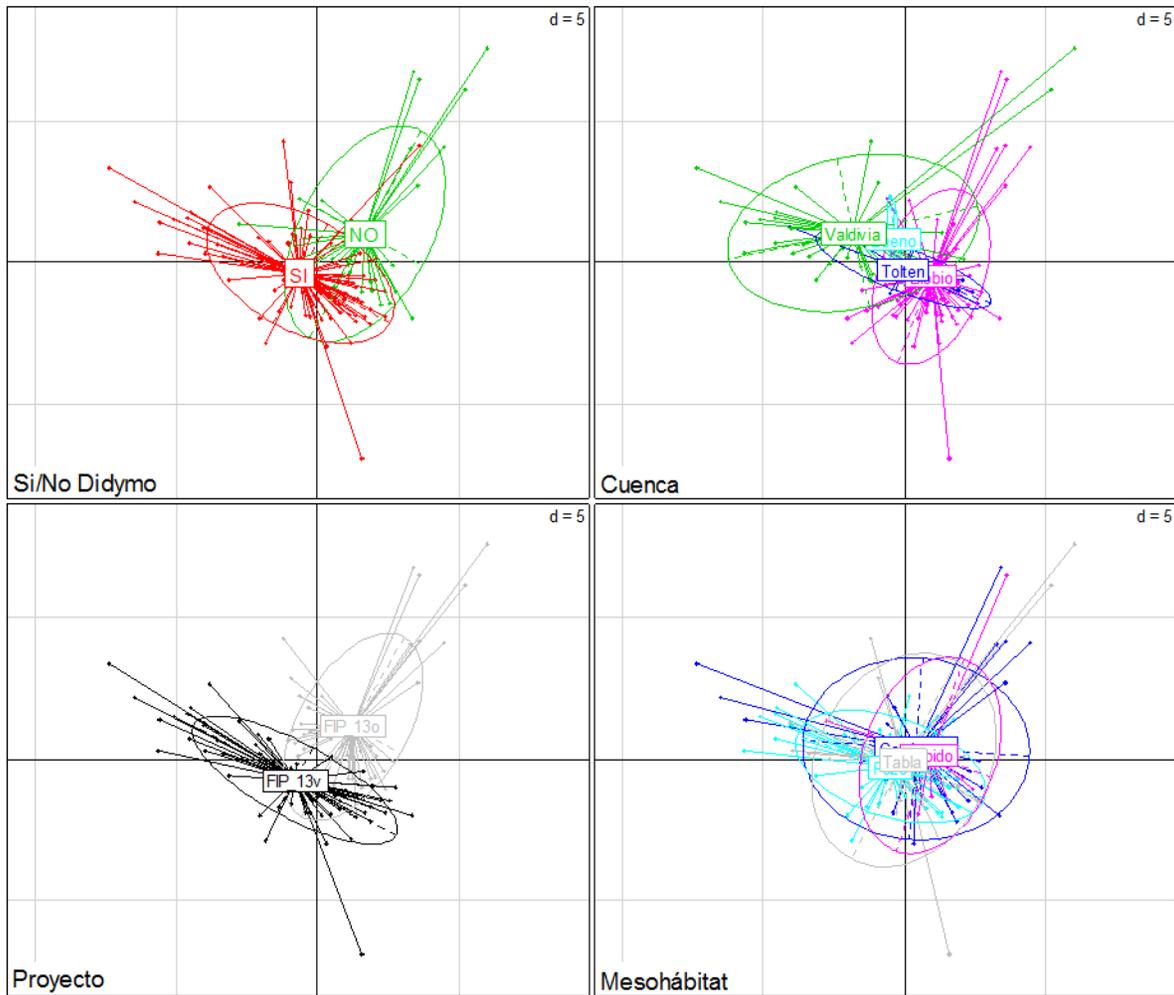


Tabla 21. Resumen de resultados de análisis de componentes principales (PCA) para comunidad de microalgas bentónicas por mesohábitat.

Valor propio por eje				
Eje1	Eje2	Eje3	Eje4	Eje5
5.631	4.183	3.32	3.019	2.913
Varianza explicada por eje (%)				
Eje1	Eje2	Eje3	Eje4	Eje5
10.427	7.747	6.149	5.592	5.395
Varianza acumulativa explicada por eje (%)				
Eje1	Eje2	Eje3	Eje4	Eje5
10.43	18.17	24.32	29.91	35.31

Figura 63. Grosor de mucosidad en función de velocidad de flujo, agrupando sitios por distintas categorías.

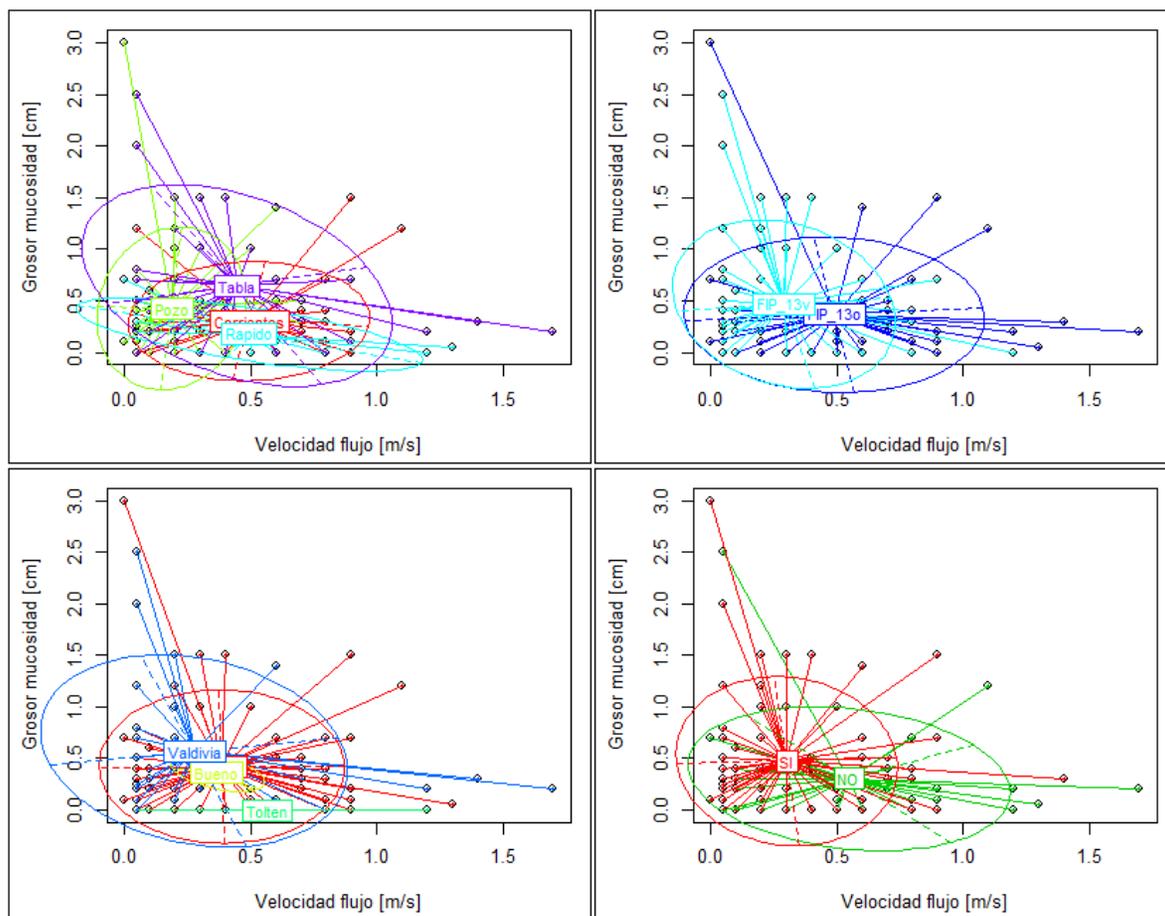


Figura 64. Densidad de perifiton en función de grosor de mucosidad, agrupando sitios por distintas categorías.

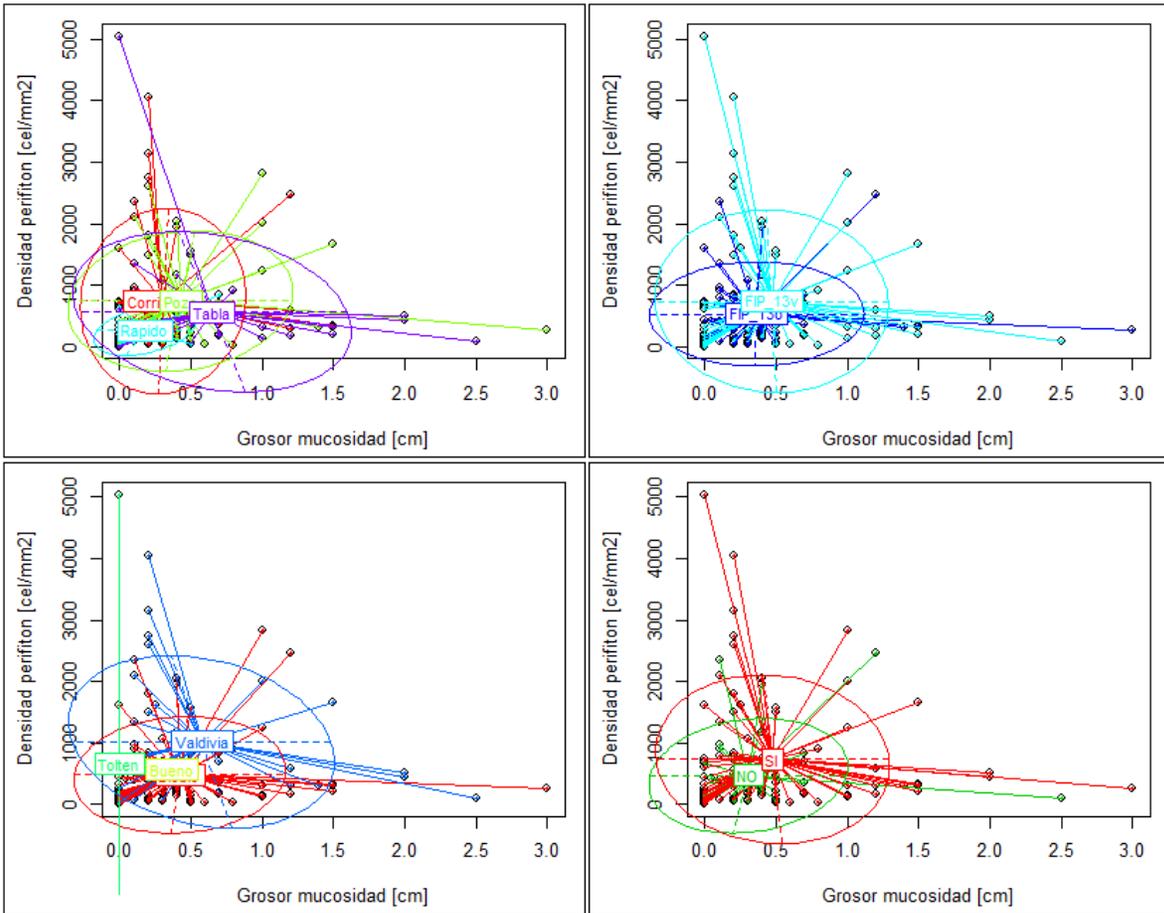


Figura 65. Índice de diversidad en función de grosor de mucosidad, agrupando sitios por distintas categorías.

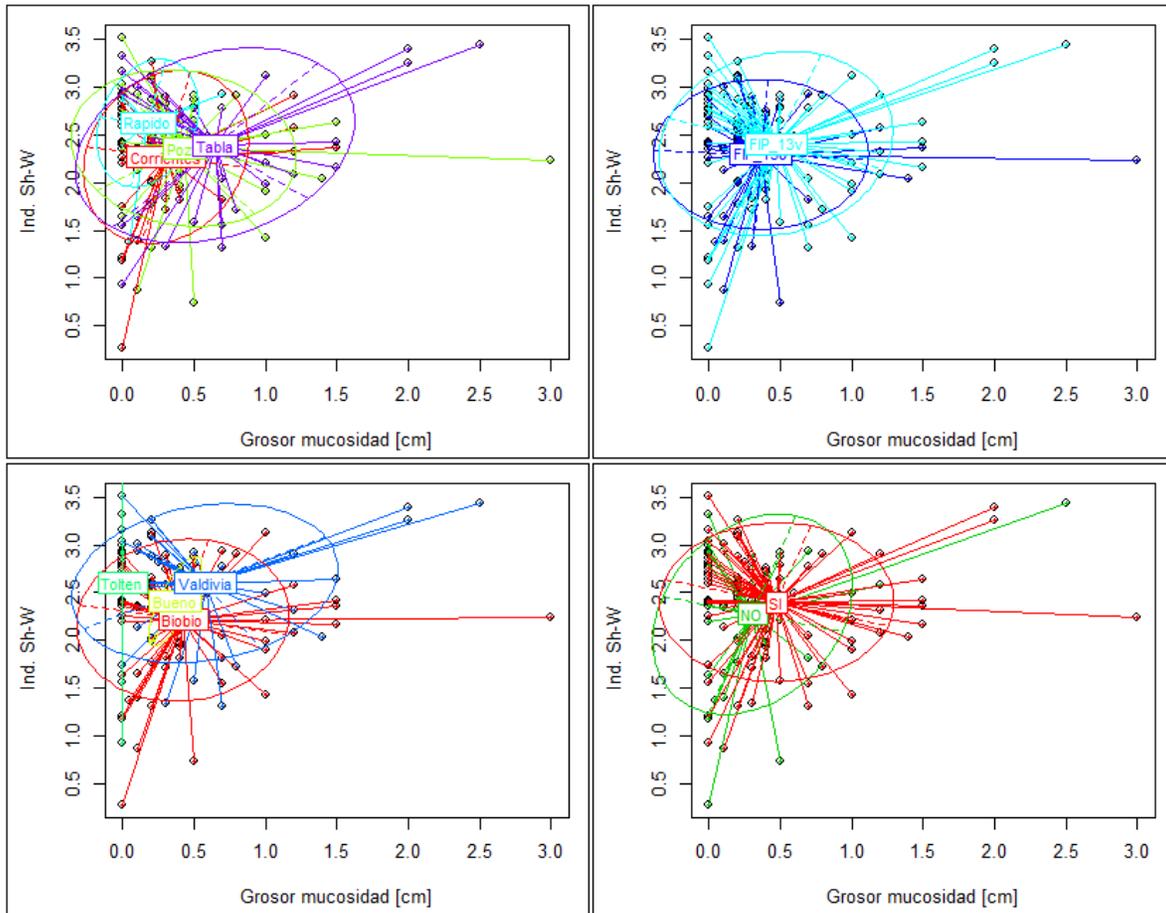
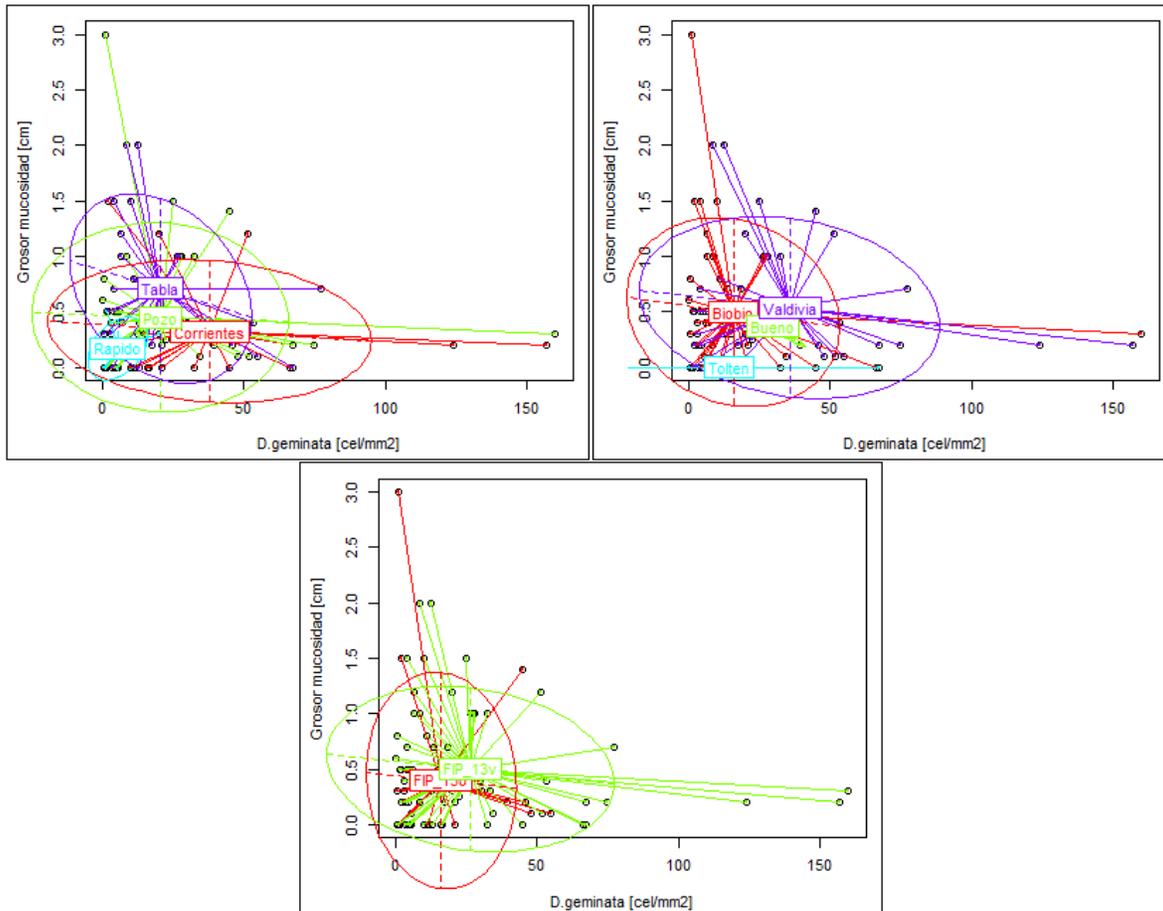


Figura 66. Grosor de mucosidad en función de densidad celular de *Didymo*.



Se observa en la Figura 63, Figura 64, Figura 65 y Figura 66 como, indicadores biológicos de perifiton son independientes de la cuenca, mesohábitat o presencia de *Didymo*. Por un lado, se observa como mayores velocidades provocan una disminución en el grosor del mucílago. Al mismo tiempo, en sitios de mayor grosor de mucílago disminuye la abundancia celular y aumenta la diversidad de especies. Finalmente, la densidad de *D. geminata* presenta un similar patrón, disminuyendo su abundancia en sitios con mayor grosor de mucílago. Ni agrupaciones probadas a través de MRPP, ni ANOVAS de dos vías presentan resultados significativos, indicando independencia de la comunidad del perifiton respecto del mesohábitat.

Tabla 22. Resultados test MRPP para determinar agrupación de la comunidad de perifiton en función del mesohábitat.

Variable agrupante	A	p-value
Estación año	0.0115	0.010
Mesohábitat	0.0078	0.085
Didymo	0.0009	0.249
Didymo*Mesohábitat	0.0258	0.017

Tabla 23. Resumen con resultados de ANOVA de dos vías corregidas por permutaciones.

Grosor mucilago	GL	Promedio cuadrados	F	Número perm.	P paramétrico	P perm.
Mesohábitat	3	0.47	1.71	999.00	0.17	0.150
Didymo	1	0.23	0.85	999.00	0.36	0.341
Interaction	3	0.08	0.28	999.00	0.84	0.835
Residuals	115	0.27				
Densidad	GL	Promedio cuadrados	F	Número perm.	P paramétrico	P perm.
Mesohábitat	3	587443.60	0.80	999.00	0.49	0.492
Didymo	1	504160.10	0.69	999.00	0.41	0.428
Interaction	3	566444.10	0.78	999.00	0.51	0.480
Residuals	115	730174.50				
Riqueza	GL	Promedio cuadrados	F	Número perm.	P paramétrico	P perm.
Mesohábitat	3	10.39	0.90	999.00	0.44	0.460
Didymo	1	16.33	1.41	999.00	0.24	0.260
Interaction	3	7.71	0.67	999.00	0.57	0.564
Residuals	115	11.57				
Diversidad	GL	Promedio cuadrados	F	Número perm.	P paramétrico	P perm.
Mesohábitat	3	0.63	1.78	999.00	0.15	0.168
Didymo	1	0.16	0.45	999.00	0.51	0.506
Interaction	3	0.76	2.14	999.00	0.10	0.095
Residuals	115	0.36				

Equitatividad	GL	Promedio cuadrados	F	Número perm.	P paramétrico	P perm.
Mesohábitat	3	0.03	1.76	999.00	0.16	0.145
Didymo	1	0.00	0.15	999.00	0.70	0.702
Interaction	3	0.04	2.51	999.00	0.06	0.054
Residuals	115	0.02				

Finalmente el análisis MRPP y ANOVA con permutaciones indican que no hay diferencias significativas entre sitios con presencia o ausencia de Didymo (Tabla 22 y Tabla 23).

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

A la fecha, se han realizado todas las actividades acordadas y en los plazos establecidos en las bases del proyecto y en la propuesta técnica FIP/AMAKAIK 2013 que se encuentran directamente relacionadas a los objetivos de este capítulo. Las campañas de muestreo primavera 2013 y otoño 2014 fueron realizadas satisfactoriamente, pudiéndose cubrir todos los sitios de muestreo comprometidos, al igual que la información de gabinete.

Expansión y desarrollo de la plaga

Se observa alto dinamismo de las poblaciones de *D. geminata* en los ríos del sur del país. Se registra una nueva cuenca colonizada (cuenca Bueno) y sitios sin detección bentónica de *D. geminata* durante el muestreo de otoño, previamente invadidos en la cuenca del río Valdivia. Se desprende de lo anterior que el avance de la plaga presenta una variación dinámica a escala intra-anual, en donde la expansión geográfica de la especie avanza, y sin embargo, sus poblaciones presentan drásticas disminuciones en cobertura mucosa y densidad celular, sugiriendo regulaciones ambientales que limitan su crecimiento, pero no detienen el actuar de sus principales vectores de dispersión. En la cuenca del río Bío-Bío se registró un total de 10 sitios positivos para Didymo en la campaña primavera 2013, sumándose un nuevo sitio durante la campaña otoño 2014. En la cuenca del río Valdivia se registró un total de 9 sitios con Didymo en la campaña primavera, en 4 de estos no se detectó Didymo durante la campaña otoño. Estos puntos están conectados directamente por la red hídrica entre ellos y con otros sitios positivos para Didymo. En la cuenca de río Toltén no se registró la presencia de Didymo, sin embargo, se detectó por primera vez un sitio positivo para Didymo en la cuenca del río Bueno, en la campaña otoño 2014.

La colonización de Didymo en nuevas cuencas, sugiere fuertemente que existen otros agentes de dispersión, pudiendo ser de origen antrópico o biológico no-antrópico, como aves, peces y mamíferos. Respecto a esto, a pesar de la falta de estudios sobre vectores biológicos, en Chile

se ha estudiado el visón, revelando que tienen la capacidad de transportar *D. geminata* aguas arriba de sitios invadidos. Otros potenciales agentes dispersores, como el pato cortacorrientes, no han sido estudiados ni considerados en los programas de prevención. De esta forma, si el principal vector de dispersión de la plaga fuese de origen biológico no-antrópico, su control se haría muy difícil, por tal razón estudios referidos a potenciales vectores (como rutas migratorias de aves) se hacen necesarios para la completa comprensión del fenómeno de dispersión. Ahora bien, si el principal agente de dispersión fuese de origen antrópico, como lo respalda la literatura (Kilroy & Unwin, 2011; Reid *et al.*, 2012), las medidas de control de la plaga podrían ser eficientes si se logran mecanismos de gestión que regulen la limpieza y desinfección de los objetos que ingresan a los lugares contaminados, además de difundir información sobre la plaga y por sobre todo, educar a la comunidad usuaria de los ríos. Por esta razón, es que se han implementado diversas actividades tendientes a su control, enfocados principalmente a informar sobre las medidas de bioseguridad asociadas a las prácticas deportivas que podrían transportar células de *D. geminata* en embarcaciones, trajes y aparejos de pesca.

La baja abundancia de Didymo en sitios ya colonizados ratifica el importante rol que adquieren las distintas variables ambientales modeladoras de comunidades bentónicas como reguladores de la plaga. La segunda campaña de muestreo se realizó en un período de aumento de las precipitaciones, por lo tanto, de mayores caudales que en primavera tardía, dificultando en algunas ocasiones el desarrollo del muestreo.

La caracterización geográfica de los sitios de muestreo, obtenida a partir de la clasificación REC-Chile y de información obtenida en gabinete, nos indica que gran parte de los sitios con presencia de Didymo se encuentran bajo un similar régimen de precipitaciones (Variable Clima) y sometidos a la regulación hidrológica de glaciales o lagos. Esto sugiere que, si bien existe un aumento de caudal debido a las precipitaciones de otoño, la presencia de lagos y glaciales regulan las variaciones de caudales.

De acuerdo al análisis de componentes principales, los sitios entre campañas de muestreo se diferenciarían por la temperatura del agua, saturación de oxígeno y la velocidad de la corriente.

Esto se correspondería con la variación propia de la estación del año en que se realizaron los muestreos. Los parámetros mencionados estarían definidos según la hidrología de los sitios y podrían estar influenciando la densidad de *D. geminata* según la estación, como ocurre con toda la comunidad bentónica de microalgas y diatomeas, las que disminuyen en abundancia junto con *D. geminata*. Este último antecedente reafirma la idea de que son factores ambientales los que determinan la disminución de las abundancias, relegando a una posición secundaria la posibilidad de un fenómeno puntual dentro de las poblaciones de Didymo.

Cabe destacar, que, si bien se detectó correlación entre la disminución de los valores de densidad celular, cobertura y espesor de Didymo, éstas variables no se relacionan siempre de la misma forma, ya que se ha registrado alternación entre la fase de reproducción celular y la fase de producción de mucílago (pedúnculos), mediado principalmente por cambios en el Fósforo (Morales *et al.*, 2012; Larned *et al.*, 2006; Kilroy *et al.*, 2005). Además, el mucílago puede presentarse sin la necesaria presencia de *D. geminata* viable. De esta forma, se puede suponer que los ríos del sur del país presentan una naturaleza tal que logran detener la alternancia de reproducción y producción de mucílago, presentando condiciones que controlan el crecimiento de la plaga nivel poblacional.

Podemos concluir que, a pesar de que nuestros resultados indican que las condiciones hidrológicas de los ríos del sur de Chile cuentan con las condiciones para regular el crecimiento de *D. geminata* a nivel poblacional, a nivel geográfico continua su expansión, otorgando mayor importancia a este fenómeno durante el proceso de invasión de Didymo en Chile, y aumentando la importancia de la gestión gubernamental para regular el actuar de vectores de dispersión antrópico.

Caracterización Físico-Química de sitios en presencia de *D. geminata*

Durante la primera campaña se observa que ciertamente son pocos los parámetros que lograrían diferenciar las cuencas entre sí, y en general, no se observa un patrón de respuesta único por cuenca. Sin embargo, para la segunda campaña de muestreo la respuesta entre

cuenca es más dinámica, existiendo considerables diferencias de oxígeno disuelto y velocidad de flujo. De esta forma, el factor temporal se vuelve un importante vector de cambio, dando gran dinamismo a los parámetros muestreados y complejizando su análisis.

Al evaluar a través de un test estadístico la relación entre las variables geográficas y su capacidad de determinar parámetros físico-químicos muestreados, nos encontramos que, ninguna de las categorías RECChile, ni variables de tipo hidrológico, como el orden de Strahler y la presencia aguas arriba de lago o glacial, logra agrupar parámetros físico-químicos. Si bien, algunos arrojan resultados significativos, el índice de dispersión "A" en todos los casos es cercano a 0, presentando agrupaciones muy heterogéneas que no permite diferenciar eficientemente entre grupos. Estos resultados sugieren que los factores geográficos y variables físico-químicas deben utilizarse de manera independiente, sin asumir covarianza de uno respecto del otro. Cabe destacar que, los grupos que lograron explicar más variación de datos físico-químicos, son la estación del año y la cuenca muestreada, representando a las variables espaciales y temporales de mayor importancia al momento de considerar efectos jerárquicos sobre variables químicas.

Al comparar los parámetros físico-químicos en función de la presencia/ausencia de Didymo, se observa un leve aumento en las especies de fósforo en sitios colonizados para la primera campaña, y una drástica disminución para la segunda campaña. Por otro lado, informes previos arrojaron menores velocidades de flujo en presencia de Didymo (Subpesca/Amkaik-Ecohyd, 2013), patrón no detectado en esta oportunidad en ninguna de las campañas.

A nivel hidrológico y geográfico, ninguno de los sitios sometidos a un régimen netamente pluvial se encuentra con presencia de Didymo, 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 Didymo, resultado no explorado de manera cuantitativa anteriormente en el país.

Finalmente, para determinar la capacidad de todas las variables de predecir la presencia/ausencia de Didymo, se utilizó un análisis lineal discriminante validado por el índice AUC. Este test arroja resultados significativos, señalando que, tanto factores geográficos como variables físico-químicas pueden ser utilizadas para predecir sitios aptos para *D. geminata*. Nuestros datos otorgan gran importancia a factores geográficos, dejando en segundo lugar a variables físico-químicas, sugiriendo que la ubicación del tramo y la regulación hidrológica se relacionan altamente con la presencia de Didymo, mientras que el OD se relaciona con su ausencia.

Estos resultados validan la idea de que son las variables hidrográficas/ geográficas /físicas las que determinarían el establecimiento de Didymo, por sobre condiciones físico-químicas de los ríos, las que podrían estar determinando su dinámica poblacional. Cabe señalar que este resultado puede estar sesgado por la alta presencia de lagos y glaciales en la zona muestreada, debiendo corroborarse a través de test utilizando la mayor cantidad de sitios posibles en otras regiones del país.

Se debe considerar que estos resultados se refieren a la presencia o ausencia de *D. geminata* (células) en ríos, lo que no implica que las variables que influyen este proceso también influyen la proliferación de Didymo, es decir, el aumento del material mucilaginoso en sitios invadidos. Respecto a esta etapa de la dispersión de la plaga, sólo se han considerado los estudios de mesohábitats realizados en este proyecto, por lo que el conocimiento respecto a las condiciones que favorecerían los afloramientos en el país es muy acotado. 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 Didymo (Taylor & Bothwell, 2014; Bothwell *et al.*, 2014).

Al considerar todos los proyectos previos de investigación financiados por SERNAPESCA y SUBPESCA, podemos decir que este es el primer modelo estadístico que logra predecir de manera significativa sitios potenciales de invasión Didymo en Chile. Este resultado podría ser

utilizado para la modelación de la distribución potencial de la plaga en Chile, tópico se esperamos desarrollar en futuras investigaciones.

Impacto de Didymo en las comunidades biológicas

Al analizar los resultados para las comunidades biológicas, en el caso de las diatomeas bentónicas, se obtiene un aumento en la abundancia celular, riqueza de especies, diversidad y una mayor equitatividad en las cuencas en que se ha registrado Didymo durante la 1^{ra} campaña de muestreo (exceptuando la cuenca del río Toltén), resultado que cambia para el muestreo de otoño, en donde solo se destaca mayor abundancia celular en la cuenca Bio-bío, siendo el resto de los indicadores bastante similares en todas las cuencas. Por otro lado, los patrones de diversidad y abundancia registrados para perifiton en los sitios en presencia/ausencia de Didymo, son similares a los detectados para diatomeas en este proyecto y los anteriores de SUBPESCA durante el muestreo primavera (Subpesca/ Amkaik-Ecohyd, 2013; Sernapesca/ Amkaik-Ecohyd, 2013). Sin embargo, este patrón no se observa en los resultados de la segunda campaña. Jackson (2003), caracteriza patrones de respuesta para la abundancia y diversidad de especies presentes en un biofilm, relacionándolos con el tiempo de establecimiento de éste. Así, patrones registrados tanto para diatomeas (sólo primera campaña) como para la comunidad microalgal completa (primera y segunda campaña), sugieren que mantos de mucílago presentes en las cuencas Bío-Bío, Valdivia y Bueno se encuentran en un estadio inicial.

Los resultados de los ANOVAS con permutaciones, tanto para microalgas bentónicas y diatomeas validan ciertos patrones observados en las gráficas, detectando diferencias significativas entre sitios con presencia/ausencia de Didymo para distintos indicadores comunitarios, siendo mayores en presencia de la plaga. No se detecta interacción entre Didymo con la estación del año o la región en la mayoría de los parámetros, siendo su impacto heterogéneo espacial y temporalmente.

Como se comenta en la sección anterior, la estación del año del muestreo también logra determinar la riqueza y abundancia de especies bentónicas, disminuyendo estos valores en

otoño. De esta forma, se vuelve necesario la gestión de futuros muestreos en diferentes estaciones del año, buscando determinar si efectivamente el impacto de Didymo sobre las comunidades biológicas es heterogéneo a escala intra-anual, validando los actuales resultados.

Todo lo anterior revela un patrón contrario al que debiesen obedecer las invasiones biológicas, en el que habitualmente observamos que la plaga excluye a los demás competidores. Esto ocurre generalmente cuando las especies invasoras han concluido su etapa de expansión. De lo anterior se desprende que Didymo favorecería a la comunidad de diatomeas bentónicas, aumentando su abundancia y riqueza. Dado esto, en una próxima etapa sería necesario entender hasta qué punto se favorece la comunidad y a partir de cuál comienza a ser perjudicial para la misma. Además, debido a que *D. geminata* produciría cambios en la estructura de los ensamblajes (Gillis & Lavoie, 2014), es necesario estudiar la composición de la comunidad, evaluando el impacto de la plaga sobre las distintas especies de diatomeas y microalgas.

Finalmente, cabe destacar que la comunidad de microalgas no se logra diferenciar en función de la presencia/ausencia de Didymo en ambas campañas de muestreo. A nivel de cuenca existe una comunidad regular que habita en las 6 cuencas muestreadas que no varía entre ellas. Este resultado difiere levemente a lo registrado para la comunidad de diatomeas bentónicas, en donde existe agrupación significativa pero con alto índice de dispersión.

No existe evidencia hasta el momento de que *Didymosphenia geminata* altere la estructura de la comunidad macrobentónica. Si bien los resultados indican que existen diferencias entre sitios con y sin Didymo, estas no son significativas. Los análisis de correspondencia canónica revelan que las variables ambientales seleccionadas no son las que determinan la distribución de los macroinvertebrados.

En general, las comunidades presentes en sitios con Didymo poseen menor diversidad y riqueza, mientras que en algunos sitios las densidades aumentan considerablemente en sitios con Didymo. Estos aumentos de algunos grupos generan una dominancia en la comunidad provocando un decrecimiento en la riqueza y en la diversidad. Los aumentos en las densidades

de algunos invertebrados pueden explicarse en parte por los recursos alimenticios proporcionados por la biomasa de perifiton (Larned *et al.*, 2007).

D. geminata tiene el potencial de modificar la comunidad de macroinvertebrados bentónicos (Rost & Fritsen, 2014), aunque esto no es lo que se observa en los resultados de este trabajo, principalmente porque se necesita comparar igual número de estaciones con y sin Didymo.

Las familias que se asocian a los sitios con Didymo son en su mayoría depredadores, recolectores y ramoneadores, lo mismo ocurre en los sitios sin Didymo, por lo cual no se puede decir nada al respecto.

Relación entre Mesohábitat y Didymo

La caracterización de los tramos muestreados nos indica que cerca del 70% son sectores clasificados como "Rabión y Poza", caracterizados por la alternancia espacial de sitios rápidos y sitios apozados, los que representan gran variedad de mesohabitat en muy poco espacio, justificando un análisis a esta escala.

La caracterización realizada por tipo de mesohabitat logró una diferenciación a nivel físico, existiendo diferencias tanto de las velocidades de flujo por tipo de mesohábitat. Estos resultados ponen en evidencia las diferencias ambientales que pueden existir dentro de 50 m de tramo de río para las comunidades de microalgas, reafirmando la necesidad de evaluar la presencia de Didymo según tipo de mesohabitat.

A nivel estacional entre proyectos, el principal cambio que se observó fue a nivel de abundancia de perifiton por mesohábitat, sin variar mucho los indicadores comunitarios. Esto puede deberse al impacto que genera el cambios hidrológico estacional, como se ve reflejado en resultados anteriores.

El mesohábitat no generaría un gran cambio respecto de la comunidad de perifiton, mientras que si lo logra la presencia de Didymo y la cuenca de origen del mesohábitat. Así, los patrones

de estructuración comunitaria varían a otras escalas de magnitud, siendo menor el rol del tipo de mesohábitat.

Es importante destacar la relación inversa entre grosor de mucílago y la abundancia celular y la velocidad de flujo. En primer lugar, se observa como la velocidad de la corriente es una variable que puede determinar el grosor del mucílago, evidenciando el rol del ciclo hidrológico como regulador de poblaciones bentónicas. Esto podría generar una paradoja en donde, sitios de menor velocidad se encuentran a mayor profundidad (por ejemplo, pozas), regulando la falta de luz la producción de mucílago.

En segundo lugar, mayor cantidad de mucílago no refleja mayor abundancia celular de perifiton. Siguiendo a Jackson (2003), y considerando el pequeño grosor del mucílago (max. 3.5 cm), sugerimos la detección comunidades en etapas iniciales de establecimiento, en donde disminuyen las abundancias y aumenta la diversidad. Debido al escaso grosor registrado, este proceso es ajeno a la presencia de Didymo, especie que lograría determinar diferencias en la producción masiva de mucílago, situación no detectada durante ambos muestreos.

CONCLUSIONES

Los datos obtenidos durante la ejecución de la primera y segunda campaña de muestreo FIP, dan cuenta de nuevos e interesantes resultados respecto del estado de la plaga Didymo en Chile. Gran parte de ellos fueron generados a partir de metodologías de terreno y de gabinete nunca antes utilizados en estudios previos de Didymo en nuestro país.

En primer lugar, el régimen hidrológico y factores geográficos de los ríos determinan la presencia de Didymo en los ríos del sector. Así, regulación hidrológica a través de lagos o glaciales, y una ubicación en tramos medios, podrían determinar su establecimiento, obteniendo a partir de estos datos un modelo estadístico significativo que logra predecir Didymo, exhibiendo altos indicadores de éxito.

Los parámetros químicos obtenidos, tanto *in situ* como en laboratorio, en general no arrojan asociación con la presencia de Didymo, exceptuando las especies químicas de fósforo, las que modifican su patrón de respuesta en función del período de muestreo (primavera tardía y otoño).

Respecto a las comunidades biológicas analizadas, tanto de microalgas como diatomeas, la diversidad de éstas aumenta en presencia de Didymo, lo que es consistente con lo detectado en estudios previos realizados por AMAKAIK (SUBPESCA Y SERNAPESCA, 2012 y 2013). Este patrón no se replica para macroinvertebrados, el cual no presenta cambios comunitarios en función de la presencia de Didymo.

A menor escala espacial, Didymo no aumenta particularmente en algún tipo mesohábitat, a pesar de los cambios en las velocidades de flujo. Aparentemente, independiente del mesohábitat, la velocidad del flujo disminuiría el grosor del mucílago, influyendo en mayor medida sobre la comunidad bentónica.

Finalmente, nuestros resultados evidencian gran dinamismo poblacional de la plaga Didymo en los ríos de las regiones Bío-Bío, Araucanía y Los Ríos, registrándose además interesante patrones en el análisis de los resultados obtenidos, demostrando una vez más la importancia de investigar los posibles factores físicos, químicos y biológicos que determinan la presencia de esta plaga en Chile.

CAPÍTULO II: EVALUACIÓN DEL PROGRAMA DE VIGILANCIA Y CONTROL DE DIDYMO

ANTECEDENTES

De manera de responder al objetivo específico 5 de este pre-informe final, se realizó una evaluación del programa de vigilancia y control de Didymo, proponiendo medidas específicas.

Desde los primeros estudios sobre *Didymosphenia geminata*, se ha advertido de los problemas que a futuro traería la expansión de la plaga a la economía del país. Esto en base a experiencias internacionales, en donde la industria del turismo y pesca recreativa han sufrido importantes pérdidas, y en consecuencia, implicancias económicas en los países afectados. Un estudio realizado el 2006 por Johannah Branson en Nueva Zelanda, detalla las posibles pérdidas económicas nacionales producto del desarrollo de la plaga, en un período de 8 años, por sectores comerciales tal y como se indica en la Tabla 24.

Tabla 24. Posible impacto económico (US\$ Millones) y porcentual generado por el desarrollo de la plaga Didymo durante 8 años en Nueva Zelanda.

Sector	US\$Millones (% del Total)		
	Escenario de Bajo Impacto	Escenario de Impacto Medio	Escenario de Impacto Alto
Industria Pesquera	0.019 0.03%	0.237 0.14%	0.525 0.18%
Consumo de Agua	10.785 19%	21.834 13%	27.656 9.7%
Agua Potable	3.048 5.3%	7.716 4.6%	10.288 3.6%
Recreación	12.706 22%	49.102 29%	88.248 31%
Gasto Turístico	6.091 11%	31.747 19%	69.493 22%
Mantenimiento y Restauración del medio	6.875 12%	20.051 12%	40.102 14%
Perdida de Especies Nativas	18.273 32%	36.547 22%	54.820 19%
Total	57.798	167.233	285.132

En general, hay tres aspectos negativos que involucra la invasión de la especie *D. geminata* en el ecosistema y su evolución como plaga. Por un lado, en términos de apreciación, la presencia de Didymo (etapa mucilaginosa) transforma visualmente el lugar infectado en un área poco atractiva para los usuarios (bañistas, turistas, pescadores, etc.) debido a su aspecto mucoso y desagradable sensación al tacto, además de ser un impedimento físico para el pescador, al enredar aparejos y carnadas utilizados en el proceso de pesca. Económicamente, el rechazo del turista a visitar las zonas afectadas por dicha plaga reduce considerablemente el ingreso económico local, sobre todo en aquellas regiones donde el turismo se desarrolla como actividad económica base. En cuanto al aspecto ecológico, la modificación del ecosistema por parte de la cobertura algar, se ve reflejada en la alteración de las variables físico-químicas y cambios en la densidad y diversidad de especies tanto bentónicas como pelágicas, lo que provocaría una modificación de la trama trófica y ciclos reproductivos, sumado a la variación lumínica en la columna de agua, a las concentraciones de oxígeno disponible, etc. En consideración a lo anterior, la mantención de los ecosistemas de aguas interiores en su forma nativa es una prioridad, ya que sin este recurso no es posible mantener tal nicho productivo, ya sea industrial o particular.

Por otra parte, es imposible desconocer los enormes esfuerzos llevados a cabo por parte de la autoridad, generando, a partir del año 2010, normativas tanto nacionales como locales además de intensos programas de prevención, control y vigilancia en los períodos estivales, con el fin de entregar a la comunidad la información necesaria respecto de lo nocivo de la presencia de la plaga hidrobiológica en el medio acuático nacional, además de hacer efectiva la aplicación de las normativas vigentes (Subsecretaría de Pesca y Acuicultura /Poch-UChile, 2011a; Subsecretaría de Pesca y Acuicultura /Poch-UChile, 2011b; Subsecretaría de Pesca y Acuicultura /Poch-UChile, 2011c; Subsecretaría de Pesca y Acuicultura /Poch-UChile, 2012; Subsecretaría de Pesca y Acuicultura /Amakaik-ECOHYD, 2013; Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura /Amakaik-ECOHYD, 2013). En este sentido, y puntualmente, la exigencia por parte de la autoridad de haber cumplido instrucción sobre bioseguridad y gestión de plagas hidrobiológicas, es menester. Esta exigencia partiría desde el momento en que se obtiene la licencia de pesca,

incluidas las instancias de certificación para instructores y guías de pesca recreativa, hasta la instancia de la fiscalización en terreno.

A pesar del escenario adverso que se visualiza por el desarrollo invasivo de *D. geminata*, mientras mayor sea el conocimiento de la población, más conciencia se toma de las amenazas potenciales que conlleva la dispersión de la especie en los ríos de Chile. Para cumplir con este objetivo, la educación es el mejor mecanismo por el cual se puede llevar a cabo un profundo cambio en la forma en que se relaciona la sociedad con los ecosistemas. Puntualmente, proteger el medio ambiente, así como fortalecer responsablemente la industria del turismo, la pesca recreativa y el deporte aventura. Sin embargo, la conciencia ciudadana referente a la problemática ambiental es mínima, no es una conciencia crítica local, sino más bien una conciencia ambiental difusa, donde la ciudadanía no responde en forma positiva a la incorporación del conocimiento si es que no existe una real y directa afección. Esto se ve reflejado en que la generalidad del usuario prefiera evitar los controles y seguir camino en los puntos de información, si bien este parece ser una temática de idiosincrasia, es necesario que desde las esferas superiores se instale este tema de manera que se transmita su importancia hacia la comunidad, y a su vez, sea incorporado en todo orden de acción y competencia de las instituciones. Según lo anterior, se hace fundamental la generación y desarrollo de adecuados planes de educación íntegra, dentro del marco de la Política Nacional de Educación para el Desarrollo Sustentable (PNEDS) generado por el estado de Chile en 2009, en el que no sólo se indiquen las afecciones de las normativas vigentes, si no que su importancia ecosistémica, desde un punto de vista antrópico, donde cada ciudadano, civil o institucional, se sienta parte importante del cumplimiento de las mismas, valorado y responsable por los efectos obtenidos.

MEDIDAS PROPUESTAS

Como consultora especializada en el proceso de invasión de la plaga hidrobiológica Didymo, creemos que es vital llegar con este conocimiento no tan sólo a los posibles vectores de dispersión, como lo puede ser la sociedad civil que diariamente hace uso de ríos y lagos para pesca recreativa y/o deporte aventura, sino que también los elementos que forman parte de los

servicios públicos y que son responsables no tan solo de la correcta aplicación de la normativa vigente, si no que de la incorporación de esta en cada usuario, instalando la discusión a nivel transversal para así realizar un trabajo en conjunto con el fin de controlar el avance de dicha plaga.

Licencia de gestión de plagas hidrobiológicas

Para las regiones con afectación y/o riesgo de propagación, se deberá obtener una licencia de gestión de plagas, la cual dé cuenta de que el individuo posee los conocimientos sobre las plagas hidrobiológicas y está al tanto de las medidas para frenar su propagación. Dichos conocimientos serán adquiridos en un curso de inducción sobre la Plaga Didymo, en el que se obtendrá un certificado que será obligatorio para la obtención de la licencia.

Esta nueva licencia se exigirá en conjunto con la de pesca recreativa, y serán necesarias ambas para contar con el permiso para realizar la actividad, pudiendo incurrir en la misma infracción y multa que estipula el reglamento¹ que rige esta actividad. Además, los guías de pesca en posesión de ambas licencias podrán hacerse responsables por usuarios que los acompañen y hagan uso de sus conocimientos.

Para obtener esta licencia, se incluirá una sección adicional en la página web del Servicio donde se obtienen actualmente los permisos de pesca recreativa. Se podrá acceder mediante el RUT, de manera que la realización del *test* sea personal. Éste contará con un formato de formulario virtual, el cual desplegará la información a modo de *test* de selección múltiple con un total de 15 preguntas relativas a los conocimientos y medidas que se deben tomar con respecto a la gestión de las plagas hidrobiológicas. El proceso elegirá al azar estas preguntas a partir de un stock de preguntas mínimo de 60.

¹ Título VIII. Ley n° 20.256 "ESTABLECE NORMAS SOBRE PESCA RECREATIVA", MINISTERIO DE ECONOMÍA, FOMENTO Y RECONSTRUCCIÓN; SUBSECRETARIA DE PESCA. Promulgada 14-03-2008.

Se asignará un puntaje mínimo para la obtención de la licencia (85% de aprobación, correspondiente a 13 preguntas), la cual tendrá una duración de un año (por actualización en conocimiento científico y técnico de la Plaga). Si el resultado del *test* es insuficiente, el usuario se le otorgará un permiso provisional por un tiempo limitado (un mes) hasta poder rendir el *test* nuevamente. Adicionalmente, se informará de las fechas y lugares de los cursos a realizarse.

Esta medida está orientada hacia la protección del medio ambiente y la mantención de la industria del turismo. Se propone fiscalizar a todas aquellas entidades y/o personas que no hayan obtenido este documento, asumiendo que el desconocimiento del tópico es un riesgo para la propagación del Didymo y de otras especies que podrían constituir plaga en nuestro país.

Curso de inducción a las plagas hidrobiológicas

A partir de los antecedentes de expansión descritos de la plaga y el escenario social del país, se propone la implementación de 3 modalidades de cursos de inducción de gestión de plagas hidrobiológicas, a realizarse a públicos objetivos distintos con el fin de insertar el tópico a distintos niveles.

Estos cursos son de carácter obligatorio ante las instituciones con atribuciones fiscalizadoras, así como requisito para los usuarios en la obtención de la licencia de gestión de plagas hidrobiológicas. Además, el público general podrá contar con el material del curso y la información de la plaga, ya que los contenidos se encontrarán disponibles en el sitio web de SERNAPESCA y/o SUBPESCA para su revisión.

Modalidades:

1. Curso de gestión de la plaga Didymo y bioseguridad para la institución.

El objetivo del curso consiste en entregar los conocimientos actualizados y las herramientas necesarias para la gestión propia de las instituciones y la inserción dentro de la labor de fiscalización y/o investigación (Instituciones gubernamentales, ONGs, consultoras ambientales, etc).

2. Curso de gestión de la plaga Didymo y bioseguridad para operadores turísticos y guías e instructores de pesca recreativa.

El objetivo del curso consiste en proveer a los operadores turísticos, instructores y guías de pesca recreativa de los conocimientos y herramientas para el tratamiento de la plaga, medidas de bioseguridad necesarias para frenar su dispersión y las bases para la correcta entrega de conocimiento a sus clientes.

3. Curso de gestión de la plaga Didymo y bioseguridad general para la pesca recreativa y usuarios en general.

El objetivo del curso consiste en concientizar a los usuarios en general y pescadores, en especial los que se dedican a la pesca recreativa, con respecto a la plaga Didymo, sus peligros y las medidas necesarias para frenar su propagación.

Los módulos son los siguientes:

- **Introducción a sistemas de aguas continentales.** Descripción: composición espacial, características generales e importancia biológica de los sistemas de aguas continentales con especial énfasis en Chile. Particularidades locales.

- **Diatomeas de aguas continentales.** Módulo teórico. Descripción: presentación y reconocimiento de las especies de diatomeas de agua dulce y sus características generales.
- **Prospección, vigilancia y monitoreo de Didymo en Chile.** Módulo teórico. Descripción: exposición de las actividades que se realizan en cuanto a la prospección, vigilancia y monitoreo de la plaga, así como de los avances en investigación de la misma.
- **Bioseguridad en Chile.** Módulo práctico. Descripción: exposición de las medidas de bioseguridad requeridas para evitar y frenar la propagación de las plagas hidrobiológicas, con énfasis en Didymo, y las medidas de desinfección de artes, aparejos, equipos y embarcaciones.
- **Desafíos y tareas pendientes. De la consultoría a la investigación.** Módulo teórico. Descripción: exposición de las actividades ligadas a Didymo realizadas en la consultoría y cómo estas aportan a la generación de conocimientos científicos aplicados.
- **Muestreo y bioseguridad I: muestreo físico, químico y biológico.** Módulo práctico. Descripción: demostración de las distintas técnicas de muestreo utilizadas para caracterizar las cuencas y ríos.
- **Muestreo y bioseguridad II: Medidas preventivas y desinfección.** Módulo práctico. Descripción: demostración de las actividades individuales para prevenir el transporte y la eventual propagación de Didymo, y las medidas para desinfectar la indumentaria.
- **Normativa de plagas hidrobiológicas en Chile.** Módulo teórico a cargo de la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura. Descripción: exposición de las leyes, reglamentos y otras herramientas, legales y administrativas, referidas a las plagas hidrobiológicas.
- **Plan de contención y desinfección.** Módulo teórico a cargo del Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura. Descripción: exposición de los planes actualmente en vigencia para la contención de la plaga y las medidas de desinfección de indumentaria.
- **Identificación y reconocimiento taxonómico de *D. geminata*.** Módulo práctico. Descripción: demostración de las características distintivas de la especie e identificación para determinar la presencia de la plaga. Observación mediante microscopía óptica de microalgas y su reconocimiento taxonómico

- **Preparación y análisis de muestras biológicas.** Módulo práctico. Descripción: demostración de los protocolos de preparación de las muestras y el análisis posterior.
- **Reconocimiento con microscopía óptica de microalgas y específicamente *D. geminata*.** Módulo práctico. Descripción: Observación mediante microscopía óptica de microalgas y su reconocimiento taxonómico.

La distribución de horas dedicadas a cada módulo varía según su público, pues aporta en distinta profundidad a los contenidos para cada uno, lo cual se detalla en la Tabla 25.

Tabla 25. Detalle de módulos con su respectiva duración y responsable.

Módulos	Duración (hrs.)			Tipo de módulo	Responsable
	Institucional	Guías de pesca	General		
Introducción a sistemas de aguas continentales.	1	1	0.5	Teórico	AMAKAIK
Diatomeas de aguas continentales.	1	1	0.5	Teórico	AMAKAIK
Prospección, vigilancia y monitoreo de Didymo en Chile.	1.5	1	0.5	Teórico	AMAKAIK
Bioseguridad en Chile.	1.5	1	0	Práctico	AMAKAIK
Desafíos y tareas pendientes. De la consultoría a la investigación.	0.75	0.75	0	Teórico	AMAKAIK
Muestreo y bioseguridad I: muestreo físico, químico y biológico.	1.5	1	0	Práctico	AMAKAIK
Muestreo y bioseguridad II: Medidas preventivas y desinfección.	1.5	1.5	1.5	Práctico	AMAKAIK
Normativa de plagas hidrobiológicas en Chile.	1	1	1	Teórico	SUBPESCA
Plan de contención y desinfección.	1	1	1	Teórico	SERNAPESCA
Trabajo de discusión grupal.	0.5	0	0	Teórico	AMAKAIK
Identificación taxonómica de <i>D. geminata</i> .	0.75	0.5	0	Práctico	AMAKAIK
Preparación y análisis de muestras biológicas.	1.5	0	0	Práctico	AMAKAIK
Reconocimiento con microscopía óptica de microalgas y específicamente <i>D. geminata</i> .	1.5	0	0	Práctico	AMAKAIK
Evaluación	0.5	0.5	0.5	Teórico	AMAKAIK

Por otro lado, en base a los siguientes criterios, se determinaron sitios prioritarios para la realización de los cursos en las regiones de Chile muestreadas por la consultora. Estos sitios corresponderían a las siguientes zonas:

- Cercanía del avance de la plaga en base a datos obtenidos en los estudios hechos por la consultora, contrastada con la densidad corregida por células viables.
- Cercanía a centros urbanos que permitan la fácil conexión con los sectores muestreados, y ofrezcan infraestructura suficiente para la realización del curso.

Las ciudades determinadas para la realización del curso son: Concepción, Temuco, Villarrica, Río Bueno y Puerto Montt. Estas ciudades ofrecen hospedaje y servicios mínimos para la realización del curso, o sirven de nexos si el curso se realiza en localidades aledañas.

Por otra parte, cabe señalar que la Universidad Santo Tomás ha manifestado, a través de su Decana de la Facultad de Ciencias Carmen Espoz, la disposición para proveer el espacio físico y respaldo institucional para el desarrollo de estos cursos en las distintas sedes distribuidas a lo largo del país.

Estructura de costos

Licencia de gestión de plagas hidrobiológicas.

Se estima que los costos de incorporar la modalidad dentro de la página son \$200.000. El desarrollo por parte del programador consiste en agregar dos tablas a la base de datos, una para las preguntas y otra para las alternativas, y crear la lógica de validación y presentación en el servidor. El lenguaje del servidor que actualmente está usando el sitio es PHP, ampliamente utilizado por programadores.

Para evitar fraude se deben limitar la frecuencia de intentos. Además de ofrecer un stock rotativo de preguntas por cada intento. La información disponible en la página es pública y cuenta con la información completa para responder 60 preguntas, pero sólo 15 son realizadas por intento.

La fiscalización de la posesión de este documento se realizará a la vez que se fiscaliza la licencia de pesca u otra, por tanto no representa un costo adicional en esta etapa.

Cursos de inducción

La modalidad destinada a capacitar a la institución tiene una duración de 15 días en total, considerando un curso por localidad. Las dos modalidades restantes, Guías de pesca y General, tienen una duración de 30 días, considerando dos cursos por modalidad en cada localidad.

Para la realización del curso se consideró 3 expositores y 1 encargado de la parte práctica, considerando dos jornadas por ocasión. Los precios estimados se detallan por ítem en la siguiente tabla:

Ítem	Costo total		
	Institucional	Guías de pesca	General
Estadía	\$ 620,208	\$ 1,240,416	\$ 1,240,416
Transporte	\$ 780,000	\$ 1,640,000	\$ 1,640,000
Alimentación	\$ 2.250.000	\$ 4,500,000	\$ 4,500,000
Honorarios	\$ 1,658,895	\$ 2,498,330	\$ 1,148,920
Total	\$ 5,309,103	\$ 9,878,746	\$8,529,336

Consideraciones:

- “Estadía” incluye los valores de alojamiento en hostales, con dos habitaciones, por dos noches, desayuno incluido, cotizado en el periodo de verano. Considera la opción de menor valor con la mayor calidad. Aun cuando se trabaje en localidades aledañas, se considera que la ciudad seleccionada más cercana permite pasar la noche.
- El ítem “Transporte” incluye el arriendo de un vehículo, para utilizarse en el periodo de un mes mientras se realizan los viajes a las distintas localidades. También incluye el valor de un viático semanal destinado a pagar peajes y combustible.
- “Alimentación” incluye montos para almuerzo y cena de los 4 expositores.

- En "Honorarios" no está considerado el bloque de 2 hrs de duración a cargo de SERNAPESCA y Subsecretaría de Pesca y Acuicultura. Para AMAKAIK se estima el valor de 1 UF²/hr para el/la expositores y 0.5 UF/hr para el/la encargado(a) del práctico. Los honorarios se calculan en base a las horas por las dos jornadas, siendo distintos por la distribución de horas que presenta cada modalidad. Para el curso a Guías de pesca y General consideran 2 ocasiones por localidad.
- Los costos anuales de realizar los cursos por lo menos una vez en el periodo de un año, corresponden al 0.024%, 0.044% y 0.038% (Institucional, Guías de pesca y General, respectivamente) del presupuesto anual 2014³ asignado para la institución.
- No se incluye la cotización del inmueble (se utilizarán las salas de extensión municipales o instalaciones de la Universidad Santo Tomás), ni los servicios básicos asociados, destinados a utilizarse para la realización de ambas jornadas por ocasión.
- La continuidad del curso de inducción a la institución se propone sea anual, un tiempo prudente para el posible recambio de personal y la actualización del conocimiento científico de la plaga. Se recomienda que las otras modalidades tengan una periodicidad semestral.

SUSTENTABILIDAD LEGAL DE LA PROPUESTA

Según se indica en el artículo 10 del Reglamento sobre Plagas Hidrobiológicas, aprobado mediante el decreto Supremo N° 345, de 2005, "el Servicio Nacional de Pesca deberá ejecutar las medidas de seguimiento y vigilancia de las microalgas que ocasionan las áreas FAN, y que mantendrá un sistema expedito de comunicación y fiscalización en aquellas zonas declaradas de plaga FAN. Asimismo, se agrega que las medidas que se adopten en virtud de estos programas,

² Valor obtenido el día 10 de octubre de 2014, correspondiente a \$24.195,97.

³ LEY DE PRESUPUESTOS DEL SECTOR PÚBLICO AÑO 2014 Ley N° 20.713 publicada en el Diario Oficial del 18 de diciembre de 2013. <http://www.dipres.gob.cl/594/articles-109104_Ley_de_Presupuestos_2014.pdf>. Consultado el 24-10-2014.

como aquellas adoptadas respecto de otras plagas que representen riesgo para la salud humana, deberán ser coordinadas con aquellas emanadas de la autoridad sanitaria, de lo cual será responsable el Servicio."

En el mismo sentido, el artículo 11 del Reglamento que se indica, especifica como medidas posibles a desarrollar dentro de los programas:

i) Entrega oportuna de información, según lo dispuesto en el artículo 14 del presente reglamento;

Además, el mencionado reglamento establece, en su artículo 33, que "corresponderá al Servicio la fiscalización del cumplimiento de las disposiciones del mismo, así como de los programas y actos administrativos de aplicación particular..."

Según lo antes descrito, corresponde a SERNAPESCA encargarse de ejecutar y/o delegar dicha facultad en alguna otra institución con las características tales que le permitan ejercerla adecuadamente. Sin perjuicio de lo anterior los municipios pueden desarrollar -en forma directa o con otros órganos de la Administración del Estado- funciones relacionadas con la salud pública, medio ambiente, turismo, deporte y recreación. En este contexto, se encuentran facultados para dictar ordenanzas que regulen el ejercicio de la pesca recreativa y el turismo.

Por otra parte, en lo relativo a proyectos que deban hacer ingreso al SEIA (DIA o EIA), la legislación al respecto es clara y no puede exigírseles nada que no esté previamente contemplado en las leyes en su sentido amplio.

Ahora bien, las normativas existentes no incluyen la realización de los cursos, por lo que estos no están reconocidos expresamente por las instituciones competentes como requisito para obtener permisos, patentes municipales, ejercer actividades lucrativas, ni para asentarse en el lugar.

COMENTARIOS

Los beneficios asociados a la instrucción de pescadores se pueden estimar en cuanto a los costos que la plaga está transfiriendo a las localidades, tanto turismo u otra actividad productiva. Para esto, primero es necesario conocer el efecto que produce un individuo que transporta la plaga de un sector a otro. Luego, asignar un valor monetario promedio sobre el ecosistema (actividad productiva incluida), para poder estimar el impacto que produce el curso. Sin embargo, creemos que orientar el curso de inducción hacia funcionarios públicos encargados de la fiscalización, y esencialmente, instructores y guías de pesca recreativa, puede generar un mayor impacto hacia pisos inferiores, como los pescadores ocasionales que contratan instructores, obteniendo valores superiores de beneficio.

Si podemos estimar los valores anteriormente descritos, es posible calcular el valor actual neto del curso, viéndolo como un proyecto de inversión a realizarse de manera permanente, y comparar el costo que éste tiene en comparación con los beneficios. Sin embargo, al considerar las cifras de impacto neozelandesas, podemos asumir como una inversión de bajo costo la implementación de los cursos, dado el gran impacto económico que puede causar en los distintos rubros económicos.

CAPÍTULO III: CURSO-TALLER "GESTIÓN DE LA PLAGA DIDYMO Y BIOSEGURIDAD EN CHILE"

Objetivo específico 4: "Realizar cursos de entrenamiento en medidas de bioseguridad e identificación de *Didymosphenia geminata* orientados a técnicos que operan en laboratorios de análisis y en estudios de línea base".

De acuerdo a lo especificado en la propuesta técnica FIP/AMAKAIK, 2013, AMAKAIK Consultoría Ambiental se comprometió a realizar actividades enfocadas en la difusión y capacitación de actores fundamentales para la prevención de la dispersión de Didymo, tales como la comunidad científica, técnicos de laboratorio, etc. Para ello, se realizó una actividad consistente en un taller de difusión y un curso de capacitación, los que se enmarcan en una serie de actividades de difusión a realizar, dictado a la comunidad en general en las regiones estudiadas en el proyecto, Bío-Bío, Araucanía y Los Ríos. Si bien, esta actividad estaba programada entre el décimo y décimo tercer mes del proyecto, se pospuso para fines del mes 13 (noviembre) debido a razones señaladas en el Anexo 18.

El curso-taller denominado "Gestión de la plaga Didymo y bioseguridad en Chile", realizado los días 24, 25 y 26 de noviembre en Concepción, Valdivia y Temuco, respectivamente, tenía como objetivo validar, fortalecer y difundir los resultados obtenidos en el proyecto, además de capacitar en bioseguridad e identificación de *Didymosphenia geminata* a actores relevantes en el tema. En su desarrollo se contó con el apoyo de las oficinas regionales de la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura, del Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura y la Universidad Santo Tomás, institución que ha mostrado especial interés en la difusión científica y ha aportado en el desarrollo de otros proyectos de importancia para el estudio de la plaga Didymo. Todas las actividades fueron realizadas en sedes regionales de la universidad, contando con salas para el taller de difusión y laboratorios equipados con microscopios e instrumental para el curso de capacitación (Anexo 21).

El taller de difusión se programó de 9:00 a 11:40 hrs. y fue abierto al público, mientras que el curso de capacitación, si bien incluye al taller de difusión, fue realizado de manera exclusiva entre 12:00 y 19:00 hrs, contando con una disponibilidad de 20 personas con inscripción previa.

Taller de difusión

Para el taller de difusión se contó con la participación de Alejandro Riedemann (Temuco y Valdivia) y Hernán Muñoz (Concepción), profesionales de la dirección zonal de la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura, quienes presentaron el marco contextual de Didymo y la normativa de plagas hidrobiológicas en Chile. También se contó con el apoyo de Christian Hinrichsen, funcionario del SERNAPESCA Los Ríos y de Bernardo Pardo, director de SERNAPESCA Araucanía.

Por su parte, Carolina Díaz, directora ejecutiva de AMAKAIK Consultoría Ambiental y jefe de proyecto, expuso los resultados obtenidos respecto al desarrollo y avance de la plaga en las regiones indicadas, la asociación entre *Didymosphenia geminata* y parámetros físico-químicos, y el impacto de la especie sobre las comunidades biológicas.

Cabe destacar la presencia del SEREMI de la región del Bío-Bío, Richard Vargas, quien presentó y dio inicio a las actividades del día martes 25 de noviembre.

Curso de capacitación

En el curso de capacitación se realizaron actividades teóricas y prácticas. En la región del Bío-Bío se contó con la participación de Astrid Guerra, profesional del Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura, que presentó el plan de contención y desinfección de la Institución.

La capacitación contó con Úrsula Romero y Manuel Badilla, profesionales de AMAKAIK Consultoría Ambiental y expertos en microalgas y muestreos, introduciendo respecto a los distintos tipos de muestreos (físicos, químicos y biológicos) y las correspondientes medidas preventivas y de desinfección.

Carolina Díaz realizó un segmento introduciendo las diatomeas de aguas continentales, y mediante actividades prácticas, presentó sobre preparación y análisis de muestras biológicas y la posterior identificación taxonómica de *D. geminata*. Finalmente, se abrió una discusión respecto a desafíos y tareas pendientes.

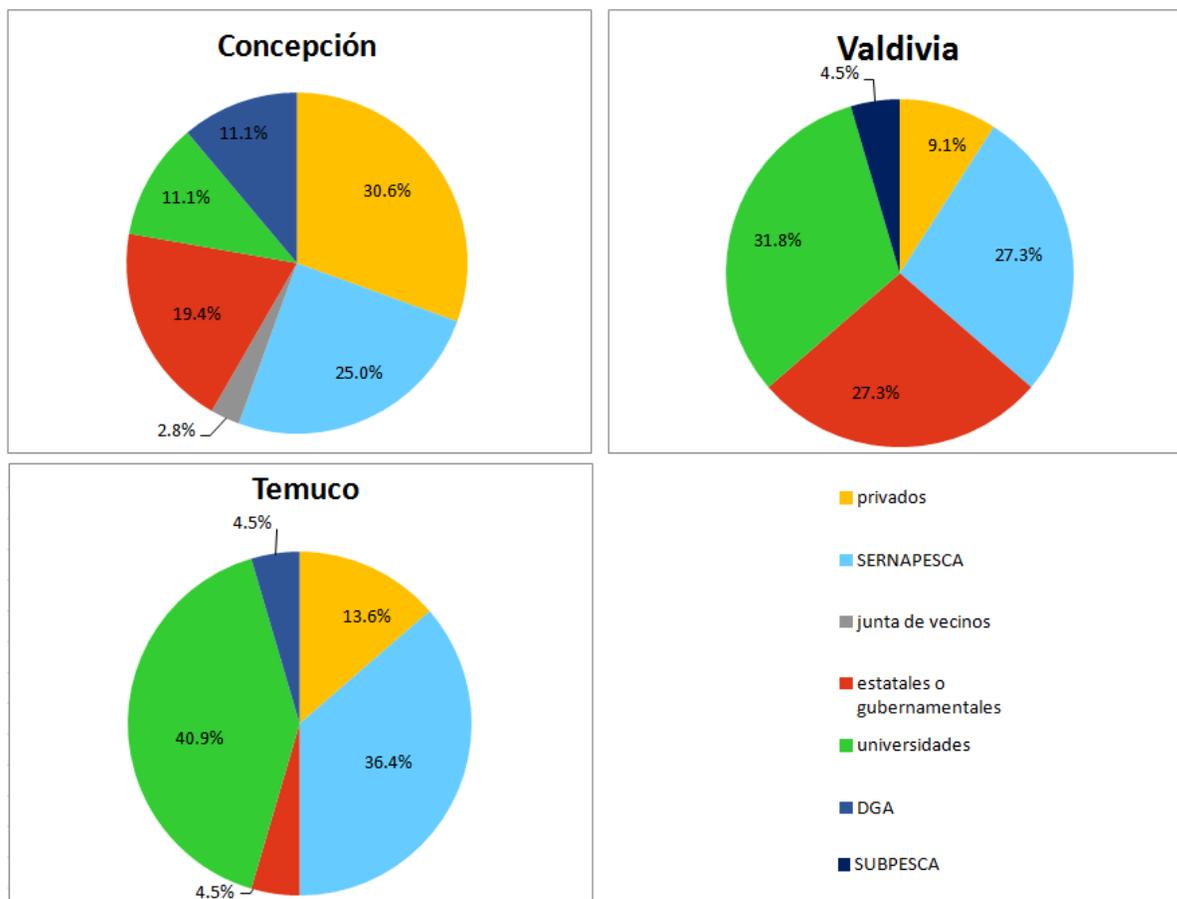
El programa de ambas actividades se encuentra en el Anexo 21.

Si bien, siguiendo los objetivos del proyecto, el curso-taller estaba orientado a técnicos que operan en laboratorios de análisis y en estudios de línea base, la difusión de la actividad se realizó al público general, ya que el problema de la plaga Didymo es transversal a la comunidad, desde profesionales de Instituciones con competencia en el tema a los usuarios de los ríos.

Con ello, la asistencia a la actividad fue mayor a lo esperado. Un total de 80 personas asistió a los talleres de difusión, siendo la ciudad de Concepción la que presentó mayor interés. De los participantes, un 28.8% correspondía a funcionarios de SERNAPESCA, seguido de estudiantes o académicos de universidades con un 25.0%, representantes de instituciones privadas como consultoras con un 20.0%, mientras que el 17.5% correspondía a representantes de instituciones estatales o gubernamentales en general como centros de investigación, centros de salud, municipalidades, CONAF, entre otros. En menor medida participaron funcionarios de la Dirección General de Aguas, SUBPESCA y Juntas de Vecinos. El detalle por ciudad de la asistencia al curso-taller se encuentra en la Figura 67.

Debido al interés generado en los cursos de capacitación, se tuvo que ampliar el cupo máximo de ellos (20 personas por disponibilidad de equipos), contando con un total de 66 participantes en las tres regiones en que se dictó la actividad. Estos correspondieron a asistentes de los talleres de difusión, principalmente provenientes de SERNAPESCA, universidades e instituciones privadas. La lista de asistencia se encuentra en el ANEXO 23.

Figura 67. Asistentes al curso-taller por ciudad.



Frente a esto, cabe destacar la presencia de funcionarios de SERNAPESCA, quienes representaron gran parte de los asistentes al curso-taller, comprobando el interés que tiene la Institución en instruirse y conocer más sobre la temática. Su participación valida las medidas propuestas en el capítulo "Evaluación del programa de vigilancia y control de Didymo" de este informe, corroborando la necesidad de un curso de inducción de plagas hidrobiológicas a instituciones y otros actores relevantes como operadores turísticos, guías e instructores de pesca recreativa y usuarios en general.

Anteriormente, la alianza AMAKAIK-Universidad Santo Tomás había realizado iniciativas similares contando con el apoyo del Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura y la Subsecretaría de Pesca Y Acuicultura. Entre ellas, se encuentra la primera versión del curso de capacitación

que incluyó actividades práctico/teóricas en que se trató desde la taxonomía de diatomeas a métodos de desinfección de Didymo. Desde ese entonces surge la idea de realizar un curso como el que se propone previamente, sin embargo, a diferencia de las actividades realizadas hasta la fecha, la evaluación de los participantes es imprescindible para determinar el rol de los presentadores y la efectividad del método.

Por otra parte, la actividad tuvo un gran impacto en las regiones y en los participantes, quienes solicitaron más instancias como la realizada. Esto se reflejó en la difusión que tuvo el curso-taller en medios locales y nacionales (Anexo 24). Las fotos del taller de difusión y el curso de capacitación se pueden encontrar en el Anexo 21.

De acuerdo a lo observado en las actividades, y a pesar del rápido avance del Didymo en los últimos cuatro años, la ciudadanía no parece conocer el problema, probablemente debido a las pocas instancias de demostrar el estado y los impactos que produce la plaga. Actividades de difusión y capacitación como las descritas en este proyecto pueden contribuir en la prevención y el manejo de la plaga, otorgando propiedad y responsabilidad a la sociedad respecto a su entorno y recursos.

CAPÍTULO IV: PRODUCTOS ESPERADOS

De acuerdo a lo especificado en la propuesta técnica FIP/AMAKAIK, 2013, AMAKAIK Consultoría Ambiental se comprometió a realizar actividades enfocadas en la difusión y capacitación de actores fundamentales para la prevención de la dispersión de Didymo, tales como la comunidad científica, técnicos de laboratorio, etc. De acuerdo al cronograma de la propuesta técnica de este proyecto, las actividades y los plazos por objetivo son:

Objetivo específico extra 4: "Preparar al menos una publicación científica a partir de los resultados del proyecto".

Con el objetivo de explicar los resultados de este estudio a la comunidad científica, se realizará una publicación científica a partir del decimotercer mes desde el inicio del proyecto (diciembre 2014). Se estima que la publicación se encuentre en evaluación en alguna revista científica indexada para comienzos del 2015.

Objetivo específico extra 5: Diseñar una versión digital actualizada del Manual Didymo SUBPESCA, en condiciones para su posterior edición e impresión, sea por FIP o la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura.

A partir de la información y metodologías aplicadas en las campañas de terreno, sumado a la experiencia de nuestros profesionales, se generará una nueva versión para el manual de monitoreo de la plaga. Al igual que la publicación científica, se espera realizar este objetivo a partir de diciembre de 2014.

CAPÍTULO V: INNOVACIONES TÉCNICAS

El presupuesto disponible, el tiempo asignado y el carácter investigativo de este proyecto, permitieron realizar actividades relativas al muestreo que agilizan la acción de las autoridades frente a nuevos sitios invadidos y fortalecen la investigación de Didymo. Según objetivo, estas corresponden a:

Objetivo específico extra 1: "Determinar en terreno la presencia/ausencia de *Didymosphenia geminata*, reportando esta información oportunamente al Consejo de Investigación Pesquera (en adelante CIP), o a quien corresponda, de modo que las autoridades puedan tomar las medidas pertinentes de manera inmediata y no una vez finalizado el proyecto".

En ambas campañas de muestreo, se analizó *in situ* con microscopio óptico, una alícuota de cada muestra de microalgas obtenida (perifiton y microalgas planctónicas), con el único objetivo de determinar presencia/ausencia de Didymo (Objetivo específico extra 1). Esta información, en formato digital, junto con la evolución de las campañas de muestreo, fue entregada al FIP durante la ejecución de las campañas de terreno. En el Anexo 4 se encuentran los reportes de otoño 2014 y los reportes de primavera 2013. Esta mejora en la gestión de datos implicó la presencia del especialista en reconocimiento de microalgas bentónicas durante todo el período de desarrollo de ambas campañas de terreno.

Objetivo específico extra 2: "Incorporar las variables biológicas de perifiton y macroinvertebrados al muestreo y posterior análisis de datos".

Los estudios sobre Didymo realizados a la fecha en Chile se han enfocado en la prospección, vigilancia y monitoreo de la plaga, lo que si bien, mantiene la información actualizada para tomar medidas preventivas, no profundizan en las causas y efectos que puede tener *Didymosphenia geminata* sobre el medio ambiente. Dentro de esto, el estudio de ciertas

comunidades biológicas no ha sido considerado, como por ejemplo, perifiton (microalgas bentónicas) y macroinvertebrados bentónicos. De acuerdo a publicaciones científicas, la presencia de Didymo puede afectar la estructura comunitaria de perifiton, lo que a su vez puede producir cambios en la comunidad de macroinvertebrados (Larned *et al.*, 2007; Kilroy *et al.*, 2009; Gillis & Chalifour, 2010; James *et al.*, 2010).

Para resolver esta interrogante en los ríos del sur de Chile invadidos por la plaga, se realizaron muestreos de las comunidades biológicas mencionadas. El resumen de la cantidad de puntos muestrados se encuentra en la Tabla 26.

Tabla 26. Cantidad de puntos muestrados para microalgas y macroinvertebrados bentónicos por región.

Región	Perifiton	Macroinvertebrados bentónicos
Bío-Bío	14	6
Araucanía	38	20
Los Ríos	40	18
Total	92	44

Los resultados y discusión en detalle del análisis de estas comunidades biológicas se encuentran en el Capítulo I de este informe. A partir de estos muestreos, se determinó que habría un aumento en la diversidad y riqueza de microalgas bentónicas en presencia de Didymo, además de una diferencia estacional de la densidad y riqueza de perifiton. Por otra parte, no hay evidencia que demuestre una alteración en la estructura comunitaria debido a la presencia de Didymo.

Objetivo específico extra 3: "Evaluar el mesohábitat de los puntos de muestreo, de modo de relacionar los microambientes con la presencia de Didymo".

Otra variable no considerada en estudios previos consiste en el mesohábitat. Los mesohábitats representan tipos discretos de hábitats que se diferencian por parámetros ambientales del

medio en estudio y han demostrado ser útiles para el estudio de los ríos, su tratamiento y rehabilitación, ya que proporcionan una fuente rápida y eficaz de la información de detalle suficiente para evaluar el ecosistema (Kemp *et al.*, 2000; Amaidén & Gari, 2011).

Esta variable permite evaluar la evolución de *Didymosphenia geminata*, considerando el mucílago que produce. Para ello, se describe la cubierta mucosa y la distribución de microambientes, lo que se complementa con un análisis de perifiton. Paralelamente, se registraron los parámetros *in situ* y las variables hidromorfológicas del mesohábitat.

Por la naturaleza del muestreo, éste requiere la presencia de mucosidad en el sitio, por lo que puede variar entre campañas. Debido a esto, 19 puntos fueron muestreados para mesohábitat en la campaña primavera 2013 (1 en la región del Bío-Bío, 11 en Araucanía y 7 en Los Ríos), mientras que en otoño 2014 se muestrearon 16 puntos (3 en la región del Bío-Bío, 9 en Araucanía y 4 en Los Ríos).

Los resultados y discusión en detalle del análisis de mesohábitat se encuentran en el Capítulo I de este informe. Esta caracterización logró una diferenciación a nivel físico y biológico, existiendo diferencias tanto en las velocidades de flujo como en la comunidad algal por tipo de mesohábitat. Estos resultados ponen en evidencia las diferencias ambientales que pueden existir dentro de 50 m de tramo de río para las comunidades de microalgas, reafirmando la necesidad de evaluar la presencia de Didymo según tipo de mesohabitat.

EPÍLOGO

Luego de dos campañas de muestreo en 92 sitios en las regiones del Bío-Bío, Araucanía y Los Ríos, el pre-informe final contiene todos los resultados dando cuenta de la evaluación de la presencia/ausencia de *Didymosphenia geminata* y de una propuesta para su control.

Se pudo observar un aumento de los sitios contaminados con Didymo, sin embargo, la cantidad de muestras realizadas y parámetros medidos en este proyecto permitió obtener una mejor perspectiva del fenómeno Didymo en el país. A diferencia de otros estudios prospectivos, los datos indican una fuerte influencia de la regulación hidrológica sobre la presencia/ausencia de Didymo. Esto es importante, ya que con esta información es posible gestionar el programa de control y vigilancia de Didymo hacia zonas de mayor riesgo.

A pesar de esto, los vacíos metodológicos acarreados desde los primeros estudios de la plaga en el país, no permiten concluir fehacientemente respecto al impacto de *D. geminata* sobre las comunidades biológicas. En este sentido, los muestreos debiesen ser diseñados con el fin de responder preguntas específicas y no sólo para prospectar, vigilar y monitorear, incorporando las variables innovadoras de este proyecto como macroinvertebrados bentónicos, perifiton y mesohábitat.

Por otra parte, en base a la experiencia adquirida a cuatro años del primer registro masivo de la plaga y el rápido avance de Didymo hacia nuevas cuencas, concluimos que la educación es el mejor mecanismo por el cual producir cambios profundos en la estructura del sistema de vigilancia y control. Los antecedentes de la plaga y las potencialidades de los organismos competentes en el tema, permitieron diseñar un curso de "Gestión y bioseguridad de aguas continentales en Chile", el que pretende capacitar de manera teórica y práctica a actores claves en el uso de los ecosistemas.

En este sentido, el curso-taller impartido en noviembre en las regiones de Bío-Bío, Araucanía y Los Ríos, realizado según los compromisos adquiridos en el proyecto, representa una prueba del

interés de la comunidad en instancias como la propuesta. El éxito en la participación y en la recepción de los contenidos mostrados indica la buena disposición de funcionarios del servicio público y de instituciones privadas a asistir e instruirse respecto a los diferentes aspectos de la plaga y medidas de bioseguridad. Con estos antecedentes, la difusión y educación a la ciudadanía son clave en la prevención de la dispersión de la plaga.

Si bien a la fecha ya se puede vislumbrar el impacto del estudio realizado en este proyecto, el desarrollo de nuevos productos como la publicación científica y el Manual Didymo SUBPESCA, representan nuevos avances importantes en el estudio de la especie tanto a nivel nacional como internacional, contribuyendo en el manejo de la plaga y buscando nuevos enfoques para su tratamiento.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Anderson MJ, Legendre P (1999) An empirical comparison of permutation methods for tests of partial regression coefficients in a linear model. *J. Stat. Comput. Simul.* 62:271–303

APHA (2005) Standard Methods for the examination of water & wastewaters, 21 th edition. American Public Health Association, Washington, USA.

Asprey JF, K Benson-Evans & JE Furet (1964) A contribution to the study of South American freshwater phytoplankton. *Gayana Botánica* 10: 1 - 118.

Battarbee R (1986) Diatoms analysis. Handbook of Holocene palaeoecology & palaeohydrology. John Wiley & Sons, New York, USA.

Beltrami ME, C Cappelletti, F Ciutti, L Hoffmann & L Ector (2008). Distribution and ecology of *Didymosphenia geminata* (Lyngbye) M. Schmidt (Bacillariophyta) in Trentino watercourses (Northern Italy). *Cryptogamie Algologie* 29: 141 – 160.

Bergey E, Cooper JT & Phillips BC (2009) Substrate characteristics affect colonization by the bloom-forming diatom *Didymosphenia geminata*. *Aquatic Ecology* 44: 33–40.

Biggs BJF, VI Nikora & TH Snelder (2005) Linking scales of flow variability to lotic ecosystem structure and function. *River Res. Appl.* 21: 283–298, doi:10.1002/rra.847.

Blanco S & Ector L (2008) *Didymosphenia geminata* (Bacillariophyta, Gomphonemataceae), una amenaza para nuestros ríos. *Cuadernos de Biodiversidad* 26: 4.

Bothwell M & C Kilroy (2010) Phosphorus limitation of the freshwater benthic diatom *Didymosphenia geminata* determined by the frequency of dividing cell. *Freshwater Biology* 56: 565 – 578.

Bothwell ML, C Kilroy, B Taylor, ET Ellison, DA James, C GiLLis, KD Bladon & U Silins (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 ML, Taylor BW & Kilroy C (2014) The Didymo story: the role of low dissolved phosphorus in the formation of *Didymosphenia geminata* blooms. Diatom Research: 1 – 8.

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.

Branson J (2006) *Didymosphenia geminata* economic impact assessment: Wellington, New Zealand, New Zealand. Institute of Economic Research Report: 1-22.

Branson J (2006) *Didymosphenia geminata* economic impact assessment. New Zealand Institute of Economic Research Report.

Campbell ML (2005) Organism impact assessment (OIA) for potencial impacts of *Didymosphenia geminata*: Blairgowrie, Victoria, Australia. All Oceans Ecology: 1-92.

Charlton R (2008) Fundamentals of fluvial geomorphology. Taylor & Francis Group, New York, USA. Department of Natural Resources, State of Wiscosin (2000) Guidelines for Collecting Macroinvertebrate Samples from Wadable Streams. Bureau of Fisheries Management & Habitat Protection Monitoring & Data Assessment Section.

Crozzoli L & RJ Batalla (2003) Aplicación de la fotografía al análisis granulométrico de ríos con lecho de gravas. Revista Cuaternario y Geomorfología 17: 29 – 39.

Cullis JD (2010) Hydrologic control of the Nuisance Diatom, *Didymosphenia geminata*. Newsletter of the Water Center of Colorado State University 27: 3 – 6.

Cullis JDS, CA Gillis, ML Bothwell, C Kilroy, A Packman, & M. Hassan (2012) A conceptual model for the blooming behavior & persistence of the benthic mat-forming diatom *Didymosphenia geminata* in oligotrophic streams. J Geophys Res-Bioge. 117.

Díaz CA (2010) Protocolo para el análisis de diatomeas en sistemas lóticos chilenos. En: Propuesta de utilización de biocriterios para la implementación y monitoreo de la Norma Secundaria de Calidad Ambiental. Centro Nacional del Medio Ambiente (CENMA) de la Universidad de Chile, Santiago, Chile.

Díaz CA, Molina X & V Montecino (2012) Manual para el monitoreo e identificación de la microalga bentónica *Didymosphenia geminata*. Producido por POCH-Universidad de Chile y financiado por la Subsecretaría de Pesca.

Domozych DS, Toso M & Snyder A (2010) Biofilm dynamics of the nuisance diatom, *Didymosphenia geminata* (Bacillariophyceae). Nova Hedwigia 136: 249–259.

Dufford RG, HJ Zimmerman, LD Cline & JV Ward (1987) Responses of epilithic algae to regulation of Rocky Mountain streams. En: Craig JF & JB Kemper (eds) Regulates streams: advances in ecology: 383-390. Plenum Press, New York, USA.

Duncan M, Kilroy C, Vieglais C & F Velvin (2007) Protocol for the collection of samples for delimiting surveys for *Didymosphenia geminata* for microscopic analysis. NIWA Client Report: CHC2007-110.

Falasco E & Bonaf (2013) Recent findings regarding non-native or poorly known diatom taxa in north-western Italian rivers. Journal of Limnology 72(1): 35 – 51.

FIP/AMAKAIK (2013) Propuesta técnica "Evaluación de *Didymosphenia geminata* (Didymo) en cuerpos de agua de la zona centro-sur". Proyecto FIP 2013-25.

Gillis CA & Lavoie I (2014) A preliminary assessment of the effects of *Didymosphenia geminata* nuisance growths on the structure and diversity of diatom assemblages of the Restigouche River basin, Quebec, Canada. *Diatom Research*, 271–282.

Gillis CA & M Chalifour (2010) Changes in the macrobenthic community structure following the introduction of the invasive algae *Didymosphenia geminata* in the Matapedia River (Quebec, Canada). *Hydrobiologia* 647:63-70.

Gretz M (2008) The stalks of didymo, in Proceedings of the 2007 International Workshop on *Didymosphenia geminata*, editado por M. Bothwell y S. Spaulding. *Can. Tech. Rep. Fish. Aquat. Sci.*, 2795: 21.

Hand DJ (2009) Measuring classifier performance: a coherent alternative to the area under the ROC curve. *Mach. Learn.* 77:103–123

Helsel D & Cohn TA (1988) Estimation of descriptive statistics for multiply censored water quality data. *Water Resources Research* 24: 1997 – 2004.

Hotzel G & R Croome (1999) A phytoplankton methods manual for Australian freshwaters. Land and Water Resources and Development Corporation. Canberra, Australia.

Jackson CR (2003) Changes in community properties during microbial succession. *Oikos*, 101: 444–448.

James D, Mosel K, Chipps S (2014) The influence of light, stream gradient, and iron on *Didymosphenia geminata* bloom development in the Black Hills, South Dakota. *Hydrobiologia* 721: 117-127.

James D, Ranney SH, Chipps SR & Spindler BD (2010) Invertebrate Composition and Abundance Associated with *Didymosphenia geminata* in a Montane Stream. *Journal of Freshwater Ecology* 25: 235–241.

James K & H Clayton (1960) *Manual of hydrology: Part1. General surface – water techniques.* Servicio Geológico de Estados Unidos (USGS).

Kawecka B y J Sanecki (2003) *Didymosphenia geminata* in running waters of southern Poland symptoms of change in water quality? *Hydrobiology* 495: 193–201.

Kemp JL, Harper DM & Crosa GA (2000) The habitat-scale ecohydraulics of rivers. *Ecological Engineering* 16: 17 - 29.

Kilroy C & M Bothwell (2012) *Didymosphenia geminata* growth rates and bloom formation in relation to ambient dissolved phosphorus concentration. *Freshwater Biology* 57: 641 – 653.

Kilroy C & M Dale (2006) *Biosecurity New Zealand A comparison of sampling methods for the detection of the invasive alga *Didymosphenia geminata* in New Zealand rivers.* NIWA, New Zealand.

Kilroy C (2004) *A new alien diatom, *Didymosphenia geminata* (Lyngbye) Schmidt: its biology, distribution, effects & potential risks for New Zealand fresh waters.* NIWA, Christchurch, New Zealand.

Kilroy C, A Lagerstedt, A Davey y K Robinson (2007) Studies on the survivability of the invasive diatom *Didymosphenia geminata* under a range of environmental & chemical conditions. NIWA Client Report CHC2006-116.

Kilroy C, B Biggs, N Blair, P Lambert, B Jarvie, K Dey, K Robinson & Smale D (2005) Ecological studies of *Didymosphenia geminata*: National Institute of Water and Atmospheric Research, New Zealand, Client Report CHC2005-123, NIWA Project: MAF05505.

Kilroy C, Larned ST & Biggs BJ (2009) The non-indigenous diatom *Didymosphenia geminata* alters benthic communities in New Zealand rivers. *Freshwater Biology* 54: 1990–2002.

Kilroy C, B Biggs, N Blair, P Lambert, B Jarvie, K Dey, K Robinson y D Smale (2005) Ecological studies on *Didymosphenia geminata*. National Institute of Water & Atmospheric Research Ltd, Christchurch, New Zealand. Client Report: CHC2005-123. 79p.

Kilroy C & Unwin M (2011) The arrival and spread of the bloom-forming, freshwater diatom, *Didymosphenia geminata*, in New Zealand. *Aquatic Invasions* 6: 249-262.

Krammer K & H Lange-Bertalot (1986) Bacillariophyceae. *Süsswasserflora von Mitteleuropa* 2 (1-4). VEB G. Fischer Verlag, Jena, Germany.

Krammer K & H Lange-Bertalot (1986) *Süsswasserflora von Mitteleuropa*. Bacillariophyceae (v.2). Naviculaceae (pt.1) Jena. Germany, Fischer.

Krammer K & Lange-Bertalot H (1991) Bacillariophyceae. 3. Teil: Centrales, Fragilariaceae, Eunotiaceae. in Ettl H, Gerloff J, Heynig H & Mollenhauer D (eds) *Süsswasserflora von Mitteleuropa*, Band 2/3. Gustav Fischer Verlag: Stuttgart, Jena. 576 pp.

Krammer K (1997a) Die cymbelloiden Diatomeen. Teil 1. Allgemeines und Encyonema Part. *Bibliotheca Diatomologica* 36: 1–382.

Krammer K (1997b) Die cymbelloiden Diatomeen. Teil 2. Encyonema part., Encyonopsis and Cymbellopsis. Bibliotheca Diatomologica 37: 1 – 469.

Krammer K (2002) Cymbella. En: Diatoms of Europe. Diatoms of the European Inland Waters and Comparable habitats. H Lange-Bertalot (ed.) Vol 3. Koenigstein. ARG Gantner Verlag K.G. 584 pp.

Kumar S, Spaulding S, Stohlgren TJ, Hermann K, Schmidt TS & Bahls LL (2009) Potential habitat distribution for the freshwater diatom *Didymosphenia geminata* in the continental US. *Frontiers in Ecology and the Environment* 7: 415 – 420.

Lagerstedt MA (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.

Lange-Bertalot H & K Krammer (1989) Achnanthes, eine Monographic der Gattung. En: Bibliotheca Diatomologica. H, Lange-Bertalot (ed.). Band 18. Berlin. J. Cramer. 393 pp.

Lange-Bertalot H (1993) 85 new taxa and much more than 100 taxonomic clarifications supplementary to Süßwasserflora von Mitteleuropa. Vol. 2. J. Cramer. Berlins Stuttgart.

Lange-Bertalot H (1999) Neue kombinationen von taxa aus Achnanthes Bory (sensu lato). *Iconographia diatomologica* 6: 276 - 289.

Lange-Bertalot H (2001) *Navicula sensu stricto*, 10 Genera separated from *Navicula sensu lato*, *Frustulia*. En Lange-Bartelot H (ed.): Diatoms of Europe, 2. ARG Gantner Verlag, KG Ruggell. 526 pp.

Lange-Bertelot H (2000) Transfer to the generic rank of *Decussata patrick* as a subgenus of *Navicula bory sensu lato*. In: Lange-Bertelot H (ed.): *Iconographia Diatomologica* 9: 670 - 673. Koeltz Scientific Books, Königstein, Germany.

Larned S, B Biggs, N Blair, C Burns, B Jarvie, D Jellyman, C Kilroy, J Leathwick, K Lister, J Nagels, M Schallenberg, S Sutherland, J Sykes, W Thompson, K Volpek & B Wilcock (2006) *Ecology of Didymosphenia geminata* in New Zealand: Habitat and Ecosystem Effects-Phase 2. National Institute of Water & Atmospheric Research Ltd, Christchurch, New Zealand. Client Report: CHC2006-086, NIWA Project MAF06507.

Larned ST & Kilroy C (2014) Effects of *Didymosphenia geminata* removal on river macroinvertebrate communities. *Journal of Freshwater Ecology* 29: 345 – 362.

Larned SD, Arscott N, Blair B, Jarvie D, Jellyman K, Lister J, Nagels M, Schallenberg S, Sutherland K, Vopel & B Wilcock (2007) *Ecological Studies of Didymosphenia geminata* in New Zealand: Habitat and Ecosystem Effects 2006-2007. NIWA Client Report CHC2007-070, NIWA Project: MAF07507.

Larned, S.; Biggs, B.; Blair, N.; Burns, C.; Jarvie, B.; Jellyman, D.; Kilroy, C.; Leathwick, J.; Lister, K.; Nagels, J.; Schallenberg, M.; Sutherland, S.; Sykes, J.; Thompson, W.; Vopel, K. y Wilcock, B. 2006. *Ecology of Didymosphenia geminata* in New Zealand: habitat and ecosystem effects – Phase 2. NIWA Client Report CHC2006-086, NIWA Project MAF06507. 127 pp.

Larson AM & J Carreiro (2008) Relationship between nuisance blooms of *Didymosphenia geminata* and measures of aquatic community composition in Rapid Creek, South Dakota. Pages 45-59 In: Bothwell ML and SA Spaulding (eds.), *Proceedings of the 2007 International Workshop on Didymosphenia geminata*, Montreal, Quebec. Canadian Technical Report of Fisheries and Aquatic Sciences 2795.

Larson AM (2007) Relationships between nuisance blooms of *Didymosphenia geminata* and measures of aquatic community composition in Rapid Creek, South Dakota. *Water Resources*

Assistance Program, Division of Financial and Technical Assistance, South Dakota Department of Environment and Natural Resources: vii 28 pp.

Miller MP, McKnight DM, Cullis JD, Greene A, Vietti K & Liptzin D (2009) Factors controlling streambed coverage of *Didymosphenia geminata* in two regulated streams in the Colorado Front Range. *Hydrobiologia* 630: 207 – 218.

Morales E S, Rivera A, Veizaga y R Fiorini (2012) *Didymosphenia geminata* (Lyngbye) M. Schmidt (Bacillariophyta), una especie invasora y potencial amenaza para ecosistemas acuáticos bolivianos. *ACTA NOVA* 5(3):327- 343.

Palma A (2013) Guía para la identificación de invertebrados acuáticos. 1era Edición. 122 pp.

Pardo I, L García, C Delgado, N Costas & 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 & C Bicudo (1996) Algas de Aguas Continentales: Introducción a la Biología y Sistemática. Ediciones Universidad de Concepción, Concepción, Chile.

Parra O, M González, V Dellarossa, P Rivera & M Orellana (1982) Manual taxonómico del fitoplancton de aguas continentales; con especial referencia al fitoplancton de Chile. Vol. 1 Cyanophyceae; Vol. 2 Chrysophyceae-Xanthophyceae; Vol. 3, Cryptophyceae, Dinophyceae y Euglenophyceae. Editorial de la Universidad de Concepción.

Patrick R & CW Reimer (1966) The diatoms of the United States, exclusive of Alaska & Hawaii, Volume 1-Fragilariaceae, Eunotiaceae, Achnantheaceae, Naviculaceae. Monograph No. 13, Academy of Natural Sciences of Philadelphia.

R Core Team (2013) R: A language & environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org/>.

Reid B, Hernández K, Frangópulos M, Bauer G, Lorca M, Kilroy C & Spaulding S (2012) The invasion of the freshwater diatom *Didymosphenia geminata* in Patagonia: prospects, strategies, and implications for biosecurity of invasive microorganisms in continental waters. *Conservation Letters* 5: 432-440.

Reid B & R Torres (2013) *Didymosphenia geminata* invasion in South America: Ecosystem impacts and potential biogeochemical state change in Patagonian Rivers. *Acta Oecologica*. 54: 101-109.

Rivera P (1983) A guide for references & distribution for the class Bacillariophyceae in Chile between 18°28'S & 58°S. *Bibliotheca Diatomologica*: 1-386.

Rivera P, Basualto S & Cruces F (2013) Acerca de la diatomea *Didymosphenia geminata* (Lyngbye) M. Schmidt: su morfología y distribución en Chile. *Gayana Botánica* 70: 154 – 158.

Rodríguez O (2009) Análisis de Componentes Principales. Mayo 2009.

Rost AL, Fritsen CH & David C (2011) Distribution of freshwater diatom *Didymosphenia geminata* in streams in the Sierra Nevada, USA, in relation to water chemistry and bedrock geology. *Hydrobiologia* 665: 157 - 167.

Rost A & Fritsen C (2014) Influence of a tributary stream on benthic communities in a *Didymosphenia geminata* impacted stream in the Sierra Nevada, USA. *Diatom Research* 29: 249-257.

Round F (1993) A review & Methods for the use of Epilithic Diatoms for Detecting & Monitoring changes in River Water Quality. Methods for the Examination of Waters & Associated Materilas. HMSO, London.

Sastre AV, Satinelli NH, Bauer GA, Ayestaran MG & Uyua NM (2013) First record of the invasive diatom *Didymosphenia geminata* (Lyngbye) Schmidt in a Patagonian Andean river of Argentina. Bio Invasions Records (2) In press.

SERNAPESCA/Amakaik-Ecohyd (2012) Informe Final "Monitoreo de la presencia de la especie Diatomea *Didymosphenia geminata* en ríos de las regiones de Los Lagos y de Aysén" (ID: 608897-69-IE12)". Octubre 2012- Abril 2013.

Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura (2010) Resolución Exenta N° 1342/2010. Valparaíso, Chile.

Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura (2011) Resolución Exenta N° 057/2011. Valparaíso, Chile.

Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura (2012) Resolución Exenta N° 2634/2012. Valparaíso, Chile.

Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura (2012) Resolución Exenta N° 3074/2012. Valparaíso, Chile.

Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura (2013) Resolución Exenta N° 1200/2013. Valparaíso, Chile.

Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura (2014) Resolución Exenta N° 301/2013. Valparaíso, Chile.

Skulberg OM (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 SA & L Elwell (2007) Increase in nuisance blooms & geographic expansion of the freshwater diatom *Didymosphenia geminata*: U.S. Geological Survey Open-File Report.

Spaulding SA, Kilroy C & Edlun DMB (2010) Diatoms as non native species. In: The diatoms: Applications for the environmental and earth sciences . J.P. Smol and E. Stoermer (eds), 2nd edition, 560–569 p. Cambridge, Cambridge University Press.

Strahler AN (1957) Quantitative analysis of watershed geomorphology, Transactions of the American Geophysical Union 38 (6): 913–920.

SUBPESCA /Poch-UCHile (2012) Informe Final, "Prospección de la presencia de *Didymosphenia geminata* en la Subcuenca del Río Yelcho y las cuencas del Río Palena y Río Baker". Noviembre 2011 – abril 2012.

SUBPESCA/Amakaik-Ecohyd (2012) Informe Final "Prospección de *Didymosphenia geminata* en cuerpos de agua de la Zona Centro-Sur (Id 4728-40-R112)". Octubre 2012- Abril 2013.

SUBPESCA/Poch-UCHile (2011a) Informe Final, "Prospección de la presencia de *Didymosphenia geminata* en las regiones XIV, X, XI y XII y elaboración de material de difusión tendiente a su control" Proyecto ejecutado por POCH-Universidad de Chile y financiado por la Subsecretaría de Pesca. Octubre 2010-enero 2011.

SUBPESCA/Poch-UCHile (2011b) Informe Final, "Prospección de la presencia de *Didymosphenia geminata* en las regiones de Los Lagos y Aysén". Mayo – septiembre 2011.

SUBPESCA/Poch-UCHile (2011c) Informe Final, "Prospección de la presencia de *Didymosphenia geminata* en las regiones de La Araucanía y Los Ríos". Junio – octubre 2011.

SUBPESCA-SERNAPESCA/Amakaik-Ecohyd (2012) Informe Final "Monitoreo de la cobertura geográfica de la presencia de la especie de diatomea *Didymosphenia geminata* en ríos de la zona del Alto Bío-Bío" (ID: 701-42-LE12). Diciembre 2012- Febrero 2013.

Subsecretaría de Pesca y Acuicultura (2010) Resolución Excenta Nº 3064/2010. Santiago, Chile.

Sundareshwar P, S Upadhyay, M Abessa, S Honomichl, B Berdanier, S Spaulding, C Sandvik & A Trennepohl (2011) The paradox of algal blooms in oligotrophic waters. *Geophysical Research Letters*, 38, L10405, doi:10.1029/2010GL046599.

Taylor B & Bothwell M (2014) The origin of invasive microorganisms matters for science, policy and management: the case of *Didymosphenia geminata*. *BioScience*.

Venables WN, Ripley BD (2002) *Modern applied statistics with S*. Springer,

Warton DI, Wright ST, Wang Y (2012) Distance-based multivariate analyses confound location and dispersion effects. *Methods Ecol. Evol.* 3:89–101

Whitton B, N Ellwood & B Kawecka (2009) Biology of the fresh, water diatom *Didymosphenia*: a review. *Hydrobiologia* 630: 1-37.

Wyatt KH, Hauer FR & Pessoney GF (2008) Benthic algal response to hyporheic-surface water exchange in an alluvial river. *Hydrobiologia* 607: 151 – 161.