



INFORME FINAL

FIPA N° 2021-12

“Revisión, actualización y mejoramiento de los ensayos de cohabitación, que forman parte del estudio sanitario con efectos de impacto ambiental requerido en el marco de la internación de especies de primera importación (D.S. (MINECON) N° 730 de 1995)”.

FONDO DE INVESTIGACIÓN PESQUERA Y DE ACUICULTURA

Diciembre 2022



INFORME FINAL

FIPA N° 2021-12

“Revisión, actualización y mejoramiento de los ensayos de cohabitación, que forman parte del estudio sanitario con efectos de impacto ambiental requerido en el marco de la internación de especies de primera importación (D.S. (MINECON) N° 730 de 1995)”

FONDO DE INVESTIGACIÓN PESQUERA Y DE ACUICULTURA

Diciembre 2022

REQUIRENTE

**FONDO DE INVESTIGACIÓN PESQUERA
Y ACUICULTURA, FIPA**

Director Ejecutivo

Rafael Hernández Vidal

EJECUTOR

INSTITUTO DE FOMENTO PESQUERO, IFOP

Director Ejecutivo

Gonzalo Ernesto Pereira Puchy

Jefe División Investigación en Acuicultura

F. Leonardo Guzmán Méndez

JEFE DE PROYECTO

Juan Carlos Quintanilla Correa

AUTORES

Jaiber Solano Iguaran

Sergio Contreras Lynch

Margarita González Gómez

Felipe Pontigo Moenne-Loccoz

Juan Carlos Quintanilla Correa



RESUMEN EJECUTIVO

El aumento de la población a nivel mundial, asociado a un mayor desarrollo y apertura de mercados y comercialización de productos, especialmente aquellos de origen animal y vegetal, ha llevado a un incremento en el intercambio y movimiento de especies, tanto terrestres como acuáticas de un país a otro, moviéndose desde su área de distribución nativa hacia nuevos hábitat o sistemas, con las consecuencias ecológicas o ambientales que ello podría tener. En este sentido, y específicamente en el caso de las especies hidrobiológicas, sus ecosistemas podrían verse afectados y amenazados por la introducción de especies exóticas invasoras, pudiendo éstas cambiar la estructura de las comunidades nativas y alterar el funcionamiento del ecosistema, más aún si se considera que uno de los tres factores que más afectan la biodiversidad a nivel global es la introducción de especies exóticas. En consideración a lo anterior, el objetivo del presente estudio es actualizar y mejorar los ensayos de cohabitación y/o similares ejecutados en los Estudios Sanitarios con Efectos de Impacto Ambiental (ESEIA) requeridos en el marco del D.S. (MINECON) N° 730 de 1995, para la primera importación de especies hidrobiológicas vivas, mejorando el resguardo del patrimonio sanitario del país. Para ello, se revisó información asociada a regulaciones y normativas de países con sistemas desarrollados de internación de especies exóticas a fin de conocer el proceso y procedimientos involucrados en ello, así como desde estudios obtenidos a través de la revisión de publicaciones científicas asociadas con estudios de internación de especies exóticas a nuevos territorios. Adicionalmente se solicitó información a la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura, obteniéndose antecedentes y caracterizando el actual proceso de primera importación de especies hidrobiológicas exóticas.

En el presente pre-informe final, se presentan los resultados asociados a todas las actividades comprometidas en cada uno de los objetivos específicos propuestos. A modo general, estos dan cuenta de los análisis de antecedentes normativos y de regulaciones internacionales en materia de internación de especies hidrobiológicas exóticas de países como Australia, Estados Unidos, Reino Unido, además de la Unión Europea, así también como de las regulaciones, tanto generales como aquellas específicas en sistemas dulceacuícolas, que rigen el proceso de internación a nivel nacional. Además, se presenta un análisis de las técnicas y/o metodologías asociadas a los estudios asociados al proceso de internación de especies hidrobiológicas exóticas a un nuevo territorio, lo que permitió identificar fortalezas y debilidades de las técnicas y/o metodologías utilizadas.

Adicionalmente, se presenta una caracterización del actual proceso de primera importación, que, por una parte, permitió desarrollar, implementar y aplicar una encuesta de percepción del proceso, y por otro lado, identificar todos aquellos requerimientos de información por parte de la autoridad en el marco del proceso de solicitud de primera importación y/o estudios sanitarios complementarios, lo que



permitió desarrollar y elaborar tanto propuestas de modificación al actual proceso, así como las nuevas propuestas metodológicas de estudios en el marco de la internación de especies hidrobiológicas de primera importación, y efectuar un análisis comparativo de las propuestas en función de aspectos y/o de los criterios propuestos, previo a su validación con un panel de expertos. Finalmente, se evaluó la factibilidad técnica y económica de la implementación tanto de las propuestas de modificación como de las nuevas propuestas metodológicas asociadas a los estudios sanitarios.

De este modo, el presente pre-informe final da cuenta de las actividades desarrolladas y de los resultados comprometidos en los Términos Técnicos de Referencia del estudio.



EXECUTIVE SUMMARY

The increase in population worldwide, associated with greater development and opening of markets and commercialization of products, especially those of animal and plant origin, has led to an increase in the exchange and movement of species, both terrestrial and aquatic from one country to another, moving from their native distribution area or new habitats or systems, with the ecological or environmental consequences that this could have, such as changes in the structure of native communities and the functioning of the ecosystem.

This project aims to update and improve the cohabitation assays carried out in the Health Studies with Environmental Impact Effects required by the Subsecretaría de Pesca y Acuicultura, within the framework of the D.S. (MINECON) N° 730 of 1995 regulation, for the importation of hydrobiological living species of first entry.

Information associated with international regulations and standards of countries with developed systems for the entry of exotic species such as Australia, the United States, the United Kingdom, and the European Union was analyzed. A review of additional information also included the national regulations. A complementary analysis of studies obtained through the review of scientific publications associated with the internment of exotic species in new territories was also done.

This report includes the results associated with all the activities committed to the proposed objectives of the study. A complete analysis of international and national regulations background, and the techniques and/or methodologies associated with the entry of exotic hydrobiological species to a new territory is presented. This allowed us to identify the strengths and weaknesses of the techniques and/or methodologies identified.

This information allowed us to develop and elaborate both proposals of modification and new methodologies for studies within the process of the entry of hydrobiological species for first importation, and carry out a comparative analysis of the proposals according to the criteria proposed. Once the different proposals were validated through an expert panel, the technical and economic feasibility of their implementation, associated with the health studies were evaluated.



ÍNDICE GENERAL

	Página
RESUMEN EJECUTIVO	i
EXECUTIVE SUMMARY	iii
ÍNDICE GENERAL	iv
ÍNDICE TABLAS Y FIGURAS	vi
ÍNDICE ANEXOS	ix
1. OBJETIVO GENERAL	1
2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	1
3. ANTECEDENTES	2
4. METODOLOGÍA	6
4.1. Revisión y análisis de la información bibliográfica asociada al proceso y estudios requeridos para la primera importación de especies exóticas.	6
4.2. Análisis comparativo de las metodologías identificadas.	9
4.3. Caracterización del actual proceso de primera importación de especies exóticas y estudios relacionados.	10
4.4. Generación de propuestas de modificación a los estudios asociados al actual proceso de primera importación de especies exóticas.	13
4.5. Evaluación y análisis comparativo de las diferentes propuestas, considerando criterios ecológicos, biogeográficos y físico-químicos, entre otros.	14
4.6. Validación de propuestas de modificación al actual proceso de primera importación de especies exóticas a través del taller de expertos.	16
4.7. Evaluación de la factibilidad técnica de las propuestas de modificación al actual proceso y estudios asociados a la primera importación de especies exóticas.	16
4.8. Diseño y elaboración de nuevas propuestas metodológicas para el proceso de primera importación de especies exóticas.	19
4.9. Análisis de fortalezas y debilidades de nuevas propuestas metodológicas para la primera importación de especies exóticas.	21
4.10. Validación de nuevas propuestas metodológicas a través del taller de expertos.	22
4.11. Evaluación de factibilidad técnica y económica de las nuevas propuestas metodológicas al proceso y estudios asociados a la primera importación de especies exóticas.	22



5. RESULTADOS	26
5.1. Revisión y análisis de la información bibliográfica asociada al proceso y estudios requeridos para la primera importación de especies exóticas.	26
5.2. Análisis comparativo de las metodologías identificadas.	81
5.3. Caracterización del actual proceso de primera importación de especies exóticas y estudios relacionados.	89
5.4. Generación de propuestas de modificación a los estudios asociados al actual proceso de primera importación de especies exóticas.	97
5.5. Evaluación y análisis comparativo de las diferentes propuestas, considerando criterios ecológicos, biogeográficos y físico-químicos, entre otros.	109
5.6. Validación de propuestas de modificación al actual proceso de primera importación de especies exóticas a través del taller de expertos.	129
5.7. Evaluación de factibilidad técnica y económica de las propuestas de modificación al actual proceso y estudios asociados a la primera importación de especies exóticas.	130
5.8. Diseño y elaboración de nuevas propuestas metodológicas para el proceso de primera importación de especies exóticas.	139
5.9. Análisis de fortalezas y debilidades de las nuevas propuestas metodológicas para la primera importación de especies exóticas.	201
5.10. Validación de nuevas propuestas metodológicas a través de taller de expertos.	204
5.11. Evaluación de la factibilidad técnica y económica de las nuevas propuestas metodológicas al proceso y estudios asociados a la primera importación de especies exóticas.	205
6. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	217
7. CONCLUSIONES	226
8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	229
A N E X O S	247



ÍNDICE TABLAS Y FIGURAS

TABLAS

- Tabla 1.** Interrogantes evaluadas en el análisis de factibilidad técnica de la implementación de las propuestas de modificación al actual reglamento.
- Tabla 2.** Interrogantes evaluadas en el análisis de factibilidad técnica de la implementación de las nuevas metodologías propuestas de estudios al actual reglamento.
- Tabla 3.** Tabla de fortalezas y debilidades de las diferentes metodologías.
- Tabla 4.** País de origen de las especies con solicitud de primera importación, entre los años 2015 al 2021, y que fueron objeto de revisión.
- Tabla 5.** Variables abióticas y bióticas relevantes de considerar para su medición en las propuestas de modificación desarrolladas.
- Tabla 6.** Tabla comparativa de las diferentes propuestas de modificación.
- Tabla 7.** Análisis de Términos Técnicos de Referencia (TTR) asociados a estudios sanitarios con efecto de impacto ambiental, entre el 2018 y el 2021, presentados en el marco de procesos de primera importación de organismos hidrobiológicos.
- Tabla 8.** Listado de representantes de instituciones y empresas que participaron del taller de validación.
- Tabla 9.** Aspectos considerados en la evaluación de la factibilidad técnica de la implementación de las propuestas de modificación al actual reglamento.
- Tabla 10.** Grado de adaptabilidad y nivel de acceso de los usuarios a las modificaciones a la normativa actual.
- Tabla 11.** Detalle de costos identificados asociados a la implementación de cambios en el actual proceso de solicitudes de primera importación de especies exóticas.



- Tabla 12.** Costos incrementales asociados a nuevos requerimientos a incorporar en el proceso de solicitudes de primera importación.
- Tabla 13.** Umbrales de referencia del tamaño del efecto de Cohen en función de diferentes pruebas estadísticas, tomado de Rhys, 2020.
- Tabla 14.** Funciones de R disponibles para el cálculo del n muestral y poder estadístico, en función del tipo de ensayo y prueba estadística a emplear.
- Tabla 15.** Tabla comparativa de las diferentes propuestas de modificación.
- Tabla 16.** Aspectos considerados en la evaluación de la factibilidad técnica de la implementación de las nuevas propuestas metodológicas de estudios, al actual reglamento.
- Tabla 17.** Detalle de valorización de los costos asociados al estudio de desafío ambiental (tolerancia ambiental).
- Tabla 18.** Detalle de la valorización de los costos asociados al estudio de cohabitación.
- Tabla 19.** Detalle de la valorización de los costos asociados al estudio de mesocosmos.
- Tabla 20.** Costos incrementales asociados a los requerimientos a incorporar en el nuevo proceso de solicitudes de primera importación propuesto.
- Tabla 21.** Costos de aplicación asociados a los requerimientos a incorporar en el nuevo proceso de solicitudes de primera importación propuesto.
- Tabla 22.** Costos totales asociados al nuevo proceso de solicitudes de primera importación propuesto.



FIGURAS

- Figura 1.** Diagrama de costos y beneficios regulatorios (adaptado de Renda et al., 2013).
- Figura 2.** Ejemplo de un mesocosmos in situ, tomado de Cataldo et al., 2012. A la izquierda el diagrama del diseño empleado; a la derecha una fotografía del dispositivo instalado in situ.
- Figura 3.** Mesocosmos al aire libre diseñado. Imagen tomada de Doherty-Bone et al., 2018.
- Figura 4.** Mesocosmos en laboratorio. A la izquierda una fotografía de la instalación de un mesocosmos en un laboratorio, a la derecha el diseño de este mesocosmos. Imagen tomada de Ayadi et al., 2020.
- Figura 5.** Solicitudes de estudio sanitario con efectos de impacto ambiental de acuerdo al objetivo integral identificado en el presente estudio, requeridas por la autoridad entre los años 2015-2021.
- Figura 6.** Diagrama de decisiones del proceso completo de internación de especies hidrobiológicas de primera importación al país.
- Figura 7.** Diagrama de flujo de actividades que implican costos en el proceso actual de solicitudes de primera importación de especies exóticas que impliquen estudios sanitarios.
- Figura 8.** Simulación del cambio de la potencia estadística en función del número ejemplares por grupo bajo dos escenarios de magnitud del efecto
- Figura 9.** Diagrama de flujo de actividades que implican costos en la nueva propuesta para el proceso de solicitudes de primera importación de especies exóticas que impliquen estudios sanitarios.



ÍNDICE ANEXOS

ANEXOS

- Anexo 1.** Acta de reuniones de coordinación y generales.
- Anexo 2.** Formato de encuesta y correo electrónico conductor.
- Anexo 3.** Correo electrónico conductor en el que se convoca al Taller de expertos.
- Anexo 4.** Acceso directo a la normativa internacional y nacional consultada.
- Anexo 5.** Caracterización y análisis de las solicitudes de primera importación.
(Planilla en formato digital).
- Anexo 6.** Respuestas entregadas por los representantes de empresas a la encuesta aplicada.
- Anexo 7.** Invitación telemática (vía Google Meet) al taller de validación y registros fotográficos de la actividad.
- Anexo 8.** Distribución de horas de dedicación por personal y actividad.



1. OBJETIVO GENERAL

Actualizar y mejorar los ensayos de cohabitación y/o similares ejecutados en los Estudios Sanitarios con Efectos de Impacto Ambiental (ESEIA) requeridos en el marco del D.S. (MINECON) N° 730 de 1995 para la primera importación de especies hidrobiológicas vivas.

2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Revisar, recopilar y analizar la información bibliográfica existente (proyectos, normativa, etc) tanto nacional como internacional sobre pruebas de laboratorio o ensayos de cohabitación utilizados en la evaluación sobre la internación de especies hidrobiológicas exóticas para cultivo.
2. Proponer y evaluar mejoras en las metodologías actualmente utilizadas en los ensayos de laboratorio o de cohabitación incluidos en el D.S. N° 730/95, tomando en cuenta el diseño muestral, análisis estadísticos, características de las especies que pueden ser internadas y las instalaciones donde se desarrollarían los ensayos.
3. Proponer nuevas técnicas y/o metodologías, análisis estadísticos y diseños muestrales a utilizar en el marco de la evaluación ambiental del D.S. N° 730/95, y que consideren las características de los distintos tipos de especies que pueden ser internadas, además de las instalaciones donde serían desarrolladas dichas actividades incluyendo una estimación de costos de implementación.



3. ANTECEDENTES

A través del desarrollo de las actividades humanas, especialmente con el aumento del comercio internacional, el número de especies exóticas introducidas a nuevos ecosistemas, aumenta constantemente en todo el mundo (Vitousek *et al.*, 1997; DAISIE, 2009; Hulme, 2009; Hulme *et al.*, 2008). Después de ser introducida desde su área de distribución nativa a una nueva área, una especie exótica puede establecer poblaciones autosostenibles, aumentar en número y diseminarse (Pysek y Richardson, 2010). Cuantos más individuos se introduzcan y más eventos de introducción ocurran, mayor será la presión del propágulo y la probabilidad de un establecimiento exitoso y un crecimiento rápido (Colautti *et al.* 2006). Con una creciente propagación, las especies exóticas afectan a los ecosistemas de las especies nativas (que se puede analizar como impacto ambiental) y la economía humana (que se puede analizar como impacto económico), solo considerando los impactos negativos (Nentwig, 2007; Vilà *et al.*, 2010; Jeschke *et al.*, 2014). En este punto, la especie exótica es considerada como una especie invasora (Pysek *et al.*, 2009), teniendo en cuenta el impacto como un criterio importante de la última etapa en los marcos modernos de invasiones biológicas (Blackburn *et al.*, 2011).

Si bien predecir los impactos ecológicos de las especies exóticas es un aspecto importante de la evaluación del riesgo de invasión, sigue siendo un gran desafío (Dick *et al.*, 2017). En este sentido, se ha logrado un progreso considerable en la predicción de los impactos tróficos de las especies invasoras acuáticas en los últimos años utilizando respuestas funcionales comparativas. En este sentido, el llegar a determinar los mecanismos por los cuales las nuevas especies se integran en redes alimentarias nativas y coexistir con especies nativas puede proporcionar la base para comprender el éxito de las especies exóticas altamente invasoras (Catford *et al.*, 2009).

Claramente, la disponibilidad de un hábitat adecuado es un requisito previo para el establecimiento de cualquier población de organismos que se introducen en un determinado sistema, lo que se refleja en muchos trabajos recientes sobre "emparejamiento ambiental" (p. ej., Peterson y Viegas 2001; Reichard 2001; Kolar y Lodge 2002; Sutherst 2003; Drake y Bossenbroek 2004). Sin embargo, debido a que el éxito del establecimiento se correlaciona con la presión de los propágulos, incluido el número de individuos introducidos y la frecuencia de los eventos de introducción (Williamson 1996; Grevstad 1999a; Kolar y Lodge 2001), es igualmente claro que, sin introducciones de tamaño o frecuencia adecuados, ningún establecimiento puede ocurrir.

En general, las especies invasoras pueden causar un gran daño a la biodiversidad nativa a través de la herbivoría (McKnight y Hepp, 1995), la depredación (Almeida *et al.*, 2012), la competencia (Caiola y De Sostoa, 2005), la hibridación (Hänfling *et al.*, 2005), la transmisión de enfermedades (Gozlan *et*



al., 2005) y la alteración del ecosistema (Britton *et al.*, 2010). Además, pueden alterar el funcionamiento del ecosistema (Richardson *et al.*, 1995), los servicios del ecosistema (Vilà *et al.*, 2010), la estructura de la comunidad (Alcaraz *et al.*, 2008), los hábitats (Crooks, 1998) y redes tróficas y/o flujos de nutrientes (Caraco *et al.*, 1997; Simon *et al.*, 2004). Los costos económicos causados, por ejemplo, por especies de peces exóticos invasores en los EEUU, suman una pérdida anual de \$5,4 mil millones (Pimentel *et al.*, 2005). Aunque estos peces invasores causan enormes costos económicos globales, todavía se están introduciendo para la acuicultura, como peces ornamentales o para la pesca deportiva y la pesquería (Gozlan, 2008).

Los esfuerzos para mitigar los impactos de la invasión dada por especies exóticas dependen de pruebas científicas rigurosas (Underwood, 1996; Byers *et al.*, 2002; Sutherland *et al.*, 2004). Sin embargo, existe un debate sobre si las especies no nativas causan cambios ambientales, responden a cambios ambientales o hacen ambas cosas, con complejas interacciones de retroalimentación (Gurevitch y Padilla, 2004; Didham *et al.*, 2005; Simberloff, 2011). Los enfoques experimentales, en los que se controla la identidad y la densidad de las especies no autóctonas, pueden proporcionar vínculos causales muy necesarios entre las especies no autóctonas y los cambios ecológicos en los ecosistemas y hábitats invadidos.

Dentro de los ecosistemas, la abundancia relativa (número de individuos) y la riqueza relativa (número de taxones) de invasores exóticos se han explorado como medidas para cuantificar y definir la contaminación biológica o “biocontaminación” (Arbačiauskas *et al.*, 2008). La relevancia de estos componentes específicos para cuantificar los niveles de invasión biológica también se ha recomendado dentro de otros ecosistemas para ayudar a comprender la “contribución” que las especies exóticas hacen a una comunidad (Catford *et al.*, 2012). Un meta-análisis reciente de investigaciones terrestres, marinas y de agua dulce destacó que la respuesta de la comunidad a la invasión dependía de la abundancia y la posición trófica de las especies invasoras (Bradley *et al.*, 2019). Del mismo modo, la probabilidad de que una especie exótica establezca con éxito una población en un entorno nuevo, a menudo está relacionada con el número de individuos introducidos (Casseo *et al.*, 2018). La riqueza de especies y el número de organismos se encuentran entre las variables más comunes utilizadas para describir la biodiversidad en los estudios ecológicos (Colwell, 2009). A pesar de esto, el efecto tanto de la abundancia como de la riqueza de múltiples invasores coexistentes sobre las medidas taxonómicas y funcionales de la comunidad sigue sin estar claro y apenas ha sido reconocido en la literatura sobre biología de invasiones o gestión de recursos hídricos. En este contexto, la cuantificación del impacto de las invasiones biológicas en las redes tróficas complejas es necesaria para formular estrategias de gestión eficaces (Gozlan *et al.*, 2010; Davies y Britton, 2015; Latombe *et al.*, 2017). Paralelamente, las estrategias de control biológico de conservación se beneficiarían de una medida cuantitativa de la resistencia de especies autóctonas y



alóctonas contra invasores recientemente establecidos, lo que permitiría identificar objetivos de conservación significativos (Frost *et al.*, 2019). De hecho, el éxito de los invasores puede variar mucho según la estructura de las redes tróficas invadidas (Dzialowski *et al.*, 2007; Jackson *et al.*, 2013; Smith - Ramesh *et al.*, 2017; Vonesh *et al.*, 2017), a través de mecanismos de resistencia biótica por competidores (resistencia competitiva) y depredadores (resistencia al consumo) (Britton, 2012; Alofs y Jackson 2014; Smith - Ramesh *et al.*, 2017; Rehage *et al.*, 2019).

Por su parte, existe una relación entre las enfermedades infecciosas emergentes y las invasiones biológicas y por lo general avanzan en forma paralela, más que en conjunto (Ogden *et al.*, 2019). En lo referente a las especies invasoras que no causan enfermedades, los patógenos y los vectores de enfermedades continúan evolucionando y adaptándose a los nuevos entornos en los que se han introducido, mejorando la R_0 dentro de los entornos invadidos (Moudy *et al.*, 2007; Goubert *et al.*, 2017). Para los patógenos de animales, la evolución hacia un aumento de R_0 típicamente implica compensaciones entre los rasgos de transmisión (mayores cargas de patógenos significan una transmisión más eficiente cuando se hace contacto entre hospedadores infectados y no tratados) y virulencia (mayores cargas de patógenos merecen una mayor morbilidad / mortalidad y tasas de contacto reducidas entre huéspedes infectados e ingenuos) (Blanquart *et al.*, 2016).

La falta de información sobre las escalas de espacio y tiempo de la interacción entre especies introducidas, medio ambiente y otras especies (Powell *et al.*, 2011), y de cómo el impacto de las especies introducidas puede ser distinguido de otros que pueden ser sinérgicos (Didham *et al.*, 2007), influyen en el cómo estos impactos pueden ser evaluados usando métricas comunes (Blackburn *et al.* 2004). En este último tópico, una de las más importantes métricas para la comparación de impactos en el medio ambiente es la correlación de la abundancia de especies con el nivel de impacto, la cual no es necesariamente lineal (Catford *et al.*, 2012). En este sentido, es probable que el cambio global actual y futuro (cambio climático, biodiversidad, etc) facilite tanto la aparición de invasiones biológicas como enfermedades, mientras que algunas fluctuaciones ambientales repentinas e impredecibles pueden inhibir las invasiones (Altizer *et al.*, 2013; Faust *et al.*, 2018), lo cual podría ejercer algún tipo de regulación en el nivel de impacto sobre la biodiversidad y ecosistema.

En relación a recursos hidrobiológicos, Sudamérica es uno de los seis "hotspots" globales de invasión de peces de agua dulce. Según Habit *et al.*, (2015), actualmente en Chile existen 27 especies introducidas de peces en ecosistemas de aguas continentales, 25 de ellas pertenecen a familias inexistentes en Chile, siendo Salmonidae, Cyprinidae e Ictaluridae las más abundantes y frecuentes. De esta manera, los peces nativos de Chile (45 especies de 72) se enfrentan a competidores y depredadores desconocidos en términos evolutivos. Bajo este contexto, para el manejo y contención de las especies invasoras exóticas existen 2 formas: manejo pre y post frontera, donde el manejo



prefrontera se enfoca en la prevención, en tanto que el manejo post frontero va orientado a la contención, control, erradicación, restauración y monitoreo (MMA, 2021).

Para tratar el tema de la introducción de especies exóticas, en 1995 se publicó el D.S. (MINECON) N° 730 donde en el artículo 7 se solicita, cuando corresponda, que previo al pronunciamiento de una solicitud de primera importación de especie hidrobiológica, se efectúe por cuenta y cargo del peticionario, un estudio sanitario que incluya efectos de impacto ambiental, mientras que en su artículo 9 establece los requisitos y plazos. Por su parte, el artículo 10 enumera 6 puntos donde indica lo que se debe considerar en la elaboración de los términos técnicos de referencia (TTR). Sin embargo, en la actualidad, esta normativa no ha presentado ninguna actualización o modificación desde la fecha de su publicación.

Frente a esta situación, en la que se requiere asegurar y mantener el estatus del patrimonio sanitario hidrobiológico y ecológico del país, es que resulta necesario actualizar la normativa vigente de internación de especies hidrobiológicas vivas de primera importación, considerando los estándares internacionales que se utilizan en la actualidad. Ello implica, actualizar y/o mejorar los ensayos de cohabitación considerando las características biológicas y ecológicas de los distintos organismos que potencialmente pudiesen ser internados, la disposición (restringida) de ejemplares para las pruebas o ensayos a aplicar, y las características del ambiente donde serían mantenidos. Dicha actualización implicaría incorporar nuevos ajustes o metodologías, si fuese factible, en los ensayos experimentales que se deben realizar. Ello permitiría disponer de mejor información para la evaluación de Estudios Sanitarios con Efecto de Impacto Ambiental (ESEIA), y que son requeridos para la toma de decisiones por parte de la autoridad.

Finalmente, cabe destacar que el proponente, Instituto de Fomento Pesquero, posee las capacidades técnicas y experiencia en el desarrollo de estudios de investigación como el presente, habiendo ejecutado dos estudios previos respecto de las especies ornamentales en el país, siendo, además, el mismo equipo de trabajo que desarrolla la vigilancia de enfermedades en especies de peces silvestres a nivel nacional, en el marco del cual, se han ejecutado ensayos experimentales por medio de cohabitación entre especies nativas e introducidas, para evaluar la transmisión bidireccional de enfermedades de alto riesgo, resultados que han sido formalizados a través de publicaciones científicas.



4. METODOLOGÍA

La metodología a utilizada en la presente iniciativa se detalla de acuerdo a los objetivos específicos establecidos:

Objetivo específico 1: *Revisar, recopilar y analizar la información bibliográfica existente (proyectos, normativas, etc) tanto nacional como internacional sobre pruebas de laboratorio o ensayos de cohabitación utilizados en la evaluación sobre la internación de especies hidrobiológicas exóticas para cultivo.*

4.1. Revisión y análisis de la información bibliográfica asociada al proceso y estudios requeridos para la primera importación de especies exóticas.

4.1.1. Búsqueda de antecedentes normativos y regulatorios.

Se realizó una búsqueda de antecedentes tanto a nivel nacional como internacional, que dice relación con documentos oficiales, normativas, reglamentos y/o decretos relacionados con la internación de especies hidrobiológicas y de procesos de evaluación ambiental relacionados con primera importación de especies hidrobiológicas exóticas.

En este contexto, se procedió a revisar a analizar documentos oficiales como leyes, normativas, reglamentos u otros antecedentes internacionales relacionados con los procesos actuales de primera importación de organismos acuáticos exóticos, en países con sistemas desarrollados de internación de este tipo de especies, como Australia, Estados Unidos y Reino Unido, además de la Unión Europea, según estaba establecido en la propuesta técnica del estudio. Sin embargo, al realizar la búsqueda abierta de información, aparecieron antecedentes de otros países (Canadá y Namibia) que no estaban comprometidos en la búsqueda de información, no obstante, dado los antecedentes que aportaban, se consideró relevante de ser incorporados a la revisión, ya que evidenciaron disponer de procedimientos y sistemas implementados para la internación de especies hidrobiológicas exóticas al país. Adicionalmente, la búsqueda de antecedentes consideró también la revisión de documentos a nivel nacional, como manuales, procedimientos técnicos, normas técnicas, resoluciones, decretos, etc., a través de la búsqueda en sitios gubernamentales como el Servicio Nacional de Pesca y



Acuicultura, la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura, el Ministerio de Economía, Fomento y Turismo, y la biblioteca del Congreso Nacional (BCN), entre otros.

Se revisó igualmente la existencia de antecedentes generales de otras entidades nacionales de gobierno como el Servicio Agrícola y Ganadero (SAG), Ministerio de Medio Ambiente (MMA), y el Ministerio de Hacienda, que pudieran estar relacionados ya sea de forma directa o indirecta con la internación de especies hidrobiológicas de primera importación al país.

Como metodología de recopilación de información relacionada con aspectos regulatorios y de normativas, se consultaron los sitios web de gobierno de los países señalados en la propuesta técnica, así como también se realizó una búsqueda abierta utilizando diversas frases escritas en idioma inglés relacionadas a la importación de organismos hidrobiológicos.

Dentro de las frases utilizadas en la búsqueda abierta para la normativa internacional se encontraron, entre otras:

- “studies required for imported species au”
- “australian import conditions”
- “technical requirements for first importation in Australia”
- “live animals importation to US regulations”
- “aquatic animals importation to US regulations”
- “fish importation to European Union”
- “aquatic animals importation to UE directives”
- “aquatic organisms importation to uk regulations”
- “fish and shellfish import Regulation to uk”
- “Importing live aquatic species to uk”
- “canadian import requirements”
- “importing fish and shellfish to Canada”
- “importar organismos acuáticos vivos a México”
- “regulaciones sobre especies hidrobiológicas en México”
- “import aquatic species to Namibia”
- “Namibia import requirements”
- “Aquatic import regulations in Namibia”



4.1.2. Requerimiento de solicitudes de primera importación.

A fin de caracterizar el actual proceso de internación de especies y generar las modificaciones que se requieran al proceso en una etapa posterior, con fecha 30 de diciembre del 2021, se solicitó mediante correo electrónico a la contraparte técnica de la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura, toda aquella documentación relacionada con los documentos asociados a solicitudes previas de primera importación de especies hidrobiológicas exóticas realizadas desde el año 2015 en adelante, tanto de aquellas que disponían de estudios sanitarios con efectos de impacto ambiental, como de aquellas que no contaban con dichos estudios, a fin que en una etapa posterior, se caractericen y se generen las modificaciones necesarias del actual proceso de primera importación de especies hidrobiológicas exóticas.

4.1.3 Búsqueda de antecedentes en literatura científica.

Se realizó una revisión de literatura científica enfocada en artículos científicos regulares o revisiones amplias en revistas con comité editor, libros científicos y tesis de maestría y doctorado, que se asocien con estudios sobre el impacto de la internación de especies exóticas a nuevos territorios, identificando los diseños experimentales y análisis implementados. Adicionalmente, la búsqueda se extendió a trabajos relacionados con la identificación de las características que permiten el éxito de especies exóticas invasoras en los nuevos ambientes. La información recopilada fue descrita y tabulada, con la finalidad de identificar nuevas técnicas, estudios y/o análisis, que contribuirán en la generación de la propuesta de modificación y/o de nuevas metodologías para apoyar la normativa asociada a la primera importación de especies exóticas, la cual será abordada en los objetivos 2 y 3 del presente estudio, comprometidos para el informe pre-final.

Como metodología de recopilación de la información para la revisión de la literatura, se utilizaron los motores de búsqueda de la ISI Web of Knowledge (WoS), seleccionando todas las bases de datos, y Google Académico. Se utilizaron combinaciones de diferentes palabras clave como “ecological impact”, “alien species”, “risk analysis”, “non-native species”, “species traslocation”, “experimental approach”, “cohabitation”, “mesocosm”, “microcosm”. Posteriormente, se seleccionaron sólo trabajos con una antigüedad no mayor de 10 años desde su publicación (a partir del 2012) y que hicieran alusión a los conceptos claves en su resumen y/o título. Adicionalmente, durante la revisión de las publicaciones, se identificaron referencias que pudieran contener información relevante, las cuales fueron revisadas e incorporadas.



Durante la tabulación de la literatura revisada, se consideraron los siguientes atributos:

- Año: Año de la publicación.
- Tipo de documento: Artículo experimental, artículo de revisión, informe técnico, tesis de doctorado, libro, entre otros.
- País: País donde se desarrolló el estudio.
- Objetivo: Objetivo/s de la publicación.
- Tipo de estudio: Ambiental, sanitario, otro.
- Detalle del tipo de estudio: Categoría general de la metodología empleada (por ejemplo, mesocosmos, cohabitación, desafío, medición in situ, entre otros).
- Especies involucradas: Especie invasora evaluada y, cuando corresponde, especies nativas involucradas.
- Tipo de relación estudiada: Tipo de relación o efecto evaluado, ya sea en estudios multiespecies, como cohabitación (por ejemplo, relaciones tróficas, competencia), o en mediciones u observaciones realizadas en una sola especie, como desafío experimental (por ejemplo, susceptibilidad a patógenos, características metabólicas).

A partir de la tabulación de estas características de las publicaciones, se lograron identificar las metodologías empleadas y el objetivo para el cuál éstas fueron empleadas. De esta manera, se lograron listar los enfoques metodológicos utilizados para evaluar o medir el impacto de especies exóticas, sobre los ecosistemas donde éstas son introducidas.

4.2. Análisis comparativo de las metodologías identificadas.

Una vez recopilados los antecedentes nacionales e internacionales del punto anterior, especialmente aquellos que permitieron identificar las técnicas y/o metodologías para la evaluación de los potenciales impactos de especies exóticas (invasoras y no invasoras) en nuevos ambientes, se procedió a identificar las fortalezas y debilidades de las metodologías utilizadas, efectuando posteriormente un análisis comparativo de ellas.

Adicionalmente, el análisis comparativo realizado en términos de fortalezas y debilidades de las metodologías identificadas, contempló la incorporación de otros criterios tales como el lugar donde es posible desarrollar los estudios, el tipo de vigilancia que es posible desarrollar a partir de ellos, la



similitud con el medio ambiente natural o potencial donde se desarrollarían las especies exóticas, duración de los estudios, nivel de infraestructura y equipamiento mínimo requerido, tipo de circuito, entre otros. Además, la experiencia de éxito/fracaso del proceso, relacionada a los modelos y/o metodologías implementadas, la factibilidad técnica y costos de implementación de dichas metodologías. Finalmente, este análisis comparativo también consideró la aplicabilidad de la metodología, asociada a la pertinencia de ejecutar los ensayos y/o estudios, resguardando el patrimonio sanitario y ambiental, todo ello en el contexto de una primera importación de organismos hidrobiológicos.

El análisis de la información obtenida permitió tener una mejor aproximación al momento de plantear diferentes propuestas de modificación en las metodologías y/o diseño de nuevas propuestas que apliquen a los actuales ensayos de laboratorio o de cohabitación, utilizados en la evaluación ambiental del D.S. N° 730.

4.3. Caracterización del actual proceso de primera importación de especies exóticas y estudios relacionados.

4.3.1 Caracterización del actual proceso de primera importación y estudios relacionados.

Con la información que se obtuvo desde la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura de la documentación asociada a solicitudes de primera importación de especies hidrobiológicas realizadas, que incluía tanto aquellas que disponían de estudios sanitarios con efectos de impacto ambiental (ESEIA), como aquellas que no contaban con dichos estudios, se procedió a caracterizar el procedimiento actual relativo a la internación de especies hidrobiológicas de primera importación de acuerdo al D.S. de Ministerio de Economía, Fomento y Reconstrucción N° 730 de 1995.

De este modo, la información entregada por la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura, permitió caracterizar los procesos asociados a las solicitudes de internación de especies de primera importación, tramitadas entre los años 2015 y 2021. En primera instancia, se identificaron las solicitudes, sus documentos complementarios y se llevó a cabo la recopilación de la información asociada a las siguientes variables, agrupadas en los ítems: “Información general”, “Información asociada a la especie a importar” e “Información asociada a la solicitud y términos técnicos de referencia o TTR”:



1) Información general.

- a) Año de solicitud.
- b) Código de solicitud.
- c) Representante.
- d) Contacto.
- e) Institución.
- f) Objetivo de la importación.

2) Información asociada a la especie a importar.

- a) Especie.
- b) Tipo de organismo biológico.
- c) Estadio.
- d) Procedencia de los ejemplares.
- e) Unidad receptora.

3) Información asociada a la solicitud y términos técnicos de referencia o TTR

- a) Estado de la solicitud de primera importación
- b) Estudio solicitado.
- c) Tipos de análisis solicitados.

Luego, a través del análisis de las variables expuestas anteriormente, se generó la caracterización de los procesos asociados a las solicitudes, identificando los tipos de instituciones asociadas a las tramitaciones de primera importación, sus principales objetivos, las principales especies a importar, origen, unidades receptoras al ingreso al país, entre otras variables. También, se describieron los distintos tipos de procedimientos asociados a los Estudios Sanitarios con Efecto de Impacto Ambiental (ESEIA), considerando las características y exigencias de los estudios solicitados y sus evaluaciones, entre otros.

Toda la información finalmente se integró en las categorías: 1) Número de solicitudes y especies; 2) Procedencia de los ejemplares; 3) Objetivos de las solicitudes; 4) Recepción de especies internadas; 5) Solicitud de ESEIA; 6) Caracterización de los TTR solicitados en el marco del ESEIA; y 7) Estado de las solicitudes.



4.3.2 Implementación y aplicación de encuesta.

Posterior a la caracterización que se realizó del proceso de primera importación de especies exóticas a través de la información que fue solicitada de manera formal a la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura, se desarrolló, implementó y validó para parte del equipo de trabajo, una encuesta con la finalidad de conocer la percepción de personas naturales o representantes de empresas y universidades, que llevaron a cabo un proceso de internación de especies hidrobiológicas al país. Esta encuesta abarcó diferentes ámbitos del procedimiento involucrado en la internación de especies hidrobiológicas de primera importación. En total la encuesta constó de 22 preguntas las que se distribuyeron en 4 ítems:

- Ítem 1: Del proceso de primera importación.
- Ítem 2: Del ámbito técnico operativo.
- Ítem 3: Del ámbito financiero.
- Ítem 4: Aspectos generales del procedimiento de primera importación.

Las encuestas se aplicaron vía remota (Formulario de Google), las que fueron enviadas a través de correo electrónico a los solicitantes de primera importación de especies hidrobiológicas. Mayor detalle de la encuesta y del correo electrónico remitido, se presentan en el **Anexo 2** del presente informe.



Objetivo específico 2: Proponer y evaluar mejoras en las metodologías actualmente utilizadas en los ensayos de laboratorio o de cohabitación incluidos en el D.S. N° 730/95, tomando en cuenta el diseño muestral, análisis estadísticos, características de las especies que pueden ser internadas y las instalaciones donde se desarrollarían los ensayos.

4.4. Generación de propuestas de modificación a los estudios asociados al actual proceso de primera importación de especies exóticas.

4.4.1. Propuestas de modificación metodológicas para el proceso de primera importación de especies exóticas.

A partir de la información que logró ser recopilada a través del objetivo específico 1, en el marco de una internación oficial de especies hidrobiológicas de primera importación, se procedió a analizar y elaborar las propuestas que sugieren mejoras y/o modificaciones a los estudios asociados al proceso de primera importación de organismos hidrobiológicos exóticos al país. Dichas mejoras estuvieron orientadas a incorporar a la actual normativa vigente procedimientos y/o requerimientos de análisis que fueron identificados principalmente durante la revisión de solicitudes de primera importación y de sus Términos Técnicos de Referencia (TTR) para la Ejecución de los Estudios Sanitarios con Efectos de Impacto Ambiental (ESEIA).

La estructura y desarrollo del proceso que derivó en las modificaciones propuestas al actual reglamento se sustentó en los antecedentes y tipo de información que se obtuvo a partir de las revisiones efectuadas. A pesar de la búsqueda extensa de información utilizando diferentes motores de búsqueda disponibles en línea, no se obtuvo antecedentes de estudios complementarios (sanitarios y ambientales) requeridos oficialmente por la autoridad, que evidenciaran la utilización de criterios ecológicos, sanitarios, fisicoquímicos, entre otros, en el marco de procesos de internación oficial de especies hidrobiológicas exóticas requeridos por normativa en los países que fueron objeto de consulta. Del mismo modo, ninguno de los antecedentes obtenidos a partir de la revisión bibliográfica de artículos y publicaciones científicas, y que incluyeron dentro de su diseño experimental, estudios y/o metodologías que permitieron evaluar, entre otros, la interacción biológica entre especies (exóticas y nativas), se desarrollaron en el marco de una internación oficial de especies hidrobiológicas, tal como estaba originalmente propuesto.



En virtud de lo anterior, dentro de los aspectos que fue factible de abordar en las propuestas, se encontró lo relativo a la descripción del hábitat en donde se desarrollan los estudios sanitarios en términos abióticos y bióticos, y la vigilancia tanto ambiental como sanitaria, que aportaron con herramientas que permitieron monitorear los efectos directos e indirectos de la especie a importar sobre el ecosistema.

Adicionalmente, dado el tipo de información que logró ser recopilada, se definió que aquellos antecedentes identificados a partir de la revisión de publicaciones y artículos científicos regulares, que aportaron con nuevos procedimientos y/o metodologías aplicables a los estudios sanitarios requeridos por la autoridad, considerando criterios de riesgo ambiental, ecológicos, sanitarios, entre otros, sean presentados en el objetivo específico 3, como parte de las nuevas propuestas de estudios que fueron desarrolladas.

Adicionalmente, y acorde a lo enunciado en los párrafos anteriores, es muy importante hacer mención que las necesidades identificadas y detalladas como parte del desarrollo de las propuestas de modificación, tuvieron como base aquellos requerimientos efectuados por parte de la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura en el marco de las solicitudes de importación y/o de los estudios sanitarios complementarios solicitados, en aquellos casos cuando los antecedentes aportados no fueron suficientes para aprobar o rechazar una solicitud de primera importación. Pese a lo anterior, actualmente estos requerimientos adicionales no se encuentran detallados o bien no fue posible identificarlos con claridad en el actual reglamento de internación de especies hidrobiológicas de primera importación (D.S. (MINECON) N° 730 de 1995), razón por la cual se consideró relevante que fueran abordados o que queden vinculados a través de algún elemento normativo, como parte de las propuestas de modificación al actual reglamento, teniendo en consideración que es rol de la autoridad pertinente velar por el patrimonio biológico y sanitario del país.

4.5. Evaluación y análisis comparativo de las diferentes propuestas, considerando criterios ecológicos, biogeográficos y físico-químicos, entre otros.

4.5.1. Análisis comparativo de las propuestas de modificación

Teniendo en consideración los resultados obtenidos en la revisión de antecedentes del objetivo específico 1, especialmente de los requerimientos identificados en el análisis de información de las solicitudes de primera importación de especies hidrobiológicas a Chile entre los años 2015 y 2021, y



del análisis de los Términos Técnicos de Referencia (TTR) para la ejecución los estudios Sanitarios con Efectos de Impacto Ambiental, y en especial atención a las razones esgrimidas en el numeral 4.4.1 del presente objetivo, se generó un análisis comparativo de las diferentes propuestas de modificación desarrolladas a la actual normativa vigente, el que consideró la siguiente información:

Atributos:

- a) Propuesta
- b) Ámbito de aplicación
- c) Aplicabilidad normativa
- d) Requerimiento de personal calificado
- e) Costos
- f) Ventajas
- g) Desventajas
- h) Aplicabilidad de la propuesta
- i) Ranking

Aspectos abordados en la modificación propuesta

- a) Descripción del hábitat en donde se desarrolla el estudio, en términos bióticos y abióticos.
- b) Caracterización de los efectos directos e indirectos de la especie a importar sobre el ecosistema acuático.
- c) Sistema de monitoreo preventivo de las variables sanitarias y ecológicas

Una vez evaluadas y analizadas comparativamente las propuestas, ello permitió identificar las principales ventajas y desventajas de cada una, y establecer un ranking de las propuestas que fueron sometidas a evaluación, a fin de obtener su posición respecto a las otras, acorde a la evaluación realizada en función de su factibilidad de implementación.



4.6. Validación de propuestas de modificación al actual proceso de primera importación de especies exóticas a través del taller de expertos.

Una vez generada la evaluación y análisis comparativo de las propuestas, que consideró los aspectos abordados en anterioridad, se convocó a un taller de expertos vía telemática (**Anexo 3**), con la finalidad de presentarles las propuestas de modificación a la actual normativa, y discutir las a fin de generar consenso y obtener las recomendaciones entregadas por parte de los asistentes.

Esta actividad consideró la participación de representantes de la autoridad sectorial de la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura, del Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura, de representantes de las empresas que elevaron solicitudes de primera importación de especies hidrobiológicas, de las universidades y finalmente representantes del Instituto de Fomento Pesquero. Mayores detalles al respecto se entregarán en la sección de resultados del presente documento.

4.7. Evaluación de la factibilidad técnica de las propuestas de modificación al actual proceso y estudios asociados a la primera importación de especies exóticas.

4.7.1 Evaluación de factibilidad técnica

Una vez que las propuestas de modificación fueron validadas a través del panel de expertos, se procedió a evaluar la factibilidad técnica para conseguir las mejoras y/o modificaciones que se desean implementar en la actual normativa. Para dar cumplimiento a ello, se plantearon una serie de preguntas tendientes finalmente a poder identificar y determinar la existencia de falencias metodológicas, de procedimientos y/o tecnológicas de la actual normativa, y determinar el grado de adaptación a las modificaciones propuestas.

Para ello, se confeccionó una tabla (**Tabla 1**), donde se procedió a evaluar cada propuesta en función de las interrogantes definidas, a fin de poder determinar el nivel de accesibilidad de los usuarios y/o interesados en realizar solicitudes de primera importación de especies hidrobiológicas al país.



Tabla 1.

Interrogantes evaluadas en el análisis de factibilidad técnica de la implementación de las propuestas de modificación al actual reglamento

Interrogante	Propuesta N° 1	Propuesta N° 2	Propuesta N° 3	Propuesta N° 4
¿Cuál es la falencia identificada en el actual proceso de importación?				
¿Cuál es el argumento para su incorporación directa a la normativa actual o vinculado a través de algún otro instrumento normativo?				
¿Cuál es el grado de adaptación de las modificaciones propuestas a la normativa actual?				
¿Las modificaciones sugeridas, referidas a aspectos técnicos y de laboratorio, se encuentran presentes en Chile?				
¿Cuál es el nivel de acceso de los usuarios a estas modificaciones técnicas?				

4.7.2. Evaluación de factibilidad económica de las propuestas de modificación al actual proceso y estudios asociados a la primera importación de especies exóticas.

Se efectuó la evaluación económica de las propuestas de modificación al actual proceso de primera importación de especies exóticas, identificando los costos involucrados en su implementación.

El estudio técnico previo permitió la identificación del proceso de flujo lógico de las actividades asociadas a las solicitudes de primera importación de especies exóticas, y que apliquen en los estudios sanitarios (ensayos de cohabitación) con efectos de impacto ambiental. Al proceso actual caracterizado, se incorporaron los procesos propuestos nuevos.

Se identificaron las actividades y procesos que implican costos incrementales al proceso actual de solicitudes de primera importación de especies exóticas que impliquen estudios sanitarios, sobre la base de las propuestas de modificación presentadas.

Al respecto, dentro del proceso actual participan el solicitante de la autorización de primera importación, así como los representantes del Estado (Subsecretaría de Pesca y Acuicultura) que reciben dicha solicitud, la analizan, generan informes y toman una decisión final.



Identificaci3n de costos.

Se identificaron los costos asociados a la propuesta de modificaciones al actual proceso de primera importaci3n de especies ex3ticas, que constituyen recursos que se deber3n utilizar para su materializaci3n ya sea en etapas de dise1o, ejecuci3n y/o operaci3n. Entre los procesos que representan costos incrementales se consideraron los nuevos costos en servicios de terceros y de certificaciones externas.

Cuantificaci3n de los costos.

En este proceso se asignaron unidades de medida a los costos identificados en el punto anterior.

Valorizaci3n de costos.

Se realiz3 la valorizaci3n de los costos identificados utilizando precios de mercado.

De esta forma, con la informaci3n resultante de la identificaci3n, cuantificaci3n y valorizaci3n de los costos, se obtuvieron los costos totales asociados a la implementaci3n de nuevas metodolog3as y/o procedimientos relacionados con la ejecuci3n de ensayos de laboratorio o de cohabitaci3n incluidos en el D.S. N3 730/95, y que se refiere al reglamento de internaci3n de especies hidrobiol3gicas de primera importaci3n.



Objetivo específico 3: *Proponer nuevas técnicas y/o metodologías, análisis estadísticos y diseños muestrales a utilizar en el marco de la evaluación ambiental del D.S. N° 730/95, y que consideren las características de los distintos tipos de especies que pueden ser internadas, además de las instalaciones donde serían desarrolladas dichas actividades, incluyendo una estimación de los costos de implementación.*

4.8 Diseño y elaboración de nuevas propuestas metodológicas para el proceso de primera importación de especies exóticas.

4.8.1. Propuestas metodológicas para el proceso de primera importación de especies exóticas.

Teniendo en cuenta la información recopilada y analizada en el objetivo específico 1, se identificaron nuevas metodologías y/o técnicas fueron incluidas en el marco de la evaluación ambiental del D.S. N° 730/95, durante el proceso de primera importación de especies hidrobiológicas exóticas. Para el diseño de las propuestas, se tuvo en consideración el esquema del proceso de análisis de riesgo asociado a las importaciones de animales acuáticos, como es sugerido por la OMSA (OIE 2021), ajustados a los requerimientos de una primera importación, enfocándose así en la identificación y la evaluación del riesgo.

Asimismo, a diferencia de lo sugerido por la OMSA en el Código Sanitario para los Animales Acuáticos (OIE 2021), el cual se orienta específicamente a la gestión del riesgo sanitario, las nuevas propuestas generadas incorporaron al menos cuatro de las siete categorías claves del riesgo en acuicultura definidas por Arthur et al. en 2009: riesgo sanitario (patógenos), ecológico, genético y ambiental (abajo descritas). De esta manera, las nuevas metodologías generadas buscaron identificar y evaluar los efectos directos e indirectos de la primera importación de especies hidrobiológicas exóticas, sobre las especies silvestres y de cultivo establecidas en el área geográfica de destino de las mismas.

Asimismo, las nuevas propuestas (incluyen metodologías y técnicas) generadas tuvieron en consideración aspectos como: la infraestructura y el equipamiento necesario para su ejecución; las técnicas a realizar durante la evaluación de impacto ambiental; los análisis estadísticos (o modelos ecológicos), el número mínimo de replicas técnicas y biológicas necesarias para evaluar de forma confiable los resultados obtenidos; entre otros aspectos metodológicamente relevantes que pudieran ser reconocidos a partir de la revisión de la literatura realizada.



4.8.2. Categorías claves de la evaluación de riesgo.

Las nuevas propuestas que pudieran ser incluidas durante el proceso de primera importación de especies hidrobiológicas exóticas, a raíz de la evaluación ambiental del D.S. N° 730/95, pudieron considerar diferentes categorías claves del riesgo en acuicultura, en función del atributo de la especie que se busca abordar:

Riesgo sanitario.

Esta categoría buscó evaluar el riesgo que, de forma inadvertida, el desplazamiento de la especie a importar de lugar a la propagación de plagas y/o patógenos a nuevas zonas geográficas donde pueden afectar negativamente al desarrollo y crecimiento, tanto de la misma especie de interés, como de los otros recursos pesqueros (incluida la acuicultura) y otros organismos nativos. El transporte de invertebrados vivos (por ejemplo, moluscos, artrópodos) y vertebrados (por ejemplo, peces y anfibios) pueden potencialmente transferir agentes patógenos a las poblaciones cultivadas y silvestres en el país receptor, por lo que en es indispensable la evaluación de este riesgo, principalmente en primeras importaciones (Arthur et al., 2009).

Riesgo ecológico.

La evaluación de riesgo ecológico se caracterizó por intentar conocer la probabilidad de que la especie exótica se establezca en regiones donde ello no ha ocurrido históricamente y por lo tanto no ha evolucionado en dicho ambiente. Las especies exóticas o especies introducidas, representan actualmente una de las principales amenazas para la biodiversidad en los ambientes acuáticos.

Dentro de los impactos a considerar en esta categoría se representaron aquellos que, de forma directa o indirecta, afectan a las especies o poblaciones ya establecidas en el lugar, por ejemplo: depredación de estas especies, competencia por recursos o hábitat, alteración del hábitat, efectos tóxicos sobre estas especies, entre otros (Hewitt, 2003). Adicionalmente, el riesgo ecológico consideró diferentes características de los organismos, como: su ciclo de vida, fertilidad, fecundidad, el rango de temperaturas en las que habita, y los diferentes rangos de otras características abióticas necesarias para su subsistencia (pH, salinidad, nutrientes, profundidad, área de movilidad, entre otras), entre otras categorías ecológicamente relevantes.

Riesgo genético.

Esta categoría de evaluación de riesgo integró en la evaluación el impacto genético potencial de las especies introducidas y transferidas en relación con la mezcla de poblaciones cultivadas y silvestres



(por ejemplo, hibridación, introgresión, pérdida de adaptación local), así como con la liberación de organismos modificados genéticamente (Hellerman, 2008).

Riesgo ambiental.

A diferencia del riesgo ecológico, la evaluación del riesgo ambiental planteó las diferentes amenazas potenciales una vez establecidas poblaciones de la especie exótica, ya sea en las estaciones de cultivo o en los sistemas naturales a donde están ingresando. Dentro de estas amenazas se incluyen: el aumento de la carga orgánica e inorgánica debido a materia sólida depositada al agua (residuos de alimento y/o fecas), alteración de hábitat bentónico, reducción de niveles de oxígeno, cambios en la estructura y composición comunitaria nativa debido a posibles escapes, entre otros (GESAMP, 2008). Si bien, el efecto del riesgo ambiental suele ser sutil y acumulado, lo que dificulta su predicción y evaluación (Arthur, 2009), se generarán proxies que permitan hacer una estimación certera del posible impacto ambiental que podrían generar organismos exóticos a un nuevo ambiente, ya sea por el establecimiento de centros de producción o por su liberación al ambiente natural (Nash et al., 2008).

4.9. Análisis de fortalezas y debilidades de nuevas propuestas metodológicas para la primera importación de especies exóticas.

Una vez generadas las nuevas propuestas metodológicas, se procedió a realizar un análisis de comparación entre ellas, con la finalidad de reconocer las fortalezas y debilidades de las mismas. Para ello, se caracterizaron las propuestas en función de las categorías de riesgo descritas, y se generaron subcategorías en cada una de ellas. Para cada categoría y subcategoría, se describieron las “fortalezas” y “debilidades” basado en indicadores asociados al grado en que la nueva metodología propuesta permite identificar los efectos directos o indirectos de la especie de primera importación, sobre aquellas ya establecidas en los ecosistemas acuáticos.

A partir de los análisis de fortalezas y debilidades, se generó un sistema de puntajes que permitió desarrollar un ranking de las nuevas propuestas metodológicas para la primera importación de especies hidrobiológicas que pudieran ser incorporadas en la evaluación ambiental enmarcada en el D.S. 730/95.



4.10. Validación de nuevas propuestas metodológicas a través del taller de expertos.

Las diferentes nuevas propuestas generadas en el punto 4.9, fueron sometidas a un taller de expertos, el cual fue el mismo desarrollado en el punto 4.6.

Es importante destacar, que este taller de expertos contó con la participación de autoridades sectoriales con competencias reguladoras en esta materia, como lo son la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura (Subpesca) y el Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura (Sernapesca), entre otros.

De este taller, se obtuvieron las conclusiones y recomendaciones de los expertos, las cuales fueron incorporadas en las nuevas propuestas presentadas para su actualización.

4.11. Evaluación de factibilidad técnica y económica de las nuevas propuestas metodológicas al proceso y estudios asociados a la primera importación de especies exóticas.

Con el objetivo de evaluar las nuevas propuestas metodológicas de los procesos y estudios requeridos para la primera importación de especies hidrobiológicas, se realizó un análisis de factibilidad técnica y económica, que luego será presentado al grupo de expertos previamente identificados.

4.11.1. Evaluación de factibilidad técnica de la propuesta de nuevas metodologías para el proceso y estudios asociados a la primera importación de especies exóticas.

Una vez que las nuevas propuestas metodológicas de estudios fueron validadas a través del panel de expertos, se procedió a evaluar la factibilidad técnica para implementar estas nuevas metodologías en la actual normativa de internación de especies hidrobiológicas de primera importación. Para dar cumplimiento a ello, se plantearon una serie de preguntas vinculadas a poder identificar (1) la capacidad existente en el país para poder implementar la infraestructura requerida para la correcta ejecución los estudios, (2) el acceso existente en el país al equipamiento y tecnologías requeridas en su implementación, y finalmente (3) la disponibilidad de personal calificado que se requiera para tal efecto.

Para ello, se confeccionó una tabla (**Tabla 2**), donde se procedió a evaluar cada una de las nuevas metodologías propuestas de estudio. Mayores detalles se presentan a continuación.



Tabla 2.

Interrogantes evaluadas en el an3lisis de factibilidad t3cnica de la implementaci3n de las nuevas metodolog3as propuestas de estudios al actual reglamento.

Interrogante	Propuesta N° 1	Propuesta N° 2	Propuesta N° 3	Propuesta N° 4
1- ¿Existe en Chile la capacidad de implementar la infraestructura requerida para la ejecuci3n de la metodolog3a propuesta?				
2- ¿Existe en Chile el acceso a la tecnolog3a y/o el equipamiento necesario para la implementaci3n de la metodolog3a propuesta?				
3- ¿Existe en Chile el personal calificado, necesario para la implementaci3n de la metodolog3a propuesta?				

4.11.2. Evaluaci3n de factibilidad econ3mica de la propuesta de nuevas metodolog3as para el proceso y estudios asociados a la primera importaci3n de especies ex3ticas.

Se efectu3 una evaluaci3n econ3mica de los cambios normativos propuestos, respecto de sus impactos directos como indirectos.

El modelo general utilizado fue el descrito por Renda *et al.*, (2013) para la identificaci3n de costos y beneficios de las modificaciones regulatorias a evaluar, donde se dividen los impactos en seis 3reas principales a saber (**Figura 1**):

- a) Costos directos (3rea 1): Incluye los costos de cumplimiento. Los costos de cumplimiento directo incluyen, entre otros, cargos regulatorios, que incluyen tarifas, grav3menes, impuestos, etc., los costos cumplimiento sustantivo, que abarcan las inversiones y gastos que deber3n enfrentar las empresas y ciudadanos para cumplir con obligaciones sustantivas o los requisitos contenidos en la norma legal; y, las cargas administrativas que soportaran las empresas, ciudadanos, organizaciones de la sociedad civil y autoridades p3blicas como resultado de las actividades administrativas realizadas para cumplir con las obligaciones incluidas en las normas legales.
- b) Costos de aplicaci3n (3rea 2): Se refieren a las fases claves del ciclo de una nueva norma o ley, como lo es el seguimiento, cumplimiento y la sentencia o fallo final. Estos costos en



muchas ocasiones se minimizan en las evaluaciones de impacto ex ante, dado que los encargados de hacer cumplir la ley y los tribunales (u otros jueces) muestran diferentes niveles de eficacia entre diferentes países y sistemas legislativos, no obstante, son importantes en reducir los costos directos (área 1).

- c) Costos regulatorios indirectos (área 3): Se refieren a los costos incurridos en ámbitos o mercados relacionados o experimentados por consumidores, gobierno agencias u otras partes interesadas, pero que no están bajo el alcance directo de la regulación. Estos costos suelen transmitirse mediante cambios en los precios y/o disponibilidad y/o calidad de los bienes o servicios producidos en el sector regulado.

Se incluyeron en estos costos los llamados "costos indirectos de cumplimiento", es decir, costos relacionados con el hecho de que otras partes interesadas tienen que cumplir con la legislación; los costos relacionados con sustitución (por ejemplo, dependencia de fuentes alternativas de suministro); los costos de transacción y, los impactos negativos en el funcionamiento del mercado, como la reducción de la competencia, o acceso al mercado, o la reducción de la innovación o la inversión.

La cuantificación de costos totales de la implementación de la modificación normativa estuvo dada por la siguiente fórmula:

$$\text{Costo total} = \text{Costo directo} + \text{Costo de aplicación} + \text{Costo indirecto}$$

Por su parte, de ser posible y de acuerdo con los tipos de propuestas generadas, se realizó una evaluación de beneficios cualitativa con las siguientes categorizaciones:

- a) Beneficios directos (área 4):
- Aumento del bienestar de las personas, que abarca mejoras en la salud, el medio ambiente y la seguridad; y
 - Mejoras en la eficiencia, que incluyen, en particular, ahorros de costos, pero también aumento en la disponibilidad de información, y mejora de productos y diversificación de servicios para los usuarios o consumidores finales.

b) Beneficios indirectos (área 5):

- Efectos de “desborde” o “excedente”, relacionados con el cumplimiento de las normas legales por parte de terceros (denominados “beneficios indirectos de cumplimiento”);
- Beneficios macroeconómicos amplios, incluidas mejoras del PIB, mejoras de productividad, mayores tasas de empleo, etc.; y
- Otros beneficios no monetizables, como la protección de derechos, cohesión social, estabilidad nacional e internacional, etc.

Impactos finales (área 6):

Corresponde a una variedad más amplia de objetivos regulatorios que el simple cálculo de los beneficios netos para la justificación de la acción en la regulación, y conduce a la medición de los efectos distributivos y, de manera más general, a resultados más subjetivos. Por otro lado, se basa en el desarrollo de nuevas metodologías denominadas "medición del bienestar subjetivo" o "métricas de felicidad", que buscan evitar algunas de las deficiencias metodológicas del costo-beneficio clásico, como depender de los ingresos como un sustituto de la felicidad, tratando de medir este último directamente. Por la especificidad de los cambios normativos propuestos, y lo acotado de su eventual impacto, éstos no se consideraron relevantes de mencionar en la presente evaluación.

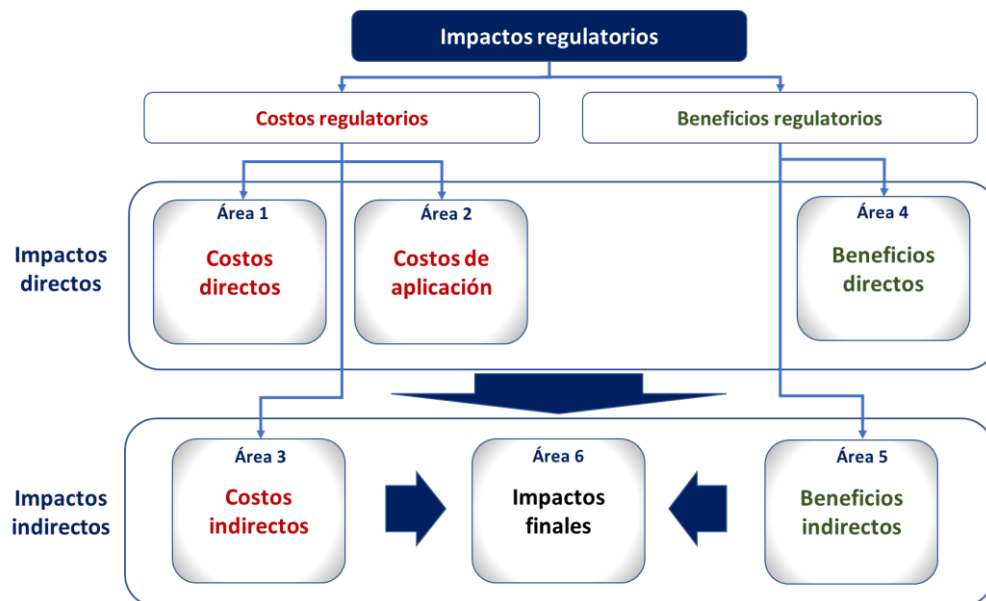


Figura 1.
Diagrama de costos y beneficios regulatorios (adaptado de Renda *et al.*, 2013).



5. RESULTADOS

Objetivo específico 1: Revisar, recopilar y analizar la información bibliográfica existente (proyectos, normativas, etc) tanto nacional como internacional sobre pruebas de laboratorio o ensayos de cohabitación utilizados en la evaluación sobre la internación de especies hidrobiológicas exóticas para cultivo.

5.1. Revisión y análisis de la información bibliográfica asociada al proceso y estudios requeridos para la primera importación de especies exóticas.

A continuación, se presentan los resultados de la búsqueda y análisis realizados, de antecedentes internacionales y nacionales relacionado con las regulaciones, normativas, reglamentos y decretos que aplican a la internación de especies hidrobiológicas exóticas de primera importación, y a la revisión de la información bibliográfica existente relacionada con estudios ejecutados en el marco de la internación oficial de especies hidrobiológicas.

5.1.1 Solicitud de primera importación.

En relación al requerimiento formal realizado a la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura de las solicitudes de primera importación de especies hidrobiológicas exóticas realizadas por peticionarios, que contaran o no con Estudios Sanitarios con Efectos de Impacto Ambiental (ESEIA), con fecha 14 de febrero se recepciona un correo y carpeta electrónica conteniendo la información de solicitudes de primera importación realizadas desde el año 2015 al 2021. Estas reunieron un total de 47 solicitudes de primera importación, siendo un 17% de estas asociadas a algas, un 29,8% a crustáceos, un 4,3% a moluscos, siendo la mayoría de las solicitudes realizadas (48,9%), correspondientes a peces.

Mayor análisis de la información y caracterización del proceso asociado a las solicitudes de primera importación se presenta en el numeral 5.3.1 de la presente sección de resultados.



5.1.2 Análisis de las regulaciones y normativa internacional.

➤ **Australia**

Como consecuencia de la búsqueda de antecedentes relacionados a leyes y normas vinculadas a la primera importación de especies en Australia, fue posible obtener los siguientes documentos.

- Environment Protection and Biodiversity Conservation Act, 1999 (No. 91 de 1999, compilación 56, registrada el 19 de abril de 2021).
- Regulation 9A.07. Environment Protection and Biodiversity Conservation Regulations, 2001 (Statutory Rules No. 181, 2000, registrada el 1 de septiembre de 2020).
- Términos de referencia para preparación del “Draft assessment report and application to amend the List of Specimens taken to be Suitable for Live Import (Live Import List)”.
- Application to amend the List of Specimens taken to be Suitable for Live Import (Live Import List) del Ministerio de Agricultura, Agua y Ambiente.

Environment Protection and Biodiversity Conservation Act, 1999.

De la revisión del documento, es posible identificar los siguientes objetivos del acta:

- a) Proveer la protección del medio ambiente, especialmente en aquellos aspectos del medio ambiente que son asuntos de importancia ambiental nacional; y
- b) Promover el desarrollo ecológicamente sostenible a través de la conservación y el uso ecológicamente sostenible de los recursos naturales; y
- c) Promover la conservación de la biodiversidad; y proveer para la protección y conservación del patrimonio; y
- d) Promover un enfoque cooperativo para la protección y gestión del medio ambiente que involucre a los gobiernos, la comunidad, los terratenientes y los pueblos indígenas; y
- e) Ayudar en la implementación cooperativa de las responsabilidades ambientales internacionales de Australia; y
- f) Reconocer el papel de los pueblos indígenas en la conservación y el uso ecológicamente sostenible de la biodiversidad de Australia; y
- g) Promover el uso del conocimiento de los pueblos indígenas sobre la biodiversidad con la participación y en cooperación con los propietarios del conocimiento.



En particular, y en relación con la materia estudiada, en el Capítulo 4, “Environmental assessments and approvals” (Evaluaciones y aprobaciones ambientales), se aborda la evaluación y aprobación de acciones que la Parte 3 prohíbe sin aprobación (acciones controladas). (No se ocupa de las acciones que un acuerdo bilateral declara que no necesitan aprobación).

Adicionalmente, indica los procesos que deben ser sometidos a aprobación y las sanciones y casos cuando ello aplica. El Acta es la ley general de la que se derivan las regulaciones específicas.

Regulation 9A.07. Environment Protection and Biodiversity Conservation Regulations, 2001.

La presente regulación se desprende del Acta previamente citada, y entrega los detalles de las materias a regular. En particular, en su Parte 9A “International movement of wildlife specimens” (Movimiento internacional de especímenes de vida silvestre), se indican las prohibiciones y regulaciones de acciones que afecten a especies nativas en áreas de la Commonwealth. Para efectos de primera importación de una especie, se debe solicitar una enmienda de la lista oficial de especies autorizadas para importación. (9A.07, Application for amendment of list of specimens suitable for live import).

Términos de referencia y solicitud de modificación de la lista de especímenes considerados aptos para la importación viva.

Para efectos de primera importación, y cumplir la ley y regulación específica previamente descrita, debe seguirse los términos de referencia y generar la respectiva solicitud de acuerdo a los siguientes requerimientos.

1. Proporcionar información sobre la taxonomía de las especies.
2. Proporcionar información sobre el estado de la especie bajo la Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres (CITES).
3. Proporcionar información sobre la ecología de la especie.
4. Proporcionar información sobre la biología reproductiva de la especie.
5. Proporcionar información sobre si esta especie ha establecido poblaciones silvestres y, de ser así, dónde se encuentran esas poblaciones.
6. Proporcionar información y los resultados de cualquier otra evaluación de riesgo ambiental realizada sobre la especie, tanto en Australia como en el extranjero, incluidos los análisis de riesgo de importación realizados.



7. Evaluar la probabilidad de que la especie pueda establecer una población reproductora en el medio ambiente australiano en caso de que alguna vez sea liberada del control humano efectivo.
8. Proporcionar una evaluación exhaustiva del impacto potencial de la especie en caso de que establezca poblaciones salvajes en Australia.
9. Indicar qué condiciones o restricciones, si las hubiere, podrían aplicarse a la importación de la especie para reducir cualquier potencial de impacto ambiental negativo.
10. Proporcionar un resumen de los tipos de actividades para las que se puede utilizar el espécimen si se importa a Australia.
11. Proporcionar directrices detalladas sobre la forma en que las especies deben conservarse, transportarse y eliminarse de acuerdo con los tipos de actividad para los que se pueden utilizar las especies si se importan a Australia.
12. Proporcionar información de la especie, respecto de todos los demás controles legales estatales y territoriales de la Commonwealth.

Con estos antecedentes se debe completar la solicitud respectiva de modificación de la lista de especímenes considerados aptos para la importación viva. Tanto los cuerpos normativos como el formato de solicitud pueden revisarse en detalle en el **Anexo 4**.

➤ **Estados Unidos de América.**

Como resultado de la búsqueda efectuada en línea, se identificaron normativas que regulan la solicitud de primera importación de especies hidrobiológicas no nativas a Estados Unidos de América (EUA), tanto a nivel federal como a nivel estatal, en donde cada estado tiene además regulaciones específicas.

Los documentos revisados son los siguientes:

- Código de Regulaciones Federales (Título 9, Capítulo I, Subcapítulo D), parte 93 “Importación de ciertos animales, aves, peces y aves de corral, y ciertos productos de animales, aves y aves de corral; requisitos para medios de transporte y contenedores de transporte”, Subparte I “Aquatic Animals Species”. Versión actualizada al 2 de marzo de 2022.
- Regulación del estado de California.
- Regulación del estado de Florida.
- Regulación del estado de Utah.

Regulación Federal Título 9 Aquatic Animals Species.



Esta regulación federal aborda las restricciones generales y excepciones aplicables a peces vivos, ovas fertilizadas o gametos importados a EUA. Por otro lado, detalla los puertos designados para la importación de estos animales y productos biológicos, así como los procesos que deben ser seguidos por quienes deseen efectuar importaciones al territorio nacional. Por otro lado, explicita que todos los peces vivos, ovas fertilizadas y gametos de especies susceptibles a la enfermedad Viremia Primaveral de la Carpa (SVC) que se importen desde cualquier región del mundo, deben ir acompañados de un certificado de salud emitido por un veterinario de planta de la autoridad nacional del país exportador, o emitido por un certificador oficial y visado por la autoridad competente de ese país.

En relación a la vigilancia de enfermedades, indica que todos los peces vivos, ovas fertilizadas o los gametos deben cumplir con las siguientes condiciones para ser elegibles para la importación a los Estados Unidos:

- 1) Los peces vivos, ovas fertilizadas o gametos deben ser originarios de una región o establecimiento que lleve a cabo un programa de vigilancia de SVC bajo la supervisión de la autoridad competente.
- 2) La región o establecimiento debe demostrar que está libre de SVC a través de un historial de salud continuo de al menos 2 años, respaldado por pruebas de laboratorio realizadas por un centro de detección de patógenos aprobado para ensayos virales de SVC por la autoridad competente.
- 3) Las poblaciones de peces susceptibles a SVC en la región o el establecimiento deben analizarse al menos dos veces al año, con al menos 3 meses entre las pruebas y en momentos o en condiciones ambientales que facilitarían la detección del virus de la SVC, si estuviera presente.

Respecto del transporte, se indica que todos los peces vivos, ovas fertilizadas y gametos deben enviarse a los Estados Unidos en contenedores nuevos o en contenedores usados que se hayan limpiado y desinfectado de acuerdo con esta sección. Asimismo, se indica que el importador o su agente debe presentar los siguientes documentos al recaudador de aduanas para uso de la autoridad veterinaria del puerto:

- 1) todos los permisos, certificados u otra documentación requerida por esta subparte; y
- 2) dos copias de una declaración que indique el puerto de entrada, el nombre y la dirección del importador, el nombre y la dirección del corredor, el origen de los peces vivos, huevos fertilizados o gametos, el número, especie y el objeto de la importación, el nombre de la persona a quien se entregarán los peces y la ubicación del lugar en que se hará dicha entrega



Todos los peces vivos, ovas fertilizadas y gametos de especies susceptibles a SVC importados desde cualquier parte del mundo deben presentarse para su inspección en un puerto de entrada designado. Se debe notificar al veterinario del Animal and Plant Health Inspection Service (APHIS) del puerto, al menos 72 horas antes de la llegada a los Estados Unidos de un cargamento de peces vivos, ovas fertilizadas o gametos de especies susceptibles a SVC. Se le negará la entrada a cualquier envío de especies de peces vivas susceptibles a SVC que el veterinario del puerto determine que presentan signos clínicos compatibles con la infección o enfermedad de SVC, o cualquier envío de peces vivos, huevos fertilizados y gametos de especies susceptibles a SVC que de otro modo no cumplan con los requisitos de esta subparte. Los envíos a los que se deniegue la entrada, a menos que sean exportados dentro de un tiempo fijado en cada caso por el Administrador, y de acuerdo con otras disposiciones que él o ella requiera en cada caso para su manejo, serán dispuestos como el Administrador disponga.

Regulación del estado de California.

La ley estatal exige un “Permiso de Importación” para ingresar la mayoría de las plantas y animales acuáticos vivos. El Departamento de Caza y Pesca (DFG) es cauteloso al emitir dichos permisos. Todas las plantas y los animales acuáticos importados están sujetos a inspección. Las inspecciones logran dos importantes metas: (1) aseguran que solo las especies permitidas ingresen al Estado; y (2) aseguran que todas las plantas y los animales que ingresan al Estado, están libres de enfermedades y parásitos.

El DFG emite un permiso de importación a largo plazo (Formulario FG 786) y otro estándar (Formulario FG 789). Un permiso de importación a largo plazo es válido para múltiples importaciones de un solo proveedor por un año. Un permiso de importación estándar es válido para un solo envío de un solo proveedor. El tipo de permiso que se expide depende de la especie que se importe. Las siguientes importaciones están exentas de los requisitos especiales del Permiso de Importación:

- Mariscos vivos importados para alimento, que no se colocarán en aguas estatales ni se mantendrán en aguas que descargan en aguas estatales.
- Especies tropicales vivas mantenidas completamente en sistemas cerrados bajo techo y utilizadas solo para fines ornamentales/pasatiempos (no utilizadas para comida o cebo).
- Artemias.

Se requieren permisos de importación para cangrejos de río o cualquier otra especie acuática viva si son importados para carnada. Igualmente, se requieren permisos para todos los peces importados para consumo humano y también para todas las especies destinadas a siembras en aguas del Estado.



El detalle de los requerimientos específicos para solicitudes de ambos tipos de permisos puede revisarse en el **Anexo 4**.

Regulación del estado de Florida.

Las regulaciones asociadas a acuicultura e importación de especies no nativas destinadas a estos fines, se encuentra a cargo de “The Florida Fish and Wildlife Conservation Commission's”, y pueden verificarse en las normativas específicas del Florida Administrative Code (F.A.C.) del Departamento de Estado de Florida y los Florida Statutes (F.S.).

En particular la regla 68A-23.008 denominada “Introduction of Non-Native Aquatic Species in the Waters of the State; Provisions for Sale and Inspection of Fish for Bait or Propagation Purpose; Diseased Fish” del F.A.C., contiene las siguientes indicaciones.

“Ninguna persona deberá transportar al estado, introducir o poseer para cualquier propósito que pueda esperarse razonablemente que resulte en la liberación en las aguas del estado, cualquier especie acuática que no sea nativa del estado, sin haber obtenido un permiso de la Comisión, excepto para las especies *Pimephales promelas* y *Xiphophorus variatus*”.

Las especies no nativas restringidas en la regla 68A-23.008, donde las especies acuáticas o híbridos de las mismas listadas (13 especies, ver detalle en regla en **Anexo 4**) pueden poseerse únicamente con el permiso del director ejecutivo.

Antes de la emisión de dicho permiso, el personal de la Comisión puede inspeccionar las instalaciones donde se mantendrán las especies acuáticas restringidas y las aguas donde se pretende utilizarlas para garantizar que existan las medidas de seguridad adecuadas para evitar el escape o la liberación accidental en las aguas del estado.

La Comisión puede emitir permisos para especies acuáticas restringidas sujeto a lo siguiente:

- i. Las especies acuáticas restringidas que se mantienen al aire libre solo se pueden mantener en un cuerpo de agua que tenga el punto más bajo del borde superior de su contenedor, dique, banco o tanque a una altura de al menos un pie por encima de la elevación de inundación determinada para 100 años, por referencias de mapas de elevación emitidos por el Programa Nacional de Seguros contra Inundaciones, Departamento de Vivienda y Desarrollo Urbano de EUA. Dicho cuerpo de agua no deberá tener descarga de agua o deberá estar construido con un sistema de barrera para peces diseñado para evitar el escape de peces adultos, peces juveniles u ovas de peces en el efluente de agua descargado de la



propiedad del tenedor del permiso. Dicho cuerpo de agua también será inaccesible al público.

- ii. Las especies acuáticas restringidas que se mantienen en interiores solo se pueden mantener en sistemas de cultivo que no tengan descarga de agua, que tengan una descarga de agua a través de un sistema de drenaje cerrado u otro sistema diseñado para evitar la descarga de agua que contenga peces adultos y juveniles u ovas de peces de la propiedad del tenedor del permiso.

Se pueden otorgar permisos para investigación o para instalaciones comerciales de importación o exportación o acuarios públicos involucrados en esfuerzos educativos. No se emitirán permisos para exhibición en acuarios privados.

Cualquier persona dedicada a la acuicultura que posea un certificado de registro válido del Departamento de Agricultura y Servicios al Consumidor emitido de conformidad con el Capítulo 597, FS, y que esté autorizado a poseer especies acuáticas restringidas de conformidad con dicho capítulo está exenta del permiso de acuerdo al requisito en el párrafo 68A-23.008(2)(a) del F.A.C.

La regla 68A-23.008 indica que ninguna persona podrá importar, vender, poseer o transportar en el Estado, cualquiera de las siguientes especies acuáticas vivas o sus híbridos (especies acuáticas no autóctonas prohibidas):

- Catfish eléctricos africanos (familia *Malapteruridae*, todas las especies).
- Peces tigre africanos (subfamilia *Hydrocyninae*, todas las especies).
- Catfish que respiran aire (familia *Clariidae*, todas las especies excepto *Clarias batrachus*).
- Catfish candiru (familia *Trichomycteridae*, todas las especies).
- Anguilas eléctricas de agua dulce (familia *Electrophoridae*, todas las especies).
- Lampreas (familia *Petromyzonidae*, todas las especies).
- Pirañas y pirambebas (subfamilia *Serrasalminae*, todas las especies).
- Snakeheads (familia *Channidae*, todas las especies).
- Tilapias [(géneros *Tilapia*, *Sarotherodon* y *Oreochromis*) todas las especies excepto *Tilapia (Oreochromis) aurea*, *T. (O.) hornorum*, *T. (O.) mossambica* y *Tilapia (O.) nilotica*].
- Trahiras o peces tigre (familia *Erythrinidae*, todas las especies).
- Catfish airsac (familia *Heteropneustidae*, todas las especies).
- Pez luna verde (*Lepomis cyanellus*).



- Cangrejo de río australiano (Género *Cherax*, excepto *Cherax quardricarinatus* para la acuicultura en estanques).
- Mejillones cebra (*Dreissena polymorpha*).
- Cangrejos manopla (género *Eriocheir*), o cualquier parte del mismo.

Se pueden hacer excepciones limitadas a esta subsección mediante un permiso para exhibiciones en grandes acuarios públicos o para investigación, siempre que se cumplan los requisitos de máxima seguridad aprobados por la Comisión. Los permisos de investigación de especies acuáticas prohibidas estarán sujetos a ciertas regulaciones, entre otras, dicho permiso de investigación expirará a los 12 meses de la fecha de emisión. La solicitud del permiso de investigación deberá ser acompañada de una propuesta detallada de la investigación y para la renovación del permiso, se deberá entregar un reporte anual previo a la generación de una nueva autorización.

Mayores detalles de estas regulaciones pueden verificarse en el **Anexo 4**

Regulación del estado de Utah.

La importación de animales acuáticos o productos de acuicultura en el estado de Utah se rige por el código R58-17-13. Para importar animales acuáticos vivos o sus gametos a este estado se requiere un permiso de entrada oficial. Este permiso es adicional al Certificado de Registro (COR) para la operación de la instalación o según lo especificado en el reglamento R58-17-4. El permiso de entrada se puede obtener sin cargo comunicándose con el Programa de Salud de Peces del Departamento y proporcionando la siguiente información:

- 1) Nombre, dirección, número de teléfono y número COR del importador.
- 2) Especies, tamaño y/o número de animales acuáticos a importar.
- 3) Nombre y número de aprobación sanitaria de origen, origen de los animales acuáticos, historial de transferencia y fecha aproximada de envío.
- 4) Para envíos internacionales o un animal con origen internacional, el importador debe obtener un certificado de inspección veterinaria de la fuente que indique un registro negativo de pruebas realizadas por los laboratorios de referencia de la OMSA para patógenos prohibidos de conformidad con R58-17-15(D) (2) y (3), un registro negativo de otros patógenos de la lista de la OMSA que afecten a los animales acuáticos que se van a importar, y que no se encuentren especies nocivas conocidas en el cuerpo de agua de origen.

Cada envío de animales acuáticos vivos debe ser autorizado. Se debe enviar una copia del permiso de entrada a la parte solicitante y una copia que debe acompañar el envío. El titular del permiso



permitirá, hasta por dos semanas, para que el Departamento verifique el estado de salud de origen aprobado y verifique el estado de la especie autorizada de conformidad con el reglamento R58-17-5. Todos los envíos de importación de animales acuáticos vivos deben provenir de fuentes que hayan sido aprobadas en materia de salud por el Departamento de conformidad con los reglamentos R58-17-15(A)(2) y (B). El Departamento mantiene una lista de orígenes aprobados, pero la lista no se publica debido a las frecuentes actualizaciones. Se puede obtener información sobre las fuentes actualmente aprobadas comunicándose con el Programa de Salud de Peces del Estado. De manera general, todas las importaciones deben ser especies que hayan sido autorizadas por la Wildlife Board (Junta de Vida Silvestre) y la División de conformidad con los reglamentos R657-3, R657-59-16 y 4-37-105.

➤ **Unión Europea.**

Las entidades encargadas de ver el ingreso de animales vivos a la Unión Europea (UE) es la autoridad sanitaria de cada país miembro, de acuerdo a los requerimientos aprobados en la Comisión Europea por el Departamento de Salud y Seguridad Alimentaria, unidad responsable de la política de la UE en materia de salud y seguridad alimentaria y de supervisar la aplicación de las leyes relacionadas. Para la entrada en la Unión Europea (UE), los requisitos zoonosarios se establecen en reglamentos específicos. Los certificados zoonosarios deben acompañar a todos los animales en su camino hacia la Unión y, en general, estos certificados deben estar firmados por un veterinario oficial de la autoridad competente del país de origen no comunitario, que garantice que se han cumplido las condiciones de entrada en la UE.

A su llegada a la frontera de la UE, los animales y los certificados que los acompañan deben ser verificados y controlados por veterinarios oficiales de la UE en puestos de control fronterizos (BCP) designados para cada país miembro. También podrán realizarse controles adicionales de los animales en el destino final. Estos controles fronterizos oficiales en animales y plantas se ejecutan para evitar la introducción intencional de especies exóticas invasoras. Los animales y plantas vivas solo deben entrar en la Unión a través de las entidades de control fronterizo de conformidad con el Reglamento (UE) 2017/625 del Parlamento Europeo y del Consejo, o en los puntos de entrada de conformidad con la Directiva 2000/29/CE (ver **Anexo 4**).

Reglamento (UE) 2017/625 del Parlamento Europeo y del Consejo.

El reglamento establece, entre otros asuntos, normas sobre la adopción de las condiciones que se deben cumplir respecto de los animales y las mercancías que se introduzcan en la Unión procedentes



de un tercer país y los controles que apliquen, según corresponda. En su Artículo 10, asociada a “Operadores, procesos y actividades objeto de controles oficiales”, indica que “En la medida necesaria para establecer el cumplimiento de las normas contempladas en el artículo 1, apartado 2, las autoridades competentes realizarán controles oficiales de los animales y de mercancías en todas las fases de su producción, transformación, distribución y utilización”.

El Artículo 43 “Controles oficiales de los animales y mercancías que se introduzcan en la Unión”, indica que los controles oficiales de los animales y mercancías que se introduzcan en la Unión, se organizarán en función del riesgo. Con el fin de establecer el cumplimiento de las normas las autoridades competentes realizarán con regularidad, en función del riesgo y con la frecuencia apropiada, controles oficiales de los animales y mercancías que se introduzcan en la Unión. En el caso de los animales y mercancías, la frecuencia apropiada de los controles oficiales se determinará teniendo en cuenta:

- a) los riesgos para la salud humana, la salud animal, la sanidad vegetal, el bienestar de los animales o, por lo que respecta a los OMG y los productos fitosanitarios, también para el medio ambiente, que estén asociados con distintos tipos de animales y mercancías;
- b) cualquier información que indique la probabilidad de que pueda inducir a error a los consumidores, en particular sobre la naturaleza, identidad, cualidades, composición, cantidad, duración, país de origen o lugar de procedencia, método de fabricación o producción de las mercancías
- c) el historial de cumplimiento de los requisitos establecidos en las normas a que se refiere el artículo 1, apartado 2, aplicables a los animales o mercancías de que se trate:
 - i. del tercer país y establecimiento de origen o lugar de producción, según corresponda,
 - ii. del exportador,
 - iii. del operador responsable de la partida;
- d) los controles que ya se hayan realizado con los animales y mercancías de que se trate, y
- e) las garantías que las autoridades competentes del tercer país de origen hayan dado respecto al cumplimiento, por parte de los animales y mercancías, de los requisitos establecidos por las normas a que se refiere el artículo 1, apartado 2, o de los requisitos que se reconozcan como al menos equivalentes a aquellos.

Complementariamente, el Reglamento (UE) 2016/429 del Parlamento Europeo y del Consejo, relativo a las enfermedades transmisibles de los animales, en su Artículo 8, respecto del listado de especies, se indica que estas se conformarán de acuerdo al riesgo considerable de propagación de enfermedades específicas de la lista, tomando como base los criterios siguientes:

- a) la susceptibilidad de la población animal en riesgo;



- b) la duración del período de incubación y de infección para los animales en cuestión;
- c) la capacidad de los animales para transmitir esas enfermedades específicas.

Indica que se añadirán a la lista especies de animales o grupos de especies de animales si están afectados o plantean el riesgo de propagación de una enfermedad concreta incluida en la lista, debido a que:

- a) sean susceptibles de contraer una enfermedad concreta incluida en la lista o las pruebas científicas indiquen la probabilidad de que así sea, o
- b) sean especies vectores o reservorios de esa enfermedad o las pruebas científicas indiquen la probabilidad de que así sea.

La Comisión retirará de la lista, mediante actos de ejecución, a especies animales o grupos de especies de animales cuando:

- a) se haya eliminado de la lista de enfermedades la enfermedad en cuestión debido a la cual se incluyó en la lista a la especie animal o al grupo de especies animales en concreto, o
- b) las pruebas científicas indiquen que las especies o grupo de especies en concreto ya no cumplen los criterios recogidos en el apartado

Este Reglamento, indica en su Parte V, Capítulo 1 “Entrada en la Unión de animales, productos reproductivos y productos de origen animal procedentes de terceros países y territorios”, Sección 1, Artículo 229, los requisitos de entrada en la Unión de animales, productos reproductivos y productos de origen animal.

Los Estados miembros permitirán la entrada en la Unión de partidas de animales, productos reproductivos y productos de origen animal desde terceros países o territorios únicamente si esas partidas cumplen los requisitos siguientes:

- a) Proceden de un tercer país o territorio, o bien de zonas o compartimentos concretos de un tercer país o territorio, que figuren en la lista contemplada en el artículo 230, apartado 1, en relación con las especies y categorías de animales, los productos reproductivos o productos de origen animal concretos de que se trate;
- b) Proceden de establecimientos que estén autorizados y figurar en las listas correspondientes cuando se requieran dicha autorización y listado conforme al artículo 233;
- c) Cumplen los requisitos zoonosológicos de entrada en la Unión establecidos en el artículo 234, apartado 1, y en los actos delegados que se adopten con arreglo al artículo 234, apartado 2, cuando se hayan dispuesto tales requisitos para los animales, productos reproductivos y productos de origen animal en cuestión;



- d) Van acompañados de un certificado zoonosanitario y de las declaraciones u otros documentos que se requiera conforme al artículo 237, apartado 1, o las normas adoptadas con arreglo al artículo 237, apartado 4

En su artículo 230, indica que la Comisión podrá establecer, mediante actos de ejecución, listas de terceros países y territorios desde los que se debe autorizar la entrada en la Unión de especies y categorías específicas de animales, productos reproductivos y productos de origen animal basándose en los criterios siguientes:

- a) la legislación en materia de sanidad animal del tercer país o territorio de que se trate y las normas que rigen la entrada en dicho tercer país o territorio de animales, productos reproductivos y productos de origen animal procedentes de otros terceros países y territorios;
- b) las garantías que ofrezca la autoridad competente del tercer país o territorio de que se trate respecto a una aplicación eficaz de la legislación en materia de sanidad animal a la que se hace referencia en la letra a) y a los controles que lleva a cabo para verificar dicha aplicación;
- c) la organización, la estructura, los recursos y las competencias jurídicas de la autoridad competente del tercer país o territorio de que se trate;
- d) los procedimientos de certificación zoonosanitaria en el tercer país o territorio de que se trate;
- e) la situación zoonosanitaria del tercer país o territorio de que se trate, o bien de zonas o compartimentos de dicho país o territorio, en relación con:
 - i. las enfermedades de la lista y las enfermedades emergentes,
 - ii. cualquier aspecto de la salud pública y animal o de la situación medioambiental del tercer país o territorio de que se trate, o bien de zonas o compartimentos de dicho país o territorio,
 - iii. que pueda conllevar un riesgo para la salud pública y animal o la situación medioambiental de la Unión;
- f) las garantías que ofrezca la autoridad competente del tercer país o territorio de que se trate respecto al cumplimiento de las condiciones pertinentes de sanidad animal aplicables en la Unión o la equivalencia de tales condiciones;
- g) la regularidad y la rapidez con las que el tercer país o territorio de que se trate informe sobre la existencia de enfermedades infecciosas o contagiosas en su territorio a la Organización Mundial de Sanidad Animal (OMSA), en particular la información acerca de las enfermedades enumeradas en los Códigos de la OMSA;
- h) los resultados de los controles que haya realizado la Comisión en el tercer país o territorio de que se trate;
- i) cualquier experiencia que se haya tenido en el pasado con ocasión de entradas de animales, productos reproductivos o productos de origen animal desde el tercer país o territorio de que se



trate y los resultados de los controles oficiales que se hayan efectuado de dichos animales, productos reproductivos y productos de origen animal en el punto de entrada en la Unión.

➤ **Reino Unido.**

En relación a la normativa y regulaciones que aplican al Reino Unido, a continuación, se detallan documentos que fueron material de consulta:

- Import of Live Fish (England and Wales) Act 1980.
- The Shellfish and Specified Fish (Third Country Imports) Order 1992
- The Prohibition of Keeping or Release of Live Fish (Specified Species) (England) Order 2014 No 143. River, England.
- AAH2 Form - Authorise and Importer (Official Document)
- The Fish Health Regulations 1997
- The Aquatic Animal Health (England and Wales) Regulation 2009
- The Animals and Animal Product (Import and Export) (Wales) Regulations 2009, No 390 (W.40) Agriculture, Wales.

En lo que respecta al Reino Unido, la regulación de la importación de organismos acuáticos al país se realiza a través del *Centre for Environmental Fisheries and Aquaculture Science* (CEFAS), para lo cual se requiere disponer previamente de una autorización de la Inspección de Sanidad Pesquera, *Fish Health Inspectorate* (FHI) para importar organismos acuáticos, ya sea peces, moluscos o crustáceos vivos, tanto con propósitos ornamentales, de cultivo, de investigación científica como de consumo humano. En este sentido, la FHI es la entidad que verifica que el país de origen del que se están importando los organismos acuáticos esté aprobado y cumpla con los requisitos de certificación sanitaria de los organismos para su importación al Reino Unido.

De este modo, para introducir al Reino Unido o mantener peces o mariscos no nativos, será necesario disponer de una licencia. En términos generales, esta licencia permitirá:

- Introducir peces no nativos en aguas continentales
- Cultivar peces no autóctonos (o aquellos que no existen localmente)
- Mantener o introducir especies no autóctonas controladas de peces de agua dulce, cangrejos de río y langostas.
- Mover peces desde o hacia aguas interiores (ríos, canales)
- Importar pescados o mariscos vivos



Sin embargo, es posible que se requiera más de una licencia o permiso antes de poder internar peces o moluscos al país. En términos generales, las reglas y requerimientos de importación de organismos acuáticos que se deberán seguir, variarán según el país de origen de cada organismo, y si el organismo está cubierto por la Directiva Balai, la Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres (CITES) y el Reglamento de especies exóticas invasoras de la UE.

Será requisito disponer de una licencia para introducir o mantener cangrejos de río no autóctonos. Si desea introducir, retener, mantener o vender cualquiera de las especies de cangrejos de río que se enumeran a continuación, deberá comunicarse con Natural England para obtener una licencia, la cual se podrá solicitar al FHI a través de la aplicación mediante el Formulario CRAY2:

- Cangrejo señal (*Pacifastacus leniusculus*)
- Cangrejo de mejilla espinosa (*Orconectes limosus*)
- Cangrejo de río rojo (*Procambarus clarkii*)
- Cangrejo viril (*Orconectes virilis*)
- Cangrejo jaspeado (*Procambarus fallax f. virginalis* (*Procambarus virginalis*))

En el caso que se desee introducir el cangrejo de río nativo o de garras blancas (*Austropotamobius pallipes*) y el cangrejo de río de garras rojas (*Cherax quadricarinatus*) no se requerirá una licencia siempre y cuando sea para ser mantenidos en acuarios de interior para uso ornamental.

Del mismo modo, se requerirá una licencia (licencia de depósito de langostas) cuando se deseen introducir al país o mantener dentro de 1 milla de las aguas de marea langostas no nativas de los ejemplares langosta americana o canadiense (*Homarus americanus*) y langosta europea (*Homarus gammarus*) (cuando se mantiene con langostas americanas o canadienses).

Import of Live Fish (England and Wales) Act 1980.

En relación al Acta de importación de peces vivos, en su capítulo 27, numeral 1, establece que el Ministro puede por orden, prohibir absolutamente, o excepto bajo una licencia otorgada bajo esta sección, la importación, el mantenimiento o la liberación, en cualquier parte de Inglaterra y Gales, de peces vivos, o huevos vivos de peces de una especie que sea exótica, que estén bajo el orden taxonómico que se detalla en la Orden 2014 N° 143, que prohíbe la mantención o liberación de peces vivos. Además, en su numeral 2, indica que antes de determinar si emitir o no una orden, el ministro consultará tanto la Ley de Medio Natural y Comunidades Rurales de 2006, como al Organismo de



Recursos Naturales de Gales, o bien a cualquier otra persona con la que el ministro considere apropiada la consulta.

The shellfish and Specified Fish Order 1992 No. 3301.

Complementariamente, en la orden 1992 sobre importaciones de organismos acuáticos (moluscos, crustáceos y peces especificados) de terceros países, (*The shellfish and Specified Fish Order 1992 No. 3301*), sección 2, que entró en vigor el 01 de enero de 1993, en su numeral 3, prohíbe la importación de moluscos, crustáceos y peces vivos que no sean de agua dulce, ni peces de la familia del salmón a Gran Bretaña desde terceros países. En este contexto, ninguna persona podrá importar a Gran Bretaña moluscos, crustáceos excepto bajo la autoridad y de acuerdo con las disposiciones de una licencia emitida por el ministro correspondiente, entendiéndose por terceros países, un país o territorio que no sea otro Estado Miembro, el Reino Unido, la Isla de Man, o cualquiera de las Islas del Canal.

The Prohibition of Keeping or Release of LiveFish (Specified Species) (England) Order 2014 No 143. River, England.

Al respecto, existe una Orden No 143 de 2014 (*The Prohibition of Keeping or Release of LiveFish (Specified Species) (England)*) y sus enmiendas, hechas bajo la Ley de Importación de Peces Vivos a Inglaterra y Gales de 1980 que en la sección 2 y 1; respectivamente, señalan que por orden del Ministro ninguna persona puede importar, mantener o liberar ningún pez vivo o huevos vivos de algún pez, que no se nativo de Inglaterra y Gales, que pueda competir, desplazar, depredar o dañar el hábitat de cualquier pez de agua dulce, crustáceos o moluscos, y que pertenezca a un orden taxonómico especificado en la primera columna de la tabla, Parte 1 del Anexo de la Orden No 143 del 2014. El presente requisito no se aplica a aquellos peces no autóctonos que se especifican en la tercera columna de la tabla en la Parte 2 del Anexo, y que corresponden a:

- a) *Cyprinus carpio*
- b) *Carassius auratus*
- c) *Leuciscus idus*
- d) *Oncorhynchus mykiss*

Authorise and Importer (AAH2 Form), Official Document.

Existe un documento oficial del CEFAS (*Form AAH2*) para solicitar autorización para la importación de peces vivos, crustáceos o moluscos a Inglaterra o Gales, el que considera la siguiente información.



- a) Motivo y propósito de la importación. Se podrá requerir tanto una inspección de sitio para importación de especies susceptibles ornamentales de agua fría, y para el consumo humano, como una autorización del CITES, en el caso de especies amenazadas.
- b) Información del solicitante (nombre, dirección, teléfono de contacto, correo electrónico)
- c) Información del sitio (nombre, dirección, teléfonos de contacto, correo electrónico, tipo de instalaciones para el mantenimiento de los organismos (p ej: sistema de recirculación, tipo de estanques, fuente de agua)
- d) Proveedores de los organismos a importar, dirección y país de origen
- e) Organismos acuáticos a importar (Nombre científico y nombre común)

En el caso de introducir o mantener peces, crustáceos o moluscos no nativos, se deberá solicitar una licencia, tanto para mantenerlos y/o cultivarlos, incluyendo langostas y cangrejos, la que podrá ser otorgada, revocada o modificada por parte del Ministro.

Adicionalmente, podrá utilizarse el Formulario AAH1 (*Notification to import live fish and shellfish*), para notificar a la Inspección de Sanidad Pesquera del CEFAS sobre un movimiento (importación) proveniente desde Irlanda del Norte y dependencias de la Corona (Jersey, Guernsey, Isla de Man). Este formulario deberá ser completado y enviado 24 horas previo a cada importación, por lo que el solicitante deberá estar autorizado antes de poder importar.

The Fish Health Regulations 1997.

Por su parte, el Reglamento de Salud de peces en su parte I, numeral 4, indica medidas generales relacionados al transporte de animales de acuicultura. En este sentido establece que:

- 1) la duración del viaje deberá ser tan breve como sea razonablemente posible
- 2) los medios de transporte deberán ser limpiados y desinfectados antes del envío
- 3) en el caso que el transporte de los organismos sea vía terrestre, este deberá asegurar la contención total del agua durante todo el transporte.
- 4) se tomarán todas las medidas razonables para salvaguardar la salud de los organismos durante el transporte, incluyendo el cambio de agua,
- 5) El agua utilizada en el transporte únicamente podrá ser cambiada en instalaciones debidamente aprobadas.

Complementariamente, en el numeral 7 (*Introduction of live Fish, eggs and gametes*) de esta misma regulación, establece que ninguna persona podrá introducir en una zona especificada en la columna (2) desde otro lugar de la Comunidad Europea, cualquier pez, huevos o gametos especificados en la



columna 3, a menos que vayan acompañado de documentos de movimiento válidos en la forma especificada en la columna (4) que confirmen:

- a) que provienen de un área libre de la enfermedad especificada en la columna (5)
- b) cuando un documento de movimiento no requiera que provengan de un área libre de la enfermedad, y cumplan las condiciones establecidas en dicho documento.

Las disposiciones señaladas anteriormente, aplicarán igualmente para la introducción de moluscos vivos, sus huevos y gametos (numeral 9), sin embargo, no se aplicarán en el caso de peces tropicales que sean mantenidos permanentemente en acuarios.

En tanto, respecto de las facultades del Inspector Veterinario (numeral 15) (*Powers of Veterinary Inspector*), establece que sujeto a la regulación 10 de “*Animals and Animal Products (Import and Export) Regulations 1995*” y la regulación 13 de “*Products of Animal Origin (Import and Export) Regulations 1996*”, un Inspector Veterinario deberá tener todas las facultades establecidas en esta regulación para realizar todos los controles y exámenes necesarios para la aplicación del presente Reglamento, y acorde a lo indicado en literal (4) podrá realizar las inspecciones y tomar las muestras que sean necesarias para llevar a cabo las inspecciones sanitarias, los planes de muestreo y los métodos de diagnóstico establecidos por la Directiva 91/67/CEE o la Directiva 95/70/CE

The Aquatic Animal Health (England and Wales) Regulation 2009.

En la Regulación de Salud de animales Acuáticos de 2009, en su Parte 3, numeral 17, que dice relación con requerimientos de certificación, establece que es un delito internar al país cualquier organismo acuático para acuicultura o cualquier producto de animales de acuicultura a Inglaterra o Gales, sino va acompañado de su certificado sanitario en virtud de lo establecido en el artículo 5 de la Decisión 2004/453/EC o del capítulo III o IV del reglamento, y además establece un sistema para la notificación y el control de brotes de enfermedades en animales acuáticos.

The Animals and Animal Product (Import and Export) (Wales) Regulations 2009, N.º 390 (W.40)

En relación al Reglamento de Importaciones y Exportaciones de animales y productos animales la regulación 4, que especifica la legislación en relación al comercio intracomunitario en su Parte 1, sección 8, establece para el caso de los peces, los requisitos de sanidad animal de los animales y productos de la acuicultura de los mismos, para la prevención y control de determinadas enfermedades en los animales acuáticos.



De manera adicional, en el mismo reglamento, en su regulación 16 (Part 1), sección 4 (moluscos) y 5 (peces), se establecen las condiciones zoonosanitarias y requisitos de certificación para la importación de moluscos, sus huevos y gametos, para crianza o consumo humano (*Decisión de la Comisión 2003/804/EC*), y para la importación de peces vivos, sus huevos y gametos, destinados a cultivo, y peces vivos de origen de acuicultura y sus productos destinados a consumo humano (*Decisión de la Comisión 2003/858/EC*); respectivamente.

En este sentido, en relación a la certificación sanitaria para importación de moluscos bivalvos, la Decisión de la Comisión (2003/804/EC), en su Anexo II, sección 7.1(a) señala que todas aquellas granjas que exporten deberán estar registradas por la autoridad competente. De manera adicional, en la sección 7.1(c), señala que se deberá dar cumplimiento también a lo siguiente:

- a) Durante los últimos 2 años se hayan considerado libres de bonamiosis (*Bonamia exitiosus* y *Mikrocytos roughleyi*), marteiliosis (*Marteilia sydneyi*), macrocitososis (*Mikrocytos mackini*), perkinsosis (*Perkinsus marinus* y *P. olseni/atlanticus*), haplosporidiosis (*Haplosporidium nelsoni* y *H. costale*) y síndrome de marchitamiento (*Candidatus Xenohalotis californiensis*).
- b) Que estén sujetas a un programa de monitoreo y muestreo de salud basado en el riesgo o reconocido oficialmente por la autoridad.

En relación a la certificación sanitaria para la importación de peces vivos, sus huevos y gametos, la Decisión de la Comisión (2003/858/EC) en su Anexo II, sección 6.1, igualmente indica que las granjas que exporten peces deberán estar registrados oficialmente por la autoridad competente, y deberán llevar un registro actualizado de los peces vivos, huevos y gametos que ingresen y salgan de la granja. Además, deberán dar cumplimiento a los siguientes requisitos:

- a) Estar sujetas a medidas apropiadas de control de enfermedades, según sea necesario.
- b) Notificar lo antes posible a la autoridad competente, ante cualquier sospecha de las siguientes enfermedades: ISA, EHN, VHS y IHN; y cualquier signo clínico que haga sospechar la presencia de una enfermedad de impacto en la población de peces.
- c) No haber presentado ninguna enfermedad que haya causado un impacto significativo en el stock durante los últimos 6 meses anteriores al despacho, y durante los últimos 2 años ningún caso de las enfermedades ISA y EHN.
- d) No haber introducido durante los últimos 2 años a la granja de origen, previo al despacho, organismos de baja condición sanitaria.

Finalmente, en la sección 7 del Anexo II, se establecen requisitos zoonosanitarios específicos que aplican para los agentes patógenos VHS, IHN, SVC y *Gyrodactylus salaris*.



➤ **Canadá.**

Referente a la normativa y regulaciones que aplican a Canadá, a continuación, se detallan documentos que fueron material de consulta:

:

- Application for permit to import aquatic animals and/or their offal - Canadian Food Inspection Agency
- C.R.C. c. 296 - Health of Animals Regulations,
- SOR/2015-212 - Aquatic Invasive Species Regulations
- Importer Guidance for Aquatic Animal Health Import Quarantine Unit of the Canadian Food Inspection Agency (CFIA) – Canada Government.

En términos generales, acorde a los documentos revisados se puede indicar que, para Canadá, la regulación de la importación de especies acuáticas se realiza por medio de la Agencia Canadiense de Inspección Alimentaria (CFIA), normada por las regulaciones de actividades de acuicultura SSOR/2015-177, en tanto que el Programa Nacional de Salud de los Animales Acuáticos (NAAHP) es la entidad encargada de aplicar los controles a la importación de todos los animales acuáticos a Canadá, con el fin de evitar el ingreso de agentes patógenos y/o enfermedades al país. El requisito de un permiso de importación, un certificado zosanitario visado por el país exportador para importar especies susceptibles u otra documentación que sea solicitada se basa en la susceptibilidad del animal acuático a las enfermedades de interés de Canadá.

Application for permit to import aquatic animals and/or their offal - Canadian Food Inspection Agency.

Existe una solicitud de permiso para importar animales acuáticos y/o sus despojos, donde se establece el término “animal acuático”, que hace referencia a cualquier pez, molusco o crustáceo, o cualquier parte de un pez, molusco o crustáceo en cualquier etapa de su vida, así también como germoplasmas (semén, células germinales de individuos machos o hembras, o material genético tomado desde estas células germinales de esos animales) que pudiese ser sujeto a importación. En este documento, se establece una sección general, donde se especifica el tipo de solicitud que se requiere hacer, el país de origen desde donde proviene el o los organismos, y el país hacia donde se van a exportar, ya sea que corresponda a un solo destino o bien a múltiples destinos. Igualmente considera la información relacionada con la identificación del importador y exportador de los organismos acuáticos. Del mismo modo, considera una descripción del o los organismos que se desea importar (pez, molusco, crustáceo), su nombre científico, estado de vida y uso que se le dará u objetivo de la importación.



Existe un listado de especies de animales acuáticos susceptibles que requieren permisos de importación, donde se especifica los nombres taxonómicos de las especies susceptibles y las enfermedades a las que son susceptibles, tanto para peces, moluscos y crustáceos, el que se encuentra detallado en el repositorio del NAAHP. En este sentido, se permite la importación de especies susceptibles de países que hayan negociado certificados zoosanitarios con la CFIA. La información sobre los requisitos de documentos de importación y los países aprobados para exportar a Canadá se puede encontrar disponible en el Sistema de Referencia de Importación Automatizado (AIRS). Por su parte, cuando la CFIA requiera que los animales acuáticos se sometan a pruebas de detección de enfermedades antes de la importación, se recomienda a la autoridad extranjera que haga referencia a los requisitos de selección de pruebas y muestreo, acorde al tamaño de la muestra y tipo de muestra requerido, tanto para peces, moluscos y crustáceos, acorde a lo estipulado por la Organización Mundial de Sanidad Animal (OMSA).

Para la importación de animales acuáticos no susceptibles, no se requiere un permiso de importación sanitario para el ingreso de los ejemplares a Canadá. En este caso, solo se deberá proporcionar información relacionada al nombre y la dirección tanto del importador como del exportador, antecedentes de la especie como nombre científico y etapa de su ciclo de vida, y antecedentes relativos a la importación propiamente tal como volumen importado, país importador, país de origen del organismo, y si aquellos provienen desde centros de cultivo, centros experimentales o de ejemplares obtenidos del ambiente natural. Por su parte, las especies susceptibles o aquellas especies provenientes de un país extranjero que no puedan certificar el estado de salud de los animales para cumplir con los requisitos de importación de Canadá, o si se desconoce el estado sanitario de los animales (sin certificación del estado sanitario de origen), deberán cumplir un periodo de cuarentena.

Sin embargo, cuando un importador desee importar un producto que no ha tenido un historial previo de importación a Canadá o un producto previamente importado de un nuevo origen, la CFIA realizará una evaluación de riesgo de enfermedades. En este sentido, la Agencia Canadiense de Inspección de Alimentos utilizará la evidencia científica para completar las evaluaciones de riesgo. Las evaluaciones de riesgo para la salud de los animales acuáticos evaluarán los riesgos asociados con la importación de ciertos productos a Canadá, así como el movimiento de ciertos productos dentro de Canadá. Los elementos evaluados por riesgo incluyen:

- Animales acuáticos vivos
- Germoplasma
- Canales y despojos
- Cualquier transporte y/o aguas de retención, incluido el hielo.



Además, también se podrán requerir evaluaciones de riesgo para otras actividades que podrían resultar en la propagación de enfermedades, como la descarga de efluentes de plantas de procesamiento.

Health of Animals Regulation C.R.C. c. 296, Section 190.

El Reglamento de Sanidad Animal, modificado el 01 de junio del 2021, y vigente al 23 de febrero del 2022, establece en su Parte XVI, lo relativo a la importación de organismos acuáticos (*Importation of Aquatic Animals*). En este sentido, en la sección 191, indica que ninguna persona podrá importar un animal acuático incluido en la Lista de especies de animales acuáticos susceptibles, excepto de conformidad con un permiso emitido en virtud de lo establecido en la sección 160 de la presente regulación. (SOR/2010-296, s. 4, SOR/2021-41, s. 6).

Por su parte, en la sección 192, numeral 1, establece que a pesar de lo establecido en la sección 191, un organismo acuático establecido en la lista de especies susceptibles de animales acuáticos puede ser importado sin un permiso, para su uso como mascota si es miembro de alguna de las siguientes especies.

- a) *Barbonymus gonionotus*
- b) *Carassius auratus*
- c) *Colisa lalia*
- d) *Glossogobius giuris*
- e) *Osphronemus goramy*
- f) *Oxyeleotris marmorata*
- g) *Puntius sophore*
- h) *Symphysodon discus*
- i) *Toxotes chatareus*
- j) *Trichogaster pectoralis*
- k) *Trichogaster trichopterus*

En tanto, en la sección 194 hace referencia a la importación de organismos acuáticos no establecidos en la lista de especies acuáticas susceptibles (SOR/2021-41, s. 6), En dicha sección establece que ninguna persona podrá importar un organismo acuático que no esté establecido en la Lista de Especies Susceptibles de animales acuáticos, a menos que vaya acompañado de un documento que sea satisfactorio para un inspector, y que incluya la siguiente información:

- a) Nombre y dirección del exportador



- b) Nombre y dirección del importador
- c) El nombre taxonómico del organismo acuático, la etapa de vida, el número a importar y si hay más de una especie.
- d) El país de origen del organismo o de donde provino el germoplasma, y en el caso de un animal acuático, si nació en cautiverio o en la naturaleza.

En lo referente a las instalaciones de cuarentena, éstas deben ser aprobadas por el CFIA e inspeccionadas previo a la importación, donde se hace una verificación de los procedimientos operativos, la documentación requerida y las condiciones técnicas que deben ser acorde a la importación realizada. Para liberar a los ejemplares de la cuarentena, se deberán aplicar pruebas diagnósticas que aseguren la ausencia de las enfermedades de mayor preocupación para el país y/o hasta que los animales sean eutanasiados y eliminados de forma biosegura, junto con la adecuadas y correcta desinfección de la unidad de cuarentena.

Aquatic Invasive Species Regulations, SOR/2015-121.

Respecto de la regulación que aplica sobre especies acuáticas invasoras, esta establece en su numeral 2, que en relación a las especies acuáticas invasoras para los efectos de la subsección 43(3) de la ley, el detalle de las especies acuáticas invasoras se encuentra listada en la Parte 2 y 3 de la presente regulación. Del mismo modo, en su numeral 6, la regulación establece que está prohibido que cualquier persona importe organismos de alguna de las especies establecidas en la Parte 2 de la lista, incluido material genético capaz de propagar la especie, en el área aplicable establecida en la columna 4 (Parte 2) de la misma regulación. De igual modo, en su numeral 8 establece que está prohibido que cualquier persona transporte organismos y/o material genético capaz de propagar la especie, acorde al detalle de las especies listadas en la Parte 2 de esta regulación, así también como queda prohibido que cualquier persona libere o que participe en cualquier actividad que pueda dar lugar a la liberación de las especies establecidas en la Parte 2, en un cuerpo de agua que sea frecuentado por peces dentro del área aplicable detallada en la columna 7 de la Parte 2 (numeral 9).

Al mismo tiempo, esta regulación, en su sección "*Control and Eradication*", numeral 19 (2) establece el control y erradicación de especies acuáticas invasoras, e indica que el Ministró podrá tomar medidas para prevenir la introducción, propagación, o para controlar y erradicar:

- a) cualquier especie establecida en la Parte 2 de la regulación en aquellas áreas en que está prohibida.
- b) cualquier especie establecida en la Parte 2 o 3 de la lista en una región particular o cuerpo de agua frecuentado por peces donde la especie no es autóctona y puede dañar a los peces, el hábitat de los peces o el uso de los peces.



- c) cualquier especie acuática, distinta de las especies establecidas en la Parte 2 o 3 de la lista, en una región particular o cuerpo de agua frecuentado por peces donde la especie acuática no es autóctona y puede dañar a los peces, el hábitat de los peces o el uso del recurso.

Finalmente, a través del Memorándum D19-8-5, amparado bajo la Ley de Pesca Canadiense (R.S.C. 1985 c. F-14), se informa a los importadores de organismos acuáticos, viajeros, agentes de aduana y proveedores de servicios sobre las prohibiciones y requisitos de importación en virtud de las Regulaciones sobre especies acuáticas invasoras (SOR/2015-121), proporcionando las pautas sobre la importación de especies acuáticas relacionadas directamente con el apoyo de la Agencia de Servicios Fronterizos de Canadá (CBSA). Además, a través de este documento, se brinda información sobre el Programa de Alimentos, Plantas y Animales de la Agencia de Servicios Fronterizos de Canadá, bajo D19-1-1 para hacer cumplir los requisitos de sanidad vegetal y de los animales acuáticos de la Agencia Canadiense de Inspección de Alimentos.

Importer Guidance for Aquatic Animal Health Import Quarantine Unit of the Canadian Food Inspection Agency.

Existe una “Guía del importador para la unidad de cuarentena de importación de animales acuáticos”, la que establece que la unidad deberá ser evaluada para asegurar la existencia de controles para prevenir la introducción de patógenos de interés en Canadá, a través de los animales, agua, alimento, fómites y vectores. Esta guía establece aquellos elementos claves y requerimientos que debe cumplir la unidad de cuarentena como:

- Estudio hidrogeológico de suministros de agua subterránea
- Diagrama del sitio, incluyendo entre otros, la infraestructura física, flujos de agua, ubicación de población de animales, y detalle de la existencia de más de una población de animales.
- Procedimientos estandarizados escritos y registros del cumplimiento de procedimientos operativos, tratamientos de las aguas, monitoreo calidad de agua, eliminación de residuos, almacenamiento de alimento, control de vectores y/o fómites, etc.
- Disposición de registros que demuestren implementación de una vigilancia observacional activa y trazabilidad respecto del monitoreo permanente de los organismos a fin de detectar alguna enfermedad de importancia para el país.

➤ **México.**

Respecto de las normativas y regulaciones que aplican a México, a continuación, se detallan los documentos que fueron consultados:



- Reglamento de la Ley de Pesca, publicado en el diario oficial de la federación el 29 de septiembre de 1999, con última reforma publicada DOF 28-01-2004.
- Ley Federal de Sanidad Animal, publicada en el Diario Oficial de la Federación el 25 de julio de 2007.
- Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria. Módulo de consulta de requisitos para la importación de mercancías acuícolas.
- Norma Oficial Mexicana (NOM-011-PESC-1993). Regula la aplicación de cuarentenas, a efecto de prevenir la introducción y dispersión de enfermedades certificables y notificables.
- Norma Oficial Mexicana (NOM-030-PESC-2000). Establece los requisitos para determinar la presencia de enfermedades virales de crustáceos acuáticos vivos, muertos, sus productos o subproductos en cualquier presentación y *Artemia (Artemia spp.)*, para su introducción al territorio nacional

Reglamento de la Ley de Pesca.

En relación a la revisión de los antecedentes presentados, en el Reglamento de la Ley de Pesca, en su capítulo V (*De la Introducción de Especies Vivas en Cuerpos de Agua de Jurisdicción Federal*), Art. 125, indica que los interesados en obtener una autorización para introducir especies vivas en cuerpos de agua de jurisdicción federal, deberán presentar una solicitud por escrito, cumpliendo los siguientes requisitos (sección I):

- a) Nombre científico y común de la especie a introducir, especificando si son silvestres o cultivadas.
- b) Fase de su desarrollo
- c) Cantidad, origen y procedencia de los ejemplares a introducir.

De igual modo, la sección II del Art. 125, establece que se deberá presentar un certificado de sanidad acuícola, conforme está dispuesto en el Art. 131 del presente Reglamento, además de un informe que constata que el genoma del organismo a introducir, no alterará el de las especies que habitan el cuerpo de agua de jurisdicción federal.

Complementariamente, en el Art. 125, sección III, establece que en el caso que las especies a introducir sean de importación, además de la información solicitada contenida en las secciones I y II, se deberá presentar un estudio con bibliografía de los antecedentes de parásitos y enfermedades detectadas en el área de origen o procedencia, así como su historial genético.



A su vez, la sección V del mismo artículo establece, que en el caso que se pretenda introducir especies exóticas, se deberá presentar de manera complementaria (además de lo ya informado en las secciones I y II) la descripción del posible efecto que causaría la introducción de la especie sobre la flora y fauna nativas, y particularmente la de las especies sujetas a algún régimen de protección especial, de conformidad con las normas y demás disposiciones legales aplicables.

Por su parte, en el capítulo VI (*De la Sanidad Acuícola*), en su Art. 128 establece que se podrá autorizar la introducción a México de especies vivas de flora y fauna acuáticas, mediante la presentación de un certificado de sanidad expedido por la autoridad competente del país de origen. Así mismo expedirá las normas en materia de sanidad acuícola relativas a la prevención, diagnóstico y control de enfermedades que puedan afectar a los organismos acuáticos vivos. Las especies que se introduzcan se sujetarán a las cuarentenas en conformidad con las normas aplicables y al término de las mismas.

Ley Federal de Sanidad Animal.

En lo referente a la *Ley Federal de Sanidad Animal*, en su Capítulo II (*De la Importación, Tránsito Internacional y Exportación*), Art. 24, señala que la importación de mercancías dentro de las que se encuentran los animales vivos, y aquellas que puedan ser portadoras de enfermedades o plagas de animales, quedan sujetas a la inspección de acuerdo a las disposiciones de sanidad animal aplicables y a la expedición del certificado zoosanitario para importación en el punto de ingreso al país. Por su parte, en su Art. 25 establece que las mercancías que se pretendan ingresar al territorio nacional deben provenir de países autorizados que cuenten con servicios veterinarios reconocidos por la Secretaría, conforme a lo establecido en la presente ley, y demás disposiciones de sanidad animal, y que queda prohibida la importación cuando las mercancías procedan de zonas, regiones o países que no han sido reconocidos por la Secretaría como libres de enfermedades, o plagas exóticas o enzoóticas, que impliquen un riesgo zoosanitario (Art. 26).

En su Art. 33, establece que la Secretaría expedirá el certificado zoosanitario para importación en los puntos de ingreso por donde se importen las mercancías reguladas, cuando de la inspección que se realice a las mismas se determine que cumplen con las disposiciones de sanidad animal aplicables.

Para el caso de importaciones y dependiendo del riesgo zoosanitario, la Secretaría podrá determinar el procedimiento de guarda-custodia cuarentena con cargo al importador y en caso de existir un riesgo, dejar sin efecto la certificación expedida y ordenar al importador el retorno, acondicionamiento o destrucción de las mercancías reguladas dependiendo del riesgo zoosanitario (Art. 36).



En su Art 41, establece que los animales vivos deberán ser verificados en el extranjero, en los puntos de verificación e Inspección zoosanitaria para animales e inspeccionados y certificados en los puntos de ingreso en territorio nacional. La Secretaría determinará aquellos casos en que la importación de animales vivos únicamente estará sujeta a inspección y certificación en punto de ingreso.

Finalmente, en el Capítulo II (*De Los Establecimientos*), en su Art. 105, establece que la Secretaría expedirá las disposiciones de sanidad animal, que establezcan las características, condiciones, procedimientos, operación y especificaciones zoosanitarias que deban reunir, entre ellas, las estaciones de cuarentena de organismos vivos.

Norma Oficial Mexicana (NOM-010-PESC-1993). Reemplazada por Módulo de Consulta de Requisitos para la Importación de Mercancías Acuícolas.

Si bien existía una Norma Oficial Mexicana (NOM-010-PESC-1993) que establecía todos los requisitos sanitarios para la importación de organismos acuáticos vivos en cualesquiera de sus fases de desarrollo, destinados para acuicultura u ornato, esta fue cancelada. En la actualidad, cualquier documento y/o argumento que haga referencia o cite a dicha Norma Oficial, ha sido reemplazado por el Módulo de Consulta de Requisitos de Importación de Mercancías Acuícolas y Pesqueras, del Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria, que corresponde a un sistema de consulta en línea, de manera individual, tanto por organismo acuático como por país de origen del que se deseen importar (p. ej: peces, moluscos, crustáceos), que contiene las medidas sanitarias específicas aplicables para la importación de mercancías acuícolas no contemplados en una norma oficial mexicana, a fin de prevenir la introducción y diseminación de plagas reglamentadas a México y proteger la condición de sanidad en nuestro país (ver ejemplo requisitos en formulario del **Anexo IV**)

A modo de ejemplo, para la importación de moluscos (semillas, gametos, larvas, reproductores) cuyo país exportador sea Chile, se deberá presentar el Certificado Sanitario Oficial original, expedido por la autoridad correspondiente del país de origen, o de procedencia que indique:

- a) Nombre y domicilio del importador y exportador,
- b) que el producto corresponde al país indicado en el documento como de origen,
- c) que los organismos o productos provienen de un establecimiento bajo control oficial

Por su parte, el Certificado Sanitario Oficial deberá indicar que el momento del embarque, los ejemplares se deberán encontrar libres de las siguientes enfermedades:



- a) Enfermedad MSX (*Haplosporidium nelsoni*)
- b) Enfermedad SSO (*Haplosporidium costale*)
- c) Perkinsosis (*Perkinsus marinus* y *P. olseni*)
- d) Marteiliosis (*Marteilia refringens* y *M. sidneyi*)
- e) Microcitosis (*Mykrocytos mackini*)
- f) Bonamiasis (*Bonamia exitiosa* y *B. ostrae*)

Del mismo modo, se indican los requisitos que debe cumplir el importador en la unidad de cuarentena, establecidos por el Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria, a través de la Dirección de Sanidad Acuícola y Pesquera y la Dirección General de Salud Animal.

Norma Oficial Mexicana (NOM-011-PESC-1993)

Esta norma es la encargada de regular la solicitud de cuarentena para impedir la introducción y propagación de enfermedades, así como la importación de organismos acuáticos vivos para propósitos de acuicultura. La presente norma, en su punto 4.3 establece las disposiciones para la aplicación de cuarentenas, a efecto de prevenir la introducción y diseminación de enfermedades certificables y notificables en la importación de organismos acuáticos vivos destinados a la acuicultura y ornato en los Estados Unidos Mexicanos.

Por su parte, en su sección 4.3.3 establece que, en el caso de la identificación de agentes causales de enfermedades certificables, especificadas en el "Apéndice A", Normativo, la Dirección General de Acuicultura, comunicará en un plazo máximo de 72 horas y por escrito al interesado de este hallazgo, procediéndose a la destrucción de los lotes afectados.

La sección 4.3.4 de la NOM, señala que en el caso de la identificación de enfermedades notificables especificadas en el "Apéndice B", Normativo, en los lotes mantenidos en cuarentena, la Dirección General de Acuicultura comunicará en un plazo máximo de 72 horas y por escrito al interesado, el tratamiento a ser aplicado, así como la prolongación del periodo de cuarentena.

En su sección 4.3.6, indica la duración del periodo de cuarentena para las distintas especies de organismos acuáticos vivos importados en cualesquiera de sus fases de desarrollo, destinados a la acuicultura. En este sentido, establece que:

- a) para todas las fases de desarrollo de peces, moluscos y crustáceos destinados a la acuicultura, será de 30 días naturales.



- b) para organismos acuáticos vivos destinados al ornato en cualesquiera de sus fases de desarrollo, será de 7 días naturales.
- c) para aquellas especies de las que no se disponga de información suficiente, el periodo de cuarentena será determinado por la Dirección General de Acuicultura.

Finalmente, la NOM en su sección 4.5 establece los requisitos y características indispensables para otorgar la autorización y registro para la operación y funcionamiento a "Unidades de Cuarentena", donde señala que el interesado deberá presentar, según el caso, los planos arquitectónicos y de las instalaciones hidráulicas.

Norma Oficial Mexicana (NOM-030-PESC-2000).

Esta norma es la encargada de establecer los requisitos para determinar la presencia de enfermedades virales de crustáceos acuáticos vivos, muertos, sus productos o subproductos en cualquier presentación y *Artemia (Artemia spp)*, para su internación al territorio mexicano. En su numeral 4.1 establece que la introducción al territorio nacional de crustáceos acuáticos vivos, muertos, sus productos y subproductos en cualquier presentación, así como la *Artemia (Artemia spp.)*, podrá realizarse bajo el siguiente procedimiento:

- 4.1.1 La solicitud para la introducción a territorio nacional de crustáceos acuáticos vivos para ser destinados a la acuicultura deberá presentarse utilizando el formato SEMARNAP 05007 solicitud de certificado de sanidad acuícola para la importación de organismos acuáticos vivos destinados a la acuicultura u ornato.
- 4.1.2 La solicitud deberá contener la siguiente información:
 - I. Nombre o razón social del solicitante, domicilio, teléfono
 - II. Nombre científico y común de la(s) especie(s), o en su caso de los productos y subproductos.
 - III. País de origen y/o de procedencia
 - IV. Nombre o razón social del proveedor, domicilio, teléfono
 - V. Número de organismos o kilogramos y presentación
 - VI. Calendario de introducciones al territorio nacional
 - VII. Lugar de entrada al territorio nacional
- 4.1.3 La solicitud para obtener los certificados de sanidad acuícola a que se hace referencia en los numerales 4.1.1 y 4.1.2, para la internación al territorio nacional de los crustáceos



objeto de esta Norma, deberá presentarse ante la Dirección General de Ordenamiento Pesquero y Acuícola, de la CONAPESCA, de la Comisión Nacional de Acuicultura y Pesca.

De igual modo, la internación al territorio nacional de los embarques de crustáceos acuáticos vivos, en cualquier fase de desarrollo, así como los de Artemia, solo se podrán realizar por los lugares establecidos en el numeral 4.2 de la presente norma.

Por su parte, la norma establece en su numeral 4.2.1, que se deberá presentar original y copia del certificado sanitario de origen, especificando las pruebas realizadas y resultados obtenidos. Además, en el literal I(a) establece que tratándose de nauplios y postlarvas de camarones peneidos, la certificación de referencia deberá precisar que los progenitores de tales organismos, así como los lotes de organismos que se desean introducir a la República Mexicana, fueron analizados acorde a lo estipulado en el Anexo 1 de esta norma, utilizando pruebas de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), y que se encontraban libres de las enfermedades: Síndrome del Virus de la Mancha Blanca "White Spot Syndrome Virus" (WSSV), Virus de la Cabeza Amarilla "Yellow Head Virus" (YHV), y Virus del Síndrome de Taura, "Taura Syndrome Virus" (TSV), y aquellas enfermedades que en su caso dé a conocer la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación mediante aviso que se publicará en el Diario Oficial de la Federación.

➤ **Namibia.**

En relación a la normativa y regulaciones que aplican al Namibia, a continuación, se detallan documentos que fueron material de consulta:

- Animal Health Act No. 1 of 2011 – Government Gazette of the Republic of Namibia.
- Aquaculture Act 18 of 2002, Government Gazette 30 December 2002.
- Regulations relating to Import and Export of Aquatic Organisms and Aquaculture Products, Section 43. Government Notice 70 of 2010.

Animal Health Act No. 1 of 2011 – Government Gazette of the Republic of Namibia.

En lo referente a la Ley de Salud Animal, esta proporciona información general respecto de la prevención, detección y control de enfermedades animales, y respecto de la mantención y mejoramiento de la salud animal. Adicionalmente, en la sección 3 (Part III) del documento, se detallan las regulaciones generales respecto de la importación de animales, productos animales y material restringido, específicamente lo relativo a los permisos que se requieren para su importación e ingreso a Namibia. En relación a esto último, señala que una persona no podrá importar cualquier animal,



producto animal o material restringido para su ingreso a Namibia, excepto si posee un permiso expedido en virtud de esta Ley que autoriza la importación de animales para su ingreso al país. Por su parte, a pesar de contar con el permiso, la persona no podrá importar dicho animal, producto animal o material restringido si:

- a) La persona sabe o tiene razones para creer que el animal, producto animal o material restringido está infectado.
- b) El permiso no autoriza específicamente la importación del animal, producto animal o material restringido en condición infectada.

Por su parte, el documento señala en la regulación 7 (4) que el Oficial Veterinario podrá exigir a un solicitante de un permiso de importación, proporcionar más información o documentos que se consideren pertinentes para determinar si se emite el permiso. Del mismo modo, la ley establece que el Oficial Veterinario puede requerir cualquier otra condición específica bajo la subsección (6) donde el importador deba cumplir al importar cualquier animal, producto animal o material restringido al que se refiera el permiso de importación, como la identificación, inspección, prueba o tratamiento de cualquier animal, producto animal o material restringido en cualquier momento, antes durante o después de la importación. En virtud de ello, el Oficial Veterinario podrá requerir el aislamiento, la cuarentena y la certificación de cualquier aspecto de identidad, estado de salud y origen de cualquier animal, producto animal o material restringido, antes, durante o después de la importación.

Aquaculture Act 18 of 2002, Government Gazette 30 December 2002.

Por su parte, la Ley de Acuicultura 18 de 2002 en su sección 28 (*Import and Export of live aquatic organisms*), que hace referencia a la Importación y Exportación de organismos acuáticos vivos, donde establece que no es posible importar organismos acuáticos sin el permiso por escrito otorgado por el Ministro, quien a su vez podrá inspeccionar a los organismos antes o después que sean importados, pudiendo incautar, retener, poner en cuarentena, desinfectar o destruir cualquier organismo acuático vivo.

Regulations relating to Import and Export of Aquatic Organisms and Aquaculture Products, Section 43. Government Notice 70 of 2010.

Respecto de los reglamentos que fueron realizados en términos de la Ley de Acuicultura 18 de 2002, según Aviso del Gobierno 70 de 2010, que entró en vigor en la fecha de publicación: 9 de abril de 2010, se establecen las regulaciones relativas a la importación y exportación de organismos acuáticos y productos de la acuicultura. En la Parte II de ella (*Import of Aquatic Organisms*), regulación (2) se



detalla el requisito para importar organismos acuáticos, y en la regulación (3) lo referente a la solicitud de registro como importador (Anexo A de la ley). Esta solicitud debe presentarse ante el Ministro de Pesquerías y Recursos Marinos del Gobierno de Namibia. En ella, se deberá especificar:

- a) Nombre completo del solicitante.
- b) Dirección residencial y laboral.
- c) Número telefónico.
- d) Tipo de organismo a importar, ya sea un organismo acuático vivo o un producto (gametos, huevos).
- e) Certificado de registro del Ministerio de Comercio e Industria (si aplica).

Del mismo modo, la regulación (5) establece que se deberá realizar una solicitud de permiso de importación (Anexo C de la ley), el que se evaluará en los términos indicados en la solicitud de registro del importador (Anexo A). Además, indica que toda aquella persona que importe organismos acuáticos con el propósito de introducirlos o de transferencia, debe aplicar en términos de la regla 21 de las Regulaciones de Acuicultura (Concesión de Licencias), a un permiso para introducir o transferir organismos acuáticos, y en caso de ser necesario, el ministro podrá exigir al solicitante una evaluación de riesgos con respecto a los organismos a importar.

En la regulación 7 (*Decision on application for import permit*), se establece que, dependiendo los resultados de la evaluación de riesgo, en términos de lo planteado en la regulación 6, el ministro puede:

- a) Aprobar la solicitud y expedir permiso de importación (Anexo D de la ley).
- b) Aprobar la solicitud sujeta a la condición de otras medidas (p. ej: cuarentena en el país exportador de los organismos acuáticos a ser importados).
- c) Solicitar pruebas de diagnóstico de los organismos a importar, para asegurar que están libres de enfermedades.
- d) Solicitar emisión de un certificado sanitario por parte de la autoridad competente del país exportador
- e) Rechazar solicitud

En la Parte III, regulación 11 (*Inspection and transfer shipment*), punto (1c) se establece que en el puerto de ingreso, un inspector u otra persona autorizada por ley debe llevar a cabo la inspección de la importación, con la finalidad de identificar la presencia de alguna mortalidad o signos clínicos de enfermedad, en tanto que en el punto (2) se indica que de ser necesario, se tomarán muestras de organismos acuáticos vivos, para análisis de laboratorio, o para confirmar la identidad del organismo.



En lo referente a las instalaciones de cuarentena, Parte IV de la Ley (*Quarantine Facilities*), la regulación 13, indica que cualquier persona que tenga la intención de operar una instalación de cuarentena de organismos acuáticos listados en el Anexo I, con fines de introducción o transferencia, deberá solicitarlo por escrito al ministro para aprobación, la que podrá ser aprobada, rechazada, o complementada con requerimientos adicionales. Además, se deberá cumplir con los requerimientos establecidos en los Anexos G y H, que dicen relación con los estándares de construcción, seguridad y operación para instalaciones de cuarentena de organismos acuáticos y productos de acuicultura listados en el Anexo I, y para aquellos no listados en el Anexo I; respectivamente.

La regulación 1 del Anexo G, establece que el período mínimo normal de cuarentena para especies listadas en el Anexo I será de 6 semanas para organismos acuáticos ornamentales de agua dulce y de 3 semanas para organismos ornamentales marinos, y en caso de finalizado dicho período, si aún se cree que un envío todavía presenta un riesgo inaceptable de introducción de enfermedades o plagas, este se podrá mantenerse en cuarentena para investigación, tratamiento, pruebas u otro propósito.

En lo que respecta a la regulación 2 (Anexo G), establece la ubicación y especificación que deben tener las instalaciones de cuarentena, requisitos específicos de construcción (p ej: características de pisos, paredes, ventanas, puertas, iluminación, estanques, sistemas de circulación/recirculación del agua, puntos de ingreso y salida y requerimientos de equipamiento que deben tener.

La regulación 3 (Anexo G), establece los estándares de operación que debe cumplir la instalación de cuarentena, en términos de: sistemas de esterilización para tratamiento de agua, disposición aguas de desecho, mantención y disposición de la mortalidad, desinfección del equipamiento, entre otros. Referente al manejo animal en las instalaciones de cuarentena, la regulación 4.2 (Anexo G), punto “g”, establece que de forma periódica el operador debe observar a los organismos acuáticos frente a signos de enfermedad conducta anormal. Adicionalmente, en su punto “h” señala que todo organismo acuático que llegue muerto a la unidad de cuarentena, debe ser puesto en una bolsa plástica debidamente etiquetada e identificada, y mantenerse bajo refrigeración hasta que se complete el examen diagnóstico. Además, en sus puntos “j” y “k” establece que, ante cualquier ocurrencia repentina de niveles inusuales de mortalidad o cambios de comportamiento (mortalidad o enfermedad que supere el 20% del estanque durante un período de 5 días) debe informarse al oficial de cuarentena, y que el uso de cualquier droga o químico para tratar los organismos acuáticos, debe contar con la aprobación de la autoridad competente.

En relación a la ocurrencia de brotes de una enfermedad exótica grave, la regulación 5 (Anexo G) establece los procedimientos a seguir en caso que una enfermedad sea diagnosticada. En caso que



sea así, podrá existir una prórroga de la cuarentena o destrucción de los organismos. La instalación completa deberá ser desinfectada, y para ser reutilizada deberá contar con la autorización de la autoridad competente.

Respecto de los estándares de construcción, seguridad y operación para instalaciones de cuarentena de organismos acuáticos no listados en el Anexo I, y que corresponden a lo establecido en el Anexo H de la Ley de Acuicultura 18 de 2002, en general, no varía mayormente respecto de los estándares establecidos para las especies que si están listadas. Sin embargo, la regulación 1 (Anexo H) establece una diferencia, que dice relación con el período de cuarentena para las especies no listadas en el Anexo I, donde se indica que:

- a) No se establece un período de cuarentena fijo para los organismos acuáticos, sino que dicho período depende de los resultados de la observación y pruebas de los animales acuáticos importados y la generación F1 resultante.
- b) Una vez que la autoridad competente determine que la generación subsiguiente es segura para la liberación limitada, los padres deben ser destruídos y la instalación de cuarentena desinfectada.
- c) Si se detecta (bajo cuarentena) una enfermedad infecciosa de los organismos acuáticos y su descendencia, se podrá requerir el tratamiento y pruebas. Si la enfermedad es de naturaleza grave, se ordenará la destrucción de todos los organismos y la desinfección de la instalación.

5.1.3 Análisis de las regulaciones y normativa nacional.

➤ **Chile.**

En lo referente a la importación de organismos acuáticos a Chile, la revisión de la documentación y/o normativa asociada a la importación de especies hidrobiológicas, que fue posible obtener, se presenta a continuación:

- Ley 18.892, Ley General de Pesca y Acuicultura texto refundido, coordinado y sistematizado por el D.S. N° 430 del 28 de septiembre de 1991 del Ministerio de Economía, Fomento y Reconstrucción.
- D.S.(MINECON) N° 320 de 2001, Reglamento Ambiental para la Acuicultura (RAMA) (Actualizado D.S. N° 125-2019).



- Resolución Exenta N° 2662 - Fija Nómina de Especies Hidrobiológicas vivas de importación autorizadas, Ministerio de Economía Fomento y Reconstrucción, Subsecretaría de Pesca y Acuicultura, del 19 de septiembre del 2021.
- D.S. (MINECON) N° 72 de 2011, correspondiente al Reglamento de certificación y otros requisitos sanitarios para la importación de especies hidrobiológicas.
- Resolución Exenta (MINECON) N° 1741 de 2013 y sus modificaciones, que Establece clasificación de Enfermedades de Alto Riesgo y sus modificaciones.
- D.S. (MINECON) N° 319 de 2001 y sus modificaciones, Reglamento que establece las medidas de protección, control y erradicación de enfermedades de alto riesgo para las especies hidrobiológicas (RESA)
- D.S. (MINECON) N° 730 de 1995, que Aprueba reglamento de internación de especies de primera importación al país.
- Manual de Procedimientos, Sección 3, del Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura, que establece los Procedimientos para importar especies vivas (IMP/MP3).

El marco legal descrito a continuación, describe toda aquella normativa y regulaciones que dan las directrices o procedimientos generales que aplican al proceso de importación de especies hidrobiológicas al país, sean éstas de primera importación (exóticas) o no, lo que finalmente va en resguardo y cuidado del patrimonio nacional, evitando así el ingreso de agentes patógenos causantes de enfermedades de alto riesgo sanitario que no se encuentran presentes en nuestro país, en consideración a la realidad epidemiológica actual a nivel nacional.

Ley 18.892, Ley General de Pesca y Acuicultura texto refundido, coordinado y sistematizado por el D.S. N° 430 del 28 de septiembre de 1991 del Ministerio de Economía, Fomento y Reconstrucción).

En Artículo 7, párrafo 2, se especifica que se deben presentar ante aduanas certificados sanitarios que indiquen que los organismos hidrobiológicos se encuentran libres de enfermedades, los que deben ser emitidos por las autoridades oficiales del país de origen. Adicionalmente y a modo de confirmación, se puede solicitar certificaciones en base a análisis realizados en Chile. Estas certificaciones deben ser visadas por el servicio de aduanas. Por su parte, en su Art. 8 indica que la primera importación al país requiere de previa autorización de parte de la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura, la cual en un plazo de 60 días podrá: aprobarla, gracias a las certificaciones idóneas para la importación, denegarlas fundadamente, o solicitar estudios sanitarios y ambientales con vigencia no mayor a 1 año. De no cumplirse estos requisitos, se prohíbe la internación de especies al país.



En el Artículo 9 de la Ley, se indica que se emitirá anualmente, el listado de especies autorizadas para internación al país, entendiéndose que aquellos no presentes en el listado corresponden a primera importación. Este listado se presenta en la R. Ex 2662 del 2021.

D.S.(MINECON) N° 320 de 2001, Reglamento Ambiental para la Acuicultura (RAMA) (Actualizado D.S. N° 125-2019).

En su Art. 4, indica que las medidas de protección ambiental que se requieran en relación con el cultivo de las especies que sean incorporadas en la nómina de especies hidrobiológicas vivas de importación autorizada fijada en conformidad de la LGPA, serán establecidas mediante decreto supremo expedido a través del Ministerio de Economía, Fomento y Reconstrucción, previos informes técnicos debidamente fundamentados de la Subsecretaría, del Consejo Nacional de Pesca y del Consejo Zonal que corresponda.

Resolución Exenta 2662, Fija nómina de especies hidrobiológicas vivas de importación autorizada, Ministerio de Economía Fomento y Reconstrucción, Subsecretaría de Pesca y Acuicultura, del 19 de septiembre del 2021.

Dicha Resolución establece el listado de especies autorizadas para el cultivo en Chile. Además, señala que en Chile se encuentra autorizado sólo el cultivo o mantención de especies de peces ornamentales en circuitos controlados (sistema que impide el acceso y escape de individuos al ambiente y que sus efluentes son debidamente tratados). En el listado se encuentran más de 200 géneros de especies de peces ornamentales autorizados para importación a Chile. La importación de las especies se rige de acuerdo a lo indicado en el Decreto 72.

D.S. (MINECON) N° 72 de 2011, correspondiente al Reglamento de certificación y otros requisitos sanitarios para la importación de especies hidrobiológicas.

El presente decreto tiene por objeto impedir que, mediante la importación de especies hidrobiológicas, ovas o gametos, se produzca el ingreso de enfermedades y sus agentes causales, en especial aquellas que no están presentes en el territorio nacional y las enfermedades que cuenten con un programa específico de vigilancia o erradicación del país. Para esto se indican una serie de acciones obligatorias a realizar previo al ingreso de las especies al país, así como las certificaciones en formato y fondo, plazos, requisitos en países de origen, entre otros.



Este reglamento en su Art. 4, indica que podrán ser exportadas a Chile especies hidrobiológicas, ovas o gametos a que se refieren los Art 13 y 14 de este reglamento, que provengan de países respecto de los cuales se haya realizado una evaluación sanitaria del riesgo que constituye el ingreso al territorio nacional de dichas especies en sus diferentes etapas de desarrollo.

Por su parte, en el Art. 10, tercer párrafo, indica que, si en el país de origen se realiza el diagnóstico clínico o de laboratorio de una enfermedad de la Lista 1 o de la Lista 2, que cuente con un programa de control en Chile o de una enfermedad re-emergente o emergente no listada o de una enfermedad de etiología desconocida, dará lugar a la suspensión de toda importación bajo las condiciones previstas en el Título III de este reglamento.

En su Art. 11, establece que los países que requieran exportar a Chile especies hidrobiológicas como peces ornamentales, organismos planctónicos y mamíferos/reptiles acuáticos deberán solicitar al Servicio una evaluación sanitaria, considerando al menos los siguientes antecedentes:

- a) Organización y atribuciones de la autoridad sanitaria competente.
 - b) Especies hidrobiológicas silvestres y de cultivo en el país.
 - c) Volúmenes de producción, importación y exportación anual por especie y legislación relativa a su control sanitario.
 - d) Enfermedades de especies hidrobiológicas al interior del país, y si existe, su clasificación, sistema de notificación de enfermedades de declaración obligatoria ante la OMSA, y de otras enfermedades y zonificación para las enfermedades de especies hidrobiológicas, incluyendo delimitación geográfica de las diversas zonas.
 - e) Requisitos sanitarios para el transporte y comercialización de especies hidrobiológicas al interior del país.
 - f) Sistemas oficiales de acreditación de Laboratorios de Diagnóstico, técnicas utilizadas y listado de Laboratorios de Diagnóstico acreditados.
 - g) Registro de firmas y timbres de certificadores oficiales.
 - h) Sistemas de certificación oficial para la exportación de especies hidrobiológicas, sus huevos y gametos.
 - i) Medidas de emergencia frente a brotes de enfermedades de especies hidrobiológicas.
 - j) Legislación sanitaria en que se sustentan los sistemas y requisitos indicados precedentemente.
- Asimismo, indica un plazo de 20 días hábiles para la solicitud de antecedentes complementarios, como también un plazo de 60 días para la emisión de la resolución, como también, un listado de países en los que se han realizado evaluaciones y en cumplimiento con requisitos de importación.



Por otro lado, y respecto de la certificación sanitaria en su Art. 15 establece que, el solicitante deberá presentar certificados sanitarios desde la autoridad competente del país de origen, acreditando en general que los especímenes a importar a Chile se encuentren libres de enfermedades de alto riesgo (EAR) lista 1 y 2, como también, que en el origen no se hayan observado signos clínicos de enfermedad, o de etiología desconocida o mortalidad de causa desconocida, aplicación de cuarentenas preventivas (describiéndose los requerimientos mínimos de lugares de cuarentena en su Art. 18), requerimientos que abarcan especímenes desde medio natural; y ante una situación fundada y en base a antecedentes epidemiológicos informados por el Servicio, la ejecución de un muestreo para análisis de laboratorio adicionales y/o complementarios en Chile, entre otros.

Asimismo, indica que en el caso que los organismos acuáticos a importar sean especies ornamentales, éstas deberán ser sometidas a una cuarentena por un período mínimo de 15 días corridos en el territorio nacional, bajo una orden de cuarentena emitida por el Sernapesca, la cual será levantada por el mismo Servicio. En caso de observación de signos de enfermedad, el Servicio ordenará la prolongación de la cuarentena, análisis, desinfección, devolución, sacrificio o destrucción de los ejemplares, según corresponda. Las medidas que se adopten dependerán de la enfermedad específica de que se trate en relación con la situación epidemiológica en Chile, así como las características clínicas de la misma y de su agente causal.

En su Art., 18, establece que las certificaciones sanitarias complementarias de confirmación serán emitidas sobre la base de los análisis realizados en el territorio nacional, respecto de las EAR que corresponda certificar (listadas en la Resolución 1741 de 2013 y sus modificaciones). En tal caso, los organismos serán llevados a una estación de cuarentena, la que deberá cumplir ciertas exigencias, por el período de tiempo que sea necesario para la realización de análisis patológicos.

Por su parte, en su Título IV, se señalan los procedimientos de importación de especies hidrobiológicas, y establece que el importador se deberá comunicar por vía postal, correo electrónico o facsímil a las oficinas del Servicio, tanto en el punto de ingreso, como en el lugar de destino, con al menos diez días hábiles de antelación al arribo, a fin de entregar la información solicitada en su Art. 17, por evento respectivo.

Para el análisis de EAR, Sernapesca establece las técnicas de diagnóstico y métodos de aislamiento de agentes causales. Se podrá considerar las técnicas de diagnóstico recomendadas por la OMSA (Art. 26).



Resolución Exenta (MINECON) N° 1741 de 2013 y sus modificaciones, que Establece clasificación de Enfermedades de Alto Riesgo y sus modificaciones

Esta resolución lista las enfermedades descritas para peces que son exóticas (Lista 1), como también, aquellas que se encuentran presentes en Chile (Lista 2 y 3), las cuales son sujeto de evaluaciones mediante técnicas de laboratorio, tanto en el país de origen como en Chile, mediante el análisis y uso de técnicas de diagnóstico en laboratorios autorizados por Sernapesca, las cuáles serán aplicadas de acuerdo a las especies susceptibles para cada una de las descritas en los listados (Decreto 72 del 2011, o de acuerdo al código sanitario internacional de animales acuáticos de la OMSA). De igual modo, enumera las enfermedades para moluscos que se encuentran en la Lista 1 y Lista 3, y las enfermedades de crustáceos que se encuentran enumeradas en la Lista 1.

D.S. (MINECON) N° 319 de 2001 y sus modificaciones, Reglamento que establece las medidas de protección, control y erradicación de enfermedades de alto riesgo para las especies hidrobiológicas (RESA).

Este reglamento, en su Art. 1 establece las medidas de protección y control para evitar la introducción de enfermedades de alto riesgo que afectan a las especies hidrobiológicas, sea que provengan de la actividad de cultivo con cualquier finalidad o en su estado silvestre, aislar su presencia en caso de que éstas ocurran, evitar su propagación y propender a su erradicación, las cuales aplican, entre otras, a la importación de especies hidrobiológicas. En el Art. 42 se menciona que la certificación sanitaria de origen debe acreditar que las especies hidrobiológicas se encuentran libres de EAR de la Lista 1 y 2 y sus agentes causales. El Art. 45, indica que, en el caso de las especies ornamentales, éstas deberán ser sometidas a cuarentena por un periodo de 15 días en el territorio nacional, indicando las mismas directrices mencionadas en el Decreto 72, y en caso de signos de enfermedad, el Servicio ordenará la prolongación de la cuarentena, el análisis o destrucción de los ejemplares. En caso de detección en territorio nacional, el Art. 6 indica que en caso de sospecha fundada de infección o enfermedad clasificada en Lista 1, el titular del centro de cultivo afectado o quien éste designe, deberá notificar obligatoriamente al Servicio, al momento del descubrimiento del brote según los programas de vigilancia epidemiológica e implementar las medidas que sean establecidas por éste.

D.S. (MINECON) N° 730 de 1995, que Aprueba reglamento de internación de especies de primera importación al país.

Este decreto regula la introducción de especies hidrobiológicas de primera importación al país y de establecer las condiciones y modalidades de los términos técnicos de referencia de los estudios



necesarios para autorizar dichas importaciones en conformidad a lo dispuesto en la Ley General de Pesca y Acuicultura. En los Art. 5 y 6, se indican los antecedentes a ser presentados a la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura, tanto generales como aquellos definidos para importación de especies hidrobiológicas con destino mantención en circuito controlado (aplica a peces ornamentales). Por otra parte, describe que la Subsecretaría puede solicitar un estudio sanitario adicional y previo a la internación, con un plazo máximo de 1 año, ampliable por una sola vez por igual período, que incluya efectos de impacto ambiental, destinado a verificar la presencia de signos de enfermedades, o la ocurrencia de deterioro del ecosistema y la evaluación de ellos, para lo cual podrá autorizar la internación limitada de la especie, mencionándose en los Art, 10 y 12, los términos técnicos de referencia mínimos. Para este propósito, la especie en cuestionamiento podrá ser internada por un tiempo no mayor a un año, siempre y cuando se cumplan con las condiciones de aislamiento (Título IV, De la unidad de aislamiento). Una vez recopilados todos los antecedentes y resultados del estudio (si corresponde), la Subsecretaría aprobará o denegará la primera importación de la especie.

Manual de Procedimientos, Sección 3, del Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura, que establece los Procedimientos para importar especies vivas (IMP/MP3)

El ámbito de aplicación de este manual aplica para todas las importaciones de especies hidrobiológicas vivas en cualquier estado de desarrollo, incluyendo sus gametos. Entrega un listado de países autorizados para la exportación de especies hacia Chile, como también, las directrices de los antecedentes que se deben entregar, mencionados en las resoluciones y decretos descritos previamente. En el caso que la importación se trate de especies ornamentales, el manual entrega las instrucciones específicas relativas a inspecciones, cuarentenas, etc. ya descritas previamente, así también como los requerimientos para la autorización de estaciones de cuarentena para especies ornamentales, indicando: solicitud de evaluación, limpieza y desinfección, preservación o conservación y eliminación de mortalidad, sistemas de recirculación, fármacos a utilizar, tratamiento de efluentes, entre otros.

5.1.4 Antecedentes de otras entidades nacionales

En relación a otros antecedentes generales que pudieron ser obtenidos en materia de importación organismos terrestres y acuáticos, a partir de entidades gubernamentales nacionales que fueron motivo de consulta, como el Servicio Agrícola y Ganadero, Ministerio de Medio Ambiente (MMA) y Ministerio de Hacienda, se presentan a continuación:



Servicio Agrícola y Ganadero.

El Servicio Agrícola y Ganadero (SAG) es el organismo oficial del Estado de Chile, encargado de apoyar el desarrollo de la silvoagropecuaria del país, a través de la protección y mejoramiento de la salud de los animales y vegetales, con el fin de evitar la introducción de enfermedades o plagas al territorio nacional por medio de la importación de organismos ya sea de origen animal o vegetal.

Bajo este contexto, el SAG dispone de la Resolución Exenta RES EX. 6539 del 29 de septiembre del 2011, la que corresponde a una Resolución General que establece las exigencias para la emisión de los certificados sanitarios para la internación de animales y productos de origen animal al país. En este sentido, señala en su numeral 1 que los certificados sanitarios que amparen la internación de mercancías, tales como animales, huevos fértiles, productos y subproductos de origen animal, además de certificar el cumplimiento de las exigencias generales y específicas acordes al tipo de mercancía, deberán ser extendidos en lengua española y en la lengua oficial del país de origen, y se deberán ajustar al modelo aprobado por el SAG, o en su defecto, deberá contener a lo menos toda la información sanitaria y complementaria que el modelo solicita. Del mismo modo, en el numeral 3 de la misma Resolución establece que el momento del ingreso de una mercancía al país, se deberá presentar toda la documentación exigida (Certificado Sanitario y anexo) en original, con firmas y timbres oficiales de la Autoridad Sanitaria del país de origen, con letra legible y sin enmiendas.

Por su parte, la Resolución Exenta RES EX. 7364 del 09 de diciembre de 2016 establece las exigencias sanitarias generales para la internación a Chile de animales, y deroga la Resolución N°1.254 de 1991. Adicionalmente, indica que le corresponde al Servicio Agrícola y Ganadero, establecer las condiciones sanitarias para el ingreso de animales al país. En este sentido, en su numeral 6, señala que además de la certificación sanitaria necesaria para la internación de animales al país, deberán acompañarse los protocolos de diagnóstico correspondientes a las pruebas diagnósticas requeridas para el embarque a Chile, como también deberá indicarse la fecha y tipo de tratamientos a que han sido sometidos en el último año. En tanto, en su numeral 7, establece que las pruebas diagnósticas requeridas en las exigencias sanitarias específicas deberán efectuarse en laboratorios oficiales o autorizados por la autoridad sanitaria competente que certifica. Estas pruebas no se exigirán cuando el país o zona de procedencia se encuentre libre de la enfermedad correspondiente y dicha condición sea reconocida por Chile, debiendo en este caso acreditarse esa condición. Finalmente, en su numeral 9 la resolución señala que, si al momento del ingreso de los animales al país se detecta cualquier circunstancia que permita sospechar la presencia de agentes causales de una enfermedad transmisible exótica, en vías de erradicación, o de importancia económica o epidemiológica para Chile, se procederá a la devolución o sacrificio de todo el grupo de animales, según lo que determine el Servicio, en un plazo no mayor de 72 horas y con los resguardos



que se fijen. Si con posterioridad a este plazo el importador no ha adoptado ninguna de estas medidas, el Servicio sacrificará los animales.

De forma adicional, la Resolución Exenta RES EX. 1150, publicada con fecha 05 de mayo de 2000, modifica las exigencias sanitarias para la importación de animales y productos de origen animal. En sus numerales 3 y 4, establece que el reconocimiento de Países o Zonas Libres de enfermedades se basará en la evaluación de los servicios veterinarios del país correspondiente, la información sanitaria disponible, las medidas de control y monitoreo en ejecución, todo lo cual será verificado en terreno, y que tal reconocimiento podría quedar sin efecto, de forma inmediata, ante cambios en las condiciones epidemiológicas.

Ministerio de Medio Ambiente.

En lo referente al Ministerio de Medio Ambiente (MMA), si bien este no tiene las atribuciones ni tiene las facultades para prevenir la internación al país de especies hidrobiológicas exóticas, ejercería sus funciones de forma indirecta a través de difusión, sensibilización y coordinación con instituciones públicas.

En este sentido, y en su contexto general, la Ley 19.300 aprueba y establece las Bases Generales del Medio Ambiente, señalando en su título I (Disposiciones generales), Art. 1 que la protección y resguardo del medio ambiente, la preservación de la naturaleza y la preservación del patrimonio ambiental se regularán a través de las disposiciones establecidas por esta ley, lo que incluye la biodiversidad o diversidad biológica, que correspondería a la variabilidad de organismos vivos que forman parte de todos los ecosistemas terrestres y acuáticos, incluyendo la diversidad dentro de la misma especie, entre especies y entre ecosistemas (Art.2).

Por su parte, la Resolución Exenta N° 684 del 09 de agosto de 2013 del MMA, aprueba la creación del Comité Operativo para la Prevención, Control y Erradicación de las Especies Exóticas Invasoras (COCEI), cuya misión es propender a la autoridad competente acciones, planes relacionados a la prevención, control o erradicación de las especies exóticas invasoras en los ámbitos terrestres y acuáticos, que puedan impactar negativamente la biodiversidad, en lo relativo a especies, genes y ecosistemas nativos y endémicos, así como de servir de instancias consultivas en estas materias, sin perjuicio de las competencias sectoriales de cada servicio público integrante del comité, siendo entidades integrantes de este comité tanto la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura, como por el Servicio Nacional de pesca y Acuicultura.



Ministerio de Hacienda.

Por su parte, el Ministerio de Hacienda, a través del Decreto con Fuerza de Ley 16 (Decreto RRA-16), en su título primero que dice relación con la protección y sanidad animal, literal I (*De la internación*), establece en su Art 3. que, para la internación de animales al país, será necesario cumplir con las exigencias de orden sanitario que se especifiquen en cada caso. Además, señala que todo importador de animales deberá, además, premunirse de un certificado expedido por la autoridad competente del país de origen, que acredite el estado sanitario de ellos. Del mismo modo, en su Art. 4, establece que los animales que se internen al país deberán ser inspeccionados, en las Aduanas respectivas, por los Médicos Veterinarios del Departamento de Ganadería de la Dirección de Agricultura y Pesca, y, en caso de presentar una enfermedad contagiosa o que sean sospechosos de estarlo, serán sometidos a cualesquiera de las siguientes medidas: desinfección, vacunación, inyecciones, reacciones reveladoras, cuarentena, devolución o sacrificio de los animales.

Sin embargo, respecto de disposiciones y requerimientos más específicos establecidos a través de leyes, normativas o reglamentos que apliquen al ámbito marino-dulceacuícola, como sería aquellos relacionados con los procesos de internación de organismos hidrobiológicos exóticos al país, recaen sobre la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura (SUBPESCA) y el Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura (SERNAPESCA), este último encargado de hacer cumplir las resoluciones dictadas por la Subsecretaría. Las responsabilidades y atribuciones de estos servicios se encuentran dictaminadas a través de la Ley General de Pesca y Acuicultura N° 18.892, emitida por el Ministerio Economía Fomento y Reconstrucción. De este modo, a fin de especificar las leyes, normativa y reglamentos que competen en esta materia, en la sección 5.2.2 del presente informe se desarrolló el análisis de la normativa nacional, que aplica específicamente en el ámbito marino-dulceacuícola, en materia de importación de especies hidrobiológicas exóticas al país.

Todos los documentos, regulaciones y cuerpos normativos que fueron sujetos a revisión, junto a su *link* de acceso directo, por país, se encuentran especificados en la sección **Anexo 4** del presente documento.

5.1.5 Antecedentes de estudios relacionados con la internación de especies hidrobiológicas exóticas.

- Búsqueda de antecedentes en literatura científica.

De la revisión bibliográfica se identificó un total de 26 estudios que emplean diferentes metodologías o combinación de metodologías para evaluar los impactos de las especies invasoras en los nuevos



ambientes o la capacidad invasora de una especie. Entre las metodologías abordadas se encuentran: 7 publicaciones asociadas a mesocosmos (in situ, al aire libre, en laboratorio), 3 a microcosmos (in situ, en laboratorio), 1 a exclusión in situ, 7 de cohabitación, 4 a respuesta funcional comparativa, 2 a ensayos de desafío, 1 a ensayos de aclimatación y 1 ensayo de mediciones variables fisiológicas. Además, se identificó la utilización de herramientas no experimentales como el Fish Invasiveness Screening Kit (FISK). De estos trabajos, 5 fueron desarrollados en Inglaterra, 3 en Argentina, 2 en China, Dinamarca, España, México y Polonia, y 1 en Australia, Bélgica, Brasil, Canadá y Holanda. Adicionalmente, 1 artículo de revisión tenía alcance global y en 2 artículos no fue posible identificar el lugar donde se desarrollaron los ensayos. Los estudios ambientales fueron los de mayor presencia en los documentos revisados (18 estudios), seguido de estudios sanitarios (3).

- *Mesocosmos in situ.*

En el sentido amplio, un mesocosmos corresponde a un diseño de complejos experimentales abiertos o semicerrados, donde se intenta simular condiciones naturales específicas. En el caso de los mesocosmos *in situ*, por lo general corresponden a complejos que son ubicados dentro del ecosistema a trabajar (río, lago, laguna, turbera, entre otros). Un diagrama que ejemplifica este tipo de sistemas es presentado en Cataldo *et al.* (2012), el que fue diseñado con cilindros de polietileno (PET) de 75 cm de diámetro, 50 cm de alto con ambos lados abiertos. Adherido a este cilindro circular flotante, se encontraba una bolsa cilíndrica canónica de 150 cm de largo (150 μ M de grosor). Cada dispositivo se llenaba hasta unos 25 cm del borde con agua del Río Grande, Argentina (**Figura 2**).

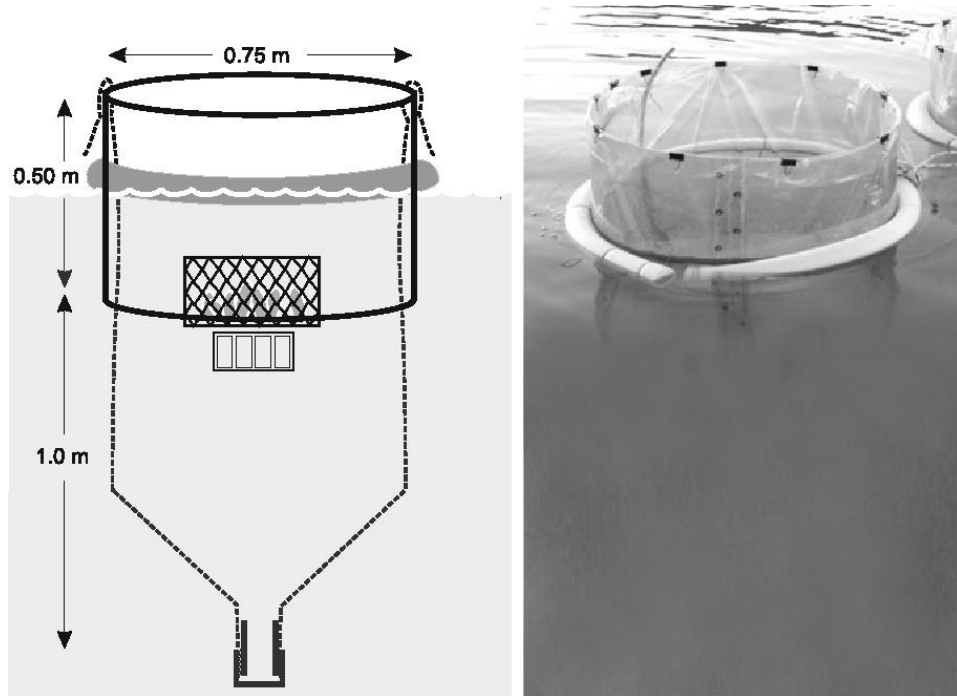


Figura 2.

Ejemplo de un mesocosmos *in situ*, tomado de Cataldo *et al.*, 2012. A la izquierda el diagrama del dise1o empleado; a la derecha una fotograf1a del dispositivo instalado *in situ*.

Algunos ejemplos del uso de mesocosmos *in situ*, enfatizando en los objetivos que pueden abordarse con este tipo de dise1o experimental y los impactos obtenidos en los estudios, se presenta a continuaci3n:

- Medidas repetidas en el tiempo para evaluar cambio en los par1metros del agua y densidad de microalgas nocivas en presencia de un mejill3n invasor (*Limnoperna fortunei*). Los autores evaluaron cambios de nutrientes, clorofila *a*, fitoplancton, y densidad y tama1o de c3lulas de la colonia de *Microcystis spp.* con mediciones a los 0, 1, 2, 3, 7, 14, 21, 28 y 35 d1as despu3s de instalado el mesocosmos. Impacto: La especie invasora modifica las concentraciones y proporciones de nutrientes y promueve la agregaci3n de algas nocivas (*Microcystis spp.*), condiciones que podr1an favorecer la floraci3n de esta alga nociva (Cataldo *et al.*, 2012).
- Medidas repetidas en el tiempo para evaluar cambios en los par1metros del agua y sobre la composici3n y abundancia del zooplancton (depredaci3n) en presencia de un mejill3n invasor (*L. fortunei*). Impacto: La especie invasora tiene impactos negativos sobre la abundancia y composici3n de las especies del zooplancton, y la estructura de tama1os. La capacidad del



mejillón para controlar el zooplancton puede explicarse por su consumo directo o por la competencia por los recursos tróficos (Rojas-Molina *et al.*, 2012).

- Separar y medir el efecto del pastoreo de especies de loricáridos introducidos, sobre el crecimiento y producción algal, del efecto del consumo de remineralización de nutrientes, a partir de 12 mesocosmos de 400L y tres tratamientos, un control sin peces, uno con baja densidad de peces y uno con alta densidad de peces. Impacto: Los loricáridos evaluados generaron una depresión de la biomasa algal y de las tasas de producción primaria en los experimentos de mesocosmos e *in situ*. Mientras que, la remineralización de nutrientes mediada por los loricáridos incrementó la biomasa algal y la producción primaria en los mesocosmos en comparación con los tratamientos control sin loricáridos. En resumen, incluso cuando la limitación de nutrientes fue aliviada, el pastoreo intensivo por altas densidades de loricáridos tuvo un efecto neto negativo sobre la biomasa algal y la productividad primaria. A partir de estos resultados, los autores demuestran la necesidad de cuantificar tanto el efecto del consumo y de la remineralización de herbívoros, con la finalidad de desarrollar una mejor comprensión de cómo los organismos introducidos influyen la estructura y función de los ecosistemas (Capps *et al.*, 2015).

- Mesocosmos al aire libre.

A diferencia de los mesocosmos *in situ*, los denominados al aire libre si bien se encuentran en espacios abiertos, estos no son colocados en el mismo ambiente (río, lago, mar, entre otros) de donde provienen los organismos a estudiar. En estos casos, se recomienda la obtención de agua y sustrato del ambiente a estudiar, y se deposita en los recipientes que están dispuestos en un espacio diferente. Se suele usar este tipo de enfoques cuando es necesaria la instalación de equipamiento adicional, que dificulta su maniobrabilidad si es que este está dispuesto *in situ* (por ejemplo, cámaras fotográficas, data loggers, entre otros). Un ejemplo de este tipo de diseños experimentales es el presentado por Doherty-Bone *et al.*, 2018, quienes utilizaron depósitos de agua de plástico de 0,65 m de profundidad, 1 m de diámetro y 0,78 m² de superficie excavados en el suelo. Estos recipientes se encontraban situados en la Unidad de Investigación de Campo de la Universidad de Leeds, en North Yorkshire, Reino Unido. Los tanques estaban cubiertos con una malla (con una apertura de 20 mm) para evitar el escape de los decápodos. Al lado de cada tanque, había una sonda y un data logger para medir la respiración (**Figura 3**).

Algunos ejemplos del uso de mesocosmos al aire libre, enfatizando en los objetivos que pueden abordarse con este tipo de diseño experimental y los impactos obtenidos en los estudios, se presenta a continuación:



Figura 3.

Mesocosmos al aire libre diseñado. Imagen tomada de Doherty-Bone *et al.*, 2018.

- Evaluar los impactos de la invasión y la extinción de decápodos en la estructura de la comunidad de macroinvertebrados, los procesos y las propiedades de los ecosistemas autógenos y alóctonos (físicoquímica acuática). En mesocosmos separados, con iguales densidades de los diferentes decápodos, midieron las densidades de macroinvertebrados, descomposición de la hojarasca, producción de biofilms, plancton, macrófitos, productividad primaria bruta, turbidez y nutrientes disueltos, después de 33 días de instalados los experimentos. Impacto: Especie invasora como posible sumidero de nitrógeno, mediado por el incremento del perifiton y por la reducción del reciclaje de nitrógeno. No hubo impacto sobre otros procesos evaluados (por ejemplo, las tasas de descomposición, la respiración de los sedimentos, la respiración de la comunidad y la productividad primaria bruta) (Doherty-Bone *et al.*, 2018).
- Cuantificar los efectos ecológicos de las especies invasoras Gambusias (*Gambusia affinis* y *G. holbrooki*) y Guppy (*Poecilia reticulata*), y compararlo con los efectos de dos especies nativas de tamaño comparable, el Pez arroz (*Oryzias curvinotus*) y el Barbo dorado (*Puntius*



semifasciolatus). De esta manera, buscaban investigar cómo ambos poecilos afectarían a los conjuntos de invertebrados (abundancia, riqueza y composición), a la producción primaria (biomasa de fitoplancton y perifiton) y a las concentraciones de nutrientes (carga de nitrógeno: es decir, nitrato, nitrito y amonio), y (2) examinar cómo variarían estos efectos con la estación. Tanto el efecto sobre los invertebrados, productores primarios, carga de nitrógeno en cada estación, evaluaron si existían diferencias entre los poecilos invasores y las dos especies nativas de tamaño similar. Impacto: A partir de los resultados de este estudio, los autores revelan que los invasores no siempre tienen impactos más fuertes que los nativos, y que los poecilos invasores difieren en la intensidad de sus efectos ecológicos. Los poecilos invasores y los peces nativos redujeron la abundancia y la riqueza de invertebrados y alteraron la composición de los ensamblajes, pero no tuvieron efectos sobre la biomasa de algas o las cargas de nitrógeno.

- Mesocosmos de interior o en laboratorio.

Los mesocosmos de interior o en laboratorio, suelen ser utilizados en aquellos casos donde se requiere controlar condiciones específicas y que son difícilmente controladas en espacios abiertos (por ejemplo, la luminosidad, flujo de agua, entre otros) y/o que requiere de una logística o equipamiento que dificulta su manejo ya sea in situ o en otro tipo de espacios abiertos. También suele usarse cuando se pretende evaluar la respuesta de los organismos a sustancias que representan un riesgo para la salud de los ecosistemas o este riesgo es desconocido, pero se sospecha que es alto. Un ejemplo de este tipo de diseños es el descrito por Auflan *et al.*, 2014, con una configuración inicial que consiste en introducir el sedimento y llenar un tanque (750 × 200 × 600 mm) con agua. El agua y el sedimento se eligen para que se aproximen a la química de la solución del ecosistema natural de interés, y los macro y microorganismos se recogen del mismo entorno natural. En esta primera fase, a los organismos se le permite la aclimatación y posteriormente, pasan por un período de exposición de los nanomateriales de ingeniería y a ensayos de ecotoxicidad. Puede tratarse de un solo pulso o de experimentos de dosificación múltiple (**Figura 4**).

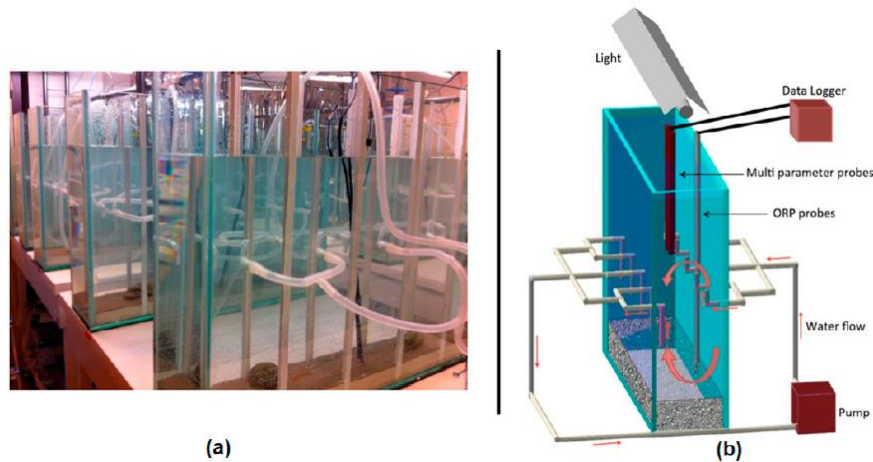


Figura 4.

Mesocosmos en laboratorio. A la izquierda una fotografía de la instalaci3n de un mesocosmos en un laboratorio, a la derecha el diseño de este mesocosmos. Imagen tomada de Ayadi *et al.*, 2020.

Algunos ejemplos del uso de mesocosmos de interior o en laboratorio, enfatizando en los objetivos que pueden abordarse con este tipo de diseño experimental y los impactos obtenidos en los estudios, se presenta a continuaci3n:

- Evaluar la competencia entre la especie invasora *Lemma minuta* y la nativa *Lemma minor*, a partir de su desempeño (tasa de crecimiento) en condiciones mesotr3ficas. Los mesocosmos correspondieron a una simulaci3n de un ambiente con condiciones mesotr3ficas de f3sforo (P) para evaluar la competitividad de ambas especies en condiciones de baja disponibilidad de P y compararlo con los resultados de un mesocosmos al aire libre, con niveles de alto contenido de nutrientes. Impacto: En condiciones experimentales en laboratorio, la especie nativa mostr3 ser mejor competidor, contrastando con los resultados al aire libre, donde la especie nativa fue mejor competidora. Lo que evidencia que la especie nativa es mejor competidora en ambientes mesotr3ficos, sin embargo, ambientes eutrofizados favorecen a la especie invasora (Gerard y Triest, 2018).
- Evaluaci3n de factores conductuales y ecol3gicos que determinan la relaci3n entre especies de peces dulceacu3colas invasoras y las aut3ctonas. Este enfoque se bas3 en el an3lisis de experimentos de comportamiento con individuos capturados en el campo, estudiando factores como: la competencia entre especies, la temperatura del agua, las diferencias en la eficiencia de aprendizaje entre las especies aut3ctonas y las invasoras que compiten con ellas, y c3mo los rasgos de personalidad de los individuos de los peces afectan a las relaciones intra-poblacionales e inter-poblacionales. Dentro de los rasgos conductuales que pueden ser



evaluados se presentan: la tasa de alimentación de un individuo a diferentes temperaturas, tiempo de inicio de la alimentación de cada individuo, tiempo de caza. Impacto: A partir de este estudio se logró concluir que la especie invasora *Neogobius fluviatilis* representa una amenaza especialmente peligrosa para las especies de peces autóctonas europeas por las siguientes razones: es un competidor alimentario más fuerte y es más agresivo, tolera mejor el aumento de las temperaturas, muestra una mayor variación en los rasgos de personalidad y muestra reacciones más flexibles ante situaciones novedosas que las especies autóctonas (Pawelec-Olesinka, 2020).

- Investigar la eficiencia de alimentación y variación inter e intraespecífica en la dieta de guppys invasores y de una especie nativa ecológica y filogenéticamente similar (*Phallogeros harpagos*), durante su interacción inicial al inicio de un proceso de invasión. Para ello, simulamos un escenario inicial de invasión y se comparó con un escenario pre-invasión. Para evaluar la competencia, registraron la eficiencia en el consumo de invertebrados tanto de los guppys invasores y el nativo *P. harpagos*, a partir de la tasa de consumo y la tasa de ataque durante 10 minutos. Impacto: Las especies invasoras no son intrínsecamente mejores consumidores de recursos de alta calidad. Por lo tanto, la variación intra-específica podría jugar un rol en la generación de interacciones entre especies durante las fases tempranas de la invasión (Amaral *et al.*, 2021).
- Microcosmos *in situ* y en laboratorio.

No existe un consenso en lo que diferencia un microcosmos de un mesocosmos, algunos autores lo establecen en relación a las dimensiones del diseño, estableciendo que este último corresponde a dispositivos de desde 1 a miles de litros (Stewart *et al.*, 2013). Sin embargo, otros autores describen que esta diferencia podría estar determinada por la escala temporal, donde los microcosmos son ensayos que se desarrollan en horas, días o semanas, mientras que los mesocosmos toman días o meses para su desarrollo. De esta manera, aquí se mantuvo la categorización (micro o mesocosmos) sugerida por los autores en las publicaciones desarrolladas.

A través de este tipo de ensayos, Gutierrez-Yurrita *et al.*, (2015) buscaban examinar el impacto de la especie introducida *Procambarus clarkii* (Camarón rojo) a diferentes densidades sobre las comunidades biológicas (macrófitas acuáticas, algas y macroinvertebrados) en un humedal temporal o pantano. Para ello, desarrolló un microcosmos *in situ*, que consistía en contenedores de 4m² con malla de 5mm, sumergidos 30cm, abiertos por arriba y por abajo, que pueden funcionar como un sistema cerrado al intercambio de cangrejos de río, pero abierto al intercambio de macroinvertebrados,



otras materias y agua del río corriente. Este experimento permite ver la capacidad predatoria de *P. clarkii* y el impacto trófico de la misma. En este trabajo, los autores pudieron evidenciar que la especie invasora *P. clarkii* actúa en los ecosistemas de diferentes maneras y a varios niveles modificando las rutas de transferencia de energía y la disponibilidad de recursos alimenticios y de refugio para otras especies en los ecosistemas (Gutierrez-Yurrita *et al.*, 2015).

Algunos ejemplos del uso de microcosmos de interior o en laboratorio, enfatizando en los objetivos que pueden abordarse con este tipo de diseño experimental y los impactos obtenidos en los estudios, se presenta a continuación:

- Evaluar el éxito de crustáceos decápodos invasores a partir de la cuantificación de respuesta funcional y selección de alimento, además de rasgos de personalidad (“audacia/atrevimiento”, exploración, actividad, sociabilidad y voracidad), comparándolo con los resultados de especies nativas en laboratorio. Adicionalmente, la invasión experimental de protistas ciliados permite evaluar cómo la presión del propágulo (número de organismos introducidos y eventos de introducción) pueden incrementar el éxito de invasión (tasa y densidad de la población) y el impacto de los invasores. Impacto: El uso del recurso, el comportamiento y la presión del propágulo tienen el potencial para predecir la identidad, el impacto y las dinámicas de invasores exitosos y por lo tanto ser consideradas en estrategias de manejo (Taylor, 2016).
- Evaluar el impacto de *Ameiurus nebulosus*, una especie de pez exótica e invasora dominante en estas charcas, sobre las comunidades microbianas y los pequeños metazoos (ficroflora, bacterias, flagelados heterótrofos, ciliados y crustáceos) en las charcas de turba. De esta manera, evidenciar el impacto de la temperatura sobre el impacto de *A. nebulosus* sobre las comunidades microbianas. Impacto: La presencia del pez invasor, en combinación con el incremento de la temperatura mostraron ser causales en los cambios de las comunidades microbianas. Esto fue reflejado en el decrecimiento en la abundancia de crustáceos planctónicos y el incremento en ciliados. El solapamiento de los efectos de especies invasoras y la temperatura, podrían intensificar la eutroficación de ecosistemas de turberas y el incremento en la proporción de cianobacterias, por lo tanto, afectar el ciclo del nitrógeno en estos ecosistemas (Mieczan *et al.*, 2022).

- Exclusión *in situ*.

Estos ensayos consisten en la utilización de redes u otro tipo de barreras que impiden el paso del organismo focal. En medios acuáticos, estas son sumergidas para, por ejemplo, evitar que los peces ingresen a las zonas de exclusión, pero sí permitiendo el paso de otros organismos, como zooplancton.



Un ejemplo del uso de este ensayo es para evaluar la vía de flujo de energía (bottom-up o top-down), como lo evidencia Capps *et al.*, (2015) en loricáridos herbívoros introducidos, los cuales afectan la productividad primaria en sistemas invadido, el Río Chacamax en México. De esta manera, a partir de una exclusión *in situ*, los autores buscaron medir el efecto del consumo de los loricáridos sobre el epifiton y masa seca, a partir de la exclusión de *Pterogoplichthys spp.* Los resultados presentados evidencian que el pastoreo redujo significativamente la biomasa de algas, medida por la clorofila a, y la masa seca del epilítón después de 10 días de exclusión de los loricáridos, teniendo implicancias en los flujos de energía en este sistema.

- Ensayos de cohabitación.

Los ensayos de cohabitación buscan evaluar el comportamiento o el desarrollo de una especie cuando está en presencia de otra. Ya sea para ver aspectos de transmisión de patógenos (Quintanilla *et al.*, 2021), comportamiento competitivo (Brink y Hutting, 2017), impactos tróficos (Britton *et al.*, 2018), entre otros. Estos ensayos pueden ser desarrollados en interiores (por ejemplo, laboratorios), exteriores (granjas experimentales) o *in situ*.

Algunos ejemplos del uso de ensayos de cohabitación, enfatizando en los objetivos que pueden abordarse con este tipo de diseño experimental y los impactos obtenidos en los estudios, se presenta a continuación:

- Evaluar el comportamiento competitivo entre juveniles del cangrejo exótico invasor *Hemigrapsus takanoi* y adultos del nativo *Carcinus maenas*, en arrecifes. Evaluaron el comportamiento de competencia por alimentación y por refugio. Para el experimento de competencia por alimento, se incluyeron diferentes conformaciones de tamaños de *C. maenas* en competencia con *H. takanoi* en los acuarios. La información registrada para cada especie fue: el primero en encontrar el alimento, número de intentos exitosos de alimentación, tiempo gastado en alimentación, número de veces que la alimentación no fue exitosa, y número de desplazamiento agresivo. Para el experimento de competencia por refugio, el nivel del sustrato se subió de 0,5 cm a 15 cm. En estos acuarios se colocaron conchas de almejas para que existieran refugios disponibles para los cangrejos de ambas especies. Aquellos cangrejos que al menos todas las patas de un lado estuvieran cubiertas por el caparazón, se consideraron como usuarios del refugio. Impacto: Los resultados del estudio ilustran que la ocurrencia y la intensidad de la competencia entre cangrejos exóticos (*H. takanoi*) y nativos (*C. maenas*) varían en función de la estación, hábitat, tamaño poblacional y habilidad competitiva. Debido a la agresividad mostrada por *H. takanoi* en la competencia por recursos con *C. maenas*, se



sugiere que la introducción de *H. takanoi* puede haber presentado una presión competitiva y/o de depredación a la que los juveniles de *C. maenas* son menos capaces de sobrevivir (Brink y Hutting, 2017).

- Utilizar un experimento de cohabitación in situ, basado en análisis de isótopos estables, para determinar cómo la ecología trófica de pez nativo *Carassius carassius* fue afectada por el invasor *Cyprinus carpio*; y cómo es el impacto de la invasión de *Cy. carpio* comparado con otro invasor global como *Carassius auratus*. Para ello, generaron un diseño experimental basado en el uso de experimentos en alopatria y simpatria. El primero de ellos, uso cada especie de forma individual (*C. carassius*, *Cy. Carpio* y *C. auratus*), mientras que el experimento simpátrico se utilizaron 2 especies por tratamiento, resultando en tres tratamientos simpátricos (*C. carassius/C. auratus*, *C. carassius/Cy. carpio*, y *Cy. carpio/C. auratus*). Los experimentos de cohabitación se realizaron en lagunas cerradas y las alteraciones en la ecología trófica entre tratamientos se evaluó a través de análisis de isótopos estables $\delta^{13}C$ y $\delta^{15}N$ de cada especie, con tasas de crecimiento para evaluar cualquier impacto consecuente sobre los peces. Impacto: La plasticidad del nicho isotópico de *Cy. carpio* presentó alteraciones significativas en su posición trófica entre alopatria y simpatria con repercusiones en la reducción del crecimiento. Esto sugiere que los procesos competitivos que lo subyacen fueron intra-específicos más que inter-específicos. Así mismo, la tasa de crecimiento para ambas especies de *Carassius* fue significativamente deprimida en presencia de *Cy. capio*. Estos resultados enfatizan que las consecuencias ecológicas de *Cy. carpio* al invadir cuerpos de agua dulce, incluye impactos sobre la ecología trófica de las especies nativas (Busst y Britton, 2017). Resultados de un estudio con la misma configuración y enfoque metodológico, evidencia que las carpas simpátricas tenían nichos isotópicos más grandes que en alopatria, sugiriendo que es probable que también intervengan otros procesos ecológicos, como los relacionados con los recursos de presas de los peces (Dominguez-Almela *et al.*, 2021). Ambos resultados manifiestan la complejidad inherente a la hora de determinar cómo las especies invasoras omnívoras se integran en las redes alimentarias y alteran su estructura (Buss y Britton, 2017; Dominguez-Almela *et al.*, 2021).
- Predecir a partir de ensayos de respuesta funcional comparativa y cohabitación los impactos tróficos de una invasión de un pez exótico de agua dulce (*Leuciscus idus*) sobre dos especies nativas similares desde el punto de vista trófico y taxonómico (*Squalius cephalus* y *Barbus barbus*). Para el ensayo de cohabitación, utilizaron ensayos que simulan alopatria (cada especie en estanques separados) y simpatria (combinaciones de dos especies en un mismo estanque). Al final de los ensayos experimentales (30 días), obtuvieron la tasa de crecimiento de cada especie para ser comparada. Adicionalmente, realizaron ensayos de cohabitación en



mesocosmos al aire libre, con las mismas configuraciones indicadas arriba y un escenario de simpatria adicional con las tres especies en un mismo mesocosmos. Para este último, se utilizaron mediciones de isótopos estables para cuantificar los cambios en los tamaños de nicho trófico de los peces, entre alopatría y simpatria usando un diseño experimental sustitutivo. Impacto: Las tasas de consumo del pez invasor (*L. idus*) fueron más altas en comparación con *B. barbatus*, no así con la especie nativa *S. cephalus*. Así mismo, sólo *L. barbatus* presentó tasas de crecimiento significativamente menores en presencia de *L. idus*. En relación a los ensayos de cohabitación en mesocosmos, los nichos isotópicos fueron más pequeños y más divergentes en las especies pareadas simpátricas, respecto de lo esperado por sus tratamientos alopátricos, lo que sugiere impactos tróficos producto de la competencia inter-específica. Sin embargo, el tratamiento simpátrico para todas las especies evidenció tamaños de nicho similares con alopatría. Esta mantención de los tamaños de nicho en presencia de todas las especies resultó potencialmente del efecto de amortiguación de efectos competitivos directos, y por los efectos indirectos de las especies pareadas. La mayor complejidad de los sistemas de estanques cuando todas las especies estaban presentes dio lugar a interacciones más complejas y resultados menos predecibles, y puso de manifiesto las interacciones directas e indirectas que permiten a las especies exóticas integrarse en las redes alimentarias autóctonas (Britton *et al.*, 2018).

- Investigar la susceptibilidad del Siluro de agua dulce, Perca Dorada, Perca Macquarie y la Perca Pigmea del Sur (*Nannoperca australis*), a DGIV (Iridovirus del Gurami Enano) aislado de un Gurami Enano desde el comercio de peces ornamentales en Australia. Para ello, en el Esturión de Murray (*Maccullochella peelii*) realizaron la infestación experimental de DGIV, aislado de Gurami Enano, a partir de una inyección intra-peritoneal y además de ensayos de cohabitación durante 56 días de exposición de peces sanos con peces infestados por DGIV. Impacto: Este estudio, además de confirmar la transferencia horizontal inter e intra-específica de DGIV (tipo ISKNV), expande el rango de temperatura para la cual se da esta transferencia. En una de las especies evaluadas (Pez Gato) fue considerado no susceptible al no presentar mortalidades, ni signos clínicos asociados a DGIV en condiciones experimentales. Sin embargo, el virus fue detectado en peces con al menos 31 DPI (días post infección), lo cual sugiere que esa especie podría tener un rol importante como un vector mecánico y un reservorio de DGIV durante brotes de la enfermedad. Los tiempos supervivencia y aparición de mortalidades por DGIV evidencia un desarrollo asincrónico de la enfermedad, lo cual evidencia las dinámicas epidemiológicas para cada una de las especies, en presencia de individuos infestados. Estos resultados confirman que el DGIV en el tráfico de peces ornamentales en Australia es un riesgo para el manejo y la supervivencia de poblaciones nativas del Siluro de agua dulce, Perca Dorada, Perca Macquarie y posiblemente la Perca



Pigmea del Sur. Esta dinámica representa el riesgo que un virus exótico pueda impactar negativamente la industria y obstaculizar los esfuerzos de conservación. Este trabajo, evidencia la importancia de ensayos de cohabitación en la evaluación del riesgo de introducción de enfermedades no nativas, durante el tráfico de especies al país receptor.

- Respuesta funcional comparativa.

Los experimentos de respuesta funcional comparativa (RFC) comparan las tasas de consumo en función de la densidad de las presas entre las especies exóticas y las nativas (Dick *et al.*, 2013). Este tipo de ensayos, se acoplan a mesocosmos. Por ejemplo, Xu *et al.*, 2016 exploraron la utilidad de la RFC de invasores con diferentes niveles de invasividad, para entender y predecir los impactos ecológicos de estos. Para ello, realizaron un experimento de mesocosmos para determinar las respuestas funcionales (RF) de tres caracoles herbívoros con diferentes niveles de invasividad (*Pomacea canaliculata*, altamente invasivo y ecológicamente dañino; *Planorbarius corneus*, no invasivo y de bajo impacto ecológico; y *Bellamya aeruginosa*, tróficamente análoga y ecológicamente benigno al ser nativo). Por lo tanto, los autores asociaron la FR de estas especies con la invasividad e impacto ecológico, para explorar si, como es predicho, las especies exóticas invasoras tienen parámetros de FR estándar diferentes y magnitudes de FR más altas que las especies exóticas no invasoras y las nativas, y si las especies no invasoras tenían parámetros de FR intermedios. Para el diseño de los mesocosmos, se emplearon 3 factores: el primero correspondía a la especie de planta acuática (4 especies; cada especie fue añadida de forma separada a 7 estanques de 25L de 45 cm x 35 cm x 25 cm). Además, el segundo factor correspondió a las densidades y masa de las plantas (0,5, 1, 2, 4, 6, 8, 10 g). Dentro de cada estanque, se colocaron 4 cajas (15 cm x 15 cm x 15 cm) con un individuo de cada una de las 3 especies de caracol, y un control negativo sin el caracol. Este diseño correspondía a un bloque de 28 estanques (7 x 4), el cuál fue replicado 3 veces y mantenido durante 48 horas. Posterior a esto, se midió el potencial de crecimiento de las plantas a partir de su biomasa (M): $M_{\text{control } 48h} - M_{\text{control } 0h}$. El consumo por los caracoles fue determinado por: $M_{\text{tratamiento } 0h} - M_{\text{tratamiento } 48h}$. Acorde al ajuste de modelos polinomiales, las tres especies de caracol exhibieron una respuesta funcional tipo II hacia las cuatro especies de plantas evaluadas. Los autores, a través de este enfoque de RFC y simulaciones de las dinámicas poblacionales de los caracoles, demostraron que la FR podría ser un predictor tanto del potencial de invasión de las especies, como del impacto ecológico de las mismas. De esta forma, proveen una forma de predecir las interacciones entre consumidores introducidos y los recursos locales, el desarrollo de las especies introducidas y su influencia ecológica potencial sobre comunidades nativas.

Un antecedente adicional presentado por Taylor *et al.*, (2016), se enfocó en la cuantificación de respuesta funcional y selección de alimento, además de rasgos de personalidad



("audacia/atrevimiento", exploración, actividad, sociabilidad y voracidad) de crustáceos decápodos invasores y nativos en laboratorio. Adicionalmente, a partir de una invasión experimental de protistas ciliados en un microcosmos en laboratorio, los autores entregaron datos cuantitativos para mostrar cómo la presión del propágulo (número de organismos introducidos y eventos de introducción) pueden incrementar el éxito de invasión (tasa y densidad de la población) y el impacto de los invasores. En general, el uso del recurso, el comportamiento y la presión del propágulo tienen el potencial para predecir la identidad, el impacto y las dinámicas de invasores exitosos y por lo tanto ser consideradas en estrategias de manejo. De igual forma, se propone que la tasa metabólica sería otra medida que ayudaría a predecir el éxito e impacto de las invasiones biológicas. Este tipo de medidas, principalmente aquellas asociadas a la respuesta funcional, tasa metabólica y rasgos asociados al comportamiento, no son consideradas en la evaluación de los riesgos de importación de especies hidrobiológicas.

5.2 Análisis comparativo de las metodologías identificadas.

A partir de la información sistematizada en el punto anterior, relativa a las metodologías mencionadas en las solicitudes de primera importación de especies hidrobiológicas a Chile entre los años 2015 y 2021, sumado a la información recopilada en la revisión bibliográfica asociada a estudios que evaluaron los potenciales impactos de especies exóticas en nuevos ambientes, se generó un análisis de fortalezas y debilidades de las diferentes metodologías identificadas. Se detallaron las metodologías recopiladas, y luego, en función de los atributos mencionados en la Tabla 3, se determinó el nivel de aplicabilidad de cada una de ellas. Este análisis, constituyó un filtro inicial de las metodologías identificadas, permitiendo seleccionar aquellas recomendadas en función de su aplicabilidad.

En relación al análisis comparativo de las metodologías identificadas, para cada una de ellas se describieron diferentes atributos, cuyas definiciones se presentan a continuación:

- *Metodología*: hace referencia al sistema experimental utilizado en el diseño del estudio, los cuales pueden ser:
 - *Mesocosmos/Microcosmos*: Corresponde a un diseño experimental donde se intenta simular las condiciones naturales específicas, ya sea ubicando sistemas cerrados o semicerrados en el ambiente a evaluar o tomando algunos componentes de este (sustrato, agua, entre otros) para la elaboración de los experimentos en otro tipo de espacios (por ejemplo, laboratorios). Debido a que no existe consenso en el límite entre micro y mesocosmos



- (Stewart *et al.*, 2013; Alabrano *et al.*, 2020), aquí fueron agrupados, considerando que, debido a su ambigüedad, en un sentido amplio presentan las mismas características, diferenciándose (según el autor) en la escala espacial y/o temporal en que estos se realizan.
- Exclusión: Diseño experimental que impide el ingreso de nuevos organismos al sistema en evaluación, a partir de la integración de redes, jaulas o similares (más detalle en sección 5.1.).
 - Cohabitación: Diseño experimental que evalúa el efecto de la interacción entre dos o más especies (nativas y exóticas), permitiendo realizar una vigilancia tanto sanitaria como ambiental.
 - Ensayos de desafío: Diseño experimental asociado a la evaluación de una determinada especie o población a condiciones específicas con el fin de determinar su desempeño o efecto (condiciones ambientales, exposición a patógenos, entre otros.)
- **Categoría:** hace referencia al lugar físico donde se desarrolla el estudio y/o ensayo:
 - *in situ*: El estudio se realiza en el hábitat natural o en el potencial hábitat de la(s) especie(s) a evaluar.
 - *Al aire libre*: Los ensayos son realizados en espacios abiertos (por ejemplo, parcelas), pero distante del medio natural, o potencial ambiente, donde se desarrollan los organismos experimentales.
 - *Laboratorio*: El estudio se desarrolla en instalaciones delimitadas y generalmente bajo condiciones controladas.
 - **Nivel de organización:** Corresponde al nivel de jerarquía ecológica (individuo, población, comunidad, ecosistema) en la que las conclusiones del estudio podrían ser extrapolados o proyectados.
 - **Vigilancia:** Relativo a qué tipo de vigilancia que es posible realizar con la metodología indicada, pudiendo ser estas ambiental y/o sanitaria.
 - **Similitud:** Nivel de representatividad del experimento en relación a las condiciones presentes en un ambiente natural, pudiendo ser alta, moderada o baja.
 - **Duración:** tiempo que puede tomar la ejecución de la metodología, pudiendo ser este de largo, mediano o corto plazo.



- **Infraestructura:** Relativo al nivel de infraestructura requerido para la ejecución de la metodología, entendiendo infraestructura como el conjunto de medios técnicos, servicios e instalaciones necesarios para la ejecución de la metodología. Las categorías pueden ser:
 - *Si:* existe la necesidad de edificaciones para mantención de los ejemplares
 - *No:* no requiere edificaciones especializadas).
- **Equipamiento:** Relativo a la cantidad mínima de equipos necesarios para la ejecución de la metodología, categorizándolo como alto, moderado o bajo.
- **Tipo de circuito:** Hace referencia a conceptos modificados de la resolución Res. Ex. N°2662 de octubre del 2020 (Subpesca) en función de las condiciones experimentales, asociadas al intercambio entre los organismos en evaluación y su entorno, más no por términos operativos (ejemplo: provisión y flujo de agua) como está establecido en la resolución mencionada.
 - *Semi-cerrado:* Sistema en el cual los individuos en evaluación se encuentran confinados en estructuras que permiten el intercambio entre el medio acuático en donde se encuentran los organismos y el medio acuático natural.
 - *Cerrado:* Sistema en el cual los individuos en evaluación se mantienen aislados del ambiente acuático natural, se impide el acceso y escape de individuos en cualquier fase de su desarrollo y los efluentes son debidamente tratados antes de ser evacuados.
 - *Controlado:* Sistema en el cual los individuos en evaluación se mantienen aislados del ambiente acuático natural, se impide el acceso y escape de individuos en cualquier fase de su desarrollo, los efluentes son debidamente tratados antes de ser evacuados y se controlan factores abióticos asociados al cultivo (temperatura, oxígeno, entre otros).
- **Fortalezas:** Características de los atributos considerados positivos, en función de la pertinencia de uso de la metodología asociada a la evaluación de una especie de primera importación.
- **Debilidad:** Atributos considerados negativos, en función de la pertinencia de uso de la metodología asociada a la evaluación de una especie de primera importación.
- **Aplicabilidad:** Grado de pertinencia del uso de la metodología en el contexto nacional, considerando la totalidad de fortalezas y debilidades compiladas previamente, con énfasis en el resguardo del patrimonio sanitario y ambiental nacional.



En la **Tabla 3** se presenta el análisis comparativo de las metodologías identificadas, junto a la identificación de sus fortalezas y debilidades a fin de poder evaluar su aplicabilidad a nivel nacional. Es importante hacer mención que, para el caso de los estudios de mesocosmos y microcosmos, estos fueron agrupados en una sola metodología, ya que a juicio de algunos autores (Stewart *et al.*, 2013; Alabrano *et al.*, 2020), el límite entre ambas categorías aún no se encuentra claramente definido.



Tabla 3.
Tabla de fortalezas y debilidades de las diferentes metodologías.

Metodología	Categoría	Nivel de organización	Vigilancia	Similitud	Duración	Infraestructura	Equipamiento	Tipo de circuito	Fortalezas	Debilidad	Aplicabilidad
Mesocosmos- Microcosmos	<i>in situ</i>	Comunidad-Ecosistemas	Ambiental	Alta	Mediano-Largo plazo	No	Bajo-Moderado	Semi-cerrado	<ul style="list-style-type: none"> - Permite evaluar mayores rangos de niveles de organización (comunidades y ecosistemas). - Debido a su alta similitud con el medio en el que se desarrollan los organismos, los resultados obtenidos tienen mayor representatividad. - No requiere un alto grado de infraestructura y/o equipamiento. 	<ul style="list-style-type: none"> - No es posible realizar vigilancia sanitaria. - Por lo general, requieren mayor tiempo para su evaluación. - El circuito semi-cerrado representa un riesgo sanitario-ambiental, representando una baja aplicabilidad en el contexto de primera importación. 	Baja
	Al aire libre	Comunidad-Ecosistemas	Ambiental	Moderada	Mediano-Largo plazo	No	Bajo-Moderado	Cerrado	<ul style="list-style-type: none"> - Permite evaluar mayores rangos de niveles de organización (comunidades y ecosistemas). - No requiere un alto grado de infraestructura y/o equipamiento. 	<ul style="list-style-type: none"> - No es posible realizar vigilancia sanitaria. - Por lo general, requieren mayor tiempo para su evaluación. - El circuito cerrado (no controlado) representa un riesgo sanitario-ambiental, representando una moderada aplicabilidad en el contexto de primera importación. 	Moderada
	Laboratorio	Comunidad-Ecosistemas	Ambiental	Moderada	Mediano-Largo plazo	Si	Alto	Controlado	<ul style="list-style-type: none"> - Permite evaluar mayores rangos de niveles de organización (comunidades y ecosistemas). - Al ser un sistema cerrado y controlado, presenta bajo riesgo sanitario-ambiental, representando una alta aplicabilidad en el contexto de primera importación. 	<ul style="list-style-type: none"> - No es posible realizar vigilancia sanitaria. - Por lo general, requieren mayor tiempo para su evaluación. 	Alta



Metodología	Categoría	Nivel de organización	Vigilancia	Similitud	Duración	Infraestructura	Equipamiento	Tipo de circuito	Fortalezas	Debilidad	Aplicabilidad
Exclusión	<i>in situ</i>	Comunidad	Ambiental	Alta	Mediano plazo	No	Moderado	Semi-cerrado	<ul style="list-style-type: none"> - Debido a su alta similitud con el medio en el que se desarrollan los organismos, los resultados obtenidos tienen mayor representatividad. - No requiere un alto grado de equipamiento. 	<ul style="list-style-type: none"> - No es posible realizar vigilancia sanitaria. - Por lo general, requieren mayor tiempo para su evaluación. - El circuito semi-cerrado representa un riesgo sanitario-ambiental, representando una baja aplicabilidad en el contexto de primera importación. 	Baja
Cohabitación	<i>in situ</i>	Comunidad	Ambiental	Alta	Corto plazo	No	Bajo-Moderado	Semi-cerrado	<ul style="list-style-type: none"> - Debido a su alta similitud con el medio en el que se desarrollan los organismos, los resultados obtenidos tienen mayor representatividad. - Requiere un corto a mediano plazo para la realización de los ensayos. - No requiere un alto grado de equipamiento. 	<ul style="list-style-type: none"> - No es posible realizar vigilancia sanitaria.- El circuito semi-cerrado representa un riesgo sanitario-ambiental, representando una baja aplicabilidad en el contexto de primera importación. 	Baja
	Laboratorio	Comunidad	Sanitario-Ambiental	Baja-Moderada	Corto plazo	Si	Alto	Controlado	<ul style="list-style-type: none"> - Permite realizar vigilancia sanitaria y ambiental. - Requiere un corto a mediano plazo para la realización de los ensayos. - Al ser un sistema cerrado y controlado, presenta bajo riesgo sanitario-ambiental, representando una alta aplicabilidad en el contexto de primera importación. 	<ul style="list-style-type: none"> - Requiere mayor infraestructura y equipamiento para la realización de los ensayos. - Sólo permite evaluación a nivel de comunidades. - Presenta un bajo nivel de similitud respecto del ambiente natural. 	Alta



Metodología	Categoría	Nivel de organización	Vigilancia	Similitud	Duración	Infraestructura	Equipamiento	Tipo de circuito	Fortalezas	Debilidad	Aplicabilidad
Ensayo de desafío	Laboratorio	Población	Sanitario-Ambiental	Baja-Moderada	Corto plazo	Si	Alto	Controlado	<ul style="list-style-type: none"> - Permite realizar vigilancia sanitaria y ambiental. - Requiere un corto a mediano plazo para la realización de los ensayos. - Al ser un sistema cerrado y controlado, presenta bajo riesgo sanitario-ambiental, representando una alta aplicabilidad en el contexto de primera importación. 	<ul style="list-style-type: none"> - Requiere mayor infraestructura y equipamiento para la realización de los ensayos. - Sólo permite evaluación a nivel de poblaciones. - Presenta un bajo nivel de similitud respecto del ambiente natural. 	Alta



Respecto a los resultados compilados en la **Tabla 3**, se observa que fue posible identificar cada uno de los atributos propuestos para analizar y comparar las metodologías de evaluación ambiental y/o sanitaria, asociadas a proceso de primera importación de una especie hidrobiológica a Chile. Esta tabla, abordó igualmente aspectos relacionados al análisis de factibilidad técnica y económica de las nuevas metodologías identificadas, de forma cualitativa, en función de los siguientes criterios: duración del estudio, infraestructura, equipamiento y tipo de circuito.

En relación a lo anterior, es posible identificar metodologías que permiten evaluar elevados niveles de organización como los son las asociadas a meso-micro cosmos, siendo a su vez, metodologías que no permiten realizar una vigilancia sanitaria y que, dependiendo de su categoría, pueden tener grados de representatividad entre moderado y alto. También, dependiendo del tipo de circuito utilizado, los meso-micro poseen una aplicabilidad que va desde baja, para el caso de los ensayos *in situ* (circuito semi-cerrado) a alta, para los realizados en laboratorio (circuito controlado).

A su vez, los ensayos de exclusión permiten realizar evaluaciones a nivel de comunidades, no permiten realizar vigilancia sanitaria y si bien, su similitud con el ambiente es alta y no requiere elevados niveles de infraestructura y equipamiento, al realizarse mediante circuitos semi-cerrados, y su aplicabilidad es baja. Por su parte, ambos ensayos de cohabitación permiten evaluaciones a nivel de comunidades. Sin embargo, estos ensayos difieren en su aplicabilidad dependiendo de su categoría, por un lado, los ensayos *in situ* poseen una baja aplicabilidad, asociada principalmente a su tipo de circuito (semi-cerrado) y al uso exclusivo para análisis ambientales. Por su parte, los ensayos de cohabitación en laboratorio poseen una alta aplicabilidad asociada el uso de un circuito controlado y la posibilidad de realizar evaluaciones ambientales y sanitarias, a expensas de la similitud del sistema con el medio ambiente natural donde podrían desarrollarse las especies exóticas.

Los ensayos de desafío se aplican a nivel de poblaciones, permiten realizar análisis ambientales y sanitarios, y poseen una alta aplicabilidad asociada principalmente al uso de un circuito controlado.

Las metodologías que involucran experimentación *in situ* se consideraron de baja aplicabilidad y por lo tanto no se recomiendan para su uso en el marco de una internación de especies hidrobiológicas de primera importación. Esto, debido al riesgo potencial sobre el patrimonio biológico y sanitario del país que representa la experimentación en circuitos semi-cerrados (directamente expuestos al ambiente natural).

Respecto de la factibilidad técnica de las nuevas metodologías que fueron seleccionadas, a modo de resumen, se puede mencionar que todas presentaron igual nivel de aplicabilidad, ya que actualmente existe en Chile la capacidad para poder implementar la infraestructura requerida para cada una de



ellas. De igual forma, a nivel nacional se cuenta con el acceso a la tecnología y equipamiento tecnológico que se necesita, así también como del personal calificado requerido para la implementación y ejecución de este tipo de estudios y/o ensayos experimentales.

En lo referente al análisis del componente económico, la metodología que contempló ensayos de desafío correspondió a la que implicó los menores costos de implementación, principalmente por el menor tiempo de duración considerado para la ejecución de este tipo de estudios (2 meses), el bajo número de los ejemplares que se utilizan, y los menores recursos operativos involucrados en su implementación y ejecución. Por su parte, la metodología que presentó los costos más altos correspondió a la asociada a los estudios de mesocosmos, debido principalmente por el mayor tiempo de duración contemplado para la ejecución de estos estudios (3 meses), a los recursos requeridos en su implementación, adquisición de equipamiento y principalmente por los costos involucrados en la caracterización de las comunidades biológicas que se debe realizar. Finalmente, la metodología que presentó un costo económico intermedio, correspondió a la asociada a los estudios de cohabitación. Esta última, si bien, también consideró un tiempo de duración mayor en su ejecución (3 meses) y un mayor número de los ejemplares a utilizar, presentó, en su conjunto, menores requerimientos de recursos operativos para su implementación, respecto a los estudios de mesocosmos.

Para aquellas nuevas metodologías que fueron seleccionadas, los resultados presentados y relativos a los componentes de factibilidad técnica y costos de implementación, son abordados en mayor profundidad y detalle, en la sección 5.11 del actual documento.

5.3 Caracterización del actual proceso de primera importación de especies exóticas y estudios relacionados.

5.3.1 Caracterización del proceso de primera importación.

La revisión y caracterización de la información contenida en los documentos solicitados a la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura, permitieron recopilar y agrupar la información de acuerdo a las variables que a continuación se indican:

1) Número de solicitudes y especies.

Se revisaron 47 solicitudes de primera importación realizadas a la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura entre los años 2015 y 2021, 7 correspondientes al año 2015, 12 al 2016, 7 al 2017, 9 al 2018, 6 al 2019, 5 al 2020 y 1 documento correspondiente al año 2021. Este conjunto de solicitudes



que incluyen primera importación y extensiones de importación limitada, estuvieron asociadas a algas en un 17% (n=8, entre micro y macroalgas), crustáceos en un 29,8% (n=14, entre copépodos y langostas), moluscos en un 4,3% (n=2), y peces en un 48,9% (n=23, esturiones mayormente), los cuales se solicitaron para los estadios de células en cultivo, gametofitos, ovas fecundadas, alevines o juveniles, post-larvas o juveniles de crustáceos, y adultos, según corresponda.

Las especies para las cuales se presentaron solicitudes fueron: *Acartia tonsa*, *Acipenser baerii*, *Acipenser gueldenstaedtii*, *Acipenser stellatus*, *Arapaima gigas*, *Austrolebias nigripinnis*, *Austrolebias patriciae*, *Austrolebias wichi*, *Cherax cainii*, *Chlorella vulgaris*, *Danio rerio*, *Haliotis fulgens*, *Homarus americanus*, *Huso huso*, *Laminaria japónica*, *Lessonia berteroaana*, *Litopeneus vannamei*, *Macrocystis pyrifera* (alga chilena cultivada en el extranjero y re internada), *Oreochromis niloticus*, *Oreochromis sp.*, *Panilurus argus*, *Panulirus leavicauda*, *Scyllarides deceptors*, *Scyllarides brasiliensis*, *Procentrum lima*, *Aphanizomnon sp.*, *Anabaena circinalis*, *Pseudokircheriella subcapitan*, *Scenedesmus almeriensis*, *Muriellopsis sp.*, *Chlorella fosca*, *Haematococcus placiais*, *Isochrysis T-ISO*, *Nannochloropsis gaditana*, *Spirulina platensis*, *Tetraselmis suecica*, *Spirulina subsala f. versicolor*, *Spirulina subsalsa*, *Spirulina máxima*, *Spirulina major*, *Spirulina sp.*, *Arthrospira fusiformis*, *Arthrospira máxima*, *Spirulina versicolor* y *Venerupis pullastra*.

2) Procedencia de los ejemplares.

El origen de las especies internadas fue principalmente Italia, seguido de Australia, sin embargo, en un 12,8% las solicitudes no mencionan el origen de las especies. El resto de los orígenes presentaron solo dos solicitudes, o una ola. El detalle asociado al número de solicitudes por país se presenta en la **Tabla 4**.

**Tabla 4.**

País de origen de las especies con solicitud de primera importación, entre los años 2015 al 2021, y que fueron objeto de revisión.

País	Número de solicitudes	%
Italia	14	29,8%
No menciona	6	12,8%
Australia	3	6,4%
España	2	4,3%
USA y Canadá	2	4,3%
Canadá	2	4,3%
USA	2	4,3%
Reino unido	2	4,3%
Alemania	2	4,3%
Brasil, Colombia, México, Bahamas o Venezuela	1	2,1%
En Chile (extensión de solicitud)	1	2,1%
República Checa	1	2,1%
Perú, Brasil y Colombia	1	2,1%
USA y Reino Unido	1	2,1%
México	1	2,1%
Perú	1	2,1%
Perú y USA	1	2,1%
Noruega	1	2,1%
Corea del Sur y Japón	1	2,1%
Argentina	1	2,1%
Brasil	1	2,1%
Total general	47	100,0%



3) Objetivos de las solicitudes.

En relación al objetivo general de las solicitudes, se puede mencionar que estos se pueden agrupar en 4 grandes categorías:

- 1) Establecer las bases biológicas y productivas para la adaptación, desarrollo y optimización de la tecnología de cultivo de la especie, con enfoque a una futura comercialización en Chile (43%, n=20),
- 2) Extensión de solicitud previa (19%, n=9),
- 3) Investigación y/o docencia (23%, n=11), y
- 4) Importación para traslado interno en el país y/o exportación, comercialización para consumo humano directo (15%, n=7).

La primera categoría está referida a la internación de especies no presentes en nuestro país, con el propósito de desarrollar e implementar el cultivo experimental en Chile y propiciar una nueva actividad económica nacional e industrial en el futuro (no representa comercialización inmediata). Respecto de la categoría "Extensión de solicitud previa" se refiere a todas aquellas en que se solicitó una extensión de plazo para la internación ya sea limitada o de comercialización. En cuanto a la categoría "investigación y/o docencia", se refiere a los objetivos relacionados a la importación de especies sin fines de lucro o comerciales inmediatos o futuros, y que se enmarcan en experimentos puntuales, asociados a la ejecución de carreras de pre y post-grado, como también, como apoyo a la docencia de quienes la importan. En cuanto al último ítem "Importación para traslado interno en el país y/o exportación, comercialización para consumo humano directo", se refiere a aquellos objetivos que contemplan la importación de individuos, en su mayoría adultos, para traslado dentro de Chile hacia restaurantes y ferias en las que se pueda comercializar en forma directa y en un plazo no mayor a una semana, como también, aquellas en las que el ingreso de la especie al país es temporal, ya que su destino es otro país.

4) Recepción de especies internadas.

De acuerdo con la legislación vigente, uno de los requisitos para presentar una solicitud de primera importación es indicar la unidad receptora de la especie a internar. Respecto de este punto, se puede mencionar que las características de las unidades dependerán en gran medida de la categoría y/u objetivo de la importación. En su mayoría, las unidades receptoras corresponden a sistemas semi-cerrados y controlados (de acuerdo con la definición propuesta en la R.Ex 2662 de 2021), siendo aquellos que cuentan con un bombeo de agua proveniente de una fuente externa y que presentan barreras físicas que evitan el ingreso y escape de individuos fuera del sistema de cultivo.



Es así como aquellas solicitudes cuyo objetivo es establecer las bases biológicas y productivas, en su mayoría contemplan unidades de recepción con sistema de recirculación de aguas en estanques de tamaño medio o grande, junto a inactivación de afluentes mediante barreras mecánicas y/o esterilización química o física. En cuanto a la investigación y/o docencia, las unidades en su mayoría corresponden a cultivos cerrados, con incubación e inactivación de células al término de los experimentos o docencia, mantención en cultivo sin generación de afluentes, o aquellos “tipo hatchery” que presentan afluentes con tratamiento de agua (filtración y esterilización). Respecto a las solicitudes para comercialización directa o inmediata, en general las unidades receptoras se describen como aquellas que presentan características de mantenimiento limitado y/o transporte (estanques o piscinas cerradas).

En cuanto a si estas unidades poseen cuarentena (lugar físico específico de aislamiento), aquellas solicitudes asociadas a “importaciones para comercialización inmediata”, en su mayoría, no mencionan explícitamente que la posean, mientras que las relacionadas a “investigación y docencia” generalmente no señalan este concepto. Esto último, cambia para aquellas importaciones asociadas al “desarrollo del cultivo con potencial de comercialización en el futuro”, ya que todas las solicitudes mencionan poseer cuarentena o al menos se infiere que la poseen gracias a la revisión de la descripción técnica en las solicitudes.

5) Solicitud de ESEIA.

En relación a la integración de la información respecto de las características de las solicitudes (**Figura 5**), se identificó que no todas fueron sujeto de solicitud de estudio sanitario con efectos de impacto ambiental o “ESEIA”. Para aquellas solicitudes en las cuales su objetivo fue “Establecer las bases biológicas y productivas para la adaptación, desarrollo y optimización de la tecnología de cultivo de la especie, con enfoque a una futura comercialización en Chile”, el 90% (n=18) resultó en solicitud de ESEIA, a lo cual los solicitantes debieron entregar los términos técnicos de referencia o TTR. Por otra parte, aquellas referidas a “Investigación y/o docencia” y “Comercialización inmediata” se asociaron a solicitud de TTR solo un 9,1% (n=1) y 28,6% (n=2), respectivamente. Para esta estimación se excluyó aquellos objetivos que fueron considerados como de “extensión de solicitud”. La solicitud de TTR y su posterior autorización se asoció a la aprobación de la importación limitada de las especies para la realización del ESEIA.

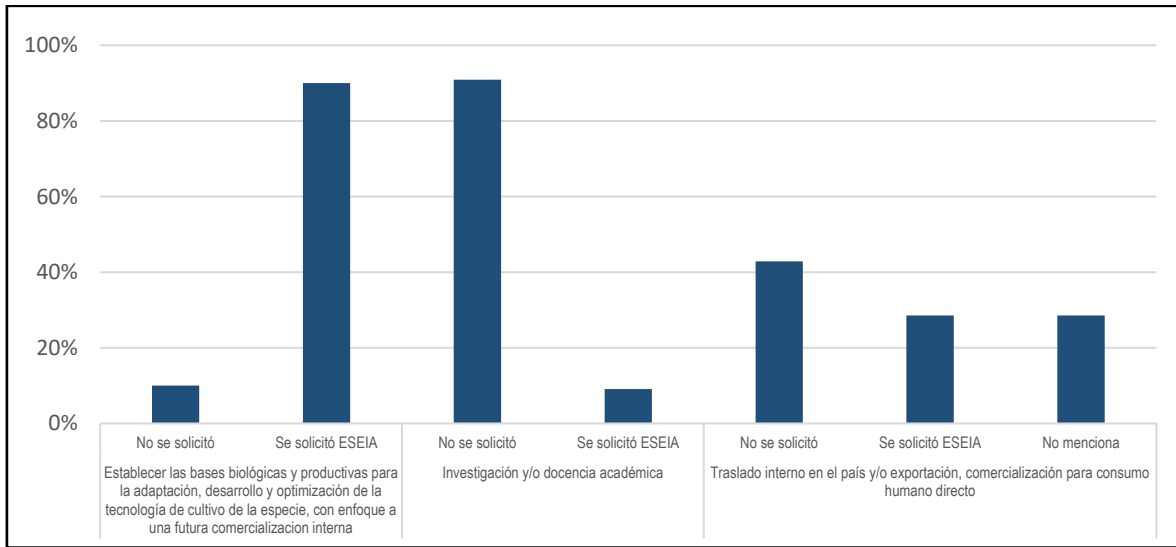


Figura 5.

Solicitudes de estudio sanitario con efectos de impacto ambiental de acuerdo al objetivo integral identificado en el presente estudio, requeridas por la autoridad entre los años 2015- 2021.

6) Caracterización de los TTR solicitados en el marco de ESEIA.

En general, los TTR estuvieron conformados por 3 grandes categorías, siendo evaluación sanitaria, ambiental y de interacción (entre especies). Esta última categoría implica evaluaciones a través de ensayos de cohabitación. A continuación, se realiza una descripción de las 3 categorías.

- Evaluación sanitaria:** estas evaluaciones consideran un amplio rango de análisis de laboratorio, conductuales, de condición (crecimiento) y mortalidad. Respecto de los análisis de laboratorio, se mencionaron: necropsia, frotis fresco, bacteriología, microbiológico, micológico, PCR para detección, cultivo celular e histología. Todo lo anterior, en referencia a los patógenos mencionados en las listas 1, 2 y 3 de Sernapesca y la OMSA. Estos análisis se solicitaron de acuerdo a la especie a internar, definiendo si la especie correspondía a peces, crustáceos u otros. Dependiendo de esto último, algunos TTR especificaron un programa específico de vigilancia a patógenos exóticos y endémicos asociados a la especie a internar. Finalmente, las evaluaciones contemplaron visitas médico veterinarias para certificar la condición sanitaria de las especies importadas en forma limitada.
- Evaluación ambiental:** las solicitudes de análisis ambiental van desde solo medición de factores abióticos en estanques (4,8%, n=1), análisis de factores abióticos en estanques más muestreos estacionales del agua y sedimentos (23,8%, n=5), los anteriores más el análisis de metales (9,5%, n=1), los anteriores más la caracterización física y química del descarga, efluente y salida del efluente (9,5%, n=2), los anteriores más la identificación de comunidades planctónicas y



bentónicas en cursos de agua del entorno (14,3%, n=3) o los anteriores junto a la caracterización del hábitat entorno a las instalaciones (9,5%, n=2). Se identificó 1 estudio que incluyó algunos de los análisis mencionados más efectos de variables ambientales sobre la especie a internar. Los análisis considerados pueden ser: temperatura (°C), pH, oxígeno disuelto (mg/L), conductividad eléctrica ($\mu\text{S}/\text{cm}$), turbiedad (NTU), clorofila a (mg/m^3), amoníaco ($\text{mg}/\text{NH}_3\text{-L}$), demanda bioquímica de oxígeno (mg/L), demanda química de oxígeno (mg/L), fósforo total (mg/L), nitrógeno total (mg/L), nitratos ($\text{mg}/\text{NO}_3\text{-L}$), nitrito ($\text{mg}/\text{NO}_2\text{-L}$), sólidos disueltos totales (mg/L), sólidos suspendidos totales (mg/L), entre otros.

- c) *Evaluación de interacciones (cohabitación entre especies)*: De las 21 solicitudes que solicitaron ESEIA, se identificó que solo 9 incluyeron análisis o estudios de cohabitación. En términos generales, estos estudios contemplan la exposición entre la especie a internar y una o más especies de interés (especies nativas o no nativas presentes en Chile con las cuales podrían existir interacciones en un ambiente natural), con el fin de determinar aspectos asociados a potenciales interacciones ecológicas, como depredación y competencia. Para estos casos, los solicitantes especifican los rangos de temperaturas, condiciones de infraestructura que se utilizará, las especies que conforman los ensayos, entre otros detalles. Se puede inferir que la solicitud de este tipo de estudios se debe a algunas características de las especies (junto al objetivo de la importación). A modo de ejemplo, las especies a las cuales se asoció la solicitud de estudio de cohabitación fueron: *Oreochromis sp.*, *Litopeneus vannamei*, *Acipenser stellatus*, *Homarus americanus*, *Haliotis fulgens* y *Cherax cainii*. Algunas de las descripciones de tolerancia ambiental y sanitaria asociadas a estas especies son: ambientes poco profundos y/o turbios, amplio rango de salinidades y/o temperaturas, corresponden a especies depredadoras generalistas, o la especie o género son susceptibles a un amplio rango de patógenos de interés y/o de alto riesgo (listas 1, 2 y 3 de Sernapesca y/o de la OMSA), entre otros. De esta revisión, no fue posible identificar ensayos de cohabitación con el fin de evaluar la transmisión de patógenos de alto riesgo o de interés.

7) Estado de las solicitudes.

Se logró identificar que el 65,8% (n=25) de las solicitudes de importación resultaron aprobadas, pero de carácter limitado, por un plazo no mayor a 1 año. un 15,4% (n=6) resultó rechazada, y un 18,4% (n=7) se desconoce su estado (esta categoría incluye aquellas solicitudes para las cuales los documentos proporcionados por Subpesca no permitió conocer su estado). Esta revisión excluye aquellas solicitudes categorizadas como “extensión de solicitud previa”. Los motivos identificados para el rechazo de las solicitudes fueron: 1) la especie solicitada se encuentra en el listado de especies autorizadas a importar; 2) la internación de la especie se considera como de alto riesgo para el patrimonio sanitario nacional, debido a que los individuos se extraen desde el medio natural (sin



control), zonas no acreditadas como libre de enfermedades de alto riesgo, o por un elevado potencial de adaptación al medio acuático nacional; y 3) los resultados del ESEIA indican altas mortalidades en la especie internada en forma limitada, sin identificar el factor que provocó las mortalidades (sospecha de patógeno).

El análisis de las solicitudes obtenidas que permitió realizar una caracterización del proceso actual de primera importación se presenta en formato digital en el **Anexo 5** del presente documento.

5.3.2 Implementación y aplicación de encuesta.

Posterior a la caracterización que se realizó del proceso de primera importación de especies exóticas a través de la información que fue solicitada a la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura, se desarrolló, implementó y validó la encuesta entre el equipo de trabajo del estudio, tal como se señaló en la sección metodológica del presente documento de avance.

En relación a la aplicación de la encuesta, esta se realizó de manera remota, por medio de un correo electrónico conductor (ver Anexo 2) dirigido a cada una de las 26 personas, entre personas naturales y/o representantes de empresas y universidades que fueron identificados a través de la caracterización del actual proceso de importación de especies hidrobiológicas, acorde a la información suministrada por la SUBPESCA.

De las 26 personas a las que se les remitió la encuesta, y considerando el 30 de junio del 2022 como plazo final para responder a la encuesta enviada, finalmente solo fue respondida por 2 representantes de empresas, en tanto que una tercera persona representando a otra empresa y una cuarta a una universidad, se excusaron, vía correo electrónico, de participar y responder la encuesta, manifestando la primera el cese de las actividades comerciales sobre las cuales se enmarcó la solicitud de importación, y la segunda por su desacuerdo a la introducción de especies exóticas al país; respectivamente.

En el anexo 6 se presenta un resumen de las respuestas entregadas por parte de los representantes de las empresas para cada una de las preguntas listadas e ítems encuestados, donde además se especifican las respuestas entregadas por las personas que respondieron a la encuesta.



Objetivo específico 2: *Proponer y evaluar mejoras en las metodologías actualmente utilizadas en los ensayos de laboratorio o de cohabitación incluidos en el D.S. N° 730/95, tomando en cuenta el diseño muestral, análisis estadísticos, características de las especies que pueden ser internadas y las instalaciones donde se desarrollarían los ensayos.*

5.4. Generación de propuestas de modificación a los estudios asociados al actual proceso de primera importación de especies exóticas.

5.4.1 Propuestas de modificación metodológicas para el proceso de primera importación de especies exóticas.

A continuación, se presentan las propuestas de modificación, donde se entrega un detalle del escenario actual de aquellos puntos presentes en la actual normativa y que fueron identificados como susceptibles de cambio. Para estos, se proponen mejoras que se deberían tener en consideración en la actualización del D.S. (MINECON) N° 730 de 1995, con principal foco en los estudios sanitarios/ambientales complementarios que son requeridos por la autoridad competente. Estas propuestas de modificación, fueron presentadas y consensuadas durante el taller de expertos (detalles en la sección 5.6).

Es importante hacer mención, tal como se indicó en el punto 4.4.1 de la sección metodológica del presente documento, que las necesidades identificadas y requerimientos mínimos de información que deben ser incluidos o vinculados mediante algún otro instrumento normativo al actual reglamento, y que, a su vez, constituyen parte de las propuestas de modificación desarrolladas, corresponden a requerimientos que fueron efectuados por parte de la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura en el marco de las solicitudes y/o estudios sanitarios requeridos

5.4.1.1.- Solicitud de certificados sanitarios.

Escenario actual: En la actualidad, el D.S. (MINECON) N° 730 de 1995 en su Art. 14, señala que, finalizado el estudio sanitario, el peticionario deberá informar los resultados a la SUBPESCA, la que por resolución autorizará o denegará la primera importación de la especie. A su vez, la resolución que autorice la importación deberá indicar los certificados sanitarios requeridos al efecto. Sin



embargo, no queda claro en la normativa actual si hace referencia únicamente a la certificación sanitaria pre-frontera (origen), que es la solicitada de manera regular, o si también incluye a la certificación sanitaria post-frontera.

Propuesta:

Se recomienda explicitar en el mismo reglamento si hace referencia únicamente a la certificación sanitaria de origen, y a su vez se incorpore, como requerimiento complementario, la solicitud del plan de certificación sanitaria post-frontera, requerimiento que podría ser solicitado a discreción de la autoridad sectorial competente (según corresponda a cada caso). La importancia de incorporar la certificación sanitaria post-frontera, radica en que sería un instrumento adicional del que dispondría la autoridad competente para cautelar y resguardar el patrimonio biológico y sanitario del país. Lo anterior, acorde a lo recomendado, por ejemplo, por Wood *et al.*, (2022), en el marco de la importación de especies de peces ornamentales, o por Goggins y Dunn (2019), autores del programa de especies invasoras acuáticas de Hawaii, quienes comentan sobre la importancia de una adecuada inspección a nivel de post frontera en relación a una correcta disminución del riesgo de introducción, propagación e impactos de las especies acuáticas que ingresan a un nuevo territorio.

5.4.1.2.- Descripción del hábitat donde se realizará el ESEIA en términos bióticos y abióticos.

Escenario actual:

En el actual D.S. (MINECON) N° 730 de 1995, no se especifica la información requerida en lo relativo a los requerimientos de información, en términos bióticos y abióticos, que deberían ser considerados para una adecuada descripción ambiental del hábitat donde se realizará el ESEIA.

Propuesta:

Se sugiere especificar, en lo relativo a la descripción del hábitat del entorno en donde se realizará el ESEIA, los requerimientos mínimos de información que se deberían considerar por parte del peticionario, tanto para el análisis y registro de variables bióticas como abióticas identificadas a partir de la revisión de solicitudes y/o requerimientos complementarios realizados por la autoridad. Dentro del detalle de variables abióticas, se deberá considerar: oxígeno disuelto, CO₂, pH, alcalinidad, amonio total, temperatura del agua, nitratos, nitritos, demanda bioquímica de oxígeno (DBO), demanda química de oxígeno (DQO), conductividad eléctrica, presencia de metales en agua y



sedimento, entre otras variables que puedan ser solicitadas por la autoridad pertinente, y según corresponda su aplicación.

Por su parte, en lo referente a las variables bióticas, se deberá considerar la identificación tanto de la fauna existente en los cursos de agua del entorno, así como también una identificación de los principales cursos de agua existentes en cercanías al lugar donde se realizará el ESEIA (manantiales, torrentes, arroyos, ríos, entre otros). Para su aplicabilidad, y según corresponda a cada caso, se deberá tener en consideración la localización y emplazamiento de la instalación donde se realizará el ESEIA, así como la especie a importar, entre otros factores.

Se recomienda que el detalle de los requerimientos mínimos solicitados, que permitan una adecuada descripción del hábitat donde se realizará el ESEIA, en términos abióticos y bióticos, pudieran quedar vinculados al actual D.S. (MINECON) N° 730 de 1995, en el contexto de algún otro instrumento normativo definido por la autoridad sectorial pertinente.

Respecto de la individualización de las variables abióticas y bióticas relevantes de considerar en la descripción del hábitat, junto a su justificación y referencias, se presentan en la **tabla 5**.

5.4.1.3.- Caracterización de los efectos directos e indirectos de la especie a importar sobre el ecosistema acuático.

Escenario actual: Actualmente, dentro de los requerimientos solicitados en este punto por el D.S. (MINECON) N° 730 de 1995, se detallan la probabilidad de ocurrencia y estimación cuantitativa y/o cualitativa de los efectos de la especie a internar junto a su impacto, su tolerancia ambiental a la ocurrencia, el área de posible influencia y finalmente el grado de reversibilidad de los efectos junto a una estimación del tiempo requerido para ello.

Propuesta: Como requerimiento adicional a lo que solicita el actual reglamento, se sugiere adicionar una sección con mayores especificaciones, las cuales fueron obtenidas a partir de los requerimientos identificados durante la



revisión de las solicitudes y Términos Técnicos de Referencia asociados a los ESEIA, y que dice relación a la vigilancia ambiental.

Vigilancia ambiental: Para la vigilancia ambiental, el solicitante deberá considerar el monitoreo tanto de variables abióticas como bióticas. El monitoreo de las variables abióticas se realizará a través de la medición y registro de parámetros físico-químicos ya sea en estanques, acuarios o en los recipientes de contención donde se dispondrán los organismos hidrobiológicos, tales como temperatura del agua, pH, oxígeno disuelto, amonio total, nitratos, nitritos, entre otros, a fin de asegurar una buena condición de los organismos. Lo anterior, para prevenir eventos de alteración fisiológica y/o mortalidad masiva de los individuos producidas por variaciones subletales y letales de los parámetros ambientales. También, podrá solicitarse un análisis químico de las descargas o efluentes, siempre y cuando el método utilizado para la inactivación del efluente corresponda a un procedimiento químico (por ejemplo, cloración), o alguna otra técnica o método de tratamiento de efluentes estipulado por la autoridad sectorial competente, considerando la alta toxicidad que representa este elemento para los ecosistemas acuáticos. Según GWA (2012), concentraciones de cloro en cuerpos de agua de entre 1 - 40 ppm han registrado mortalidad en peces. Adicionalmente, el cloro puede afectar la DBO inhibiendo o aniquilando microorganismos que descomponen materia orgánica e inorgánica (Bhateria y Jain, 2016).

Del punto de vista biótico, el solicitante deberá entregar un plan de vigilancia referente al monitoreo de la fauna presente en los cursos de agua del entorno, acorde a la descripción e identificación realizada del hábitat, enfocada a detectar la presencia o ausencia de la especie a importar en cualquiera de sus estados de desarrollo, y de esta forma verificar que no se han presentado escapes de la especie internada.

Se recomienda que el detalle de los requerimientos mínimos solicitados, que permitan identificar los efectos directos e indirectos de la especie a importar sobre el ecosistema acuático, en términos abióticos y bióticos, pudieran quedar vinculados al actual D.S. 730, en el contexto de algún otro instrumento normativo definido por la autoridad sectorial pertinente.



Finalmente, en caso de que los antecedentes generales de la solicitud no dispongan de información relativa a la tolerancia ambiental de la especie a internar, se sugiere requerir un estudio o desafío de tolerancia ambiental, en el que la especie se enfrente a gradientes de temperatura como parámetro mínimo para determinar su tolerancia ambiental. Los lineamientos del estudio o desafío de tolerancia ambiental, así como su factibilidad técnica y económica de implementar, se abordarán como parte de la propuesta de nuevos estudios que son detallados en el objetivo específico 3.

Respecto de la individualización de las variables abióticas y bióticas relevantes de considerar en vigilancia ambiental propuesta, junto a su justificación y referencias, se presentan en la **tabla 5**.

5.4.1.4.- Identificación de los efectos directos e indirectos de la especie sobre las especies acuáticas silvestres y en cultivo, existentes en la zona zoogeográfica que corresponda

Escenario actual: En el actual D.S. (MINECON) N° 730 de 1995, no se especifica la información requerida relativa a los requerimientos mínimos a seguir por el solicitante para identificar efectos directos o indirectos de la especie a importar sobre las especies acuáticas silvestres y en cultivo.

Propuesta: Se sugiere que estos aspectos sean abordados por medio de ensayos de tipo cohabitación ecológica y de mesocosmos.

Los lineamientos de los estudios de cohabitación ecológica y de mesocosmos, así como su factibilidad técnica y económica de implementar, se abordarán como parte de la propuesta de nuevos estudios que son detallados en el objetivo específico 3.

1.5.- Proponer un sistema de monitoreo preventivo de las variables sanitarias y ecológicas:

Escenario actual: Actualmente en el D.S. (MINECON) N° 730 de 1995, no se especifica ni detalla cómo abordar el monitoreo preventivo de variables sanitarias.

Propuesta: Se propone que el monitoreo preventivo se realice por medio de una vigilancia sanitaria de los organismos hidrobiológicos a importar. En este sentido, se propone una vigilancia sanitaria que debe ser monitoreada a través de la



realización, por parte del solicitante, de análisis diagnósticos de laboratorio acorde a la especie a importar (peces, crustáceos, moluscos u otros), con la finalidad de demostrar la ausencia de enfermedad o identificar episodios sanitarios que deban ser notificados en conformidad con lo establecido en el Art 1.13 en el marco de la vigilancia de la sanidad de los animales acuáticos de la OMSA (2021). También se debe considerar el riesgo sanitario vinculado a la potencial susceptibilidad de la especie a importar a alguna de las Enfermedades de Alto Riesgo Sanitario de interés para el país, teniendo en consideración lo especificado en la Resolución Exenta (MINECON) N° 1.741 de 2013 y sus modificaciones que establece la clasificación de Enfermedades de Alto Riesgo y sus modificaciones.

Dentro de los análisis de laboratorio que se podrán considerar en la vigilancia sanitaria, están: necropsias, análisis microbiológicos, análisis histológicos y PCR, entre otros. Estos, acorde a las técnicas diagnósticas y métodos de laboratorio que se consideran estándar internacionalmente para la detección de enfermedades en organismos hidrobiológicos, y que están descritos en el Manual de Pruebas Diagnósticas para los animales acuáticos de la OMSA (OIE, 2021). A modo de ejemplo, estas técnicas han sido utilizadas por diversos autores en sus publicaciones, tales como Pretell-Monzón *et al.*, (2019) en la vigilancia sanitaria de crustáceos peneidos, Corbeil (2011) referente a biotecnología, diagnóstico y vigilancia de patógenos de animales acuáticos, Bass *et al.*, (2022) en aproximaciones diagnósticas a patologías de invertebrados acuáticos y finalmente, Johny *et al.*, (2022), en su revisión panóptica de las técnicas utilizadas para el diagnóstico de enfermedades en peces, entre otros. Del mismo modo, se podrá requerir algún otro tipo de análisis, previamente acordado con la autoridad sectorial competente. Esta vigilancia también podrá considerar el monitoreo de aquellos agentes patógenos que no estén incluidos en las listas oficiales de la autoridad pertinente, toda vez que no existan antecedentes de su presencia y/o detección en el país, y que la presencia de dicho agente patógeno constituya una amenaza y un riesgo para el patrimonio sanitario del país.

La frecuencia y/o periodicidad de los muestreos para la realización de los análisis de laboratorio deberá contemplar la especie a importar, así como el número de individuos considerados por importación, utilizando las referencias de la OMSA a través del Código Sanitario de los Animales Acuáticos (OIE



2021) para el cálculo de la muestra, la que considera tanto la prevalencia estimada de la enfermedad como la sensibilidad y especificidad de la prueba o del sistema de pruebas a utilizar.

Se recomienda que el detalle de los requerimientos necesarios para una adecuada vigilancia sanitaria, pudieran quedar vinculados al actual reglamento en el contexto de algún otro instrumento normativo definido por la autoridad sectorial pertinente.



Tabla 5

Variables abióticas y bióticas relevantes de considerar para su medición en las propuestas de modificación desarrolladas.

Parámetro	Relevancia de su medición y registro	Referencias
Oxígeno disuelto	El oxígeno disuelto corresponde a una de las variables más críticas en sistemas acuáticos, y relevante en numerosos procesos químicos y biológicos en el cuerpo de agua. Su disponibilidad es un limitante para la vida acuática (Green <i>et al.</i> 2015). Según Dong <i>et al.</i> 2011, el límite fisiológico de peces es <5 mg/L, y tanto en concentración como en saturación, se ve afectado por la temperatura, tasas metabólicas y actividad fotosintética.	Dong, Xiaoyu & Qin, Jian & Zhang, X.M. 2011. Fish adaptation to oxygen variations in aquaculture from hypoxia to hyperoxia. 2. 23-28. Green, W.R., D.M. Robertson, F.D. Wilde, 2015. Lakes and reservoirs-Guidelines for study design and sampling. En: U.S. Geological Survey Techniques of Water-Resources Investigations. Book 9, chap. A10, 65 pp.
Dióxido de carbono (CO ₂)	Respecto de esta variable, concentraciones altas de CO ₂ afectan a las especies hidrobiológicas que habitan un determinado medio ambiente acuático, y de forma más directa a los peces, lo que puede conducir a letalidad además de la inhibición de funciones fisiológicas vitales en organismos acuáticos (Ishimatsu <i>et al.</i> 2005).	Ishimatsu A. M. Hayashi, K. Lee, T. Kikkawa, J. Kita. 2005. Physiological effects on fishes in a high CO2 world. Journal of geophysical research, volume 110, issue C9. https://doi.org/10.1029/2004JC002564 .
pH	Cambios en el pH de un cuerpo de agua pueden afectar de manera general a las especies hidrobiológicas, tanto en su comportamiento como en su sobrevivencia (Muniz 1984). condicionando numerosos procesos químicos y biológicos que se desarrollan en los cuerpos de agua. Adicionalmente, dado el limitado rango de tolerancia al pH de los organismos acuáticos (Green <i>et al.</i> 2015), valores muy básicos o muy ácidos de pH conllevan a la muerte de peces y crustáceos.	Green, W.R., D.M. Robertson, F.D. Wilde, 2015. Lakes and reservoirs—Guidelines for study design and sampling. En: U.S. Geological Survey Techniques of Water-Resources Investigations. Book 9, chap. A10, 65 pp. Muniz, I.P. 1984. The effects of acidification on Scandinavian freshwater fish fauna. Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences. 305 (1124): 517– 528.
Alcalinidad	En términos generales, cuando el agua tiene baja alcalinidad, el pH del agua fluctúa drásticamente, generando cambios en las poblaciones de organismos acuáticos, sobre todo si éstas se encuentran en confinamiento. La alcalinidad, bajo ciertos valores, puede influir sobre la acumulación de determinados metales, por ejemplo, en peces, tales como el plomo, cadmio y cromo (Adhikari <i>et al.</i> , 2006). Generalmente, la alcalinidad suele estar estable, pero puede cambiar en el tiempo, dependiendo del pH o del contenido de minerales en el agua o sedimento (Wurts & Durborow 1992).	Adhikari S., L. Ghosh, S. Ayyappan. 2006. Combined effects of water pH and alkalinity on the accumulation of lead, cadmium, and chromium to <i>Labeo rohita</i> (Hamilton). International Journal of Environmental Science & Technology 3, 289-296. Wurts, W. and R. Durborow. 1992. Interactions of pH, Carbon Dioxide, Alkalinity and Hardness in Fish Ponds. SRAC Publication n° 464. Southern regional aquaculture center.
Amonio total	El amonio en su forma ionizada (NH ₃) es tóxico cuando el pH y la temperatura son altas, y el oxígeno disuelto es bajo. De este modo, la exposición prolongada a altas concentraciones puede causar daños en los órganos y por tanto una disminución en el crecimiento de organismos acuáticos. Existen escasos registros claros de los máximos permisibles para el cultivo, por ejemplo, de larvas del crustáceo <i>Cryphiops caementarius</i> . No obstante, en términos generales los límites máximos corresponden a: amonio 0.15 ppm; nitritos 0.25 ppm y nitratos 4.0 ppm (Meruane <i>et al.</i> , 2006).	Meruane, J.A., M.C. Morales, C.A. Galleguillos, M.A. Rivera y H. Hosokawa. 2006. Experiencias y resultados de investigaciones sobre el camarón de río del norte <i>Cryphiops caementarius</i> (Molina 1782) (decapoda: palaemonidae): historia natural y cultivo. Scielo, 2006. URL: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-65382006000200015 .



Tabla 5 (Cont.)
Variables abióticas y bióticas relevantes de considerar en las propuestas de modificación desarrolladas.

Parámetro	Relevancia de su medición y registro	Referencias
Temperatura del agua	Este parámetro es el encargado de regular el metabolismo del ecosistema acuático. De este modo, afecta las tasas metabólicas de los organismos que en él habitan, y por ende el consumo de oxígeno (Marañón <i>et al.</i> 2018). También puede afectar la solubilidad del oxígeno en la columna de agua (García & Gordon, 1992) y las tasas fotosintéticas de plantas, macroalgas y fitoplancton fotosintetizador (Lee <i>et al.</i> , 2007). Generalmente, el aumento de la temperatura de un cuerpo de agua debido a una mayor radiación, conlleva a una reducción del oxígeno disponible	García H., & L. Gordon. 1992. Oxygen solubility in seawater: Better fitting equations. 1992. <i>Limnology and Oceanography</i> . Vol 37, issue 6, pp 1307-1312. https://doi.org/10.4319/lo.1992.37.6.1307 . Lee, K., S.R. Park, Y.K. Kim. 2007. Effects of irradiance, temperature, and nutrients on growth dynamics of seagrasses: A review. <i>Journal of Experimental Marine Biology and Ecology</i> . 350(1): 144-175. Marañón, E., M.P. Lorenzo, P. Cermeño, B. Mouriño-Carballido. 2018. Nutrient limitation suppresses the temperature dependence of phytoplankton metabolic rates. <i>The ISME Journal</i> . 12 (7): 1836–1845.
Nitratos - nitritos	Los niveles de nitratos y nitritos en aguas naturales son un indicador relevante de la calidad del agua. Los nitritos son un paso intermedio entre el amonio y el nitrato. Para los peces, el amonio, nitrito y nitrato son altamente tóxicos en altas concentraciones, por lo que sus niveles deben ser restrictivos (<0.1 ppm en el caso del nitrito) (GWA, 2012). En el ambiente acuático, altas concentraciones de nitrato y nitrito se asocian a una mayor producción algal, pudiendo conllevar ello a la eutroficación del cuerpo de agua. En este sentido, las concentraciones máximas de nitratos y nitritos en un ambiente acuático debiesen ser de 50 y 3 mg/L; respectivamente.	GWA (Government of Western Australia). 2012. Water quality and disease. Department of Fisheries.
Demanda biológica de oxígeno (DBO)	La demanda biológica de oxígeno representa la cantidad de oxígeno consumido por bacterias y otros microorganismos mientras se descompone la materia orgánica bajo condiciones aeróbicas, y a una determinada temperatura. Determinar cómo la materia orgánica afecta a la concentración del oxígeno disuelto en un cuerpo de agua y ambiente determinado es un parámetro decidor sobre la calidad ambiental del agua, y del impacto que esto podría tener para los organismos hidrobiológicos que habitan en él (USGS 2018).	USGS. 2018. Biological oxygen demand (BOD) and water. Water Science School.

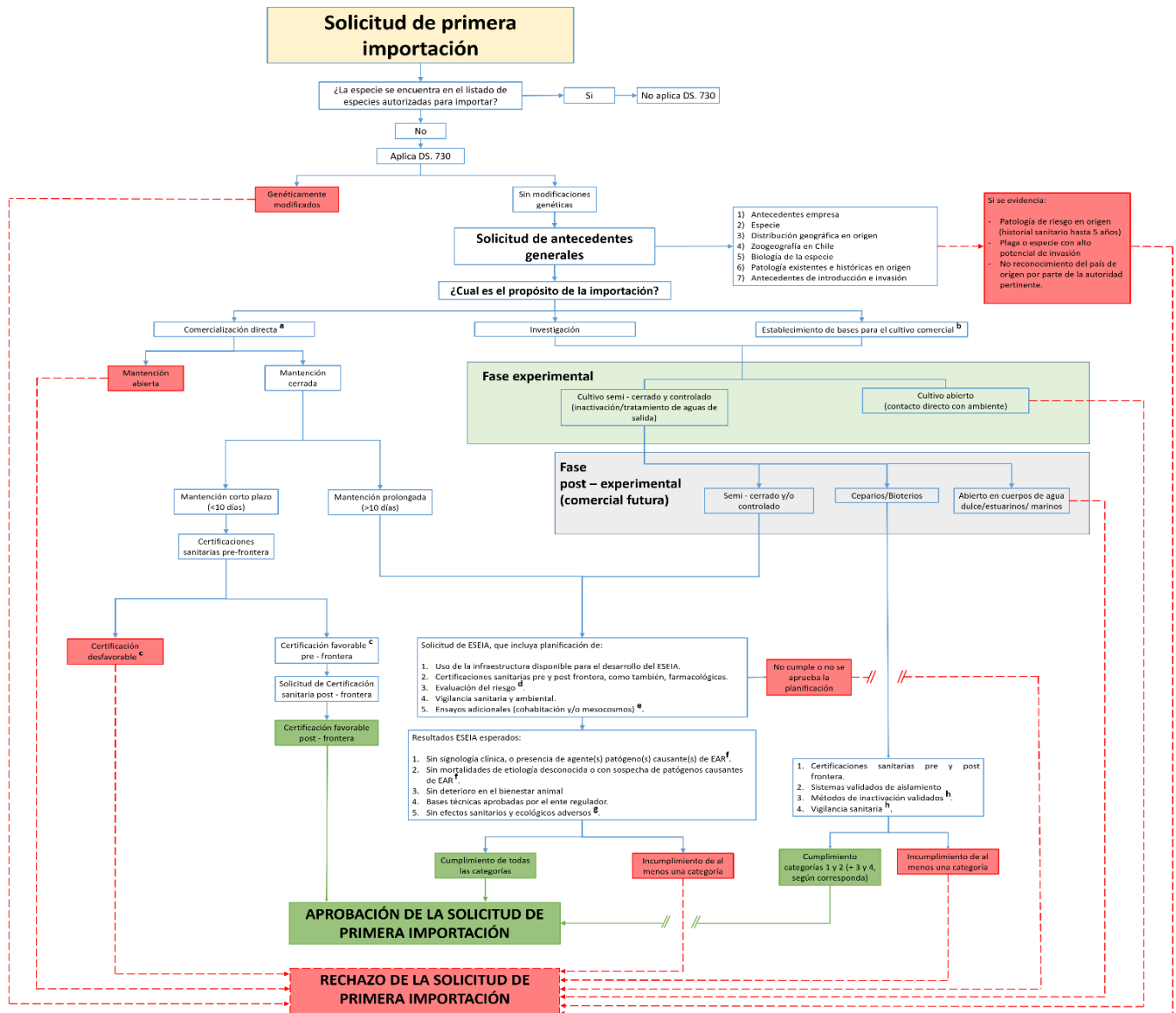


<p>Demanda química de oxígeno (DQO)</p>	<p>La demanda química de oxígeno representa la cantidad de oxígeno necesario para descomponer químicamente la materia orgánica. Al aumentar la producción primaria de un ambiente acuático determinado, aumenta la cantidad de materia orgánica en la columna de agua y/o sedimento, por tanto, se requiere mayor cantidad de oxígeno para degradar dicha materia orgánica, elevando entonces el valor de DQO, generando en el ambiente acuático una disminución en la concentración de oxígeno disponible para los diferentes procesos biológicos de los organismos que en él habitan (Hargrave 1972).</p>	<p>Hargrave, B.T. 1972. A comparison of sediment oxygen uptake, hypolimnetic oxygen deficit and primary production in Lake Esrom, Denmark. Internationale Vereinigung für Theoretische und Angewandte Limnologie: Verhandlungen. 18 (1): 134-139.</p>
<p>Conductividad eléctrica</p>	<p>La conductividad eléctrica se ve afectada (aumenta) al incrementarse la concentración de nutrientes o materia orgánica en suspensión en la columna de agua (Savage & Gazey 1987), generando condiciones físicas y químicas que pueden afectar la diversidad y/o densidad de organismos hidrobiológicos de un determinado cuerpo de agua.</p>	<p>Savage, A.A., G.M. Gazey. 1987. Relationships of physical and chemical conditions to species diversity and density of gastropods in English lakes. Biological Conservation. 42 (2): 95-113.</p>
<p>Metales pesados</p>	<p>Los metales pesados, incluyendo elementos esenciales como no esenciales, adquieren una real importancia en la ecotoxicología, debido a su toxicología, larga persistencia en el ambiente, bioacumulación, y biomagnificación en la cadena trófica (Yousafzai <i>et al.</i> 2010). Se considera crucial el monitoreo de metales pesados como plomo, estaño, cadmio y arsénico, tanto en sedimento como en la columna de agua, ya que éstos pueden alterar el comportamiento de diversas especies hidrobiológicas. Tal es el caso, como por ejemplo el desarrollo de imposex, que consiste en generar caracteres sexuales secundarios de los machos en hembras de moluscos neogastrópodos, fenómeno asociado a contaminantes órgano-estañosos tales como el tributil-estaño (TBT) (Letelier <i>et al.</i> 2010). En general, la degradación del contaminante dependería del tipo de polución, especie de organismos, localización del área de estudio, nivel trófico, y del tipo de alimentación (Asuquo <i>et al.</i> 2004).</p>	<p>Asuquo, F.E., I.A. Ewa-Oboho, E.F. Asuquo, P.J. Udoh. 2004. Fish species used as biomarkers for heavy metals and hydrocarbon contaminations for the cross river, Nigeria Environmentalist, 24, pp. 29-37.</p> <p>Letelier, S., L. Huaquin, G. Collado, 2010. Incidencia de imposex en poblaciones de <i>Acanthina monodon</i> (Pallas, 1744) (mollusca: neogastropoda) del sur de Chile con diferentes niveles de actividad antropogénica. Boletín del Museo Nacional de Historia Natural, Chile. 59: 115 – 120.</p> <p>Yousafzai, A.M., D.P. Chivers, A.R. Khan, I. Ahmad, M. Siraj. 2010. Comparison of heavy metals burden in two freshwater fishes Wallago attu and Labeo dyocheilus with regard to their feeding habits in natural ecosystem. Pak. J. Zool., 42 (5), pp. 537-544.</p>
<p>Fauna acompañante</p>	<p>La importancia de poder conocer e identificar la fauna, tanto aquella asociada al bentos como a la columna de agua en un determinado ambiente acuático, radica en que a través de ella es posible conocer, por una parte, el estado y calidad de las aguas por cuanto la condición de las comunidades de la fauna, y en especial de la fauna ictica, han sido propuestas como un indicador sensible de la integridad de los ecosistemas acuáticos (Fausch <i>et al.</i>, 1990; Kim & An, 2015), aún frente a eventos de introducción de especies a un ecosistema; y por otro lado, permitiría estimar indicadores de composición y riqueza de especies de un hábitat determinado, como sería el caso por ejemplo, del índice de integridad biótica (Karr <i>et al.</i>, 1986).</p>	<p>Fausch, K. D., J. Lyons, J. R. Karr & P. L. Angermeier. 1990. Fish communities as indicators of environmental degradation. American Fisheries Society Symposium, 8: 123-144.</p> <p>Karr, J. R., K. D. Fausch, P. L. Angermeier, P. R. Yant, & I. S. Schlosser. 1986. Assessing biological integrity in running waters: a method and its rationale. Illinois Natural History Survey, Champaign, IL, Publicación especial 5.</p> <p>Kim, J. Y. & K. G. An. 2015. Integrated ecological river health assessments, based on water chemistry, physical habitat quality and biological integrity. Water, 7: 6378-6403.</p>



Finalmente, contemplando las modificaciones previamente propuestas y la información obtenida a partir de la revisión de las solicitudes de importación, se generó un diagrama de decisiones que contempla la totalidad de los pasos que involucra una solicitud de primera importación (**Figura 6**). Lo anterior, detalla los pasos desde el ingreso de la solicitud hasta su resultado final, pudiendo ser aceptada o rechazada. Este diagrama incluye tanto las modificaciones, como las nuevas propuestas de los estudios, que son abordadas en detalle en el objetivo específico 3.

Este diagrama de decisiones, formó parte de los temas tratados en la reunión general N°1 sostenida entre el equipo de trabajo y la contraparte técnica de la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura, y cuyo detalle se indica en el acta de la reunión que se presenta en el **Anexo 1** del actual documento.



^a Incluye propósito ornamental, consumo humano (gastronómico) y cultural, sin incluir reproducción de los animales en la actividad.

^b Incluye propósito ornamental y cultural, incluyendo reproducción de los animales en la actividad.

^c Certificación favorable indica que los certificados asociados a análisis pre y post frontera acrediten que la especie es libre de enfermedades de alto riesgo, según corresponda, siendo desfavorable la situación opuesta.

^d Incluye características del entorno + tolerancia ambiental, siendo esta última desde una revisión bibliográfica o en su defecto desde un experimento de tolerancia ambiental (desafío de tolerancia ambiental).

^e Mayor detalle en documento general.

^f De acuerdo a la Resolución 1741 de 2013, Establece Clasificación de enfermedades de alto riesgo. (F.D.O. 13-07-2013), y/o alguna enfermedad o patógeno que establezca la autoridad pertinente.

^g Se refiere a por lo menos uno de los siguientes efectos observados en los ensayos, ocasionados por las especies en interacción: i) hallazgos sanitarios sugerentes de patologías asociadas a EAR; ii) observaciones de deterioro del bienestar animal; iii) generación de cambios en alguno de los niveles ecológicos debido a la alteración de procesos ecológicos (por ejemplo, flujo de nutrientes, dinámica de las comunidades, entre otros); y iv) reproducción con especies locales (por ejemplo, hibridación, introgresión, entre otros).

^h Según corresponda, dependiente de la especie.

Figura 6.

Diagrama de decisiones del proceso completo de internación de especies hidrobiológicas de primera importación al país.



5.5. Evaluación y análisis comparativo de las diferentes propuestas, considerando criterios ecológicos, biogeográficos y físico-químicos, entre otros.

5.5.1. Análisis comparativo de las propuestas de modificación

A partir de las propuestas de modificación a la actual normativa, que fueron desarrolladas y elaboradas a partir los requerimientos identificados en el análisis de información de las solicitudes de primera importación de especies hidrobiológicas a Chile entre los años 2015 y 2021, y del análisis de los Términos Técnicos de Referencia (TTR) para la ejecución los estudios Sanitarios con Efectos de Impacto Ambiental, se generó un análisis comparativo de las diferentes propuestas de modificación a la actual normativa vigente. Para ello se identificaron y describieron una serie de atributos que permitieron comparar las propuestas de modificación para posteriormente generar un ranking de aplicabilidad.

La definición de cada uno de los atributos identificados se presenta a continuación:

- **Propuesta:** Resumen de la modificación a la actual normativa, la cual fue identificada a partir de la revisión de las solicitudes de primera importación y los TTR.
- **Ámbito de aplicación:** Hace referencia al ámbito sobre el cual aplicaría la propuesta de modificación desarrollada, pudiendo ser ambiental, sanitaria, o ambas.
- **Aplicabilidad normativa:** Factibilidad de implementar la mejora propuesta en la actual normativa de primera importación de especies hidrobiológicas.
- **Requerimiento de personal calificado:** Hace referencia al grado de capacitación del profesional requerido para realizar la actividad propuesta en la modificación a la actual normativa. Este puede ser personal altamente calificado o medianamente calificado.
- **Costos:** Hace referencia a la estimación de los recursos que se requiere disponer para la ejecución de la propuesta de modificación a la actual normativa, los que podrían ser altos, moderados o bajos.
- **Ventajas:** Atributos considerados positivos, en función del ámbito de aplicación de la propuesta de modificación, teniendo como foco principal el resguardo del patrimonio sanitario y ecológico del país.



- **Desventajas:** Atributos considerados negativos, en función del ámbito de aplicación de la propuesta de modificación, teniendo como foco principal el resguardo del patrimonio sanitario y ecológico del país.
- **Aplicabilidad de la propuesta:** Grado de factibilidad de la aplicación de la propuesta de modificación, considerando las ventajas y desventajas compiladas previamente y teniendo como foco principal el resguardo del patrimonio sanitario y ecológico del país. Se categoriza como alta, moderada o baja.
- **Ranking:** Posición otorgada a la propuesta de modificación acorde a la evaluación realizada en función de su factibilidad de implementación.

La tabla comparativa de las diferentes propuestas de modificación que fueron elaboradas se presenta a continuación (**Tabla 6**).



Tabla 6.
Tabla comparativa de las diferentes propuestas de modificación.

N° propuesta	Propuesta	Ámbito de aplicación	Aplicabilidad normativa	Requerimiento Personal calificado	Costos	Ventajas	Desventajas	Aplicabilidad de la propuesta	Ranking
1	Solicitud de certificación sanitaria (post-frontera)	Sanitario	Alta	Medio	Moderado-Bajo	1.- Su aplicación incrementa el resguardo del patrimonio sanitario del país. 2.- Alta factibilidad de ser vinculado al actual reglamento a través de una resolución.	1.- Su aplicación solo aborda el ámbito sanitario.	Alta	1
2	Descripción del hábitat donde se realizará el ESEIA en términos bióticos y abióticos	Ambiental	Alta	Medio	Alto	1.- Su aplicación incrementa el resguardo del patrimonio ecológico del país. 2.- Alta factibilidad de ser vinculado al actual reglamento a través de una resolución.	1.- Su aplicación solo aborda el ámbito ambiental 2.- Su aplicación implica un elevado costo.	Alta	4
3	Caracterización de los efectos directos e indirectos de la especie a importar sobre el ecosistema ^a	Ambiental	Alta	Medio	Moderado-Bajo	1.- Su aplicación incrementa el resguardo del patrimonio ecológico del país. 2.- Alta factibilidad de ser vinculado al actual reglamento a través de una resolución.	1.- Su aplicación sólo aborda el ámbito ambiental	Alta	1
4	Sistema de monitoreo preventivo de las variables sanitarias y ecológicas ^b	Sanitario	Alta	Medio	Moderado-Bajo	1.- Su aplicación incrementa el resguardo del patrimonio sanitario del país. 2.- Alta factibilidad de ser vinculado al actual reglamento a través de una resolución.	1.- Su aplicación sólo aborda el ámbito sanitario.	Alta	1

^a En el análisis comparativo de la propuesta de modificación, solo se considera el componente de vigilancia ambiental (análisis ambientales)

^b En el análisis comparativo de la propuesta de modificación, solo se considera el componente de vigilancia sanitaria (análisis sanitarios)



Respecto a los resultados compilados en la **Tabla 6**, se observa que fue posible identificar cada uno de los atributos propuestos para analizar y comparar las diferentes propuestas de modificación al actual D.S. (MINECON) N° 730 de 1995, relacionado con el proceso de primera importación de una especie hidrobiológica a Chile.

En relación a lo anterior, es posible observar que el 50% de las propuestas de modificación elaboradas presentan un ámbito de aplicación de tipo ambiental en tanto que el 50% restante tienen un ámbito de aplicación sanitario. En relación a lo anterior, del punto de vista del ámbito de aplicación, la principal desventaja identificada es que ninguna de las propuestas de modificación permitiría abordar de manera conjunta tanto el ámbito sanitario como el ambiental. Sin embargo, desde el punto de vista de la aplicabilidad normativa, es importante hacer mención que todas las propuestas de modificación elaboradas presentan una aplicabilidad alta, por cuanto la aplicación de ellas no tendría restricciones o limitaciones, ni tampoco presentan repercusiones sobre otras normativas en su implementación. De esta forma, estas propuestas de modificación no requieren de infraestructura especializada o de permisos adicionales para la manipulación y manejo de agentes patógenos causantes de enfermedades de alto riesgo. En virtud de la alta aplicabilidad normativa de las propuestas desarrolladas, y considerando los requerimientos mínimos de información establecidos en las propuestas, estas podrían ser vinculadas al actual reglamento a través de algún instrumento normativo, como por ejemplo una resolución exenta. Adicionalmente, se debe resaltar como ventaja importante que la aplicación de estas propuestas de modificación fortalecería el rol de la autoridad sectorial, cuyo fin es el resguardo y la cautela del patrimonio sanitario y ecológico del país.

Respecto de los costos involucrados en la aplicación de las modificaciones propuestas, los mayores costos se identifican en la propuesta de descripción del hábitat en términos bióticos y abióticos, lo que se asocia con el número y tipo de parámetros ambientales y análisis que se requieren medir como requerimientos mínimos de información que permitan una adecuada descripción del entorno.

Finalmente, considerando la aplicabilidad de las propuestas y los costos involucrados en su implementación, se puede observar que las propuestas N° 1, 3 y 4 tendrían el mismo nivel de aplicabilidad (alto), en tanto que la propuesta N° 2 tendría una aplicabilidad inferior, básicamente dado por el mayor costo económico asociado a su implementación.

5.5.2 Análisis comparativo de metodologías asociadas a ensayos experimentales requeridos por la autoridad en el marco de los Estudios Sanitarios con Efecto de Impacto Ambiental.

En la Tabla 7 se presentan los resultados del análisis realizado a los Términos Técnicos de Referencia (TTRs) de aquellas solicitudes de primera importación que incluyeron estudios de vigilancia sanitaria,



vigilancia ambiental y ensayos experimentales, ya sea de cohabitación y/o de tolerancia térmica. Para cada caso, se detalla la especie asociada a la solicitud y algunas características asociadas al diseño de los ensayos y/o vigilancia (variables o parámetros evaluados, diseño de muestreo, nivel de replicación o número de ejemplares utilizados). Adicionalmente, para cada caso, se realizan comentarios generales del nivel de la metodología planteada en los TTRs, considerando aspectos relevantes del mismo o que no son presentados. Además, se sugieren mejoras para diseños similares. Para evitar duplicidad de los resultados presentados en este informe, todas las metodologías experimentales asociadas a procesos de primera importación se presentan en el objetivo 3, junto con su factibilidad técnica y económica.

En general, tanto la vigilancia sanitaria y ambiental presentan un nivel alto de detalle metodológico, destacándose los parámetros a considerar en cada uno de ellos y detallando las instalaciones disponibles para este propósito. Del mismo modo, en la mayoría de los casos, los ensayos experimentales presentan claramente el número de ejemplares utilizados en cada ensayo, el nivel de replicación (número de estanques), variables medidas y especies competidoras utilizadas para cada caso. Sin embargo, para todos los estudios evaluados se evidencia la falta de detalle en aspectos que entregan sustento estadístico a los posibles resultados del estudio. Se destaca entre ellos, la ausencia de la metodología de análisis a emplear, la potencia estadística acorde a los diseños experimentales y, para el caso de los estudios sanitarios, la prevalencia asumida de los patógenos evaluados, en la mayoría de los casos. Finalmente, se proponen mejoras para abordar los comentarios desarrollados a cada metodología, para las cuales, mayores detalles son presentados en la sección 5.8.3 del presente informe.



Tabla 7.

Análisis de Términos Técnicos de Referencia (TTR) asociados a estudios sanitarios con efecto de impacto ambiental, entre el 2018 y el 2021, presentados en el marco de procesos de primera importación de organismos hidrobiológicos.

Tipo de ensayo	Especie	VARIABLES ANALIZADAS	Descripción de diseño experimentales/muestreales empleados	N utilizado	Comentario	Mejoras sugeridas
Vigilancia sanitaria	Tilapia (<i>Oreochromis sp.</i>)	Análisis bacteriológicos, virológicos y parasitológicos	Muestreo de 30 en los meses 1, 5 y 9; y muestreo de 10 peces en los meses 2, 3, 4, 6, 7 y 8.	30 y 10	El N corresponde al número de individuos durante todo el periodo (12 meses) y no se indica el criterio utilizado para utilizar este número.	<p>1. Realizar el cálculo de la prevalencia estimada para cada patógeno analizado, de acuerdo al número de individuos muestreados; o en su defecto, establecer el número de individuos a muestrear, de acuerdo a las sugerencias de la OMSA (OIE, 2019), para lo cual se pueden utilizar herramientas como EpiTools (https://epitools.ausvet.com.au/samplesize).</p> <p>2. Describir los análisis descriptivos y/o inferenciales a realizar, en los casos que corresponda.</p>



Tipo de ensayo	Especie	Variabes analizadas	Descripci3n de dise1o experimental/muestreales empleados	N utilizado	Comentario	Mejoras sugeridas
	Camar3n blanco (<i>Litopeneus vannamei</i>)	An3lisis molecular de diferentes pat3genos espec3ficos.	Muestreo a los 45 y 90 d3as post-ingreso de ejemplares. Muestreo por diferentes etapas de desarrollo de los ejemplares importados.	210 post larvas, 60 juveniles, 60 adultos	No se indica el criterio utilizado para utilizar el N indicado.	<p>1. Realizar el c3lculo de la prevalencia estimada para cada pat3geno analizado, de acuerdo al n3mero de individuos muestreados; o en su defecto, establecer el n3mero de individuos a muestrear, de acuerdo a las sugerencias de la OMSA (OIE, 2019), para lo cual se pueden utilizar herramientas como EpiTools (https://epitools.ausvet.com.au/samplesize).</p> <p>2. Describir los an3lisis descriptivos y/o inferenciales a realizar, en los casos que corresponda.</p> <p>3. Utilizar sustancia estabilizadora del material gen3tico (por ejemplo, RNALater) para la preservaci3n de tejidos para an3lisis moleculares.</p>



Tipo de ensayo	Especie	Variabes analizadas	Descripci3n de dise1o experimental/muestreales empleados	N utilizado	Comentario	Mejoras sugeridas
	Esturion sevruga (<i>Acipenser stellatus</i>)	Análisis molecular y bacteriol3gico de enfermedades de interés.	Muestreo cuatrimestral, excepto para EHNV.	1. 30 pool de 5 peces por muestreo (cultivo celular).2. 50 pool de 3 peces (RT-PCR).3. 30 peces (cultivo bacteriol3gico, cultivo micol3gico y frotis fresco de tejidos).	Se indica que se considera una prevalencia m3nima del 5%, para todas las enfermedades. Sin embargo, esto aparentemente no tiene repercusiones en el n3mero de ejemplares a evaluar.	<p>1. Acorde a las recomendaciones de la OMSA (OIE, 2019), manejar una prevalencia m3nima del 2% para aquellas enfermedades donde no hay informaci3n en el pa3s de origen por ser declaradas libres de la enfermedad.</p> <p>2. Indicar el criterio de selecci3n del n3mero de ejemplares a muestrear, o en su defecto estimar el poder de detecci3n a partir de los mismos, para ello, se recomienda el uso de herramientas como EpiTools (https://epitools.ausvet.com.au/samplesize).</p> <p>3. Emplear una sustancia estabilizadora del RNA para la conservaci3n de las muestras para diagn3sticos moleculares (por ejemplo, RNALater), debido a que varios de los pat3genos listados son de RNA (por ejemplo, el Virus de la Necrosis Hematopoyética Infecciosa, Virus de la Septicemia Hemorrágica Viral).</p>



Tipo de ensayo	Especie	Variabes analizadas	Descripci3n de dise1o experimentales/muestreales empleados	N utilizado	Comentario	Mejoras sugeridas
	Abal3n azul (<i>Halotis fulgens</i>)	An3lisis anatomopatol3gico, micro y macrosc3pico, y PCR en tiempo real.	Muestreo cada 6 meses.	30 individuos	No se indica la prevalencia m3nima asumida.	<p>1. Acorde a las recomendaciones de la OMSA (OIE, 2019), manejar una prevalencia m3nima del 2% para aquellas enfermedades donde no hay informaci3n en el pa3s de origen por ser declaradas libres de la enfermedad.</p> <p>2. Indicar el criterio de selecci3n del n3mero de ejemplares a muestrear, o en su defecto estimar el poder de detecci3n a partir de los mismos, para ello, se recomienda el uso de herramientas como EpiTools (https://epitools.ausvet.com.au/samplesize).</p> <p>3. Emplear una sustancia estabilizadora del RNA para la conservaci3n de las muestras para diagn3sticos moleculares (por ejemplo, RNALater).</p>



Tipo de ensayo	Especie	Variabes analizadas	Descripci3n de dise1o experimental/muestreales empleados	N utilizado	Comentario	Mejoras sugeridas
	Langosta marr3n (<i>Cherax cainii</i>)	Diagn3stico de enfermedades ex3ticas.	Muestreo s3lo ante eventuales emergencias, debido a antecedentes con la especie y certificaci3n sanitaria de origen.	30 individuos por muestreo (2 muestreos)	No se indica la prevalencia m3nima asumida.	



Tipo de ensayo	Especie	VARIABLES ANALIZADAS	Descripción de diseño experimentales/muestreales empleados	N utilizado	Comentario	Mejoras sugeridas
Vigilancia ambiental	Tilapia (<i>Oreochromis sp.</i>)	Análisis físicos, químicos y microbiológicos	Muestreo entre meses (0, 1, 2, 3, 6 y 12), y en tres diferentes puntos del sistema de cultivo.	No se indica	Los TTR no indican la forma en cómo se abordarán estadísticamente los resultados, como tampoco el número de muestras a emplear para cada muestreo y cada punto.	1. Indicar los análisis estadísticos a emplear para la evaluación de los resultados. Se recomienda el uso de modelos lineales mixtos para evaluar cada variable de forma separada, incorporando el tiempo como factor aleatorio, y el punto del centro de cultivo como un factor fijo. En este caso, será necesario tener en consideración lo esperado para cada variable ambiental, en cada uno de los puntos del centro de cultivo evaluado.
	Camarón blanco (<i>Litopeneus vannamei</i>)	Análisis de calidad de agua, de comunidades planctónicas y muestras de sedimento en punto de descarga.	No se indica la frecuencia de muestreo y/o el número de muestras tomadas.	No se indica		
	Esturión sevruca (<i>Acipenser stellatus</i>)	Parámetros de calidad de agua, análisis de sedimentos, análisis microbiológicos, análisis acorde al D.S. 90.	Muestreo cuatrimestral y mensual, en 6 puntos.	No se indica		



Tipo de ensayo	Especie	VARIABLES ANALIZADAS	Descripción de diseño experimental/muestreales empleados	N utilizado	Comentario	Mejoras sugeridas
	Abalón azul (<i>Haliotis fulgens</i>)		Mediciones en ambiente circundante (columna de agua, intermareal y submareal rocoso) y en diferentes puntos del centro de cultivo (unidad de cuarentena, afluentes y efluentes).	No se indica		
	Langosta marrón (<i>Cherax cainii</i>)	Monitoreo regular de parámetros físicos y químicos del agua.	No se indica.	No se indica		



Tipo de ensayo	Especie	Variables analizadas	Descripci3n de dise1o experimental/muestreales empleados	N utilizado	Comentario	Mejoras sugeridas
Ensayos de cohabitaci3n	Tilapia (<i>Oreochromis sp.</i>)	Predaci3n (Sobrevivencia)	Realizaron 5 ensayos, con 4 confrontaciones por ensayo. Consideraron diferentes categorías de tallas para la especie ex3tica (5 categorías) y el cohabitante (4 categorías).	10 y 30	Se detalla claramente aspectos metodol3gicos relevantes. Sin embargo, no se indican la forma en como estos resultados serán abordados estadísticamente. Tampoco se indica la potencia estadística del dise1o empleado, ni se justifican los tama1os muestrales seleccionados. No se indica la existencia de un grupo control (sin cohabitantes).	<ol style="list-style-type: none"> Indicar cuál es el tama1o del efecto mínimo que permite ser detectado a partir del N empleado; o de lo contrario, proponer al importador un N en funci3n de un tama1o de efecto que permita la evaluaci3n de una magnitud entre peque1o y mediano efecto (ver secci3n 5.8. para mäs detalle). Indicar los análisis que permitirán evaluar estadísticamente el potencial impacto de la especie a importar, sobre la sobrevivencia de su cohabitante (depredaci3n). Se sugiere el uso de un Modelo Mixto Generalizado (glmm), asumiendo un modelo binomial para la distribuci3n del error, el tama1o de la especie ex3tica y del cohabitante como factores fijos y el n1mero de la secci3n (o compartimiento) como factor aleatorio.



Tipo de ensayo	Especie	Variables analizadas	Descripci3n de dise1o experimental/muestreales empleados	N utilizado	Comentario	Mejoras sugeridas
		Competencia alimentaria (Consumo de alimento)	Realizaron 5 ensayos, con 4 confrontaciones por ensayo. Consideraron diferentes categorías de tallas para la especie ex3tica (5 categorías) y el cohabitante (4 categorías).	10 y 30	Se detalla claramente aspectos metodol3gicos relevantes. Sin embargo, no se indican la forma en como estos resultados serán abordados estadísticamente. Tampoco se indica la potencia estadística del dise1o empleado, ni se justifican los tama1os muestrales seleccionados. No se indica la existencia de un grupo control (sin cohabitantes).	



Tipo de ensayo	Especie	Variabes analizadas	Descripción de diseño experimentales/muestreales empleados	N utilizado	Comentario	Mejoras sugeridas
	Camarón blanco (<i>Litopeneus vannamei</i>)	Interacción	Los ensayos consideraron los factores: Temperatura (invierno/verano) y estadio de los Camarones.	Muy variable (entre 8 y 120 Camarones)	Se entregan detalles claros del diseño de los ensayos de interacción con potenciales presas, competidores y depredadores. Sin embargo, no se indican los criterios para definir el N a utilizar en cada grupo. Además, no se indica como serán analizados los resultados.	<ol style="list-style-type: none"> 1. En lo posible, homogeneizar el N para cada grupo y ensayo. 2. Indicar cuál es el tamaño del efecto mínimo que permite ser detectado a partir del N empleado; o de lo contrario, proponer al importador un N en función de un tamaño de efecto que permita la evaluación de una magnitud entre pequeño y mediano efecto (ver sección 5.8. para más detalle). 3. Indicar los análisis que permitirán evaluar estadísticamente el potencial impacto de la especie a importar.
	Esturión sevruga (<i>Acipenser stellatus</i>)	Selección de presas (conteo del número de presas, caracterización contenido gástrico, observación de conductas y peso y talla máxima de peces)	Estanques con el organismo a importar y 3 taxa diferentes como presa, manteniendo estable la biomasa de presas durante el ensayo. Mediciones u observaciones cada 4 horas.	10 peces por estanque (2 estanques)	Se describe detalladamente la metodología empleada, incluyendo periodos de aclimatación adecuados, previo a la cohabitación. Sin embargo, no se entregan detalles de cómo serán abordados, estadísticamente, los resultados obtenidos.	<ol style="list-style-type: none"> 1. En lo posible, implementar un nivel de replicación de N=3 (número de estanques) 2. Indicar cuál es el tamaño del efecto mínimo que permite ser detectado a partir del N empleado; o de lo contrario, proponer al importador un N en función de un tamaño de efecto que permita la evaluación de una magnitud entre pequeño y mediano efecto (ver sección 5.8. para más detalle).



Tipo de ensayo	Especie	Variables analizadas	Descripci3n de dise1o experimentales/muestreales empleados	N utilizado	Comentario	Mejoras sugeridas
		Depredaci3n	Estanques con juveniles del organismo a importar y alevines de su potencial presa; juveniles del potencial depredar y alevines de la especie a importar. Mediciones u observaciones cada 4 horas.	10 peces de la especie depredadora y 20 presas, por estanque (2 estanques)	Se describe detalladamente la metodolog1a empleada, incluyendo periodos de aclimataci3n adecuados, previo a la cohabitaci3n. Sin embargo, no se entregan detalles de c3mo ser3n abordados, estad1sticamente, los resultados obtenidos.	3. Indicar los an3lisis que permitir3n evaluar estad1sticamente el potencial impacto de la especie a importar (m3s detalle en secci3n 5.8). 4. Incluir ensayos de competencia por refugio y otros par3metros asociados al comportamiento competitivo (m3s detalle en secci3n 5.8.).
		Competencia (Consumo de alimento)	Estanques con el organismo a importar, el cohabitante y 3 taxa diferentes como presa, manteniendo estable la biomasa de presas durante el ensayo. Mediciones u observaciones cada 4 horas.	10 peces por estanque (2 estanques)	Se describe detalladamente la metodolog1a empleada, incluyendo periodos de aclimataci3n adecuados, previo a la cohabitaci3n. Se incluyen controles para cada especie (la ex3tica y la cohabitante), sin considerar la cohabitaci3n (ensayo de selecci3n de presas). Sin embargo, s3lo se considera la interacci3n de competencia por alimento, sin considerar otros aspectos ecol3gicos relevantes, por ejemplo, la competencia por refugio.	



Tipo de ensayo	Especie	Variabes analizadas	Descripci3n de dise1o experimentales/muestreales empleados	N utilizado	Comentario	Mejoras sugeridas
	Abal3n azul (<i>Haliotis fulgens</i>)	Predaci3n (Biomasa consumida)	Estanque con juveniles de la especie a importar y su cohabitante.	5 ejemplares de la especie a importar y biomasa en exceso del cohabitante.	No se indican los criterios para la selecci3n de las especies con las que la especie a importar podr3a tener alguna relaci3n biol3gica de predaci3n, depredaci3n y competencia alimentaria. Se considera un nivel de replicaci3n de N = 2 (estanques). No se indican los an3lisis estad3sticos que permiten abordar el dise1o planteado.	<ol style="list-style-type: none"> 1. En lo posible, implementar un nivel de replicaci3n de por lo menos N=3 (n3mero de estanques). 2. Indicar criterios de selecci3n de especies competidoras. Considerar aspectos filogen3ticos. 3. Indicar cu3l es el tama1o del efecto m3nimo que permite ser detectado a partir del N empleado; o de lo contrario, proponer al importador un N en funci3n de un tama1o de efecto que permita la evaluaci3n de una magnitud entre peque1o y mediano efecto (ver secci3n 5.8. para m3s detalle).
		Depredaci3n (Sobrevivencia y tiempo en que la competidora logra consumir el total de abalones).	Estanque con juveniles de la especie a importar y adultos de su cohabitante.	5 ejemplares de la especie a importar y 5 del cohabitante.	No se indican los an3lisis estad3sticos que permiten abordar el dise1o planteado.	<ol style="list-style-type: none"> 4. Indicar los an3lisis que permitir3n evaluar estad3sticamente el potencial impacto de la especie a importar (m3s detalle en secci3n 5.8).



Tipo de ensayo	Especie	Variabes analizadas	Descripci3n de dise1o experimentales/muestreales empleados	N utilizado	Comentario	Mejoras sugeridas
		Competencia alimentaria (Consumo de alimento)	Incremento peso corporal.	5 ejemplares de la especie a importar y 5 del cohabitante.	Considera los factores talla y especie cohabitante dentro del dise1o. No se consideran controles sin cohabitaci3n para cada especie por separado. No se evalúa de forma explícita el consumo de cada especie, sólo lo que se ve reflejado en el peso. No se indican los análisis estadísticos que permiten abordar el dise1o planteado.	5. Incluir ensayos de competencia por refugio y otros parámetros asociados al comportamiento competitivo (más detalle en secci3n 5.8.).
	Langosta marr3n (<i>Cherax cainii</i>)	Selecci3n de presas (peso y longitud, conteo diario de presas disponibles, observaciones de conducta)	Estanques con el organismo a importar y 3 taxa diferentes como presa, manteniendo estable la biomasa de presas durante el ensayo. Mediciones u observaciones cada 4 horas.	10 y 5 ejemplares de la especie a importar por estanque, para el ensayo de juveniles y adultos, respectivamente. No se indica el número de presas, pero se estandariza por gramos de cada especie.	Este mismo ensayo fue repetido para el potencial competidor de la especie a importar, lo que sirve como control para los ensayos de competencia. Sin embargo, no indica los análisis estadísticos a implementar para abordar el dise1o planteado.	<p>1. Indicar criterios de selecci3n de especies competidoras. Considerar aspectos filogenéticos.</p> <p>2. Indicar cuál es el tamaño del efecto mínimo que permite ser detectado a partir del N empleado; o de lo contrario, proponer al importador un N en funci3n de un tamaño de efecto que permita la evaluaci3n de una magnitud entre pequeño y mediano efecto (ver secci3n 5.8. para más detalle).</p> <p>3. Indicar los análisis que permitirán evaluar estadísticamente el potencial</p>



Tipo de ensayo	Especie	Variabes analizadas	Descripci3n de dise1o experimentales/muestreales empleados	N utilizado	Comentario	Mejoras sugeridas
		Competencia alimentaria (peso y longitud, conteo diario de presas disponibles, observaciones de conducta)	Estanques con juveniles de la especie a importar, su potencial competidor y 3 taxa como presas.	10 ejemplares de la especie a importar y su potencial competidora para la competencia entre juveniles; 5 ejemplares para la competencia entre adultos.	Explica detalladamente aspectos metodol3gicos asociados al dise1o experimental. Sin embargo, no indica los criterios para la selecci3n del n1mero de ejemplares en cada ensayo, ni los m3todos estadisticos para abordar el dise1o. S3lo se considera la competencia por alimento y no otras interacciones de inter3s ecol3gico.	<p>impacto de la especie a importar (m1s detalle en secci3n 5.8).</p> <p>4. Incluir ensayos de competencia por refugio y otros par1metros asociados al comportamiento competitivo (m1s detalle en secci3n 5.8.).</p>
		Predaci3n	Estanques con adultos de la especie a importar y juveniles del cohabitante.	5 adultos de la especie a importar y 5 juveniles del cohabitante.	Explica detalladamente aspectos metodol3gicos asociados al dise1o experimental. Sin embargo, no indica los criterios para la selecci3n del n1mero de ejemplares en cada ensayo, ni los m3todos estadisticos para abordar el dise1o planteado.	



Tipo de ensayo	Especie	Variables analizadas	Descripci3n de dise1o experimentales/muestreales empleados	N utilizado	Comentario	Mejoras sugeridas
		Depredaci3n	Estanques con juveniles de la especie a importar y adultos del cohabitante.	5 juveniles de la especie a importar y 5 adultos del cohabitante.	Explica detalladamente aspectos metodol3gicos asociados al dise1o experimental. Sin embargo, no indica los criterios para la selecci3n del n1mero de ejemplares en cada ensayo, ni los m1todos estadisticos para abordar el dise1o planteado.	
Ensayo de tolerancia t1rmica	Camar3n blanco (<i>Litopeneus vannamei</i>)	Tolerancia ambiental (por presas)	Ensayos agudos (exposici3n durante 1 semana) y cr3nicos (exposici3n durante 1 mes)	Muy variable (entre 5 y 120 Camarones)	Se entregan detalles claros del dise1o de los ensayos de tolerancia t1rmica (aguda y cr3tica). Sin embargo, no se indican los criterios para definir el N a utilizar en cada grupo y la densidad en cada r3plica fue muy variable. Adem1s, no se indica como ser1n analizados los resultados y por lo tanto, como ser1n abordadas las diferencias del N entre r3plicas.	<ol style="list-style-type: none"> 1. Considerar otra variable respuesta (no letal), para evaluar una respuesta m1s temprana a la temperatura. 2. Describir los an1lisis estadisticos sugeridos para la evaluaci3n de la respuesta. 3. Considerar la realizaci3n de los ensayos, partiendo desde diferentes temperaturas de aclimataci3n.



5.6 Validación de propuestas de modificación al actual proceso de primera importación de especies exóticas a través del taller de expertos.

Una vez realizada la evaluación y análisis comparativo de las diferentes propuestas, se convocó a un taller de expertos. En esta instancia se presentaron las diferentes propuestas de mejoramiento del actual D.S. (MINECON) N° 730 de 1995, en el marco de la internación de especies hidrobiológicas de primera importación, las cuales fueron discutidas y consensuadas por los diferentes asistentes a la actividad.

El taller se realizó de manera telemática vía Google Meet el día viernes 05 de agosto del 2022 (Anexo 7). Esta actividad consideró, en primera instancia, la participación de autoridades sectoriales tanto de la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura como del Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura, académicos universitarios, representantes de empresas productoras que realizaron solicitudes de primera importación de especies hidrobiológicas y representantes del Instituto de Fomento Pesquero. El listado de los asistentes al taller se presenta en la **Tabla 8**.

Tabla 8.

Listado de representantes de instituciones y empresas que participaron del taller de validación.

Nombre	Institución	Correo electrónico
Maureen Alcayaga	Subsecretaría de Pesca y Acuicultura	malcayaga@subpesca.cl
Carolina Molina	Subsecretaría de Pesca y Acuicultura	cmolina@subpesca.cl
Luis Castañeda	Universidad de Chile	luis.castaneda@uchile.cl
Carlos Díaz	Empresa Transantartic	cdiaz@transantartic.com
Cesar Rivera	Empresa Esturiones Andes	crivera@esturiones-andes.cl
Marcela Díaz	Empresa Esturiones Andes	mdiaz@esturiones-andes.cl
Jaiber Solano	Instituto de Fomento Pesquero	jaiber.solano@ifop.cl
Felipe Pontigo	Instituto de Fomento Pesquero	felipe.pontigo@ifop.cl
Sergio Contreras	Instituto de Fomento Pesquero	sergio.contreras@ifop.cl
Juan Carlos Quintanilla	Instituto de Fomento Pesquero	juancarlos.quintanilla@ifop.cl



De los representantes de IFOP, cabe lugar señalar que únicamente dos de ellos (Juan Carlos Quintanilla y Jaiber J. Solano) participaron de la presentación de los resultados relativo a las propuestas de modificación y de las nuevas propuestas metodológicas, en tanto que solo uno de ellos intervino en la discusión generada (Jaiber J. Solano) en el marco de las nuevas propuestas metodológicas, lo que finalmente permitió la validación de estas. Es importante hacer mención que tanto los representantes del SERNAPESCA como el académico de la Universidad Austral de Chile, Luis Vargas Chacoff, debieron excusarse a último minuto de participar en esta actividad, situación que no permitió incorporar a otros expertos al proceso de validación de propuestas.

De este modo, la interacción entre los diferentes actores que participaron del taller de validación de las propuestas de modificación al actual D.S. (MINECON) N° 730 de 1995, permitió recopilar comentarios y recomendaciones que fueron incluidas como parte de las propuestas de modificación detalladas en el presente informe.

5.7 Evaluación de factibilidad técnica y económica de las propuestas de modificación al actual proceso y estudios asociados a la primera importación de especies exóticas.

5.7.1 Evaluación de factibilidad técnica de las propuestas de modificación al actual proceso y estudios asociados a la primera importación de especies exóticas.

En lo que respecta al análisis de la factibilidad técnica asociado a la implementación de las mejoras y/o modificaciones propuestas, se puede señalar, en primera instancia, que este consideró un análisis de los requerimientos y tecnologías requeridas para lograr las mejoras y/o modificaciones que se desean proponer a la actual normativa. Esta evaluación contempló el planteamiento de una serie de preguntas que se orientaron a identificar la principal falencia del actual proceso de importación que llevó al planteamiento y desarrollo de las modificaciones propuestas. A su vez, se contempló el análisis de cuál sería el argumento para poder incorporar las modificaciones propuestas a la normativa actualmente vigente. Adicionalmente, se consideró identificar el grado de adaptabilidad de las modificaciones propuestas a la actual normativa en base a la factibilidad técnica de disponer de las metodologías y/o análisis requeridos. Además, se contempló el posible acceso de los usuarios a las modificaciones técnicas propuestas, que permitiesen identificar los requerimientos técnicos óptimos o mínimos para resguardar y/o cautelar el ingreso de patógenos o un potencial impacto ecológico.

En la **Tabla 9** se detallan las interrogantes que fueron considerados en la evaluación de la factibilidad técnica de implementación de las propuestas de modificación al actual reglamento.



Tabla 9.

Aspectos considerados en la evaluación de la factibilidad técnica de la implementación de las propuestas de modificación al actual reglamento.

Interrogante	Solicitud de certificados sanitarios	Descripción del hábitat donde se realizará el ESEIA, en términos abióticos y bióticos	Caracterización de los efectos directos e indirectos de la especie a importar sobre el ecosistema acuático
1.- ¿Cuál es la falencia identificada en el actual proceso de importación?	No hay claridad en la actual normativa de la solicitud y/o requerimiento de un plan de certificación sanitaria post-frontera.	No se especifican en la actual normativa, los requerimientos mínimos de información que deben ser abordados a través de la descripción del entorno, en términos abióticos, bióticos, y, que deberían ser solicitados por medio del ESEIA.	No se especifican en la actual normativa los requerimientos mínimos en términos de variables abióticas que deben ser monitoreadas a través de la vigilancia ambiental. Del punto de vista biótico, no se señala la necesidad de contar con un plan de monitoreo y/o vigilancia que verifique la ausencia de escapes de los organismos hidrobiológicos exóticos utilizados en los ESEIA, acorde a la descripción del hábitat entorno al lugar donde se realizará el ESEIA.
2.- ¿Cuál es el argumento para su incorporación a la normativa actual y/o que constituya un requerimiento mandatorio?	La solicitud de certificaciones sanitarias y en virtud del objetivo y destino de la importación debe ser mandatorio debido a que permite prevenir el ingreso de especies y patógenos que provoquen un perjuicio en el patrimonio sanitario y ecológico nacional. Una certificación post-frontera desfavorable concluirá en una denegación de importación hasta que las condiciones sean favorables, siempre y cuando esto sea posible.	La especificación de indicadores o aspectos en la descripción del entorno permitirá tanto a evaluadores como importadores tener un marco mínimo de acción establecido, que podrá ser revisado de forma estándar, con posibilidad de formulación de criterios de aprobación o rechazo de las solicitudes.	La solicitud específica de vigilancia ambiental se justifica en el cuidado del bienestar de las especies a importar, como también, en la prevención de eventos de afectación y/o mortalidad masiva de los individuos producidas por variaciones subletales y letales de los parámetros ambientales. Por otra parte, la identificación de especies en cursos o fuentes de agua en el entorno permitirá identificar tempranamente la presencia de la especie a importar en caso que se haya ocasionado un escape involuntario de individuos.
3.- ¿Cuál es el grado de adaptación de las modificaciones propuestas a la normativa actual?	^a Muy adaptable (60 - 100%), debido a que existen en nuestro país laboratorios que pueden proveer de servicios de análisis de patógenos de alto riesgo mencionados en las listas de la autoridad pertinente, así también se dispone de profesionales certificadores de la condición sanitaria, reconocidos por la autoridad sectorial pertinente.	^a Muy adaptable (60 - 100%), debido a que los requerimientos y/o metodologías propuestas se encuentran disponibles en nuestro país, muchas veces asociadas a evaluaciones de impacto ambiental.	^a Muy adaptable (60 - 100%), debido a que los requerimientos y/o metodologías propuestas se encuentran disponibles en nuestro país, muchas veces asociadas a evaluaciones de impacto ambiental, y ejecutadas por servicios de consultoría externa.
4.- ¿Las modificaciones sugeridas, referidas a aspectos técnicos y de laboratorio se encuentran presentes en Chile?	Si	Si	Si



Interrogante	Solicitud de certificados sanitarios	Descripción del hábitat donde se realizará el ESEIA, en términos abióticos y bióticos	Caracterización de los efectos directos e indirectos de la especie a importar sobre el ecosistema acuático
5.- ¿Cuál es el nivel de acceso de los usuarios a estas modificaciones técnicas?	^b Muy accesible (61 - 100%), debido a que existen en nuestro país laboratorios de diagnóstico reconocidos por la autoridad pertinente, que pueden proveer de servicios de análisis de patógenos de alto riesgo que se encuentran listados por la entidad competente en Resolución N° 1741 del 2013 y sus modificaciones.	^b Muy accesible (61 - 100%), debido a que las metodologías propuestas se encuentran disponibles en nuestro país, muchas veces asociadas a servicios de consultoría externa en el marco de evaluaciones de impacto ambiental.	^b Muy accesible (61 - 100%), debido a que las metodologías propuestas se encuentran disponibles en nuestro país, muchas veces asociadas a servicios de consultoría externa en el marco de evaluaciones de impacto ambiental.

^a Para definir el nivel y grado de adaptabilidad de las modificaciones propuestas a la normativa actual, ver Tabla 9.

^b Para definir el nivel y grado de accesibilidad de los usuarios a las modificaciones técnicas propuestas, ver Tabla 9.

Tabla 10.

Grado de adaptabilidad y nivel de acceso de los usuarios a las modificaciones a la normativa actual

Grado de adaptación de las modificaciones a la normativa actual	Grado	Justificación	Nivel de acceso de los usuarios a las modificaciones a la normativa actual	Grado	Justificación
0 - 30	Poco adaptable	Debido a que las modificaciones sugeridas, indican el uso o requerimiento de técnicas o herramientas que no se encuentran en Chile, o para las cuales existe un amplio desconocimiento.	0 - 30	Poco accesible	Debido a que las modificaciones sugeridas, indican el uso o requerimiento de técnicas o herramientas que no se encuentran en Chile, o para las cuales existe un amplio desconocimiento.
31 - 60	Medianamente adaptable	Debido a que las modificaciones sugeridas, sustentan su aplicación en base a técnicas y herramientas con algún uso o que poseen alguna experiencia de uso en el país.	31 - 60	Medianamente accesible	Debido a que las modificaciones sugeridas, sustentan su aplicación en base a técnicas y herramientas con algún uso o que poseen alguna experiencia de uso en el país.
61 - 100	Muy adaptable	Debido a que las modificaciones planteadas en cuanto a técnicas y/o herramientas y la experiencia de uso en nuestro país, se encuentra en un nivel de uso ampliamente difundido.	61 - 100	Muy accesible	Debido a que las modificaciones planteadas en cuanto a técnicas y/o herramientas, y la experiencia de uso en nuestro país, se encuentra en un nivel de uso ampliamente difundido.

En cuanto al análisis de factibilidad técnica, es importante hacer mención que la aproximación de las modificaciones propuestas en el presente estudio, fueron consideradas como procedimientos estándar que deberían implementarse o vincularse al actual reglamento de internación de especies hidrobiológicas exóticas de primera importación al país. En este sentido, considerando que la totalidad



de las propuestas de modificaciones tienen como foco evitar el ingreso de especies exóticas y/o agentes patógenos al país, es que, en base a los resultados obtenidos del análisis de factibilidad técnica, no es posible establecer una diferenciación entre requisitos mínimos u óptimos para ello. A su vez, tampoco es posible establecer qué propuestas de modificación serían prioritarias de implementar en la normativa actual para cautelar de mejor forma el patrimonio biológico del país. Lo anterior, teniendo en consideración que la totalidad de las propuestas son muy adaptables a la actual normativa vigente y las técnicas y/o herramientas requeridas, junto a la experiencia de uso en nuestro país, se encuentra en un nivel ampliamente difundido, lo que resulta en un alto grado de accesibilidad por parte de los usuarios.

Si bien, la propuesta de modificación relacionada con establecer los requerimientos mínimos de variables necesarias para realizar una adecuada descripción del hábitat entorno al cual se realizarán los ESEIA, presenta una baja factibilidad del punto de vista económico, se considera relevante su aplicabilidad e implementación. Lo anterior, debido a que esta propuesta busca establecer las bases para un adecuado plan de vigilancia ambiental que está relacionado, por ejemplo, con el monitoreo de la fauna presente en los cursos de agua del entorno, acorde a la descripción e identificación realizada del hábitat. Esto último con la finalidad de detectar la presencia (escapes) o ausencia de la especie a importar en cualquiera de sus estados de desarrollo.

5.7.2 Evaluación de factibilidad económica de las propuestas de modificación al actual proceso y estudios asociados a la primera importación de especies exóticas.

Se efectuó la evaluación económica de las propuestas de modificación al actual proceso de primera importación de especies exóticas, identificando todos los costos involucrados en su implementación.

El estudio técnico previo permitió la identificación del proceso de flujo lógico de las actividades asociadas a las solicitudes de primera importación de especies exóticas, y que apliquen en los estudios sanitarios (ensayos de cohabitación) con efectos de impacto ambiental. Al proceso actual caracterizado, se incorporaron los procesos propuestos nuevos, los que se identifican en la siguiente figura (**Figura 7**).

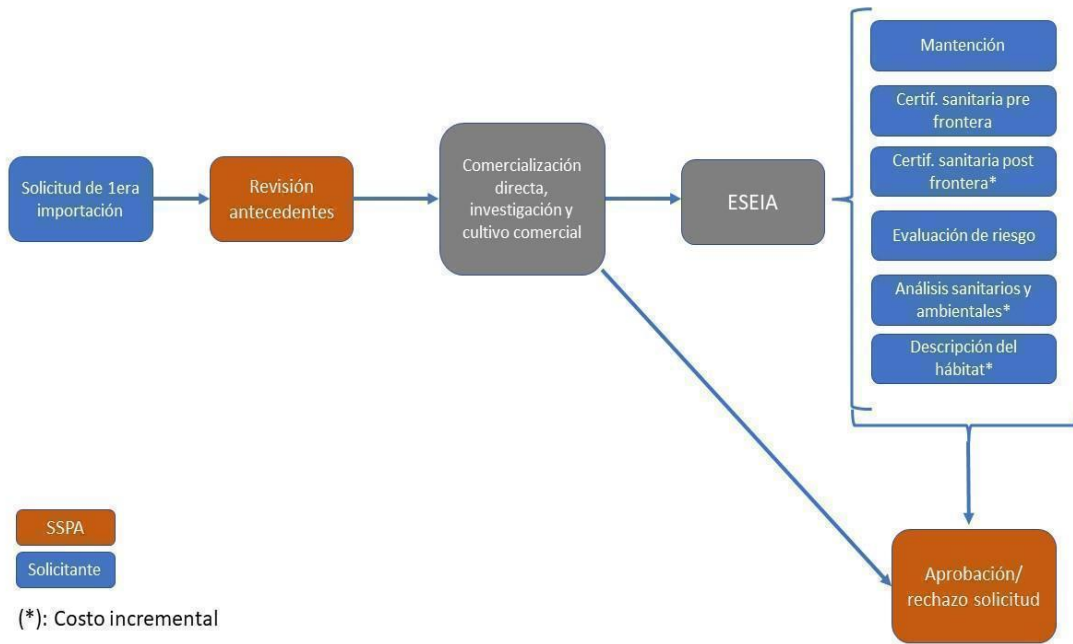


Figura 7.

Diagrama de flujo de actividades que implican costos en el proceso actual de solicitudes de primera importaci3n de especies ex3ticas que impliquen estudios sanitarios.

(*): Nuevos procesos que implican costos incrementales.

Se identificaron las actividades y procesos que implican costos incrementales al proceso actual de solicitudes de primera importaci3n de especies ex3ticas que impliquen estudios sanitarios, sobre la base de las propuestas de modificaci3n presentadas.

Al respecto, dentro del proceso actual participan el solicitante de la autorizaci3n de primera importaci3n, así como los representantes del Estado (Subsecretaría de Pesca y Acuicultura) que reciben dicha solicitud, la analizan, generan informes y una decisi3n final.

A continuaci3n, se describen y valorizan los nuevos procesos propuestos a ser incorporados en la actual normativa asociada a solicitudes de primera importaci3n de especies ex3ticas que impliquen estudios sanitarios.



Identificación de costos.

Se identificaron los costos asociados a la propuesta de nuevos procesos de solicitudes de primera importación de especies exóticas, que constituyen recursos que se deberán utilizar para su materialización ya sea en etapas de diseño, ejecución y/o operación. Entre los procesos que representan costos incrementales se consideraron:

- Certificación sanitaria post frontera.
- Análisis sanitarios y de parámetros ambientales.
- Descripción del hábitat.

Cuantificación y valorización de los costos.

Con los costos incrementales identificados previamente, se asignaron unidades y valores monetarios, de forma de cuantificar el costo total asociado a los nuevos procesos propuestos en el proceso de solicitudes de primera importación de especies.

En relación a los costos incrementales asociados a las propuestas de modificación en el proceso de solicitudes de primera importación, en lo que respecta a la certificación sanitaria post-frontera, se consultó en laboratorios certificados y especializados del área acuícola que prestan este tipo de servicio. El valor estimado consideró la certificación sanitaria dentro de la Región de Los Lagos, y este contempló todos aquellos costos asociados al certificador sanitario, el transporte y movilización al área donde se requiera determinar la condición sanitaria de los organismos hidrobiológicos. Además, también consideró la necropsia de los individuos, la toma de muestras de órganos y/o tejidos, y finalmente los análisis de laboratorio requeridos, acorde a los potenciales agentes patógenos de interés causantes de enfermedades de alto riesgo que requieran ser detectados. Con los valores por certificación entregados, al año 2022, por los diferentes laboratorios consultados, se obtuvo un valor promedio total que fue el utilizado en la valorización económica.

Respecto de los costos incrementales asociados al análisis de parámetros ambientales y sanitarios, se procedió a consultar tanto a empresas (consultoras) y laboratorios que prestan el servicio de análisis de parámetros medioambientales, como a profesionales del Departamento de Medio Ambiente del Instituto de Fomento Pesquero quienes disponen de experiencia y de antecedentes económicos en esta materia. Con la información obtenida de ambas fuentes, se procedió a establecer los costos unitarios de los análisis asociados a cada una de las variables ambientales indicadas en las propuestas de modificación. Para aquella propuesta asociada a la descripción de hábitat, se consideró un total de 3 análisis para cada una de las variables ambientales detalladas en la propuesta



(1 análisis por cada punto de muestreo, $n=3$). De igual forma, se contempló la ejecución de al menos una pesca de investigación tendiente a identificar la fauna característica existente en los cursos de agua del entorno donde se realizaría el ESEIA. Para ello, se consideró la valorización de este tipo de servicio tanto por medio de consultoras externas, como así también a través de los costos involucrados en las pescas de investigación que son requeridas anualmente en el marco del Programa Permanente de Investigación del MINECON, titulado “Evaluación y Seguimiento de la Situación Sanitaria de peces Silvestres en Agua dulce y mar”, y que son ejecutadas por Departamento de Salud Hidrobiológica del IFOP.

Del mismo modo, para la vigilancia ambiental en estanques, acuarios o recipientes de contención donde se dispongan los organismos hidrobiológicos, se consideró un total de 3 análisis para cada una de las variables propuestas. Finalmente, en lo referente a los análisis a realizar en la vigilancia sanitaria indicada en la propuesta de modificación en el marco del monitoreo preventivo de las variables sanitarias, se procedió a consultar a diversos laboratorios de diagnósticos de la región, que prestan servicios en el área acuícola. Ello permitió la valorización de los análisis propuestos en base a los costos de mercado al año 2022.

La identificación de costos totales de los análisis medioambientales, sanitarios y la pesca de investigación indicadas en los párrafos anteriores consideró los valores de mercado al año 2022, y cuyo valor promedio fue el utilizado en la valorización económica unitaria y total. Detalle de esta información se presenta en la **Tabla 11**.

Tabla 11.

Detalle de costos identificados asociados a la implementación de cambios en el actual proceso de solicitudes de primera importación de especies exóticas.

Item	n	Valor unitario (\$)	Costo total (\$)
Certificación post frontera	1	1.000.000	1.000.000
Análisis ambientales y sanitarios			
Oxígeno disuelto	3	11.300	33.900
pH	3	2.000	6.000
Alcalinidad	3	7.400	22.200
Amonio Total	3	6.700	20.100



Item	n	Valor unitario (\$)	Costo total (\$)
Temperatura del agua	3	0	0
Nitratos agua	3	8.300	24.900
Nitritos agua	3	5.500	16.500
Demanda biológica oxígeno (DBO)	3	13.700	41.100
Demanda química de oxígeno (DQO)	3	11.000	33.000
Conductividad eléctrica	3	2.000	6.000
Metales (Cu, Fe, Pb, Zn, Sn, As)	3	20.000	60.000
Necropsia	1	50.000	50.000
Histología	1	150.000	150.000
Microbiología	1	80.000	80.000
PCR	5	35.000	175.000
Descripción hábitat	1	3.000.000	3.000.000

De esta forma, la valorización resumida de los procesos nuevos identificados precedentemente y la respectiva justificación de los mismos se presentan en la **Tabla 12**.



Tabla 12.

Costos incrementales asociados a nuevos requerimientos a incorporar en el proceso de solicitudes de primera importación.

Ítem	Unidad	Valor	Costo total	Comentario
Certificación sanitaria post frontera.	1	1.000.000	1.000.000	Certificación realizada por empresa externa.
Análisis sanitarios y de parámetros ambientales.	1	718.700	718.700	Análisis realizados por laboratorios de servicios.
Descripción del hábitat.	1	3.000.000	3.000.000	Estudio realizado por consultora externa. Considera al menos 1 pesca de investigación.
TOTAL			\$4.718.700	

De esta forma, la valorización de los procesos nuevos identificados precedentemente considerando los nuevos procesos propuestos para las solicitudes de primera importación de especies exóticas, se ha calculado en un costo total incremental de \$4.718.700 por solicitud.



Objetivo específico 3: *Proponer nuevas técnicas y/o metodologías, análisis estadísticos y diseños muestrales a utilizar en el marco de la evaluación ambiental del D.S. N°730/95, y que consideren las características de los distintos tipos de especies que pueden ser internadas, además de las instalaciones donde serían desarrolladas dichas actividades, incluyendo una estimación de los costos de implementación.*

5.8. Diseño y elaboración de nuevas propuestas metodológicas para el proceso de primera importación de especies exóticas.

5.8.1. Nuevas propuestas metodológicas para el proceso de primera importación de especies exóticas.

Considerando la información analizada en el objetivo específico 1 se identificaron nuevas metodologías y/o técnicas que podrían ser incluidas en el marco de la evaluación ambiental del D. N° 730/95. Estas propuestas metodológicas fueron presentadas y consensuadas durante el taller de expertos (detalles en la sección 5.10).

5.8.1.1 Ensayos de desafío/tolerancia

a) Resumen general de la metodología:

Un ensayo de desafío consiste en someter a un individuo a un estímulo (físico o biológico) y describir su respuesta (por ejemplo, fisiológica, conductual, sanitaria, etc.). El diseño experimental estará condicionado a la especie y al estímulo a evaluar, considerando un número de individuos que permita un nivel de confianza y representatividad adecuada, y una infraestructura que permita controlar de manera estricta los niveles, tiempos de exposición y medición de la respuesta. Las variables de interés deben ser cuantificadas y analizadas estadísticamente. En el contexto de una primera importación de organismos hidrobiológicos, los ensayos de desafío se enfocan en evaluar rasgos fisiológicos de importancia y la susceptibilidad a patógenos de interés (lista 2 y 3 de enfermedades de alto riesgo). De esta manera, se evalúa el potencial riesgo de los organismos importados de establecerse y de ser susceptibles, y potencialmente vectores, de patógenos que pudieran tener implicancias en las actividades de pesca y acuicultura nacional. Si existen antecedentes recientes de la tolerancia térmica de la especie a importar y su susceptibilidad a patógenos, estos deberán ser presentados para la evaluación de la autoridad competente. Si así se estima conveniente, estos antecedentes podrán ser



utilizados para dar cumplimiento a esta actividad, sin necesidad de ejecutar nuevamente estos ensayos.

b) Objetivo:

Describir la respuesta de un individuo o grupo de individuos de la misma especie expuestos a un determinado estímulo.

c) Factores clave:

- Especie: Bajo el contexto de primera importación de organismos hidrobiológicos, se someterá la especie de interés a importar a ensayos de desafío.
- Cantidad de individuos: Para definir el número de ejemplares a utilizar en los ensayos de desafío, el importador deberá presentar antecedentes científicos de ensayos similares ya sea en la especie a importar, o en especies con características similares (filogenéticamente cercanas, tallas y pesos similares, características ecológicas similares). Se deberá obtener el tamaño de efecto (d) de la variable a medir en grupos de interés, o de lo contrario utilizar $d=0,2$, para el cálculo de número de individuos a emplear (o " n "), considerando un nivel de significancia (α) = 0,05 (más detalle en la sección 5.8.3). El número indicado, deberá garantizar a su vez la maximización del bienestar animal, considerando la densidad de cultivo para la etapa de desarrollo a evaluar en la especie a importar. De no existir antecedentes, se recomienda la utilización de un ensayo piloto que evalúe el bienestar animal de los grupos sometidos al ensayo de desafío/tolerancia.
- Características a evaluar en ensayos de desafío: Dentro de las características más importantes a evaluar a través de ensayos de desafío destacan las sanitarias y las ecológicas. Dentro de las sanitarias, se busca evaluar, a partir de infestaciones experimentales, la capacidad de la especie de ser susceptible a un patógeno de interés, con o sin signología clínica aparente. Adicionalmente, este tipo de ensayos permite evaluar el potencial riesgo ecológico, a partir de la generación de conocimiento acerca de aspectos como la tolerancia térmica de los organismos y su temperatura de preferencia, atributos que pueden ser usados para predecir el potencial de las especies para establecerse en nuevos ambientes y sus respectivos riesgos de invasión (Bates *et al.*, 2013; Stuart-Smith *et al.*, 2017).



d) Diseño experimental:

La cronología general de los ensayos de desafío incluye: i) obtención de los individuos; ii) aclimatación; iii) ejecución de los ensayos; iv) medición de la respuesta; v) análisis de los resultados; y vi) discusión de los resultados. De ser necesario, se recomienda realizar un procedimiento piloto, que involucre estas seis diferentes etapas, pero que tenga como objetivo obtener el número de individuos a utilizar que maximice el bienestar animal en los mismos. Si existe literatura previa que presente esta información y el poder estadístico del diseño es aceptable, se recomienda no realizar el ensayo piloto.

- i) Obtención de los individuos: Los individuos a evaluar deben ser obtenidos a partir de la internación limitada de los mismos.

- ii) Aclimatación: Cada individuo a evaluar debe completar un periodo de aclimatación que permita una adecuada adaptación al nuevo entorno, previo a los ensayos de desafío. Se propone como mínimo una semana de aclimatación. Para los ensayos que dispongan de acuarios o estanques con modificaciones especiales, por ejemplo, con diferentes secciones o tubos conectores entre estanques, la aclimatación de los organismos deberá realizarse en el mismo estanque donde se desarrollarán los ensayos. Esto, con la finalidad de evaluar que el organismo, sin ser sometido a las condiciones experimentales, es capaz de moverse libremente por las diferentes secciones del acuario o estanque. Se sugiere realizar ensayos con individuos aclimatados a dos diferentes temperaturas, una temperatura que represente las condiciones en las cuales los animales serán mantenidos en la fase productiva y una que represente la temperatura promedio de los sistemas hidrológicos de la zona a donde se efectuaría la fase comercial.

- iii) Ejecución de los ensayos: El diseño y duración del ensayo de desafío dependerá de la especie y el estímulo a evaluar. Este diseño deberá contemplar un control estricto de los estímulos al cual serán expuestos los individuos. Para los ensayos de tipo sanitario, los procedimientos de inoculaciones experimentales de los patógenos deberán ser autorizadas por el Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura (SERNAPESCA). Para este fin, deberán mantenerse en observación durante un periodo acorde a las características del patógeno evaluado, podrá ser de hasta 30 días después de la inoculación, a menos que existan antecedentes científicos que sugieren periodos más largos. En los estudios sanitarios se deberán incluir como control, estanques con individuos inoculados ya sea del patógeno inactivado o sin ningún tipo de compuesto (por ejemplo, inyección intraperitoneal de suero fisiológico). Se sugiere que los ensayos de desafío sanitario sean diseñados y ejecutados por personal altamente calificado,



con experiencia en manejo de patógenos. Los ensayos de tolerancia térmica involucran exponer a los organismos a incrementos o reducciones de temperatura a una tasa constante y conocida, hasta que el individuo demuestre las primeras señales de estrés térmico, asociado a comportamientos específicos de la especie. Por ejemplo, en peces el estrés térmico se asocia a la pérdida de la capacidad para que el individuo pueda mantenerse erguido (Reizenberg, 2017); en crustáceos, a la pérdida de movimiento y habilidad de escape al ser tocados con algún instrumento y/o aparición de espasmos (Kumlu *et al.*, 2010; Cotin *et al.*, 2012); en algunos moluscos, la pérdida de adhesión al sustrato (Díaz *et al.*, 2021). Se sugiere una tasa de aumento o disminución de la temperatura de 1 °C /10 min, teniendo como punto de partida la temperatura de aclimatación empleada. Una vez llegado al punto final (CTmax/CTmin), los individuos deben ser retirados y colocados nuevamente en las condiciones de aclimatación para su recuperación. Por otra parte, para los ensayos de temperatura de preferencia, se sugiere la utilización de gradientes lineales de temperatura (King y Warburton, 2007; Curtis y McGaw, 2012; Westhoff y Rosenberg, 2016), generados con una mitad de un tubo plástico circular con un diámetro que permita la libre movilidad de los organismos a lo largo del cilindro. En el caso de organismos bentónicos (principalmente moluscos, crustáceos, algunos peces, entre otros) se debe proveer sustrato, con una altura suficiente que evite que el organismo pueda enterrarse en este. Se deberá generar un gradiente lineal de temperatura, a partir de la instalación de dispositivos en cada uno de los extremos que permita calentar y enfriar el agua circundante. Además, se deberán disponer de dispositivos (por ejemplo, termocuplas) que permitan evaluar la temperatura continua en el gradiente térmico. De ser posible, el dispositivo puede ser colocado en estructuras calcáreas externas (conchas) o en el caparazón de los organismos, evaluando que no afecta su libre movilidad. Los individuos deberán ser colocados individualmente en el gradiente de temperatura y la posición inicial de ellos deberá realizarse de forma aleatoria entre ensayos. Además, se recomienda variar la posición del extremo frío y cálido para evitar sesgos asociados a ellos. Una vez colocado en el gradiente térmico, se debe realizar la aclimatación durante un periodo de 20 minutos antes de iniciar el experimento y posteriormente serán monitoreados por un máximo de 1. Debido a que estas metodologías involucran 1 individuo por ensayo, se recomienda un mínimo de 20 diferentes individuos sometidos a los ensayos de tolerancia térmica y temperatura de preferencia.

- iv) Medición de la respuesta: La respuesta de los individuos a un determinado estímulo deberá ser medida a través de instrumentos específicos que permitan una correcta y eficiente obtención de datos. Para los estudios sanitarios, durante el periodo experimental, se deberá registrar la mortalidad diaria y se debe realizar la necropsia y análisis diagnósticos de los



organismos muertos para confirmar la presencia del patógeno (y de ser posible aislar el patógeno del individuo con signología sugerente para el cumplimiento de los postulados de Koch). Al final de estos ensayos, todos los organismos sobrevivientes deberán ser sacrificados y se procederá a evaluar la presencia del patógeno a partir de las técnicas dispuestas para ello. En los estudios de tolerancia térmica, se deberá registrar la temperatura crítica máxima y mínima para cada individuo (CT_{max} y CT_{min}, respectivamente) y el tiempo de recuperación de los mismos. Estas mediciones permitirán obtener el rango de tolerancia térmica (CT_{max} – CT_{min}). Las mediciones obtenidas de individuos que no lograron recuperarse después del ensayo de tolerancia térmica, deberán ser descartadas. En los ensayos de temperatura de preferencia, se deberá registrar la temperatura preferida, definida como la temperatura donde el organismo se mantiene quieto durante el resto del experimento, y el tiempo para alcanzar la temperatura de preferencia (tiempo de exploración). Finalmente, el importador puede proponer otras metodologías, o modificaciones a las aquí sugeridas, para la evaluación de la tolerancia térmica y la temperatura de preferencia, las cuales serán evaluadas y validadas por la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura (SUBPESCA), previo a su aplicación.

- v) Análisis de los datos: El análisis de los datos debe incluir un desarrollo estadístico que permita describir de forma confiable y representativa el efecto del estímulo en los individuos. De manera general, se recomienda el análisis de los datos a partir de tablas de contingencia analizadas al final de los ensayos de desafío con fines sanitarios, con un nivel de significancia de $\alpha < 0,05$ para definir las asociaciones significativas. Para ello, considerarán los estados de “vivos” o “muertos”. Adicionalmente, se recomienda el uso de modelos lineales generales para la comparación de los parámetros de tolerancia térmica y temperatura de preferencia entre diferentes estadios de desarrollo utilizados en los ensayos y temperaturas de aclimatación.

- vi) Discusión de los resultados: Los resultados deben ser contrastados de forma objetiva con la información previamente descrita sobre el efecto del estímulo en los individuos. Este deberá ser abordado en relación a su representación en el marco de una importación, según el posible impacto de estos parámetros sobre la capacidad adaptativa de los organismos al ambiente local.



5.8.1.2 Ensayos de cohabitación.

a) Resumen general de la metodología:

También denominados “desafíos de cohabitación”, este tipo de enfoques metodológicos permiten medir la respuesta de un grupo de organismos al ser expuestos en un mismo ambiente (espacio físico) con otro grupo de diferentes características (por ejemplo, tamaño, especie, condición, entre otras), con o sin contacto físico entre ellos. En el contexto de primera importación de organismos hidrobiológicos, los ensayos de cohabitación permiten la evaluación de interacciones biológicas (tales como, competencia por refugio o por alimento, depredación), aspectos conductuales (por ejemplo, agresividad en presencia de cohabitantes) y aspectos sanitarios (transmisión interespecífica de patógenos). Así mismo, para el contexto de la introducción de nuevas especies de organismos hidrobiológicos, no se considera necesario la aplicación de ensayos de cohabitación intraespecíficos.

b) Objetivo:

Describir la respuesta de individuos de una o más especies, expuestos o no, a un determinado estímulo.

c) Factores clave:

- Especie cohabitante: Para definir la especie cohabitante, acorde a los ensayos de cohabitación en el marco de una primera importación, se recomiendan los siguientes criterios (modificado de Go y Whittington, 2019):
 - i.* Para ensayos de tipo sanitario, considerar las relaciones filogenéticas con especies de susceptibilidad conocida a patógenos de interés y que cumplan con los criterios iii) y iv), priorizando aquellas especies de interés en la pesca y acuicultura nacional.
 - ii.* Para ensayos de tipo ecológicos, considerar aquellas especies de interés en la pesca y acuicultura nacional.
 - iii.* Presencia en Chile, priorizando por diferentes niveles administrativos (Comuna, Provincia, Región, País).
 - iv.* Disponibilidad para la realización del estudio, acorde a la normativa vigente.



- Cantidad de individuos por especie: Para definir el número de ejemplares a utilizar en los ensayos de cohabitación, el importador deberá presentar antecedentes científicos de ensayos similares ya sea en la especie a importar, o en especies con características similares (filogenéticamente cercanas, tallas y pesos similares, características ecológicas similares). Estos antecedentes deberán incluir, cuando sea posible, el número de ejemplares que maximicen el bienestar animal considerando la densidad de cultivo para la etapa de desarrollo a evaluar, tanto para la especie a importar, como para la cohabitante. Si el importador desarrolló ensayos de desafío, donde se evaluó este aspecto, se utilizarán estos antecedentes para definir el número de individuos a utilizar en cada acuario o estanque experimental. Se deberá obtener el tamaño de efecto (d) de la variable a medir en grupos de interés, o de lo contrario utilizar $d=0,2$, para el cálculo de número de individuos a emplear (o " n ") de cada especie cohabitante, considerando un nivel de significancia (α) = 0,05 (más detalle en la sección 5.8.3). El número indicado, deberá garantizar a su vez la maximización del bienestar animal, considerando la densidad de cultivo para la etapa de desarrollo a evaluar, tanto en la especie a importar como de su cohabitante. Si el importador desarrolló ensayos de desafío, donde se evaluó este aspecto, se utilizarán estos antecedentes para definir el número de individuos a utilizar en cada acuario o estanque experimental, durante los ensayos de cohabitación.

- Característica a evaluar en la cohabitación: La cohabitación busca evaluar características sanitarias y ecológicas de la especie a importar. Dentro de las características sanitarias, evaluar el riesgo sanitario de la especie objetivo (especie hidrobiológica a importar) al poder ser vector en la transmisión de patógenos ya presentes en Chile. Para ello, es indispensable inicialmente conocer la susceptibilidad de la especie a los patógenos de interés, el cual puede presentarse ya sea a partir de antecedentes bibliográficos o ensayos de desafío. Por otra parte, y dentro de las características ecológicas sugerentes a evaluar en el marco de primera importación se incluye: i) competencia por refugio en invertebrados marinos (crustáceos principalmente) y peces de pequeño tamaño, incluyendo conductas interespecíficas agresivas y de desplazamiento; ii) competencia por alimento; iii) depredación.

d) 1.2.4 Diseño experimental:

El esquema metodológico general de los ensayos de cohabitación incluye: i) obtención de los individuos para el ensayo; ii) aclimatación; iii) ejecución de ensayos de cohabitación; iv) medición de la respuesta; v) análisis de los datos; vi) discusión de los resultados. De ser necesario, se recomienda realizar un procedimiento piloto, que involucre estas seis diferentes etapas, pero que tenga como objetivo obtener el número de individuos a utilizar que maximice el bienestar animal en los mismos. Si



existe información previa (por ejemplo, ensayos de desafío) que hayan evaluado este componente, no se recomienda necesario volver a realizarlos en esta etapa.

- i) Obtención de los individuos para el ensayo: Los individuos utilizados para los ensayos de cohabitación, deberán ser obtenidos a partir de la internación limitada de los mismos; mientras que las especies cohabitantes, deberán ser acorde a la normativa vigente, en función de la especie seleccionada para este fin.
- ii) Aclimatación: La aclimatación deberá realizarse en dos grupos independientes, en función de la salinidad y temperatura asociadas a las condiciones productivas (grupo 1) y las condiciones locales (grupo 2), durante mínimo una semana, en acuarios o estanques separados para cada especie.
- iii) Ejecución de ensayos: Los ensayos se deben realizar acorde al atributo de la especie de interés a medir. Para los ensayos de tipo sanitario, los procedimientos de inoculaciones experimentales de los patógenos deberán ser autorizadas por SERNAPESCA. Para este fin, deberán mantenerse en observación durante un periodo acorde a las características del patógeno evaluado, el cual puede variar entre 7 y 30 días después del inicio de la cohabitación. En los estudios sanitarios se deberán incluir dos tipos de controles: control de organismos inoculados con el patógeno, pero sin cohabitantes; y controles de cohabitación con la inoculación ya sea del patógeno inactivado o sin ningún tipo de compuesto (por ejemplo, inyección intraperitoneal de suero fisiológico). Al igual que los desafíos sanitarios, se sugiere que el diseño e implementación de los ensayos de cohabitación sanitaria sean desarrollados por personal altamente calificado, con experiencia en manejo de patógenos, para de esta manera garantizar un adecuado manejo de los mismos. Para las mediciones de características ecológicas, al ser de respuesta más rápida, se recomienda que el periodo de cohabitación y seguimiento no sea superior a 24 horas. Para ello, en cada acuario o estanque experimental, deberán disponerse de cámaras de video para registrar la actividad de cada especie. En estos casos, controles sin cohabitantes también deberán ser incluidos. Cada ensayo diseñado deberá realizarse con un mínimo de 3 réplicas, conteniendo condiciones experimentales y controles acordes a cada uno de ellos.
- iv) Medición de la respuesta: Se deberán realizar mediciones que entreguen información sobre el riesgo sanitario y/o el riesgo ecológico que representa la especie a importar. Para los estudios sanitarios, durante el periodo experimental, se deberá registrar la mortalidad diaria y se debe realizar la necropsia y análisis confirmatorio de los organismos muertos para confirmar la presencia del patógeno (y de ser posible aislar el patógeno del individuo con



signología sugerente para el cumplimiento de los postulados de Koch). Al final de estos ensayos, todos los organismos sobrevivientes se deberán sacrificar y evaluar la presencia del patógeno a partir de las técnicas dispuestas para este fin. En relación a los estudios ecológicos, se deberá realizar la medición de aspectos conductuales a partir de la visualización de los videos dispuestos en cada estanque o acuario. Dentro de las mediciones que se sugieren se encuentran: primero en encontrar el alimento, número de intentos de alimentación, tiempo de alimentación, número de desplazamientos agresivos debido a la competencia por alimentación, tiempo de uso del refugio, desplazamiento del refugio por conductas agresivas de la otra especie, presencia de depredación entre especies cohabitantes, número de eventos de depredación, entre otras sugeridas por la SUBPESCA.

- v) Análisis de los datos: De manera general, se recomienda el análisis de los datos a partir de tablas de contingencia analizadas al final de los ensayos de cohabitación, con un nivel de significancia de $\alpha < 0,05$ para definir las asociaciones significativas. Para ello, considerarán los estados de “vivos” o “muertos” en cada grupo para el caso de los ensayos sanitarios y el número de veces que se presenta una conducta determinada para los ensayos ecológicos. Adicionalmente, se recomienda el uso de Modelos Lineales Generalizados (glm), utilizando una distribución del error tipo Poisson para las variables de conteos (número vivos/muertos, número de eventos de depredación, número de desplazamientos, entre otros) y Gausiana en aquellas variables que están representadas por el tiempo de respuesta o el tiempo en que se desarrolla una conducta (por ejemplo, tiempo de uso del refugio, tiempo de alimentación, tiempo en encontrar el alimento o el refugio, entre otras).
- vi) Discusión de los resultados: Los resultados de los ensayos de cohabitación, ya sea con fines sanitarios y/o ecológicos, deberán ser discutidos en el marco de una importación, el nivel del impacto que esto podría representar en Chile en el caso de escapes y el establecimiento de las poblaciones.

5.8.1.3 Mesocosmos al aire libre y en laboratorio.

a) Resumen general de la metodología:

Un experimento de mesocosmos permite la evaluación de componentes ambientales y ecosistémicos, permitiendo mantener de forma controlada (en laboratorio) o semi-controlada (al aire libre) variables de interés (por ejemplo, temperatura, salinidad, entre otras), pero conservando las características principales del entorno, otorgando un gran “realismo” (Stewart *et al.*, 2013). En relación a lo anterior, este tipo de metodología permite generar niveles de representatividad que pueden permitir extrapolar



los resultados obtenidos a un ambiente natural. En el contexto de primera importación de especies hidrobiológicas, estos experimentos permiten evaluar el potencial efecto de la especie foránea sobre las interacciones biológicas (Tsang y Dudgeon, 2021) y aspectos conductuales (Pawelec, 2020). De esta manera, es posible establecer asociaciones y efectos a nivel comunitario y ecosistémico (Mieczan *et al.*, 2022), considerando una mayor complejidad biológica y, por lo tanto, la evaluación de la respuesta desde niveles individuales hasta ecosistémicos (Stewart *et al.*, 2013). Se recomienda el uso de este enfoque metodológico en organismos que, de acuerdo a su posición trófica, pudieran potencialmente impactar sobre la productividad primaria del sistema (por ejemplo, herbívoros, filtradores) y que presenten antecedentes que pudieran dar cuenta de su potencial establecimiento bajo las condiciones locales (principalmente, de acuerdo a los resultados de desafíos de tolerancia térmica y temperatura de preferencia).

b) Objetivo:

Describir la respuesta de individuos, poblaciones, comunidades o ecosistemas frente a un determinado estímulo, conservando, en lo posible, la mayoría de las características bióticas y abióticas del sistema a evaluar.

c) Factores clave:

- Especie: Bajo el contexto de especies de primera importación de organismos hidrobiológicos, se someterá la especie de interés a importar a los experimentos de mesocosmos.
- Cantidad de individuos: Para la obtención del número de individuos a utilizar en cada mesocosmos, se deberá obtener el tamaño de efecto (d) de la variable a medir en grupos de interés, o de lo contrario utilizar $d=0,2$, para el cálculo de número de individuos a emplear (o " n "), considerando un nivel de significancia (α) = 0,05 (más detalle en la sección 5.8.3). El número indicado, deberá garantizar a su vez la maximización del bienestar animal, considerando la densidad de cultivo para la etapa de desarrollo a evaluar. Este número podrá establecerse ya sea a partir de información bibliográfica, o de ensayos de desafío y/o cohabitación desarrollados previamente en el marco de la primera importación.
- Característica a evaluar en el mesocosmos: Los experimentos de mesocosmos buscan evaluar el potencial impacto de la especie a importar sobre los ecosistemas. De esta manera, dependiendo de la especie a importar, se sugiere la evaluación de: i) cambio en la estructura comunitaria de fitoplancton, zooplancton, macrófitas acuáticas y/o macroinvertebrados, según corresponda; ii) cambios en la concentración de nutrientes, principalmente nitritos, nitratos, fósforo total, amonio, además de otras variables como pH, conductividad, oxígeno disuelto,



demanda química de oxígeno y demanda biológica de oxígeno. Para ello, el experimento del mesocosmos deberá simular las condiciones del medio donde se realizarían los cultivos de la especie a importar. Para ello, será indispensable el transporte de agua, sedimento y otros componentes bióticos (por ejemplo, macrófitas) y abióticos (por ejemplo, rocas) desde este lugar a las instalaciones donde se realizarán los experimentos.

d) Diseño experimental:

- i) Obtención de los individuos para el ensayo: Los individuos a evaluar deben ser obtenidos a partir de la internación limitada de los mismos.
- ii) Aclimatación: La aclimatación deberá realizarse acorde a las condiciones locales (temperatura y salinidad principalmente). Se recomienda un periodo mínimo de dos semanas para permitir el establecimiento de las comunidades en los mesocosmos, previo a la inclusión de los individuos a considerar en los ensayos.
- iii) Ejecución de ensayos: Para la realización de los ensayos, debe existir una descripción previa de la fase post-experimental, es decir, del lugar donde, de ser aprobado el ESEIA, se desarrollaría la fase comercial del organismo hidrobiológico a importar. De este lugar se deberá tomar el agua, sustrato y otros componentes necesarios para la instalación de los mesocosmos. Cada mesocosmos deberá ser realizado en estanques o acuarios acordes al tamaño de los organismos a evaluar, permitiendo su movilidad en estos espacios y maximizando su bienestar animal. Los acuarios o estanques experimentales deberán tener un control de efluentes, tanto en los mesocosmos al aire libre, como en el laboratorio. Una vez instalados los mesocosmos, se deberán realizar mediciones de los parámetros fisicoquímicos del agua, como de las comunidades biológicas (fitoplancton, zooplancton, macrófitas acuáticas, entre otros) para cada uno de los estanques experimentales. Debido a la complejidad de estos sistemas, se recomienda una replicación de mínimo 5 mesocosmos por condición experimental. Adicionalmente, para determinar el tiempo de monitoreo de los mesocosmos, el importador deberá incorporar antecedentes bibliográficos acorde a la especie a evaluar, el cual puede ser de días, semanas o meses (Stewart et al., 2013). Durante este periodo, se debe evaluar diariamente la mortalidad y reproducción de los organismos, para de esta forma ir reemplazando las mortalidades con organismos previamente aclimatados, y extrayendo los juveniles, ya que esto puede inducir a sesgos en los análisis realizados.
- iv) Medición de la respuesta: Tanto las comunidades biológicas, como los parámetros fisicoquímicos y de nutrientes del agua en el mesocosmos, deben ser medidos al inicio (día 0)



y al final del experimento. No obstante, mediciones de pH, temperatura, oxígeno disuelto y conductividad, deberán ser medidos diariamente, estos parámetros pueden ser obtenidos con un equipo multiparámetro con sondas específicas para cada uno de ellos. La biomasa algal, puede ser obtenida a partir de mediciones de clorofila α (Tsang y Dudgeon, 2021). La estructura de las comunidades de fitoplancton y zooplancton podrán ser estimadas a través de microscopía óptica o métodos moleculares (metabarcoding) utilizando marcadores genéricos para estos grupos (por ejemplo, 18S y COI, respectivamente). En ambos casos, se estandarizará la matriz taxonómica hasta la mayor resolución posible.

- v) Análisis de los datos: Para evaluar el cambio en las relaciones entre las comunidades biológicas y las variables ambientales evaluadas, se sugiere la realización de un Análisis de Correspondencias Canónicas (CCA), de forma separada para los mesocosmos con y sin el organismo hidrobiológico a importar. Además, se sugiere la utilización de Modelos Lineales Generalizados Mixto (glmm) para evaluar el efecto de la presencia del organismo hidrobiológico a importar sobre la riqueza de las comunidades biológicas, la productividad primaria (biomasa de fitoplancton, también se puede usar como proxy la clorofila α) y los niveles de nutrientes. El tiempo (Inicio y final del experimento) deberá ser incluido como factor aleatorio en el modelo. En este caso, se deberá ajustar un modelo completo, que incluya todas las variables, y a partir de este realizar un procedimiento de selección de modelos tipo stepwise. Para estos modelos, se deberá utilizar la abundancia del fitoplancton y/o del zooplancton como variable respuesta, utilizando un modelo binomial negativo para la distribución del error. Otros análisis pueden también ser empleados para evaluar cómo la estructura de las comunidades biológicas varía entre mesocosmos con y sin presencia del organismo a importar. En este caso, se recomienda el uso de Análisis Permutacional de Varianza Multivariado (PERMANOVA), utilizando una matriz de similitud de Bray-Curtis. Finalmente, cambios en las características fisicoquímicas y de nutrientes del agua, podrán ser evaluadas de forma independiente a partir de un Análisis de Varianza (ANOVA) empleando el tratamiento y el tiempo como factores fijos en el modelo.
- vi) Discusión de los resultados: Los resultados obtenidos deberán ser discutidos considerando el contexto de una primera importación de organismos hidrobiológicos. De esta forma, se debe buscar identificar, según corresponda, cambios en la estructura trófica debido a la inclusión de la especie a importar (Boltovskoy *et al.*, 2015); el funcionamiento de las redes tróficas a partir del aumento o disminución de grupos claves (Mieczan *et al.*, 2022); la productividad del sistema, por ejemplo, a partir de cambios en el ciclado de nitrógeno (Bruesewitz, 2008) y productividad primaria (Cataldo *et al.*, 2012; Tsang y Dudgeon, 2021).



5.8.1.4 Análisis de riesgo asociado a la importación de especies hidrobiológicas:

a) Resumen general de la metodología:

Un análisis de riesgo asociado a la importación de especies hidrobiológicas es un proceso que consiste en un análisis de antecedentes que permite la identificación de los peligros asociados a la importación de especies hidrobiológicas a un nuevo territorio. Para estos peligros, la metodología asociada al análisis de riesgos permite identificar las probabilidades de introducción de los peligros identificados, sus vías de exposición, consecuencias, estimar los riesgos, definir medidas de manejo y gestión de estos peligros e implica una revisión por pares de todo el proceso, desde la identificación de los peligros hasta la implementación y evaluación de las medidas. De esta forma, en el contexto de importación de especies hidrobiológicas, este análisis permite reducir riesgos sanitarios, ecológicos, genéticos, ambientales, sociales, financieros y de seguridad alimentaria y salud pública (Arthur *et al.*, 2009).

b) Objetivo:

Proponer un marco flexible en el que se puedan evaluar los riesgos y las consecuencias adversas derivadas de un curso de acción en marco de un proceso de importación de una especie hidrobiológica, de forma sistemática y con base científica (Bondad-Reantaso *et al.*, 2008).

c) Factores clave:

- Flexibilidad: La evaluación del riesgo debe ser flexible para adaptarse a la complejidad de las situaciones reales. La evaluación del riesgo debe tener en cuenta la variedad de mercancías que constituyen las especies hidrobiológicas y los múltiples peligros que se pueden identificar en una importación.
- Información actualizada: La evaluación del riesgo debe basarse en la información científica disponible más actualizada. Esta información debe estar debidamente documentada y sustentada por referencias a publicaciones científicas y otras fuentes, incluida la opinión de expertos.
- Transparencia: La coherencia y transparencia de los métodos de evaluación del riesgo son esenciales para garantizar la imparcialidad y racionalidad de la evaluación, la coherencia de las decisiones y la facilidad de comprensión por todas las partes interesadas.



- Incertidumbre: Las evaluaciones del riesgo deben dar cuenta de las incertidumbres y las hipótesis formuladas, así como de su influencia en el resultado.
- Cantidad de mercancía: El riesgo es mayor cuanto mayor es la cantidad de las mercancías importadas.
- Actualización del análisis: Debe ser posible actualizar la evaluación del riesgo en caso de que se obtenga información complementariamente.

d) Diseño:

- i) Identificación del peligro: Identificación de los peligros asociados a la importación de una determinada especie hidrobiológica que podría generar consecuencias en el territorio al cual serán importadas.
- ii) Evaluación del riesgo: Proceso en el cual se evalúa la probabilidad de que un peligro potencial se presente y estimar las consecuencias biológicas, sociales y/o económicas de su presencia en el país importador.
 - A. Evaluación de la introducción: Proceso en el que se describen los factores asociados al riesgo de introducción de los peligros identificados al país importador.
 - B. Evaluación de la exposición: Proceso en el cual se evalúan los procesos necesarios para que los diversos componentes presentes en el país importador se vean expuestos a los peligros identificados.
 - C. Evaluación de las consecuencias: Proceso en el que se identifican los potenciales efectos adversos generados por los peligros identificados, se magnifican y se estima la probabilidad de que ocurran.
 - D. Estimación del riesgo: Proceso en el que se resumen los principales resultados y conclusiones surgidas durante las evaluaciones de introducción, exposición y consecuencias.
- iii) Gestión del riesgo: Proceso en el cual se evalúan los medios necesarios para reducir la probabilidad de ocurrencia de las consecuencias.



- A. Evaluación del riesgo: Proceso en el que se determina si los riesgos estimados que significan la importación de una determinada especie hidrobiológica son aceptables o no por parte del país importador.
 - B. Evaluación de las opciones: Proceso en el que se identifican, evalúan y seleccionan medidas destinadas a gestionar eficazmente los riesgos.
 - C. Implementación, monitoreo y revisión: Proceso que consiste en; i) la revisión por pares del proceso completo del análisis de riesgo y de las medidas sanitarias propuestas, ii) la implementación y iii) revisión de la implementación, con el fin de garantizar que se consigan los resultados previstos.
- iv) Comunicación del riesgo: Proceso en el cual se consulta a las partes interesadas, se recaba información, opiniones y se comunican los resultados del análisis de riesgo y las medidas de gestión.

5.8.2. Ejemplos de nuevas propuestas metodológicas para el proceso de primera importación de especies exóticas.

5.8.2.1 Ensayos de desafío/tolerancia

Ejemplo 1:

Adaptación a los cambios de enemigos: Rápida evolución de la resistencia a las especies locales de *Vibrio* en las ostras invasoras del Pacífico.

Objetivo:

Evaluar la capacidad invasora de la ostra del Pacífico (*Crassostrea gigas*) en función de su capacidad de reducción de patógenos (*Vibrio* spp).

Diseño experimental:

- a) Estructura comunitaria de *Vibrio*: Se colectaron muestras de ostras del pacífico en seis lugares abarcando todo el mar de Wadden. Para cada muestra se obtuvieron muestras de hemolinfa y se esparcieron 4 μ l en placas de agar sacarosa con citrato de tiosulfato (TCBS). Las placas fueron incubadas a 25°C por 24 horas antes de contar las unidades formadoras de colonias (UFC). Se resuspendió un conjunto aleatorio de 11 a 18 colonias individuales por sitio en una



solución nutritiva de 3 ml al 1,5% de NaCl (1000 ml de agua destilada; 5,0 g de peptona; 3,0 g de extracto de carne) y se cultivó a 25°C bajo agitación constante durante 24 horas. Luego, se utilizó una alícuota de cada cultivo líquido para la amplificación de 16s rRNA, GyrB y PyrH. Lo anterior, se realizó acorde a lo propuesto por Wendling et al., 2014.

b) Experimentos de infección:

i. Infecciones en adultos

Muestreo y aclimatación: Se colectaron individuos adultos de vida libre que no mostraban signos de enfermedad. Luego, los individuos se aclimataron a temperaturas experimentales de 17 y 21°C en salas de temperatura constante (los cambios de temperatura durante la aclimatación fueron inferiores a 0,5°C por día). Estas temperaturas fueron asignadas acorde a la temperatura promedio en su sitio natural en verano (17°C) y una proyección de futuras temperaturas (21°C). Los individuos se mantuvieron en un sistema de flujo continuo y se alimentaron tres veces por semana con 50.000 a 80.000 células por ml⁻¹ de Isochrysis 1800. Una semana antes del experimento las ostras se limpiaron de epibiontes y se les realizaron marcas en la parte dorsolateral de la concha más cercana al músculo aductor.

Infección en adultos: Se seleccionaron dos aislados de *Vibrio splendidus* previamente descritos en ostras y estrechamente relacionados de cada localidad (Norte, Sur). El ensayo de exposición contempló 220 individuos y consistió en un diseño trifactorial, abarcando sitio de colecta (norte y sur), infección (control, *Vibrio* norte y *Vibrio* sur) y temperatura (17 y 21°C). Todos los ensayos fueron llevados a cabo en una cámara de clima constante en la que los individuos se mantuvieron de forma individual en tarros de vidrio aireados de 1 litro colocados en baños de agua con temperatura controlada. Para evitar un efecto bloque, los frascos se distribuyeron aleatoriamente en 21 baños de agua, cada uno de los cuales contenía ocho frascos a 17°C y ocho frascos a 21°C. El agua fue cambiada cada 2 días. Posteriormente, para cada grupo experimental (55 individuos por sitio y por temperatura), 20 individuos fueron infectados con *Vibrio* norte o *Vibrio* sur, y los 15 restantes fueron inoculados con una solución nutritiva de NaCl al 1,5% (control).

Respuesta inmunitaria celular del adulto y resistencia: La medición de la respuesta fue realizada a través de la toma de parámetros inmunológicos celulares, carga bacteriana expresada en recuento de *Vibrio* cultivable y la supervivencia. Todas estas variables fueron medidas acordes a lo propuesto por Wendling y Wegner (2013). Esto, consideró la evaluación diaria de mortalidad en todos los individuos y la extracción de hemolinfa (800 µl) en cinco



ostras seleccionadas al azar en los días 1, 3 y 7 de tratamiento. En fracciones de la hemolinfa (i) se midió el número total de hemocitos circulantes utilizando un contador de células automatizado, (ii) se estimó la actividad de fagocitosis por unidad de proteína de los hemocitos, siguiendo la metodología propuesta por Pipe *et al.*, 1995, y (iii) se determinó la intensidad de la infección sembrando 4 μl de hemolinfa en placas TCBS para contar las UFC.

ii. Infección en larvas:

Cruce y cría de larvas: Durante un período de 2 días, se crearon 40 familias de hermanos completos a partir de otras colectadas en los sitios norte y sur, seleccionadas al azar. Luego, a través de la extracción directa de gametos desde las gónadas, se crearon grupos de cruce con 10 familias cada uno, siendo: NN (Norte hembra x Norte macho), NS (Sur hembra x Norte macho), SN (Sur hembra x Norte macho) y SS (Sur hembra x Sur macho). La fecundación se realizó a razón de 200 espermatozoides por ovocito, con 4×10^5 ovocitos por familia. Una hora después de la fecundación los embriones fueron transferidos a tanques de cría a una concentración de cinco embriones por ml^{-1} . Las larvas se mantuvieron a 21°C con una salinidad de 28 psu en tanque de cría de dos litros llenos de agua de mar filtrada con filtros de $0.45 \mu\text{m}$ y tratada con luz ultravioleta. La alimentación de las larvas se realizó con *Isochrysis galbana* (10-150 células μl^{-1} dependiendo de la edad).

Infección de larvas: 10 días posterior a la fecundación, se realizaron experimentos de infección controlada con 76 cepas diferentes de *Vibrios* aislados de distintos lugares de mar de Wadden. Se crearon tres grupos conformados por familias con igual contribución de larvas: Norte (todas las familias N), Híbridos (todas las familias NS y SN) y Sur (todas las familias SS). Los desafíos experimentales fueron realizados en placas de cultivo de 96 pocillos estériles, acorde a lo descrito por Wendling *et al.*, 2014. Para esto, se colocaron entre 10 y 15 larvas por grupo en un pozo que contenía agua de mar filtrada a través de un tamaño de poro e $0.45 \mu\text{m}$ y tratada con rayos UV, y se les aplicó un baño con los aislados de *Vibrio* a una concentración de 107 células por ml^{-1} . La supervivencia fue observada tres días después de la infección mediante el conteo de larvas muertas a través de un microscopio invertido.

c) Análisis de datos:

i. Estructura comunitaria:

Se siguió la metodología propuesta por Wendling *et al.*, 2014. En resumen, tras el ensamblaje y alineación de las secuencias, se construyó un árbol filogenético utilizando la máxima



verosimilitud en PhyML v. 3.0. Se aplicó un modelo general de reversibilidad temporal más una distribución discreta para tener en cuenta la tasa de heterogeneidad entre sitios, más los sitios invariantes sugerido por el criterio de información de Akaike (AIC) dado por jModelTest. Se utilizó como sitio externo a *Allo Vibrio fishcherii* y se incluyeron 14 cepas de referencia para la identificación de especies.

ii. Infeción de adultos:

Supervivencia: Se realizaron dos análisis independientes de regresión logística para cada temperatura, con la supervivencia como variable dependiente y el origen de las ostras (norte, sur), el origen del *Vibrio* (norte, sur) así como todas las interacciones como variables independientes. Los individuos que sobrevivieron más de nueve días se registraron como supervivientes, mientras que los utilizados para los análisis inmunológicos se eliminaron del análisis.

Parámetros inmunológicos celulares e intensidad de infección: Se utilizó un análisis de varianza multivariado, utilizando estadístico Pillai con todas las variables de respuesta (recuento total de hemocitos, tasa de fagocitosis (%) y cantidad de UFC) como variables dependientes y el origen de los individuos, temperatura, origen del *Vibrio*, el tiempo y todos los términos de interacción como variables independientes.

iii. Infeción de larvas:

La resistencia a todas las cepas se evaluó como la supervivencia en el día 3 del experimento de infección. Se utilizó un modelo lineal generalizado binomial para identificar la adaptación local con el número de larvas supervivientes y muertas como variable dependiente y el origen de los individuos (NN, SS, híbridos), así como el origen de los *Vibrios*, como variables independientes. Para identificar las diferencias en la supervivencia en función de la distancia geográfica del origen de los *Vibrios*, se utilizó una regresión lineal con la tasa de supervivencia promediada sobre todas las cepas de *Vibrio* por sitio como variable dependiente y la distancia geográfica de la comunidad de *Vibrios* del norte, como variable independiente para todos los grupos de cruce. Por otro lado, debido a que la relación entre la tasa de supervivencia y la distancia geográfica en el grupo de híbridos no era lineal, se realizó una regresión polinómica cuadrática para determinar la relación entre la tasa de supervivencia y la distancia geográfica de la comunidad de *Vibrios*.

Se calculó la desviación explicada por el término de interacción de un modelo lineal generalizado que predice la supervivencia por tipo de cruce y cepa de *Vibrio*. Se repitió el



análisis después de eliminar cada cepa de Vibrio y se registró el cambio de desviación resultante del término de interacción cuando se comparó con el modelo que contenía todas las cepas. Luego, se ordenaron las 76 cepas en función de su contribución al término de la desviación de la interacción y se eliminaron las cepas en orden descendente hasta que el término de la interacción ("Grupo de cruce" X "Cepa de Vibrio") dejó de ser significativo. Las cepas que se eliminaron del modelo de esta manera muestran patrones de adaptación local. Finalmente, se realizaron pruebas de Fisher para identificar si el origen de la cepa de Vibrio y la adaptación genética fueron responsables del patrón de adaptación local observado.

Resultados:

a) Estructura comunitaria: 75 cepas fueron asignadas a 9 diferentes especies de Vibrio, agrupadas en 3 clados. La composición de la comunidad de Vibrio no difirió significativamente entre todos los sitios de muestreo y en general estaba dominada por el clado Splendidus.

b) Infección de adultos:

Supervivencia: La infección y la temperatura aumentaron significativamente la mortalidad. A 17 °C la mortalidad no difirió en relación al origen del individuo o del Vibrio. Sin embargo, a 21 °C, las ostras del norte y del sur mostraron tasas de mortalidad significativamente menores cuando se infectaron con su cepa simpátrica en comparación con la infección alopátrica.

Parámetros inmunológicos celulares e intensidad de infección: La infección con cualquiera de los dos aislamientos de Vibrio, aumentó significativamente la cantidad de recuentos totales de Vibrio cultivables (UFC y parámetros inmunológicos celulares). Para examinar específicamente la adaptación local entre las ostras y Vibrio, se excluyó el grupo de control de los análisis posteriores. Los parámetros inmunológicos celulares y la intensidad de la infección aumentaron significativamente con las temperaturas más cálidas. La UFC fue mayor después de 12 horas y disminuyó a lo largo del experimento, alcanzando valores similares a los de los controles después de una semana. Los parámetros inmunológicos celulares alcanzaron su máximo el día 3, demostrando principalmente una respuesta al desafío inmunológico. El origen de la ostra y la cepa de Vibrio no tuvieron un efecto significativo a 17 °C, pero a 18 °C, los individuos del sur y del norte mostraron intensidades de infección significativamente menores y una mayor respuesta inmune celular al ser infectadas con cepas simpátricas.

c) Infección de larvas: Tres días después de la fecundación artificial, se perdieron cuatro familias (1 NN, 1 SS y 2 SN). La resistencia de los tipos de cruce varió significativamente entre las



cepas de *Vibrio*, pero no depende de la distancia filogenética entre las cepas dentro de cada tipo de cruce. A su vez, se observó un efecto significativo para el origen de las ostras y el grupo de *Vibrio* con la interacción entre el grupo de *Vibrio* y el origen de las ostras, explicando la mayor parte de la variación. A su vez, tanto para los cruces del norte como los del sur, se observó una relación lineal con la distancia a la comunidad del *Vibrio* infectante, lo que refleja que ambos tipos de cruces mostraron las mayores tasas de supervivencia al ser infectados con cepas de *Vibrio simpátricas*. Por el contrario, los individuos híbridos fueron igualmente resistentes a las cepas de *Vibrio* del norte y del sur, en comparación a los tipos de cruce puros (NN y SS) y mostraron la menor supervivencia a una distancia intermedia de ambos, indicando que esta resistencia a la infección con cepas de *Vibrio simpátricas* se hereda de forma dominante. Al promediar todos los sitios de muestreo de *Vibrio*, los individuos híbridos registraron una mayor supervivencia que las líneas puras.

Finalmente, de las 76 cepas de *Vibrio* analizadas, se identificaron 10 cepas de varios grupos dentro del clado V. Splendidus que demostraron patrones típicos de adaptación local. De estas 10 cepas, el 60% se aisló de los lugares en donde se recogieron las poblaciones de cría, indicando que la evolución de la resistencia específica fue el resultado de un proceso local en corto periodo de tiempo.

Conclusión:

Se demostró que las ostras pueden adaptarse rápidamente a comunidades extendidas de *Vibrio spp.* patógenos. Si bien, el éxito de la invasión se ha atribuido en parte a la liberación de parásitos encontrados en el hábitat nativo (liberación de enemigos), ahora se añade una nueva faceta para explicar el éxito de la invasión: la rápida adaptación a los cambios de enemigos. La superioridad inmunológica en términos de reducción del auto daño ha sido relacionada al éxito de la invasión, pero no hay claridad de la importancia del potencial evolutivo de la resistencia/tolerancia en el crecimiento de las poblaciones en nuevos entornos. A su vez, debido a que cualquier patrón de adaptación local está limitado por el entorno, el potencial evolutivo de una determinada especie parece ser un aspecto importante asociado a la persistencia en entornos que cambia rápidamente como los océanos costeros. Para el caso específico de *Vibrio*, es sabido que su virulencia depende de los parámetros ambientales como la temperatura y la salinidad, por lo cual, tal como predicen los modelos de cambio climático, se espera un aumento en sus virulencias, alterando los patrones de adaptación local de todos los huéspedes potenciales.



Estudio:

Wendling, C. C., & Wegner, K. M. (2015). Adaptation to enemy shifts: rapid resistance evolution to local *Vibrio* spp. in invasive Pacific oysters. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 282(1804), 20142244.

Ejemplo 2:

El rendimiento del esperma limita la reproducción de peces invasores en nuevas salinidades.

Objetivo:

Evaluar si el pez goby redondo (*Neogobius melanostomus*) es capaz de aclimatarse y reproducirse en salinidades diferentes a las de su origen, a través de la medición de la plasticidad de rasgos asociados a su reproducción.

Diseño experimental:

- a) Colecta y mantención de individuos: Se capturaron un total de 412 gobios redondos mediante la utilización de redes de pesca. 132 de estos individuos fueron de origen salobre, capturados en el mar Báltico (Guldborgsund, Dinamarca) con un rango de salinidad de 8 a 22 PSU). Por otro lado, se capturaron 116 peces de origen de agua dulce en el río Rin (Bimmen, Alemania) y 164 en el río Elba (Hamburgo, Alemania), a través de redes de pesca y de anzuelos y sedal, respectivamente. Los individuos fueron transportados en tanques aireados al laboratorio y fueron dispuestos en uno de los dos sistemas de recirculación de agua, uno con agua dulce (0 PSU) y otro con agua salobre (16 PSU). Cada sistema incluyó un equipo especialmente diseñado para la cría de huevos.
- b) Protocolo de cambio de salinidad: Los peces se aclimataron a su salinidad de origen durante un periodo de 7 a 11 días en contenedores de retención de fibra de vidrio (140 cm x 140 cm, profundidad de 50 cm). Luego de este periodo, se realizó un cambio en la salinidad de 0 a 16 PSU o de 16 a 0 PSU para aproximadamente un tercio de los peces de cada población, con un promedio de cambio de salinidad de 2 PSU por día. Para esto, en primera instancia se cerraron los tanques del sistema principal de recirculación y luego se reemplazaron aproximadamente 100 L de agua con agua de menor o mayor salinidad. Posteriormente, al alcanzarse las salinidades objetivo, los contenedores volvieron a ser conectados al sistema principal de recirculación correspondiente. Se evidenció una alta mortalidad inicial en todos



los grupos, asociado principalmente por las lesiones causadas durante el proceso de captura. A su vez, los grupos que fueron introducidos a nuevas salinidades sufrieron tasas de mortalidad más altas que los grupos control.

Posterior al cambio de salinidad, los peces fueron transferidos a un tanque de cría el cual contenía una caja de nido. Por otro lado, debido a que los machos de gobio pueden tener un comportamiento furtivo y evitar mantener sus propios nidos, estos fueron emparejados siempre con hembras de menor longitud total. Se mantuvieron un total de ocho grupos reproductores por origen y tratamiento en todo momento, y cuando se producía el desove, estos grupos eran eliminados y se sustituían por nuevos individuos. Debido a que sólo una baja proporción de los grupos de cría produjo nidadas, se realizó una segunda rampa de salinidad con el fin de aumentar el número de grupos que podían formarse. Esta segunda rampa de salinidad comenzó 15 días posterior a la primera, por lo que hubo peces que estuvieron 36 días sin cambio de salinidad. En relación a esto, los peces de agua dulce estuvieron en agua a 0 PSU (grupo control de 150 individuos) y en agua a 16 PSU (130 individuos), y los peces salobres a 0 PSU (65 individuos) y a 16 PSU (grupo control de 57 individuos).

Finalmente, dado que el tiempo hasta el desove varió entre los grupos de cría, el tiempo total que los individuos pasaron en la salinidad de su tratamiento asignado varió entre 29 y 35 días para los individuos en la rampa de salinidad y entre 29 y 63 días para los peces control. Para estimar los potenciales efectos en la fisiología de los adultos a través del crecimiento, se midió su longitud total en mm cuando fueron eutanasiados al finalizar el experimento.

- c) Muestreo de huevos: Para generar el apareamiento, un macho y dos o tres hembras de un mismo origen y salinidad de tratamiento fueron transferidos a un compartimiento de apareamiento que consistió en una bañera dividida en cuatro secciones a través de tablas plásticas. Cada compartimiento de apareamiento fue provisto de una caja nido artificial (plástico PVC DE 210 mm x 120 mm x 60 mm, con una abertura semicircular de 22 mm de radio). A su vez, esta caja nido estuvo provista de un cristal superior y otro inferior cubiertos con una película de acetato sujeta a bandas de goma. Esta lámina era retirada cada vez que se producía un desove, se procedía a contar los huevos y se colocaba una nueva lámina. Para generar un aumento en el número de puestas, se dejó el grupo de desove durante 4 a 7 días extras. Luego, se realizó eutanasia a los machos y se realizó la toma de muestras de los parámetros espermáticos. Del total de nidadas observadas, doce grupos de desove generaron una nidada y cuatro grupos produjeron dos nidadas cada uno. Las cajas fueron inspeccionadas tres veces por semana y si los huevos se ponían en los laterales, se retiraban,



se limpiaba la caja nido con agua y un cepillo, y se volvía a colocar en el tanque. Si los huevos eran puestos en uno de los cristales, se retiraba el cristal y se seccionaba cuidadosamente la película de acetato con los huevos en dos mitades de tamaños similares. Posteriormente, cada media nidada se volvió a pegar a un cristal separado y se marcó con una etiqueta de plástico con un número de identificación único. A continuación, cada media nidada, fueron, una tras otra, llevadas a una estación de baño para ser fotografiadas con una resolución de 2.592 x 1.944 pixeles a un aumento de 1: 1.025, utilizando una cámara digital con enfoque y tiempos de exposición fijos. Esta cámara fue montada en un marco estático que mantenía el cristal en la misma posición con respecto a la cámara en cada ocasión que se tomara el registro fotográfico. Luego de esta primera fotografía, una media nidada se mantuvo en la misma salinidad en la que había desovado, y la otra media nidada se cambió a la salinidad opuesta mediante un procedimiento de aclimatación por goteo (cambio de 16 PSU durante 2 horas). Posterior a la aclimatación, las medias nidadas se mantuvieron en un sistema de flujo separado que estaba unido a los sistemas de recirculación principales (0 o 16 PSU), donde se expusieron al movimiento del agua para su oxigenación. Todas estas nidadas se fotografiaron 3 veces por semana para seguir el desarrollo de los cigotos hasta el día 20 (± 1 día) o hasta que los cigotos dejaron de desarrollarse o murieran. Los datos sobre el desarrollo del cigoto se extrajeron analizando visualmente cada huevo en las fotografías, asignando a cada huevo una de las siguientes categorías: (a) huevo presente; (b) fecundado (separación visual de la yema y el espacio perivitelino en la segunda fotografía tomada); (c) desarrollo anormal (huevo opaco o en descomposición) y (d) manchas oculares presentes en el cigoto. El análisis se centró en el éxito de la fecundación y del desarrollo, por lo cual se calcularon los siguientes parámetros:

Éxito de fertilización:

Nº de huevos fecundados en la mitad de la puesta / Nº de huevos en la mitad de la puesta

Éxito del desarrollo:

Nº de huevos con manchas oculares presentes en el día 20 ± 1 en la mitad de la puesta/ Nº de huevos en la mitad de la puesta.

- a) Muestreo de esperma: Para el muestreo de esperma fueron analizados un total de 33 machos tanto de grupos de desove como de grupos sin desove (origen de agua dulce, 0 PSU, N = 9; origen de agua dulce, 16 PSU, N = 5; origen salobre, 0 PSU, N = 9; origen salobre, 16 PSU, N = 10), todos los que mostraban disposición reproductiva (papila genital erecta). Posterior a



la realización de la eutanasia a través de un golpe en la cabeza, seguido de la destrucción del cerebro, se procedió a diseccionar los testículos de cada pez en un minuto, utilizando pinzas y tijeras de acero inoxidable. Luego, se colocó el testículo en un tubo microcentrífuga de 1,5 ml (Eppendorf). Para liberar los espermatozoides, se realizaron 5 cortes en cada testículo a través de una tijera y se diluyó el contenido con 60 μ l de solución Ringer libre de calcio a 10 °C (Karila *et al.*, 1993) para duplicar el volumen del líquido y evitar la activación de los espermatozoides (confirmado por inspección visual por microscopía). Posteriormente cada muestra se agitó mediante un vortex tres veces durante un segundo. A continuación, los espermatozoides se activaron transfiriendo 25 μ l de la suspensión a un tubo microcentrífuga relleno con 750 μ l de agua filtrada de una de las dos salinidades (0 o 16 PSU) tomada de los sistemas de recirculación donde se alojaban los peces adultos y fueron mantenidas a 16 °C en un baño de agua. Estas dos muestras se evaluaron inmediatamente luego de la transferencia del esperma al agua filtrada, una tras otra y de manera aleatoria.

El análisis de los rasgos espermáticos se centró en la proporción de espermatozoides móviles y en la velocidad de la trayectoria curvilínea (VCL), permitiendo la comparación con estudios previos (por ejemplo, Green *et al.*, 2020; Locatello *et al.*, 2007; Marentette *et al.*, 2009). Por otro lado, debido a que la velocidad del esperma de los gobios redondos disminuye con el tiempo (Marentette *et al.*, 2009), estos rasgos espermáticos se registraron lo más rápidamente posible, siempre dentro de los 2 minutos siguientes a la activación, a través del siguiente protocolo: Se transfirieron 45 μ l de la suspensión a un portaobjetos de vidrio recubierto de albúmina al 2%, el cual fue cubierto con un cubreobjetos recubierto de albúmina para formar una gota suspendida (Green y Kvarnemo, 2019). Este procedimiento se repitió para seis réplicas técnicas por macho y condición de salinidad. Luego, con una cámara de video de alta velocidad instalada en un microscopio invertido, se enfocó en el centro de la gota suspendida y se filmó el movimiento de los espermatozoides durante 15 fotogramas utilizando un objetivo de 10 aumentos y un contraste e iluminación estándar. Los parámetros de movimiento de los espermatozoides de un total de 309.946 pistas de esperma en un total de 793 videos se extrajeron utilizando el plugin CASA (Wilson-Leedy & Ingermann, 2007), siguiendo un protocolo descrito en Green *et al.* (2020). Para evitar la inclusión de partículas no nadadoras a la deriva en las microcorrientes, los espermatozoides fueron clasificados como nadadores solo si la velocidad era superior a 25 μ m/s.

- b) Análisis de los datos: Los datos fueron analizados estadísticamente mediante modelos mixtos y lineales a través de los paquetes lme4 (Bates *et al.*, 2015) y lmerTest (Kuznetsova *et al.*, 2017) en R versión 3.3.3 (R Core Team, 2013). Para los modelos de efectos mixtos se generaron valores p mediante aproximaciones de Satterthwaite, con el fin de reducir el riesgo



de errores de tipo 1 cuando se analizan conjuntos de datos de tamaño muestral pequeño de datos no equilibrados (Luke, 2017), y se probaron mediante sumas de cuadrados tipo III. A su vez, se siguió lo reportado por Hendrix *et al.*, (1982) en el sentido de que las interacciones no significativas con un valor de p superior a 0.2 se eliminaron secuencialmente, empezando por el orden más alto, y dentro del orden, la interacción con el valor de p más alto se eliminó primero.

El número de grupos que desovaron por grupo de tratamiento se analizó mediante una prueba de contingencia. El número de huevos por puesta se analizó mediante un modelo lineal con el origen de los padres y la salinidad del tratamiento de los padres como variables predictoras.

Las principales variables predictoras asociadas a las características del esperma que fueron modeladas como efectos fijos fueron, el origen de los padres (agua dulce o salobre), la salinidad de tratamiento de los padres (0 o 16 PSU). Estos efectos fueron modelados en un diseño factorial completo considerando todas las interacciones disponibles. A su vez, dado que el esperma de los machos fue analizado en dos salinidades diferentes, se incluyó la identificación del macho como factor aleatorio para controlar las mediciones repetidas. Por otro lado, se incluyó a la población como factor aleatorio con el fin de tener en cuenta las diferencias dadas por el origen separado de los peces de agua dulce capturados en los ríos Rin y Elba. Ambos factores fueron mantenidos sistemáticamente en el modelo. Luego, estos modelos fueron visualmente explorados mediante la función “plot(lm)” en R. También, se analizaron los modelos para detectar la multicolinealidad mediante los factores de inflación de la varianza utilizando la función “vif(lm)” de paquete car en R.

El éxito de la fertilización se evaluó a través de un modelo mixto generalizado con el origen de los padres y la salinidad del tratamiento de los padres como variables predictoras. Para controlar el riesgo de que la fecundación se produjera posterior a la división de la nidada y a la exposición a la nueva salinidad, la salinidad del tratamiento de los huevos se incluyó inicialmente como factor fijo en el análisis del éxito de fecundación. Por otro lado, y similar a lo anterior, se incluyó la población como efecto aleatorio para controlar las diferencias entre los peces de los ríos Elba y Rin.

El éxito del desarrollo fue analizado a través de un modelo lineal generalizado. Sin embargo, debido a que ningún huevo fue fecundado por progenitores de origen de agua dulce en 16 PSU, no fue posible analizar el origen de los progenitores y el tratamiento de salinidad de los mismos como factores independientes utilizando un diseño factorial completo (dos vías). Para este caso, se utilizó como factor el “grupo de tratamiento de los padres (correspondiente al



origen de los padres y la salinidad del tratamiento de los padres, en un diseño unidireccional con tres grupos) y se incluyó el factor “salinidad del tratamiento de los huevos” para controlar las medias puestas que se desarrollaron en diferentes salinidades.

La longitud total de los adultos al finalizar los experimentos fue analizada mediante un modelo mixto con el sexo, el origen de los padres y la salinidad del tratamiento de los padres como variables predictoras fijas y la población como variable aleatoria.

Resultados:

i. Desove:

Del total de grupos de desove replicados ($N^{\circ} = 100$), un total de 27 grupos desovaron durante el experimento. De estos, los peces de agua dulce mantenidos en condiciones salobres fueron los menos propensos a desovar, siendo solo el 13 % de esos grupos. Sin embargo, no hubo diferencia significativa en la frecuencia de desove entre grupos ($p > 0.05$).

El tamaño individual de las puestas fue en promedio 512 (± 127) huevos para los progenitores de origen salobre en agua salobre, 410 (± 205) huevos para los progenitores salobres en agua dulce, 270 (± 97) huevos para los peces de agua dulce en condiciones de agua dulce y 486 (± 167) huevos para los peces de agua dulce en agua salobre. Estos tamaños de puesta no difirieron significativamente entre los padres de diferente origen y tratamientos de salinidad de los padres.

ii. Motilidad del esperma:

La motilidad espermática de los machos de origen salobre fue significativamente mayor cuando se analizaron en 16 PSU en comparación con los machos de origen de agua dulce analizados en 0 PSU. A su vez, los machos de agua dulce tuvieron una tendencia de motilidad espermática ligeramente superior en 0 PSU.

Por otro lado, la motilidad espermática fue mayor para el esperma de los machos salobres analizados en 16 PSU, cuando se mantuvieron en 16 PSU en comparación con cuando se mantuvieron a 0 PSU, correspondiendo al único efecto de aclimatación encontrado en el esperma. Finalmente, no se encontraron efectos principales de la salinidad del tratamiento de los padres en los machos de ambos orígenes.



iii. Velocidad del esperma:

La salinidad tuvo un fuerte efecto sobre la velocidad de la esperma. Los machos de origen salobre tuvieron una velocidad espermática significativamente mayor cuando el esperma se evaluó a 16 PSU, en comparación a los machos de origen de agua dulce evaluado a 0 PSU. No se encontraron efectos de la salinidad del tratamiento de los padres (aclimatación de los machos a 0 o 16 PSU).

iv. Éxito de la fecundación:

El éxito de la fecundación difirió entre las combinaciones de tratamientos y se explica en el modelo por un efecto de interacción entre el origen de los padres y la salinidad del tratamiento. Los peces de origen de agua dulce que lograron desovar a 16 PSU no fertilizaron huevos y los peces de origen salobre tuvieron dificultades para fertilizar las puestas en su salinidad distinta al origen (0 PSU).

v. Desarrollo del cigoto:

No se establecieron diferencias significativas en el éxito del desarrollo entre los tres grupos de tratamiento de los padres ni en el éxito del desarrollo del cigoto de la salinidad en que se desarrolló cada media nidada, independiente del grupo de tratamiento de los padres.

vi. Tamaño del cuerpo de adultos:

Al finalizar los experimentos, no se encontró una diferencia significativa en la longitud total en relación a la salinidad del tratamiento. Los machos de origen salobres fueron más grandes que los de origen de agua dulce, y los machos fueron en promedio más grande que las hembras dentro de su origen.

Conclusión:

Se concluye que no existe evidencia que el gobio redondo se beneficie de la plasticidad en el rendimiento de su esperma cuando se expone a nuevas salinidades, lo que probablemente ha limitado su éxito reproductivo. Sin embargo, a pesar de tener un menor rendimiento reproductivo, los gobios redondos de origen salobre del Mar Báltico siguen siendo capaces de reproducirse en agua dulce. En relación a lo anterior, y dado que se sabe que los peces adultos del Báltico migran entre aguas salobres y dulces, estos resultados manifiestan el riesgo de invasión en los afluentes de agua dulce adyacentes.



Finalmente, si bien los peces de agua dulce parecen tener menos posibilidades de desovar con éxito en condiciones salobres (alrededor de 16 PSU), esta reproducción en salinidades más bajas aún debe ser estudiada.

Estudio:

Green, L., Niemax, J., Herrmann, J. P., Temming, A., Behrens, J. W., Havenhand, J. N., Leder, E. & Kvarnemo, C. (2021). Sperm performance limits the reproduction of an invasive fish in novel salinities. *Diversity and Distributions*, 27(6), 1091-1105.

5.8.2.2. Ensayos de cohabitación.

Ejemplo 1:

Competencia entre cohortes del cangrejo europeo (*Carcinus maenas*) y el cangrejo exótico (*Hemigrapsus takanoi*).

Objetivo:

Evaluar el comportamiento competitivo (competencia por alimentación y refugio) entre crustáceos juveniles del cangrejo nativo europeo verde (*Carcinus maenas*) y adultos del cangrejo exótico de la costa asiática (*Hemigrapsus takanoi*).

Diseño experimental:

En acuarios de 45 x 28 x 32 cm los autores realizaron dos tipos de experimentos, en triplicado y repetidos 5 veces, totalizando 15 réplicas por tratamiento.

- a) Competencia por alimentación: Para evaluar la competencia por alimentación, los acuarios fueron llenados con una capa de arena de 0,5 cm para proporcionar sustrato, pero evitando que los cangrejos puedan enterrarse completamente. En los estanques se mantuvo controlada la temperatura y el pH. Se instalaron cámaras de video apuntando directamente sobre los acuarios, a una altura de 1 m aproximadamente. En cada acuario los autores colocaron un mejillón atado al acuario, para evitar ser movido por los cangrejos y observar de mejor forma la competencia. Para el experimento de competencia por alimento, se incluyeron diferentes conformaciones de tamaños de *C. maenas* en competencia con *H. takanoi* en los acuarios. La información recopilada para cada especie fue: el primero en encontrar el



alimento, número de intentos exitosos de alimentación, tiempo gastado en alimentación, número de veces en que la alimentación no fue exitosa y número de desplazamientos agresivos.

- b) Competencia por refugio: Para este experimento el nivel del agua se cambió a 5 mm del sustrato (para simular la marea baja) y luego a 15 cm del sustrato (para simular la marea alta) dos veces en 48 h. En el centro del acuario se colocó una concha de almeja y los autores consideraron que los cangrejos hacían uso del refugio cuando todas las patas de un lado estaban cubiertas por la concha. Cada uno de estos experimentos fueron realizados tanto en condiciones de cohabitación (*C. maenas* x *H. takanoi*), como cada especie por separado. Adicionalmente, al igual que para el primer experimento (competencia por alimento), realizaron ensayos de cohabitación combinando diferentes tamaños (pequeño y grande) de los *C. maenas* y *H. takanoi*, a partir de combinaciones intra e inter-especies (4 combinaciones en total).

Resultados:

Los resultados del estudio ilustran que la ocurrencia y la intensidad de la competencia entre cangrejos exóticos (*H. takanoi*) y nativos (*C. maenas*) varían en función de la estación, hábitat, tamaño poblacional y habilidad competitiva. Debido a la agresividad mostrada por *H. takanoi* en la competencia por recursos con *C. maenas*, se sugiere que la introducción de *H. takanoi* puede haber presentado una presión competitiva y/o de depredación a la que los juveniles de *C. maenas* son menos capaces de sobrevivir.

Conclusión:

H. takanoi fue el competidor más agresivo por el alimento y en abundancias altas puede generar una exclusión parcial de *C. maenas*, aunque su exclusión total en los arrecifes es poco probable. Así, este tipo de ensayos permite la evaluación del riesgo ecológico entre especies, al enfocarse en el comportamiento competitivo y el posible desplazamiento de una especie introducida sobre una especie local.

Estudio:

Van den Brink, A., & Hutting, S. (2017). Clash of the crabs: Interspecific, inter-cohort competition between the native European green crab, *Carcinus maenas* and the exotic brush clawed crab *Hemigrapsus takanoi* on artificial oyster reefs. *Journal of Sea Research*, 128, 41-51.



Ejemplo 2:

Transmisión experimental del Virus de la Necrosis Infecciosa de Bazo y Riñón (ISKN) entre peces de agua dulce y peces marinos.

Objetivo:

Estudiar la hipótesis que los Megalocytivirus originados desde peces ornamentales podrían dispersarse desde ambientes dulceacuícolas a marinos, y viceversa, a través del uso de especies eurihalinas como vectores.

Diseño experimental:

Los autores seleccionaron especies candidatas a ser potencialmente susceptibles a Megalocytivirus a partir de una revisión bibliográfica, considerando los siguientes criterios: *i*) relación filogenética de la especie con susceptibilidad conocida, *ii*) presencia en Australia, y *iii*) disponibilidad para el estudio. La Lubina Australiana (*Macquaria novemaculeata*) fue seleccionada como vector eurihalino, el Bacalao de Murray (*Maccullochella peelii*) como huésped susceptible dulceacuícola, y el Silver sweep (*Scorpius lineolata*) fue seleccionada como la especie marina potencialmente susceptible, ya que cumplió con todos los criterios arriba mencionados. Las especies *M. novemaculeata* y *M. peelii* fueron obtenidos desde centros de cultivo sin antecedentes de infecciones con Megalocytivirus, mientras que los ejemplares de *S. lineolata* fueron capturados en Puerto Norte, en el área metropolitana de Sydney (Australia). Todos los peces fueron aclimatados en estanques de 100 L durante al menos una semana, hasta la realización de los experimentos. De esta manera, los autores realizaron 3 experimentos para: *i*) evaluar la susceptibilidad del Silver sweep a Megalocytivirus a través de inoculaciones experimentales por inyecciones intraperitoneales (Experimento 1, piloto); *ii*) Evaluar la susceptibilidad del Silver sweep a Megalocytivirus desde inoculaciones experimentales y cohabitación (Experimento 2); y *iii*) evaluar la diseminación de Megalocytivirus entre poblaciones marinas y dulceacuícolas (Experimento 3).

- a) Experimento 1: Los autores generaron tres grupos de 6 peces, de los cuales dos de estos grupos fueron experimentalmente inoculados con la cepa DGIV-10 del virus de la necrosis infecciosa de bazo y riñón, mientras que el tercer grupo no fue inoculado y se mantuvo como control. Debido al comportamiento agresivo observado en grupos pequeños de *S. lineolata*, el experimento piloto sugirió la utilización de grupos de mayor densidad (12 individuos por estanque).



- b) Experimento 2: Se generaron 3 grupos (2 experimentales y 1 control) de 12 peces cada uno. En los grupos experimentales, se inocularon los peces con 50 μ L de la cepa DGIV-10, mientras que los controles negativos fueron inoculados con el mismo volumen de DGIV-10 inactivada por calor. Adicionalmente, en este ensayo se ingresaron 12 peces nativos a cada estanque el día 10 después de la inoculación.
- c) Experimento 3: Este experimento buscó evaluar la transmisión de Megalocytivirus desde peces marinos hacia dulceacuícolas y viceversa. Para el primer caso, los peces del experimento 2 fueron usados como donantes y 12 Lubinas Australianas, aclimatadas a condiciones marinas, fueron introducidas como cohabitantes 18 días después de la inoculación de DGIV-10. Entre especies cohabitantes, los autores dispusieron de una red de nylon para permitir sólo el flujo del agua, pero evitando el contacto físico entre especies. Los cohabitantes dulceacuícolas fueron retirados al quinto día, aclimatados nuevamente a bajas salinidades y observados durante 28 días. Finalmente, para evaluar la transmisión desde peces de agua dulce a peces marinos, se utilizaron dos grupos de 6 juveniles de Bacalaos de Murray inyectados con 50 μ L de un inóculo de DGIV-10, y 1 grupo control fue inyectado con el mismo volumen de DGIV-10 inactivado. 8 días después de la inoculación, 12 Lubinas Australianas fueron introducidas en el estanque, siendo separadas por una malla de nylon para evitar el contacto físico entre cohabitantes. 3 días después, las Lubinas fueron retiradas de los estanques experimentales y aclimatadas a condiciones marinas.

Terminados los experimentos, todos los peces sobrevivientes fueron sacrificados. Para evaluar la presencia de Megalocytivirus, utilizando los partidores C1073/C1074, el cuál amplifica un fragmento de 167 pb del gen viral MCP (Rimmer et al., 2012).

La mortalidad final entre los grupos control y tratamiento fueron comparados utilizando una prueba exacta de Fisher, aplicando una tabla de contingencia 2x2, comparando el estado al final del experimento (vivo vs muerto) para cada grupo.

Resultados:

Las tasas de mortalidad entre control y tratamiento, para todos los experimentos obtuvieron diferencias estadísticamente significativas, excepto para el experimento 1, en el cual observaron agresión intraespecífica, debido al tamaño de los grupos. De esta manera, el estudio demostró la transmisión, por vías de exposición natural (sin contacto físico entre peces), de Megalocytivirus entre peces dulceacuícolas y marinos, en ambas direcciones.



Conclusión:

Los programas de repoblación para el mejoramiento de pesquerías representan un riesgo importante para la introducción y diseminación de diferentes agentes patógenos, principalmente en aquellos donde la transmisión entre organismos dulceacuícolas y marinos ha sido evidenciada, como es el caso de Megalocytivirus. Por lo tanto, son necesarias medidas que minimicen el riesgo, basándose en la detección temprana de los patógenos. Además, es indispensable el conocimiento asociado a la susceptibilidad de las especies a enfermedades de riesgo y los posibles organismos que puedan actuar como vectores, ayudando a la diseminación de los mismos.

Estudio:

Go, J., & Whittington, R. (2019). Experimental transmission of infectious spleen and kidney necrosis virus (ISKNV) from freshwater ornamental fish to silver sweep *Scorpius lineolata*, an Australian marine fish. *Diseases of Aquatic Organisms* 137.1 (2019): 1-21.

5.8.2.3 Mesocosmos al aire libre y en laboratorio

Mesocosmos al aire libre

Ejemplo 1:

Impactos multifacéticos de las especies de decápodos nativos e invasores en la biodiversidad de agua dulce y el funcionamiento de los ecosistemas.

Objetivo:

Evaluar el efecto de la presencia de dos cangrejos invasores en la estructura comunitaria de macroinvertebrados, en las funciones claves del ecosistema, como las tasas de descomposición y productividad primaria, y en las propiedades del agua como la turbidez.

Diseño experimental:

- a) Montaje experimental: Se fabricaron 16 mesocosmos al aire libre, correspondiente a tanques plásticos de agua de 0,65 m de profundidad, 1 m de diámetro y 0,78 m² de superficie



excavados en el suelo. Para evitar la fuga de los decápodos, los tanques de agua fueron cubiertos con una malla, la cual poseía una apertura de 20 mm. El suelo fue cubierto con grava para evitar las malas hierbas y para mejorar la desecación de los invertebrados que escapaban. Finalmente, una valla de plástico de 0,3 m de profundidad y 1 m de altura rodeaba el conjunto.

Los mesocosmos fueron llenados con aproximadamente 0,003 m³ de agua de pozo y se les añadió un sustrato de una mezcla de 9:1 de arena y Aquasoil y grava de cerca de 3 cm de profundidad. Luego, se añadieron comunidades microbianas mediante un inóculo de un homogeneizado de agua procedente de una amplia gama de hábitats de agua dulce cercanos y no invadidos por decápodos exóticos. Los macrófitos nativos en el mesocosmos consistieron en *Ceratophyllum demersum*, 115 g de masa húmeda enjuagada con agua desionizada. A su vez, 72 días antes del experimento, en el centro del estanque se plantaron macetas que contenían grava y 1 ml de compost de plantas acuáticas (Aquasol). También, para permitir una superficie estándar para el muestreo del biofilm de algas, se colocó una baldosa sin esmaltar en la superficie del sedimento de cada estanque para que recibieran la misma exposición a la luz. A su vez se añadieron paquetes de detritus de hojarasca de aliso (10 g) y de roble (40 g), además de un único paquete fino (de 50 mm de apertura) de aliso para diferenciar la descomposición microbiana de la macroinvertebrada.

Se añadieron macroinvertebrados con capacidad de colonización limitada a cada mesocosmos (30 días previos). Estos individuos fueron quironómidos (*Chironomus sp.*, Chironomidae c. 1.500 individuos); *Gammarus pulex* (Gammaridae, 100 individuos); *Asellus aquaticus* (Asellidae, 100 individuos); *Baetis rhodani* (Baetidae, 50 individuos); larvas de Cased-caddis, *Sericostoma sp.* (Sericostomatidae, 10 individuos); y seis especies de gasterópodos (100 individuos de *Radix peregra* Lymnaeidae, 10 *Planorbarius corneus* Planorbidae, 10 *Lymnaea stagnalis* Lymnaeidae, 10 *Lymnaea palustris* Lymnaeidae, 20 *Physa fontinalis* Physidae y 10 *Bithynia tentaculata* Bithyniidae). En conjunto, al finalizar los experimentos, los tanques de agua contenían 47 taxones de 12.075 individuos.

Los decápodos *A. pallipes* fueron obtenidos de Porter Brook, Sheffield, Reino Unido; *P. lenisculus* de Loch Kenm Dumfriesshire y *E. sinensis* del río Támesis en Chiswick. Finalmente, si bien, no se ha comprobado ninguna relación entre el hábitat de origen del decápodo y los impactos posteriores en el proceso funcional, se llevó a cabo una aclimatación (> 3 meses) para reducir cualquier riesgo de interpretación basado en el origen. Posteriormente, los decápodos se introdujeron en los mesocosmos luego de 24 horas sin alimentación.



- b) Diseño general: El experimento se realizó durante 33 días a través de un diseño factorial aleatorio con cuatro réplicas de cada uno de los tratamientos de cangrejo de río nativo (*A. pallipes*), cangrejo de río exótico invasor (*P. leniusculus*), cangrejo exótico invasor (*E. sinensis*) y un control sin decápodos. Cada mesocosmos con decápodos, tuvo un total de dos individuos subadultos (Rosewarne *et al.*, 2016), generando una densidad acorde a lo observado en los sitios de campo (Nyström, 2002).
- c) Muestreo de macroinvertebrados: Al finalizar el experimento se tomaron muestras de invertebrados a través de una red de mano (malla de 250 μm de apertura) la cual fue barrida repetidamente a través del agua del mesocosmos durante 1 minuto y se retiraron los paquetes de hojas. Los restos de las redes fueron almacenadas en bolsas plásticas y se trataron con solución de EtOH al 70%. A su vez, se realizó una identificación a nivel de especie cuando fue posible.
- d) Funcionamiento del ecosistema: Para calcular el peso seco libre de cenizas, los paquetes de hojas fueron retirados, enjuagados con agua desionizada, se secaron en un horno a 50 °C, se pesaron y luego se quemaron a 500 °C. La tasa de descomposición se calculó como el cambio del peso seco libre de cenizas. La materia orgánica en partículas finas de la columna de agua y el bentos se muestreó a través de una succión mediante un tubo cilíndrico de 20 cm de diámetro y 40 cm de longitud, se almacenó en bolsas plásticas y se trató con una solución de alcohol metílico. Luego, estas muestras fueron filtradas a través de una malla de 10 mm y por discos filtrantes de 0,7 μm , se secaron en un horno a 105 °C durante 24 horas, se pesaron y se incineraron a 500 °C para calcular el peso seco libre de cenizas.

Los macrófitos fueron enjuagados con agua desionizada para eliminar los invertebrados y se secaron durante 24 horas o hasta alcanzar una masa constante a 50 °C y luego se incineraron a 500 °C. Las biopelículas (bacterias, hongos y perifiton) se muestrearon de las baldosas utilizando un cepillo de nylon y se almacenaron a -20 °C. La biomasa de las biopelículas se midió acorde a lo utilizado para la materia orgánica en partículas finas. La productividad primaria (clorofila a) del perifiton de una submuestra de 5 ml se midió utilizando el método de filtración y espectrometría de Steinman (Steinman, 1996). A su vez, se recogieron muestras de agua superficial para plancton y se almacenaron a -20 °C, para posteriormente medir clorofila de una submuestra de 5 ml y la biomasa similar a lo realizado para las biopartículas.

La productividad primaria bruta y la respiración de la comunidad de los mesocosmos fueron medidos los 30 días del experimento utilizando la técnica del oxígeno diel, registrando los cambios de oxígeno disuelto cada 15 minutos durante 24 horas utilizando un dispositivo YSI.



El oxígeno disuelto se corrigió por la reaireación del intercambio de gases inducido por el viento con el agua superficial y la atmósfera midiendo la velocidad del viento a través de un anemómetro. Finalmente, la respiración de los sedimentos se midió in situ en cámaras cerradas de 350 ml utilizando el consumo de oxígeno a lo largo del tiempo (3 horas), asumiendo una respiración diurna y nocturna similar (Doering *et al.*, 2011).

- e) Propiedades del ecosistema: La medición de las variables fisicoquímicas incluyó el pH a través de un medidor Hanna y la turbidez mediante un turbidímetro. El oxígeno disuelto se midió el día 30 con las sondas cuando se utilizó la técnica de diel. Las muestras de agua recogidas el día 33 se analizaron posteriormente con un autoanalizador de flujo continuo Skaler SAN ++ para el nitrógeno amoniacal, nitrato y el fósforo reactivo soluble.
- f) Análisis de datos: Los parámetros para macroinvertebrados que fueron calculados incluyeron densidades (por m² de mesocosmos) de especies presa (gasterópodos, isópodos y larvas de quironómidos), riqueza taxonómica y diversidad de Shannon. Para calcular la diversidad β dentro de los tratamientos se utilizó el índice de similitud de Jaccard y se comparó entre tratamientos. Para comparar entre tratamientos, los datos de abundancia transformados en raíz cuadrada se sometieron a un análisis de ordenación utilizando gráficos de escalamiento dimensional no métrico (NMDS) de las disimilitudes de Bray-Curtis y utilizando un PERMANOVA para probar la significación entre tratamientos. Se utilizaron modelos lineales generalizados (GLM) para identificar las diferencias entre tratamientos para las variables respuesta (invertebrados, funcionamiento del ecosistema y propiedades), con la familia de datos seleccionada en base a las estimaciones de máxima verosimilitud y aplicando pruebas post hoc de Tukey.

Debido a que la productividad primaria de la biopelícula varió con el tratamiento según el GLM, para diferenciar la causalidad post hoc de la regulación descendente de los gasterópodos de pastoreo por parte de los decápodos de los factores ascendentes como la turbidez, se utilizaron GLMs con la productividad primaria como respuesta, el tratamiento como factor y la abundancia de gasterópodos, la turbidez y los nitratos como covariables. Todos estos análisis fueron realizados con el programa r (R core team, 2014).

Resultados:

- a) Diversidad y abundancia de macroinvertebrados: La riqueza taxonómica de macroinvertebrados fue significativamente menor en presencia *A. pallipes* en comparación con el control, pero no se registraron diferencias significativas en la riqueza entre el control y



los tratamientos de decápodos invasores. El índice de Shannon no varió significativamente entre los tratamientos. Los NMDS mostraron una estructura comunitaria más dispersa en ambos tratamientos con especies invasora, en comparación con el control y el tratamiento con el cangrejo nativo, pero no hubo diferencias significativas en la estructura de la comunidad. Sin embargo, la diversidad β fue significativamente mayor para *E. sinensis* en comparación a los control y *A. pallipes* en el bentos. No existieron diferencias entre los tratamientos en la riqueza y densidad de presas de decápodos clave como *A. aquanticus* y *Chironomidae*. Sin embargo, los gasterópodos fueron significativamente menos abundantes en los tratamientos con especies de decápodos invasores en comparación con el control y con los tratamientos con cangrejos de río nativos, aunque la riqueza de gasterópodos no difirió.

- b) Funcionamiento del ecosistema: No existieron diferencias significativas entre tratamiento para todas las variables medidas, a excepción de la productividad primaria de las biopartículas de algas. La productividad primaria de las biopelículas fue mayor en los tratamientos con *P. leniusculus* que con *A. pallipes* y *E. sinensis*, pero similar a los controles. Los modelos revelaron que la interacción entre el tratamiento de decápodos y la abundancia de gasterópodos era un factor significativo que influía en la productividad primaria de las biopelículas y proporcionaba el modelo más sólido. La interacción entre el tratamiento y la turbidez mostró un efecto marginalmente significativo sobre la productividad de biopelículas, pero no hubo efecto de la interacción entre la turbidez y los gasterópodos sobre la productividad de las biopelículas. Finalmente, la productividad primaria de las biopelículas de algas mostró una relación significativa y positiva con la productividad primaria bruta.
- c) Propiedades del ecosistema:
Se identificó una diferencia significativa entre los tratamientos, siendo mayor en los tratamientos de decápodos invasores, particularmente *E. sinensis* en relación con el control y *A. pallipes*. El nitrato también difirió entre tratamientos y fue mayor en los tratamientos de cangrejos de río nativos en comparación con el control, con *E. sinensis* también fue alto y *P. leniusculus* similar a los controles. El pH fue marginalmente significativo, siendo menor en todos los tratamientos de decápodos y en las pruebas post hoc agrupando *A. pallipes* y *E. sinensis*, similar a lo reportado para el nitrato.

Conclusión:

Las especies exóticas invasora de decápodos de agua dulce generaron un impacto limitado en la estructura de la comunidad de macroinvertebrados y en los procesos del ecosistema al presentarse en bajas densidad o en densidades similares a las especies de cangrejos nativos. Se ha demostrado



la no redundancia para la densidad de gasterópodos, la productividad primaria del perifiton y ciertos atributos fisicoquímicos como la turbidez y los nutrientes. Si bien, algunos rasgos de no redundancia identificados previamente en el laboratorio no fueron traspasados al experimento de mesocosmos, las especies exóticas invasoras se caracterizan por alcanzar altas densidades en sus ecosistemas de acogida y esto podría eventualmente amplificar el impacto de los efectos observados en los experimentos de mesocosmos

Estudio:

Doherty-Bone, T. M., Dunn, A. M., Jackson, F. L., & Brown, L. E. (2019). Multi-faceted impacts of native and invasive alien decapod species on freshwater biodiversity and ecosystem functioning. *Freshwater Biology*, 64(3), 461-473.

Ejemplo 2:

Comparación de los efectos ecológicos de dos poecilidos invasores y dos peces nativos: un enfoque de mesocosmos.

Objetivo:

Comparar los efectos sobre los conjuntos de invertebrados, la biomasa de productores primarios y las cargas de nitrógeno entre de los peces invasores *Gambusia affinis* y *Poecilia reticulata* con los peces nativos *Oryzias curvinotus* y *Puntis semifasciolatus* durante las estaciones húmedas y secas en la zona tropical de Hong Kong.

Diseño experimental:

- a) Diseño general: Los experimentos de mesocosmos fueron realizados una vez en la estación húmeda y otra en la estación seca en un área exterior abierta en la azotea de un edificio en la Universidad de Hong Kong. Cada mesocosmos consistía en un recipiente cilíndrico de plástico opaco de 21 cm de altura y un diámetro basal de 40 cm. Cada recipiente se llenó con 18 L de agua de grifo, la cual se dejó reposar por 10 días para permitir la dechloración y el acondicionamiento. Luego, cada mesocosmos fue inoculado con 1 L de sedimento de fondo y la biota asociada obtenidos de una marisma local. Estos sedimentos fueron obtenidos con una red de inmersión (malla de 250 μ m Whiles et al., 2013).



Luego de dejar reposar el sedimento durante 5 días, se colocaron en cada mesocosmos dos baldosas hexagonales de arcilla sin esmaltar de 87 cm² para cuantificar la acumulación de perifiton (Lamberti y Resh, 1983). A su vez, se dispuso de una placa Petri de 1 cm de altura debajo de cada baldosa para evitar que se hundieran los sedimentos. También, se añadieron dos paquetes de hojas para ser utilizado como refugio para los invertebrados y dos o tres individuos de la planta esponja flotante (*Limnobia laevigatum*) para proporcionar cobertura a los peces del estudio en cada mesocosmos. Luego de una semana se introdujeron los peces y cada mesocosmos se cubrió con una tela de sombra al 50% para reducir la exposición solar y excluir a las aves.

Para este estudio se utilizaron cuatro especies de peces: pez mosquito y guppy (invasores), y pez arroz y barbo de oro (nativos). Estos peces fueron recolectados con redes y trampas en cuatro localidades diferentes.

Cada experimento (estación seca y estación húmeda) consistió en un total de cinco tratamientos donde cada mesocosmos contenía tres individuos de una de las cuatro especies de peces o no se añadía ningún pez (control). Cada tratamiento fue repetido 5 veces con un total de 35 mesocosmos. Los tratamientos fueron asignados al azar a cada mesocosmos.

Previo al experimento, los peces fueron aclimatados durante 10 días para garantizar una actividad alimentaria normal. Cada tanque contenía 20 L de agua de grifo sin cloro y estaban expuestos a las fluctuaciones naturales diarias de la temperatura. Previo a añadir a los peces, se les suprimió la alimentación durante 24 horas y posteriormente se alimentaron diariamente con larvas congeladas de quironómidos. Se colocaron tres peces en cada mesocosmos al comienzo de los experimentos, con lo que se obtuvieron densidades de peces comparables (en el rango menor) a las reportadas para las poblaciones de peces mosquitos (Cabral y Marques, 1999). Sólo se utilizaron individuos maduros de longitud normalizada. Para el caso de los dos poecilidos (sexados previamente), cada mesocosmos contenía tres individuos, con dos hembras y un macho de la misma especie, similar a las poblaciones con tendencia a las hembras (Fryxell *et al.*, 2015).

La duración de cada experimento fue de 42 días, salvo el experimento de la estación húmeda que fue realizado en 41 (por condiciones meteorológicas). Cada pez fue controlado una vez cada dos días, sustituyendo los peces muertos por un congénere de longitud similar, minimizando la perturbación en el mesocosmos.



- b) Muestreo de mesocosmos: Se realizó una medición la semana cero, tres y seis de la temperatura, oxígeno disuelto, conductividad, pH, nutrientes disueltos (nitrito, nitrato, amonio) y la biomasa de fitoplancton. A su vez, en la semana tres y seis se midieron la biomasa de perifiton y los conjuntos de invertebrados.

Para el oxígeno disuelto, temperatura, conductividad y pH se utilizaron sondas YSI. Para los nutrientes disueltos se tomaron 150 ml de agua en cada mesocosmos utilizando una botella Nalgene lavada con ácido. Estas muestras fueron filtradas (0.45 μm) y almacenadas a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Las mediciones de nitrito, nitrato y amonio se realizaron a través de un protocolo estándar de inyección de flujo.

La biomasa de fitoplancton y perifiton se midió a través de la clorofila a. Las muestras de agua (300 ml, cada una) para el fitoplancton se colectaron las semanas cero, tres y seis a través de una botella Nalgene. Las muestras fueron filtradas (0.45 μm) y almacenadas a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. La clorofila se determinó a partir de la densidad óptica. Por su parte, el perifiton se muestreó recogiendo una baldosa de cada mesocosmos en las semanas tres y seis, la baldosa fue cepillada y enjuagada con agua Milli-Q y el lodo se filtró (0.45 μm) en la oscuridad. La medición de la clorofila a se realizó siguiendo un procedimiento similar al del fitoplancton.

Los paquetes de hojas se recogieron en un tamiz de 212 μm , se enjuagaron y el contenido se conservó en etanol al 70%. Los invertebrados se clasificaron a la mayor resolución taxonómica (normalmente en morfoespecies) y se contaron.

- c) Análisis estadístico: Para analizar el efecto de los peces sobre el conjunto de invertebrados (abundancia y riqueza), la productividad primaria (biomasa de fitoplancton y perifiton), los niveles de nutrientes y el efecto de la estación se utilizaron modelos lineales mixtos generalizados (GLMM). El modelo global para todas las variables se ajustó con el tratamiento experimental, la estación y sus interacciones como factores fijos, y debido al diseño repetido durante las semanas tres y seis del mismo mesocosmos, el tiempo se ajustó como factor aleatorio (Zuur et al., 2009). Para evitar la colinealidad en las variables predictoras se comprobó la correlación de los dos factores fijos.

La totalidad de las variables respuesta se ajustaron utilizando una función de enlace logarítmico y se asumieron diferentes distribuciones de error. La abundancia de invertebrados se ajustó con distribución binomial negativa de tipo II (Hardin y Hilbe, 2007), y el modelo de riqueza de invertebrados se ajustó con una distribución de Poisson generalizada (Hilbe, 2014). Las demás variables respuesta se ajustaron a una distribución Gamma.



Todos los GLMM fueron complementados con pruebas de razón de verosimilitud, A su vez, se calculó el R^2 marginal y se realizaron pruebas post hoc de Tukey para evaluar las diferencias entre los cinco niveles de la variable tratamiento.

Por otro lado, se realizó un PERMANOVA para evaluar la variación de la composición de conjuntos de invertebrados entre tratamientos y estaciones. La matriz de semejanza fue calculada en base a la similitud de Bray-Curtis. El PERMANOVA se realizó con el tratamiento, la estación y su interacción como factores fijos, y el tiempo como factores aleatorios. Para visualizar la variación de los conjuntos de invertebrados, se aplicó un análisis canónico de coordenadas principales (CAP). Para calcular la diferencia observada entre los tratamientos, se realizó una correlación de Pearson con el eje del CAP.

Los GLMM y PERMANOVA se realizaron en R (R Development Core Team, 2014) y el CAP a través del programa PRIMER v6 con el paquete PERMANOVA + (Anderson *et al.*, 2008).

Resultados:

- a) Supervivencia y reproducción de los peces: En todo el experimento sólo se observaron tres peces guppy muertos durante la estación seca. El reclutamiento sólo fue observado en la estación húmeda, observando juveniles en tres de los siete mesocosmos de peces mosquito y en cuatro mesocosmos de guppys, así como en dos mesocosmos de pez arroz. Todos los juveniles fueron retirados al ser detectados.

- b) Condiciones iniciales y ensamblaje de invertebrados en los mesocosmos: El agua fue neutra a ligeramente ácida, de baja conductividad y bien oxigenada. Los niveles de oxígeno disuelto y nutrientes iniciales fueron ligeramente superiores en la estación seca, cuando la temperatura y la biomasa de fitoplancton eran inferiores en la estación húmeda. A lo largo del experimento la temperatura promedio fue de 18,8 °C en la estación seca y 30,2 °C en la estación húmeda y las precipitaciones fueron de 41 y 566 mm, respectivamente. La conductividad fue superior durante la estación seca y las cargas de nitrato, nitrito y amonio se redujeron en un 50% al final de la estación seca, tendencia no observada en la estación húmeda.

Se registraron 54 morfoespecies de invertebrados y 25.078 individuos en los mesocosmos durante todo el estudio. La abundancia media fue aproximadamente un 20% mayor durante la estación húmeda, pero la riqueza de invertebrados fue ligeramente mayor durante la estación seca. En general, los individuos más abundantes fueron los copépodos cicloides,



seguido de los cladóceros y los taxones más ricos fueron los Dípteros y los Coleópteros (a pesar de su baja abundancia).

- c) Efectos del tratamiento de los peces sobre los nutrientes y los productores primarios: No se observaron efectos de los tratamientos experimentales en las concentraciones de nitrito, nitrato, amonio, concentraciones de fitoplancton y perifiton. Sin embargo, hubo fluctuaciones estacionales significativas en las concentraciones de nitrito (triplicado), nitrato (multiplicado por 10), amonio y en la biomasa de perifiton, siendo superiores durante la estación seca.
- d) Efectos del tratamiento de los peces en los conjuntos de invertebrados: Existió un efecto de interacción significativo entre el tratamiento y la estación del año sobre la abundancia de invertebrados, siendo incluido en todos los análisis posteriores. Los peces guppy, mosquito y barbo oro redujeron significativamente la abundancia de invertebrados en ambas estaciones. Los efectos de los peces mosquito y barbo fueron consistentes entre estaciones causando reducciones de invertebrados superiores al 50%. Para los peces guppy se observó un mayor efecto en la estación húmeda (60%) que en la seca (40%). El pez arroz redujo significativamente la abundancia de invertebrados sólo en la estación seca.

No se evidenció interacción significativa entre los efectos del tratamiento y la estación en la riqueza de invertebrados. Los efectos estacionales fueron significativos y se observó una riqueza global de invertebrados mayor durante la estación seca. Los peces barbo, mosquitos y guppy causaron reducciones significativas en la riqueza de invertebrados durante ambas estaciones.

La composición del conjunto de invertebrados varió significativamente en relación al tratamiento, la estación y sus interacciones. Todas las especies de peces afectaron la composición del conjunto de invertebrados. El pez mosquito y el barbo ejercieron efectos similares, para el pez arroz se observó un efecto mayor en ambas estaciones y para el pez guppy se observó una mayor variación durante la estación húmeda.

Se registró una mayor cantidad de cladóceros y caracoles Hippeutis durante la estación húmeda y más quironómidos tanipodinos, copépodos harpacticoides y ostrácodos durante la estación seca. A su vez, se detectó mediante el CAP que las diferencias de la composición del ensamblaje entre los tratamientos estaban determinadas por diferentes taxones según la estación.



Conclusión:

El presente estudio entrega información importante a la escasa información existente sobre los impactos de las invasiones de poecilidos en el Asia tropical. Si bien no se observó una disparidad esperable en los efectos entre los peces nativos e invasores, si se detectaron relaciones de interés. Para el caso de barbo, se demoraron efectos ecológicos similares a los del pez mosquito, que se considera un invasor especialmente dañino, lo cual permite sospechar que este pez barbo podría impactar las comunidades de invertebrados nativos en otros lugares en donde esta especie ha sido catalogada como exótica. A su vez, se identificó que peces familiares como el guppy y el pez mosquito difieren en la intensidad de sus impactos, algo atribuible a sus características inherentes.

Estudio:

Tsang, A. H. F., & Dudgeon, D. (2021). A comparison of the ecological effects of two invasive poeciliids and two native fishes: a mesocosm approach. *Biological Invasions*, 23(5), 1517-1532.

Mesocosmos en laboratorio

Ejemplo 1:

Probando los efectos a corto plazo de un pez invasor en la ecología trófica de una especie estrechamente relacionada.

Objetivo:

Comparar los rasgos tróficos del guppy no nativo (*Poecilia reticulata*) y del poecilido nativo brasileño (*Phalloceros harpagos*) mediante experimentos que simulan las primeras etapas del proceso invasivo utilizando mesocosmos de corta duración.

Diseño experimental:

- a) Diseño general: El estudio se realizó en Río de Janeiro, Brasil, donde fueron recolectados los ejemplares de *P. harpagos* (arroyo Tijuca) y los guppys (arroyo Carioca). Todos estos individuos se mantuvieron en acuarios separados durante 3 semanas para su aclimatación. Sólo se utilizaron individuos de guppy hembras de tamaños similares para eliminar el efecto de confusión de sexo y la ontogenia en la dieta (Elias *et al.*, 1995). La especie de guppy fue



definida debido a su alta capacidad de establecerse tras una sola introducción, lo que le ha permitido ser una especie invasora a nivel mundial.

- b) Experimento de mesocosmos: El experimento de mesocosmos tiene como finalidad evaluar los efectos inmediatos de la introducción de guppys en la dieta de *P. harpagos*. Para esto, se utilizaron 20 contenedores de almacenamiento de agua con 7 litros de agua filtrada con carbón activado. También, a cada mesocosmos se les agregó 500 gramos de grava de río como sustrato para facilitar la colonización de algas e invertebrados (Warbanski *et al.*, 2017). Los mesocosmos fueron ubicados al interior del campus de la Universidad Estatal de Río de Janeiro en un laboratorio con techo y paredes sombreadas. Los mesocosmos se dejaron abiertos durante 45 días para ser colonizados por insectos. Los peces fueron privados de alimentación durante 24 previo al ingreso a los mesocosmos. Posterior a esto se realizó un experimento de 3 horas con los siguientes tratamientos de 5 réplicas cada uno: (a) mesocosmos sin peces, (b) *P. reticulata* solo, (c) *P. harpagos* solo y (d) *P. reticulata* y *P. harpagos* juntos (invasión en fases tempranas). Cada réplica por tratamiento fue asignada al azar y contenían 4 peces (salvo el control). Este número fue asignado en relación a los experimentos previos desarrollados con guppys (Warbanski *et al.*, 2017) e imitando los valores naturales de densidad para *P. harpagos*. Para el tratamiento de las dos especies juntas, se utilizaron 2 individuos de cada especie, concordante con las densidades encontradas en las primeras etapas de invasión (Taylor & Hastings, 2005). El tiempo de experimentación (3 horas) fue propuesto debido a la finalidad de captar las respuestas en los primeros momentos de interacción, ya que los peces pueden responder rápidamente a los cambios bióticos y abióticos (Morse *et al.*, 2013). Además, se realizaron experimentos pilotos de mayor duración (12, 24 y 96 horas) y no se encontró ningún invertebrado al interior de los peces, probablemente por las altas tasas de digestión de Poeciliidae (Potts, 1998).

Luego de los experimentos, se les practicó eutanasia a los peces y fueron almacenados en formaldehído para su posterior análisis. Se midió el peso total y la longitud estándar de cada individuo y se extrajeron las vísceras para analizar su contenido (primer tercio del intestino). El contenido se colocó en un portaobjetos cuadrículado, se siguió el protocolo descrito por Zandona *et al.* (2011) y se identificaron los taxones de invertebrados hasta el nivel más bajo. Se identificaron las áreas de la lámina cuadrículada ocupada por invertebrados, algas y detritus. Para las diatomeas, se procedió a separar en clases de tamaño de media conocida. Finalmente, posterior a retirar los peces, el agua y el sustrato se filtraron a través de una malla de 250 μm y las muestras se procesaron bajo un microscopio de disección para identificar los macroinvertebrados y estimar su abundancia. Sólo se incluyeron en los análisis los taxones de macroinvertebrados encontrados en el contenido intestinal de los peces.



- c) Experimento de laboratorio: Para evaluar la eficiencia alimentaria, se realizó la medición del consumo de invertebrados y las tasas de ataques individuales de guppys y *P. harpagos* en acuarios. Para esto, se utilizaron tanques de 17 litros sin sustratos ni ninguna otra estructura ambiental. Los ensayos de alimentación se realizaron con peces individuales, y se probaron un total de 12 guppys y 12 *P. harpagos* de tamaño similar. Se utilizaron larvas de Chiromidae como presa para el experimento, debido a que este grupo es muy común en el medio ambiente, muy nutritivo y preferido por los peces Poecílidos (Zandona *et al.*, 2011). Previa a los ensayos, los individuos se mantuvieron aislados y en ayunas durante 24 horas. Las pruebas se realizaron por un pez a la vez. Al comenzar el ensayo se utilizó un tubo plástico de 15 cm de largo colocado dentro del tanque para introducir 20 larvas con la ayuda de una pipeta. Los ensayos duraron 10 minutos cada uno y fueron grabados con una cámara digital. La tasa de consumo se calculó como el número de larvas consumidas en los 10 minutos de ensayo. La tasa de ataque se consideró como el número de ataques (éxitos y no exitosos) realizados en el ensayo de 10 minutos.
- d) Análisis de datos: Mediante un análisis exploratorio no se encontró ningún efecto significativo al probar la longitud estándar como covariables en los modelos lineales de los experimentos de mesocosmos y laboratorio. A su vez, tampoco se observaron diferencias significativas en la longitud estándar de los peces entre las especies de los experimentos, por lo que se eliminó la longitud estándar de los modelos.
- i. Experimento de mesocosmos: Se realizó un modelo lineal de efectos mixtos para comprobar las diferencias en la dieta entre las dos especies y los tratamientos. Se elaboraron cuatro modelos diferentes utilizando el área total de cada recurso alimenticio (invertebrados, diatomeas, detritus) y el área total de los elementos consumidos como variables respuesta, los tratamientos (2 niveles, solos y juntos) y las especies (2 niveles, "*P. reticulata*" y "*P. harpagos*") como variables predictoras fijas, y la identidad del mesocosmos como factor aleatorio. También, se realizó un PERMANOVA para probar las diferencias multivariadas entre especies y tratamientos en la similitud de la dieta basada en el índice de Bray-Curtis. Este análisis tiene como hipótesis nula que no hay diferencias en los centroides de los grupos (Anderson *et al.*, 2008). Por otro lado, como las diferencias en los centroides también pueden ser causadas por la varianza entre grupos, se realizó un PERMIDSP para evaluar la diferencia de dispersión en el espacio de ordenación entre especies y tratamientos. Se realizó un Análisis de Coordenadas Principales (PCoA) para observar los grupos de individuos según su dieta en el espacio de ordenación multivariante. No se incluyó



el detritus en los análisis, debido a que no está claro si su consumo es intencionado o no.

Se realizaron dos modelos lineales generalizados (GLM) con distribución de error cuasi-Poisson para evaluar las diferencias en la abundancia de invertebrados en los mesocosmos al final de los experimentos (variable respuesta) entre los cuatro tratamientos (variables predictoras fijas).

- ii. Análisis de laboratorio: Se realizaron dos pruebas de t para evaluar las diferencias en las tasas de consumo y de ataque entre las dos especies, utilizando las tasas de consumo y de ataque como variables respuesta y las especies como variables predictoras.

Todas las pruebas fueron realizadas con el programa R (R Core Team, 2014).

Resultados:

- a) Experimento de mesocosmos: Se encontraron larvas de Chironomidae, Culicidae y Odonata en los intestinos de ambas especies. No se evidenciaron diferencias significativas entre la cantidad de diferentes alimentos consumidos entre las dos especies, entre los tratamientos “solos” y “juntos” o para la interacción entre especie y tratamiento. A su vez, tampoco se encontraron diferencias en la cantidad total de alimento consumido entre las dos especies, entre los tratamientos o para la interacción entre especie y tratamiento.

El PERMANOVA no entregó ningún efecto en la interacción entre la especie y el tratamiento en la dieta de los peces, pero sí una diferencia significativa entre las especies y los tratamientos. Las dos especies y los dos tratamientos se diferenciaron en relación a la dispersión de los individuos (variabilidad intraespecífica de la dieta) y también en la localización del espacio multidimensional (dieta global). El PERMDISP entregó una diferencia significativa en la dispersión entre los dos tratamientos, demostrando diferencias en la variabilidad intraespecífica de la dieta entre los tratamientos para ambas especies. Para el tratamiento “juntos” se observó una reducción de la distancia media al centroeide en comparación con el tratamiento en el que las dos especies estaban separadas, donde la variabilidad intraespecífica fue mayor. Sin embargo, no se observaron diferencias significativas en la dispersión multivariada de los datos de la dieta entre las dos especies, lo que refleja que ambas especies presentaron niveles similares de variabilidad intraespecífica de la dieta.



Por otro lado, se observó que las diferencias intraespecíficas fueron más importantes que las interespecíficas al explicar los patrones dietéticos dentro de los tratamientos (94,61 % y 5,38 %, respectivamente). A su vez, se observó que la variabilidad intraespecífica también fue más importante para explicar los patrones dietéticos de ambas especies independiente del tratamiento, correspondiendo al 95,71 % de la variabilidad de la dieta.

Finalmente, no se evidenciaron diferencias significativas entre los tratamientos en relación a la abundancia de invertebrados en los mesocosmos al final del experimento.

- b) Experimento de laboratorio: Se evidenciaron diferencias significativas en las tasas de consumo entre las especies, siendo *P. harpagos* la especie con mayores tasas de consumo en comparación a *P. reticulata*. Finalmente, no se evidenciaron diferencias significativas en el análisis de las tasas de ataque.

Conclusión:

Este estudio fue uno de los primeros en demostrar la relevancia de incorporar una perspectiva individual en el estudio de las primeras interacciones durante los procesos de invasión. Si bien no se demostró una superioridad de los guppys en el consumo de recursos de alta calidad, el análisis de la dieta a nivel individual puede ser una herramienta prometedora para captar los efectos a escala fina en el proceso de primera interacción entre especies nativas e invasoras. Los patrones intraespecíficos podrían conducir a efectos perjudiciales sobre las especies nativas más adelante en el proceso de invasión. Sin embargo, aún no está claro en qué momento el mecanismo permite a los guppys convertirse en invasores exitosos, lo cual podría depender del contexto. Se propone que los estudios futuros evalúen otros aspectos ecológicos y una escala más fina de la competencia.

Estudio:

Amaral, J. R., Manna, L. R., Mazzoni, R., Neres-Lima, V., Marques, P. S., El-Sabaawi, R. W., & Zandonà, E. (2021). Testing the short-term effects of a fish invader on the trophic ecology of a closely related species. *Hydrobiologia*, 848(9), 2305-2318.

Ejemplo 2:

Ventaja de campo: el cangrejo de río nativo (*Pacifastacus leniusculus*) consume más que los cangrejos de río recién introducidos para el caracol misterioso chino invasor (*Bellamyia chinensis*)



Objetivo:

Estudiar cómo el cangrejo nativo (*Pacifastacus leniusculus*) y los cangrejos invasores *Procambarus clarkii* y *Orconectes virilis* utilizan una nueva presa, el caracol no nativo *Bellamya chinensis*.

Diseño experimental:

- a) Especies de estudio: El cangrejo *P. leniusculus* es un cangrejo de río nativo de la región noroeste del Pacífico de Estados Unidos y Canadá y ha sido ampliamente introducido en el oeste de Norteamérica, Japón y en más de 20 países de Europa (Usio *et al.*, 2007). El cangrejo *P. clarkii* es el cangrejo de río invasor más extendido en Estado Unidos y el mundo y se caracteriza por un comportamiento altamente agresivo. El cangrejo *O. virilis* tiene una amplia distribución natural en el centro de América del Norte, ha sido ampliamente introducido en Estados Unidos y ocasionalmente en Europa (Hobbs *et al.*, 1989), sus impactos están pocos estudiados en comparación con otros cangrejos de río invasores, pero se han descrito efectos de reducción de biomasa y biodiversidad de macrófitos a causa de su presencia. Por otro lado, el caracol *Bellamya chinensis* es un caracol vivíparo de gran tamaño (60 mm de altura máxima de la concha), es nativo del este y el suroeste de Asia, se ha distribuido en al menos 27 estados de Estados Unidos y se ha determinado que puede generar un impacto significativo en los sistemas invadidos (Johnson *et al.*, 2009).
- b) Animales experimentales: Los animales utilizados para este estudio fueron colectados en lagos al oeste de Washington, Estados Unidos. Se tomaron muestras de cangrejos de río en la zona litoral utilizando trampas Gee modificadas, cebadas con comida seca para perros, y *B. chinensis* fue colectado por buceo. Las especies de cangrejos de río se colectaron en lagos separados que no contenían otras especies de cangrejos de río pero que si albergaban *B. chinensis*. Por lo tanto, todos los cangrejos tenían algún historial de contacto con los caracoles, pero se desconoce el tiempo de exposición. Los caracoles fueron obtenidos de un lago donde existían ejemplares de *P. leniusculus* y *P. clarkii*, por lo tanto, tenían experiencia previa con estos depredadores.

Los cangrejos fueron llevados al laboratorio de la Universidad de Washington y fueron alojados separados por especies en seis tanques interiores aireados (dos tanques por especies) con un flujo constante de agua de río. Todos los tanques contenían bloques de hormigón para proporcionar refugio, y los cangrejos de río fueron alimentados con atún enlatado diariamente hasta 72 horas previas a comenzar el experimento de consumo y hasta 24 horas antes del experimento de manipulación. Se midió la longitud del caparazón, la longitud de la quela y se



determinó el sexo de todos los cangrejos de río. En los experimentos se utilizaron exclusivamente animales con quelas intactas y patas para caminar. La altura del caparazón de *B. chinensis* fue medido desde el ápice hasta la inflexión basal de la abertura.

- c) Experimentos de consumo: Se realizó un experimento para cuantificar la magnitud del consumo de caracoles de diferentes tamaños por parte de los cangrejos de río. Para esto, se utilizaron mesocosmos de interior de 0.18 m², tamaño seleccionado para asegurar altas tasas de encuentro de todos los caracoles, se utilizó un sistema de fotoperiodo (14:10) y una temperatura de agua de entre 20,7 y 21.1 °C. Estos mesocosmos fueron cubiertos con 5 kg de grava gruesa y se llenaron con agua directamente del lago. En cada mesocosmos se añadieron 17 individuos de *B. chinensis* correspondiendo a 10 pequeños (10-14 mm), 5 medianos (15-22,9 mm), 1 grande (23-29,9 mm) y 1 extragrande (30-39,9 mm); distribución de tamaños que es representativa de las poblaciones lacustres en su área de distribución invadida. Posteriormente se asignó aleatoriamente cada mesocosmos a alguno de los siguientes tratamientos: sin cangrejos, un *P. leniusculus*, un *O. virilis* o un *P. clarkii*, incluyendo ocho réplicas por tratamiento (siete machos y una hembra por especie, basado en la disponibilidad de cangrejos en el río). Estos cangrejos fueron agregados al mesocosmos 1 hora posterior a los caracoles y se realizó un experimento de tiempo fijo de 40 horas, tiempo basado en las tasas de alimentación en ensayos preliminares. Al finalizar el experimento, se vació el agua y se enumeraron y midieron las alturas y masas de todos los caracoles.

Para analizar la diferencia en la proporción de caracoles consumidos en las clases de tamaño entre los tratamientos de cangrejos se utilizó un análisis multivariado de la varianza (MANOVA). Posterior a confirmar la significación del MANOVA, se aplicó un análisis de covarianza (ANCOVA) por separado para cada clase de tamaño de caracol con el fin de comprobar las diferencias en la proporción de caracoles consumidos entre las especies de cangrejo de río, utilizando como covariable la longitud del caparazón, la longitud de la quela o el ancho de la quela. No se encontraron efectos significativos de las covariables, por lo que se presentaron los resultados de los ANOVAs y las pruebas de comparación post-hoc de Fisher.

- d) Experimento sobre el tiempo de manipulación: Se cuantificó el tiempo de manipulación de las diferentes clases de tamaños de *B. chinensis* a través de observación directa bajo luz roja. Se utilizaron acuarios de 38 litros, se ofreció un solo caracol de cada clase de tamaño a un solo cangrejo de cada especie, y se calculó el tiempo total que le tomó al cangrejo romper la concha y consumir el tejido. Cada uno de estos experimentos tuvo una duración máxima de 120 minutos. Se realizaron 10 pruebas repetidas para cada combinación de clase de cangrejo y



tamaño. El orden de los experimentos por tamaño fue de pequeño, mediano, grande y extragrande, y los cangrejos fueron reutilizados en cada ensayo, cada cambio de tamaño de presa tuvo un intervalo de 24 horas para que los cangrejos se mantuvieran en ayunas. Se utilizaron seis machos y cuatro hembras en el caso de *P. leniusculus* y 10 machos para *O. virilis* y *P. clarkii*.

Para los ensayos en los que se consumieron caracoles se calculó el tiempo de manipulación (h) y el valor de la presa de caracol (v) como peso seco del tejido del caracol consumido por segundo de manipulación: $v = M/h$, siendo M la masa seca del tejido. La masa de tejido seco libre de concha se calculó a partir de una regresión derivada de la masa seca libre de concha [masa (g) = 0.0001 longitud $^{2.5606}$, $r^2 = 0.967$, $P < 0.001$, $n = 30$]. La frecuencia de consumo obtenida de estos experimentos proporcionó información adicional sobre la selectividad del tamaño del caracol examinada en el experimento anterior. Se utilizaron MANOVAS para determinar las diferencias en el tiempo de manipulación de las clases de tamaño entre los tratamientos con cangrejos. Luego de confirmar la significación del MANOVA, se realizaron ANCOVAs separados para cada clase de tamaño de caracol con la finalidad de comprobar las diferencias en los tiempos de manipulación entre las especies de cangrejo, agregando como covariables la longitud del caparazón, la longitud de la quela o el ancho de la quela. No se encontraron efectos significativos de las covariables, por lo que se presentaron los resultados de los ANOVAs y las pruebas de comparación post-hoc de Fisher. No se encontraron diferencias significativas en el tiempo de manipulación entre machos y hembras de *P. leniusculus* para las clases de tamaño pequeño y medio. Las relaciones entre la longitud del caracol y el tiempo de manipulación se ajustaron según la función $h = bL^c$ (que representa la relación esperada basada en experimentos previos de preferencia por el tamaño del caracol). Se probaron funciones lineales y no lineales para la relación entre la longitud del caracol y el valor de la presa.

Resultados:

Los cangrejos de río mostraron una fuerte selectividad sobre tamaño en su comportamiento de consumo de *B. chinensis*. Los animales experimentales consumieron una media del 51% y el 21% de los caracoles pequeños y medianos, respectivamente. Por otro lado, los cangrejos sólo depredaron el 9% de la clase de tamaño grande y el 17% del tamaño extragrande. Se establecieron diferencias significativas en el consumo de especies de la clase de tamaño pequeño, donde todas las especies de cangrejos consumieron más que la mortalidad natural en el tratamiento sin depredadores (0% de mortalidad para todas las clases de tamaño). *P. leniusculus* y *O. virilis* consumieron el doble de caracoles en comparación a *P. clarkii*. Para la clase de tamaño medio se observaron patrones de



consumo similares. No se observaron efectos significativos del tratamiento para los caracoles grandes y extragrandes, aunque si bien *P. leniusculus* y *O. virilis* consumieron este tipo de caracoles, *P. clarkii* siempre los rechazó.

Las observaciones del tiempo de manipulación demostraron que los cangrejos manipularon a *B. chinensis* utilizando su primer par de patas (y quelas para los caracoles de mayor tamaño) y aplastaron la concha en la abertura utilizando sus maxilípedos y mandíbulas. La proporción de caracoles de diferentes tamaños que fueron manipulados y consumidos se correspondió estrechamente con los resultados del experimento de consumo; en todos los casos los cangrejos se ríó manipularon con mayor frecuencia los caracoles más pequeños. La única excepción fue *P. leniusculus* quien manipuló y consumió caracoles de tamaño medio en el 50% de los ensayos.

Los tiempos de manipulación de los caracoles por parte de los cangrejos oscilaron entre 2 minutos para los más pequeños y 55 minutos para el caracol más grande. El tiempo medio de manipulación para las clases de tamaño fue de $8,4 \pm 6,8$ min (pequeños), $17,1 \pm 10,9$ min (medianos), $31,9 \pm 15,3$ min (grandes) y $40,5 \pm 20,5$ min (extragrande). Las especies de cangrejos mostraron diferencias significativas en sus tiempos de manipulación de *B. chinensis* en relación a las clases de tamaño. El tiempo de manipulación de los caracoles pequeños varió significativamente entre los tratamientos de cangrejo; el tiempo medio de manipulación y consumo fue significativamente menor para *P. leniusculus* y *P. clarkii* en comparación con *O. virilis*. A su vez, los caracoles de tamaño medio fueron manipulados durante diferentes tiempos entre especies, siendo menor entre *P. leniusculus* y *P. clarkii* en comparación con *O. virilis*. No hubo diferencias en los tiempos de manipulación de los caracoles de tamaño grande entre *P. leniusculus* y *O. virilis*; y *P. clarkii* no lo manipuló. El tiempo de manipulación aumentó de forma no lineal con el tamaño del caracol para *P. leniusculus* y *O. virilis*, pero mostró una relación no significativa para *P. clarkii*. *P. leniusculus* manipuló (y consumió) caracoles pequeños más rápidamente en comparación con *O. virilis*, pero esta diferencia disminuyó con el aumento del tamaño del caracol y ambas especies tuvieron tiempos de manipulación iguales cuando los caracoles se aproximaron a 30-35 mm de longitud.

El valor de la presa (peso seco del tejido del caracol consumido por tiempo de manipulación) difirió entre las clases de tamaño; las clases de tamaño pequeño y extra grande tuvieron valores de presa más altos para *P. leniusculus*, mientras que el valor de la presa fue más alto para la clase de tamaño grande para *O. virilis*. No se observaron diferencias entre clases de tamaño pequeño y mediano para *P. clarkii*. La rentabilidad de las presas varió con la longitud del caracol y mostró una relación consistente en todas las especies de cangrejos. En general, los caracoles de menor tamaño y los más grandes fueron más rentables. En particular, los caracoles pequeños fueron más rentables para *P. leniusculus* nativo en comparación con el *O. virilis* y el *P. clarkii* invasores.



Conclusión:

Los resultados de estos experimentos demuestran que el caracol *B. chinensis* representa un nuevo recurso de presa tanto para los cangrejos nativos como para los invasores, a pesar de su gran tamaño y su grueso caparazón. A su vez, se puede inferir un mayor consumo de este caracol por parte del cangrejo nativo, en comparación a los invasores.

Estudio:

Olden, J. D., Larson, E. R., & Mims, M. C. (2009). Home-field advantage: native signal crayfish (*Pacifastacus leniusculus*) out consume newly introduced crayfishes for invasive Chinese mystery snail (*Bellamya chinensis*). *Aquatic Ecology*, 43(4), 1073-1084.

5.8.2.4 Análisis de riesgo asociado a la importación de especies hidrobiológicas:

Ejemplo 1:

Herpes Virus de la Carpa Koi: Una revisión de los riesgos de la acuicultura en India

Objetivo:

Realizar un análisis preliminar del riesgo asociado al Herpesvirus de la Carpa Koi en el marco de la importación de carpas en la India.

Diseño:

- a) Análisis bibliográfico: Se realizó un análisis bibliográfico de carácter descriptivo de distintos aspectos asociados al Herpesvirus de la Carpa Koi. (KHV) Lo anterior, abarcando los siguientes aspectos asociados a (1) Descripción del KHV: Taxonomía del virus; estructura del virión; genoma viral; genotipos; análisis proteómico; estabilidad física; latencia en el hospedero y propagación viral; y (2) a la Herpesvirosis de la Carpa Koi: hospederos susceptibles; signología clínica y cambios celulares; transmisión; métodos diagnósticos; detección molecular; detección de antígenos/anticuerpos; vacunación contra KHV.



b) Análisis de riesgo:

- i. Situación actual en el país: Revisión de la literatura asociada al estado actual del KHV en la India.
- ii. Evaluación de la introducción: Descripción de los factores asociados a la probabilidad de introducción del KHV a través de la introducción a la India de capas comunes y carpas koi
- iii. Evaluación de la exposición: Descripción de las vías de exposición identificadas, en caso de que el virus entre al país, para establecimientos de acuicultura y aguas naturales.
- iv. Evaluación de las consecuencias: Descripción de las consecuencias asociadas al establecimiento de KHV en la India.

Resultados:

El KHV es un virus que afecta gravemente a ciprínidos como la carpa común y su subespecie la carpa koi, generando un cuadro de nefritis intersticial y necrosis branquial (Gray *et al.*, 2002). El diagnóstico de este patógeno se realiza principalmente mediante un análisis de PCR utilizando partidores específicos (Bercovier *et al.*, 2005; Gilad *et al.*, 2002). Por otro lado, este patógeno se caracteriza por generar una infección latente, la que es dependiente de la temperatura, por lo que a menudo no se detectan los peces portadores, pudiendo generar una propagación de la enfermedad (12).

Por su parte, la evaluación preliminar del riesgo identificó que los ciprínidos contribuyen en gran medida a la producción acuícola de agua dulce en la India, siendo la carpa común la especie principal. A su vez, si bien el KHV está ampliamente distribuido en países cercanos a la India, nunca se ha informado un caso confirmado dentro de este país. Lo anterior, respaldado por un estudio previo realizado en 4 regiones del país donde no se detectó presencia del patógeno.

El análisis de introducción determinó la existencia de tres factores asociados al riesgo de introducción de KHV a través de la importación de carpas comunes y carpas koi, siendo estos (a) la enfermedad se reporta en una gran cantidad de países del sudeste asiático de donde son principalmente importados estos peces; (b) el diagnóstico de este patógeno requiere de técnicas moleculares asociadas a un alto conocimiento técnico, por lo cual puede no ser notificada en los países



exportadores y (c) el KHV puede generar infecciones latentes en especies susceptibles sin mostrar signología evidente, pudiendo no ser detectada en este tipo de infección o en una fase inicial. En relación a lo anterior, se determinó que la probabilidad de que el KHV entre a la India es alta en ausencia de una cuarentena pre y post frontera adecuada.

La evaluación de la exposición determinó que si el patógeno logra entrar al país podría llegar a establecimientos de acuicultura o a aguas naturales mediante distintas vías de exposición, teniendo en cuenta los siguientes factores:

a) Establecimientos de acuicultura:

- i. Por lo general los peces son capaces de mostrar signología clínica a una temperatura admisible y sólo la importación de un pez importador podría no ser detectada e iniciar una infección en un pez susceptible en un centro de cultivo.
- ii. La latencia está determinada por la temperatura, por lo que los peces portadores supondrían un riesgo de iniciar un riesgo a otros peces susceptibles sólo en el caso de encontrarse a una temperatura permisiva.
- iii. El virus permanece activo durante al menos 4 horas y se observa una reducción significativa del título infeccioso de KHV en un plazo de 3 días en muestras de agua ambiental o sedimento a 15 °C. De esta forma, en países tropicales como la India se observaría una reducción en la supervivencia del virus, en comparación a países templados fríos.

En relación a lo anterior es posible suponer que el riesgo de que un pez portador propicie la infección en un pez susceptible criado en temperatura más cálida sería moderado.

b) Aguas naturales:

- i. Escape de peces importados a aguas naturales: El principal uso de las carpas koi es para el mercado ornamental. En relación a esto, existe una pequeña probabilidad de que peces infectados o portadores asintomáticos escapen de los establecimientos de cultivo a la naturaleza, pudiendo además ser liberados por parte de los usuarios finales debido a una serie de creencias étnicas o religiosas.



- ii. Presencia de hospederos susceptibles y temperatura de agua admisible: El KHV tiene un rango de temperatura muy estrecho y sólo las carpas koi y las carpas comunes son hospederos naturales de KHV. Por su parte, las aguas naturales de la India son comparativamente más cálidas y tienen poblaciones limitadas de hospedadores, por lo que la probabilidad de que peces susceptibles estén expuestos a una dosis suficiente del virus es baja.

En relación a lo anterior se determinó que existe una baja probabilidad de que el KHV llegue a aguas naturales y cause infección en hospederos susceptibles.

La evaluación de las consecuencias determinó que, si bien el KHV es altamente contagioso, su morbilidad y mortalidad se limita a las carpas koi y comunes. En este sentido, considerando que la carpa koi es cultivada por la creciente industria ornamental, el establecimiento de este virus causará graves pérdidas económicas. A su vez, la carpa común representa aproximadamente el 20% de la producción acuícola nacional (FAO, 2005), pudiendo acrecentar el efecto económico. Finalmente, se señala que la presencia de KHV en aguas de la India podría tener efectos negativos en las exportaciones de aletas en el mercado internacional.

Conclusión:

Se sugiere que el riesgo asociado a la presencia del Herpes Virus de la Carpa Koi es mayor en un escenario de importaciones sin restricciones, pudiendo afectar en mayor medida a la acuicultura en comparación a las aguas naturales. En relación a lo anterior, se considera necesario desarrollar capacidades de diagnóstico y llevar a cabo un programa de vigilancia para este virus en la India.

Estudio:

Rathore, G., Kumar, G., Raja Swaminathan, T., & Swain, P. (2012). Koi herpes virus: a review and risk assessment of Indian aquaculture. *Indian Journal of Virology*, 23(2), 124-133.

Ejemplo 2:

Evaluación cualitativa del riesgo de introducción de larvas de anisákidos en centros de cultivo de salmón del Atlántico (*Salmo salar*) y comercialización de productos con nemátodos viables.



Objetivo:

Realizar una adaptación del enfoque general de la OMSA para la evaluación de riesgos de importación de especies animales y productos de origen animal para investigar formalmente la posibilidad de que los nemátodos zoonóticos vivos representen un riesgo para la salud humana en el salmón del atlántico.

Diseño experimental:

El diseño experimental contempló las directrices de la OMSA (OIE, 2010), referidas a la identificación del peligro, la evaluación de la introducción, evaluación de la exposición y la evaluación de las consecuencias. Sin embargo, debido al propósito de este estudio no se contemplaron las consecuencias de la comercialización de los peces infectados. En relación a lo anterior, la pregunta sobre el riesgo a evaluar fue “¿Cuál es la probabilidad de que un salmón del Atlántico (*Salmo salar*) cosechado en un centro de cultivo tradicional esté infectado por al menos un nemátodo del género *Anisakis*, y que posteriormente se comercialice para el consumo humano?”.

Se diseñaron e identificaron diferentes vías que describen la secuencia de acontecimientos suficientes y necesario para la introducción del parásito a un centro de cultivo y se evaluaron las probabilidades de introducción para cada vía teniendo en cuenta las prácticas de manejo del salmón del Atlántico. Para evaluar los riesgos, se utilizaron los criterios cualitativos propuestos por Kahn et al., 1999.

Se revisaron y discutieron cada una de las características biológicas y epidemiológicas asociadas a los parásitos anisakidos, junto con las prácticas de bioseguridad aplicadas en los centros de cultivo, para de esta forma asignar las probabilidades de cada paso en cada vía identificada. Toda la información analizada fue obtenida de información científica, expertos e informes públicos. Para cada vía se combinaron las probabilidades asignadas en cada evento y de esta forma se obtuvo el riesgo global asociado a la introducción del parásito a los centros de cultivo y su posterior comercialización. Las estimaciones de riesgo se expresaron como las probabilidades acumulativas obtenidas combinando las estimaciones cualitativas de las entradas según la matriz de probabilidades condicionales presentadas.

Para evitar el exceso de confianza en los resultados e interpretaciones erróneas, se llevó a cabo una evaluación de la incertidumbre que rodea cada estimación y se expresó como alta, moderada o baja. Finalmente, con respecto a las incertidumbres, se consideró de forma conservadora la peor estimación entre los factores de riesgo a lo largo de las etapas de las vías expuestas.



Resultados:

En relación a la búsqueda y análisis de antecedentes, se logró identificar formalmente que los nemátodos del género *Anisakis* corresponden a peligros de interés. Luego, se determinó que el riesgo de introducción de *Anisakis* spp. A los centros de cultivo de salmón del atlántico está condicionado por las siguientes vías: (1) Introducción a través de juveniles de salmón del atlántico silvestres capturados para la producción en el centro de cultivo; (2) Introducción a través de alimentos contaminados con larvas viables de *Anisakis* spp.; (3) Introducción a través de salmones salvajes que han entrado accidentalmente en las jaulas; (4) Introducción a través de salmones escapados que han sido infectados en el mar y han vuelto a entrar en las jaulas y (5) Introducción a través de la ingestión de huéspedes infectados (detalles de las vías en el artículo). Cada una de estas vías fue detallada en función de sus posteriores vías de exposición y se les asignó el criterio cualitativo de probabilidad de ocurrencia.

La vía (1) no fue explorada debido a que el cultivo del salmón del atlántico es completamente cerrado y no contempla la captura de juveniles. La vía (2) no fue completamente explorada debido a que se consideró que su etapa 3 “El parásito sobrevive en la fábrica de piensos” fue categorizada como insignificante y con baja incertidumbre y por esta misma razón, las vías (3) y (4) no continuaron más allá de las etapas 2 “salmones infectados ingresan en la jaula” y 3 “Los salmones se escapan, se infectan y vuelven a entrar a las jaulas”, respectivamente.

Conclusión:

En este estudio se definió que las probabilidades acumuladas del riesgo de introducción de *Anisakis* spp. en centros de cultivo de salmón del Atlántico (y la comercialización de productos infectados) varía de Insignificante o Muy bajo, dependiendo de la vía evaluada. Estas estimaciones concuerdan con lo previamente descrito en literatura (Angot y Brasseur, 1993; Lunestad, 2003), quienes consideraron que la presencia de larvas vitales de anisákidos en el salmón de cultivo es un evento muy improbable. A su vez, si bien la probabilidad de la vía (5) “Introducción a través de la ingestión de huéspedes infectados” fue clasificada hasta su última etapa como muy baja, su incertidumbre fue descrita como alta. Finalmente, este estudio sólo consideró las vías de introducción plausibles en relación a la evaluación de introducción y exposición, no obstante, dado que el conocimiento científico puede ir generando nuevas aristas las cuales atender, no se puede demostrar que una vía concreta no existe, por lo cual siempre habrá un grado de incertidumbre.

Estudio:



Crotta, M., Ferrari, N., & Guitian, J. (2016). Qualitative risk assessment of introduction of anisakid larvae in Atlantic salmon (*Salmo salar*) farms and commercialization of products infected with viable nematodes. *Food Control*, 69, 275-284.

5.8.3. Metodología sugerida para definir el número de ejemplares empleados en los diferentes ensayos experimentales.

5.8.3.1. Conceptos claves.

Tamaño del efecto: Magnitud del efecto bajo la hipótesis alternativa; también definida como la magnitud absoluta de la diferencia entre los grupos a comparar. De esta manera, este parámetro da cuenta de la diferencia del promedio obtenido entre dos grupos de interés a comparar (Sullivan y Fein, 2012).

Una de las formas de calcular el tamaño del efecto, es utilizando el conocido Índice de Cohen (d), el cuál es la diferencia entre los promedios de dos grupos, divididos por su desviación estándar (s):

$$d = \frac{X_1 - X_2}{s}$$

De esta manera, d representa un contraste estandarizado que permite una fácil comparación (dentro y entre estudios) y el establecimiento de categorías de tamaño de efecto, las cuales, acorde a lo sugerido por Coe (2002) y Carson (2012) son: pequeño efecto (d entre 0,2 – 0,5), mediano efecto (d entre 0,5 y 0,8) y gran efecto ($d > 0,8$). Variantes de la forma de calcular el tamaño del efecto son atribuibles, principalmente, al enfoque estadístico a emplear, para los cuales se manejan a su vez diferentes umbrales para la detección de la magnitud del efecto (pequeño, mediano o grande). Un resumen de estos umbrales puede ser observados en la **Tabla 13**.



Tabla 13.

Umbral de referencia del tamaño del efecto de Cohen en función de diferentes pruebas estadísticas, tomado de Rhys, 2020.

Prueba estadística	Medida de tamaño del efecto	Umbral sugerido para la detección de la magnitud del efecto		
		Pequeño	Mediano	Grande
Prueba de t	d	0,20	0,50	0,80
ANOVA	f	0,10	0,25	0,40
Modelos lineales	f ²	0,02	0,15	0,35
Prueba de proporciones	h	0,20	0,50	0,80
Chi-cuadrado (x ²)	w	0,10	0,30	0,50

Potencia estadística: Probabilidad de rechazar correctamente la hipótesis nula, representando así la probabilidad de una real diferencia cuando esta existe (Cohen, 1992). De esta manera, la potencia estadística puede ser calculada como:

$$Potencia = 1 - \beta$$

Donde β representa la probabilidad de cometer Error Tipo II, que indica la probabilidad de no rechazar la hipótesis nula siendo esta falsa (falso negativo). Así, un valor de potencia de 0,8 se considera aceptable y puede ser utilizado como referencia (Ellis, 2010).

Nivel de significancia (α): Probabilidad de rechazar la hipótesis nula cuando ésta es verdadera (falsos positivos). También denominado como probabilidad de Error Tipo I.



5.8.3.2. Estimación del tamaño de la muestra.

Para la estimación de los tamaños de las muestras (n), es indispensable tener en consideración la prueba estadística a emplear y por lo tanto el diseño experimental de los ensayos. De esta manera, acorde a los ensayos detallados en la sección anterior (5.8.1), es que se lograron identificar herramientas estadísticas que permiten la estimación de los n . Principalmente, el programa G*Power (Faul *et al.*, 2007; Faul *et al.*, 2009) y los paquetes pwr (Champely, 2020), lmSupport (Curtin, 2018), simr (Green y MacLeod, 2016) y WebPower (Zhang y Mai, 2022) en R (R Core Team, 2014), ambos programas (G*Power y R) de distribución gratuita. La **Tabla 14** muestra las diferentes funciones en R que permiten la estimación de los n , pero a su vez, la estimación del poder estadístico a partir de un diseño experimental conocido. Esto sin desmerecer, que el programa “G*Power” presenta módulos que permiten el establecimiento de los mismos.

Los parámetros comunes a todas las pruebas estadísticas, corresponden a los conceptos presentados en la sección 5.8.3.1 (es decir, tamaño de efecto, poder estadístico y nivel de significancia). De esta manera, en el marco de ensayos experimentales con fines de internación de especies hidrobiológicas de primera importación, realizamos las siguientes recomendaciones a la hora de establecer el número de ejemplares a utilizar en las diferentes condiciones experimentales: *i*) establecer un tamaño de efecto que permita evidenciar desde efectos de entre pequeña y mediana magnitud (ver **Tabla 13**); *ii*) establecer la potencia estadística de mínimo 0,8; y *iii*) establecer el nivel de significancia estadística en $\alpha = 0,05$.

Tabla 14.

Funciones en R disponibles para el cálculo del n muestral y poder estadístico, en función del tipo de ensayo y prueba estadística a emplear.

Tipo de ensayo	Variable respuesta	Prueba estadística	R (paquete)	Parámetros adicionales ¹
<i>Ensayos de desafío/tolerancia</i>	Supervivencia	Tabla de contingencia	pwr.chisq.test (pwr)	df = grados de libertad
	Parámetros de tolerancia térmica y temperatura de preferencia	Modelos lineales generales (lm)	pwr.f2.test (pwr)	u = grados de libertad del numerador de F ² ; v = grados de libertad del denominador de F (n-2) ³



Tipo de ensayo	Variable respuesta	Prueba estadística	R (paquete)	Parámetros adicionales ¹
<i>Ensayos de cohabitación</i>	Supervivencia, presencia de conducta	Tablas de contingencia	pwr.chisq.test (pwr)	df = grados de libertad
	Número de vivos o muertos, número de veces que se presenta una conducta	Modelos lineales generalizados (glm)	modelPower (lmSupport)	u = grados de libertad del numerador de F ² ; v = grados de libertad del denominador de F (n-2) ³
	Tiempo de desarrollo de una conducta	Modelos lineales generales (lm)	pwr.f2.test (pwr)	u = grados de libertad del numerador de F ² ; v = grados de libertad del denominador de F (n-2) ³
<i>Mesocosmos al aire libre y en laboratorio</i>	Abundancia/Riqueza de las comunidades biológicas, productividad primaria, niveles de nutrientes	Modelos Lineales Generalizados Mixtos (glmm)	powerSim (Simr)	Modelo ajustado con glmer (estimación <i>a posteriori</i>)
	Estructura de las comunidades	Análisis Permutacional de Varianza Multivariado (PERMANOVA)	No disponible ⁴	
	Comunidades biológicas y variables ambientales	Análisis de correspondencias canónicas (CCA)	No disponible ⁴	
	Características fisicoquímicas y de nutrientes del agua	Análisis de varianza (ANOVA)	wp.kanova (WebPower)	ndf = grados de libertad del



Tipo de ensayo	Variable respuesta	Prueba estadística	R (paquete)	Parámetros adicionales ¹
				numerador de F ² ; ng = número de grupos

1. Parámetros adicionales a los indicados en la Tabla 13 y que deben ser utilizados como input en las funciones en R sugeridas. 2. Grados de libertad del numerador del valor de F en modelos lineales (número de grupos – 1). 3. grados de libertad del denominador de F (número total de individuos – 2). 4. Paquete de R no disponible para estimar el número de individuos por grupo o el tamaño del efecto acorde a la metodología indicada.

De manera complementaria, realizamos una simulación para evaluar cómo cambiar el poder estadístico en función de diferentes números de ejemplares (n), bajo dos escenarios (**Figura 8**). El primer escenario (**Figura 8A**) corresponde a uno que permite la detección de un tamaño de efecto desde pequeña magnitud, para diferentes pruebas estadísticas; mientras que, el segundo escenario (**Figura 8B**), plantea uno que permite la detección de un tamaño de efecto desde mediana magnitud. En ambos casos, y para todas las pruebas estadísticas, se observa que el poder estadístico aumenta con el n, donde para el primer escenario se alcanza un poder estadístico de 0,8 con n = 554, n = 1090, n = 396 y n = 786, para diseños abordados a partir de modelos lineales generales (u = 3), tablas de contingencia (df = 3), modelos lineales generalizados (pc = 3, pa = 4) y ANOVA (ndf = 1, ng = 2), respectivamente. Sin embargo, en el segundo escenario, para alcanzar este mismo poder estadístico se requiere un n = 72, n = 121, n = 56 y n = 127, respectivamente.

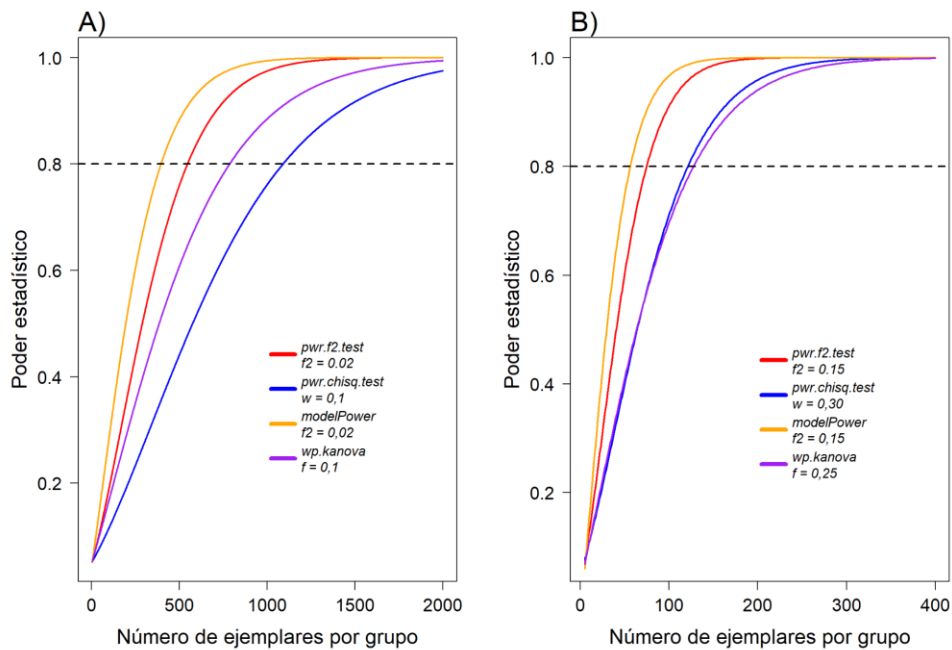


Figura 8.

Simulación del cambio de la potencia estadística en función del número ejemplares por grupo bajo dos escenarios de magnitud del efecto: A) pequeño efecto y B) mediano efecto, acorde a 4 enfoques analíticos diferentes: modelos lineales generales (rojo), tabla de contingencia (azul), modelos lineales generalizados (naranja) y ANOVA (morado).

Finalmente, es importante destacar que los valores estimados de n son sensibles a los parámetros adicionales, es decir, aquellos diferentes del tamaño del efecto, potencia estadística y nivel de significancia (listados en la **Tabla 12**). Por lo tanto, se recomienda generar este cálculo acorde a las características particulares de cada diseño experimental propuesto. En aquellos casos donde el número sugerido no sea posible ser abordado experimentalmente, se recomienda estimar el tamaño del efecto (con las mismas funciones enunciadas en la **Tabla 13**), manteniendo los parámetros de potencia = 0,8 y $\alpha = 0,05$, para de esta manera lograr una mejor interpretación de los resultados obtenidos.

Los resultados presentados en la sección 5.8.1 y 5.8.3, forman parte de los temas tratados en las reuniones generales N° 2 y N° 3; respectivamente, sostenidas entre el equipo de trabajo y la contraparte técnica de la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura, y cuyo detalle se indica en cada acta de la reunión que se presenta en el **Anexo 1** del actual documento.



5.9. Análisis de fortalezas y debilidades de las nuevas propuestas metodológicas para la primera importación de especies exóticas.

A partir de la revisión de las metodologías aquí revisadas y profundizadas, se realizó un análisis de fortalezas y debilidades (**Tabla 15**) en función de los atributos que se describen a continuación:

- Propuesta: Hace referencia a la propuesta metodológica a evaluar, de acuerdo a lo descrito en la sección 5.8
- Ámbito de aplicación: Hace referencia al ámbito sobre el cual aplicaría la nueva propuesta metodológica abordada, pudiendo ser ambiental, sanitaria, o ambas.
- Riesgo evaluado: Categoría de riesgo que permite ser abordado a partir de la aplicación de la nueva metodología propuesta, los cuales pueden ser: Sanitario, Ecológico, Genético o Ambiental.
- Aplicabilidad normativa: Factibilidad de implementación de la metodología propuesta acorde a lo indicado en el D.S. 730/95.
- Requerimiento de personal calificado: Grado de capacitación del personal requerido para la implementación y análisis de las metodologías sugeridas.
- Costos: Estimación cualitativa de los costos de implementación de la metodología sugerida, los cuales van acorde a los costos detallados en la sección 5.11. Estos costos sólo fueron estimados al presentarse una aplicabilidad normativa de moderada a alta. Aquellos con aplicabilidad normativa baja o muy baja, no fueron abordados, ya que representan metodologías de difícil aplicabilidad acorde al marco normativo vigente.
- Ventajas: Atributos considerados positivos, en función del ámbito de aplicación de la metodología sugerida, teniendo como foco principal el resguardo del patrimonio sanitario y ecológico del país.
- Desventajas: Atributos considerados negativos, en función del ámbito de aplicación de la metodología sugerida, teniendo como foco principal el resguardo del patrimonio sanitario y ecológico del país.
- Aplicabilidad de la propuesta: Grado de factibilidad de la aplicación de la metodología sugerida, considerando las ventajas y desventajas compiladas previamente, teniendo como foco principal el resguardo del patrimonio sanitario y ecológico del país. Se categoriza como alta, moderada o baja
- Ranking: Posición otorgada a la propuesta metodológica en función de los diferentes atributos evaluados.



Tabla 15.
Tabla comparativa de las diferentes propuestas de modificación.

Propuesta	Ámbito de aplicación	Riesgo evaluado	Aplicabilidad normativa	Requerimiento Personal calificado	Costos	Ventajas	Desventajas	Aplicabilidad de la propuesta	Ranking
Desafío de tolerancia	Sanitario	Sanitario	Muy baja ^a	Alto	No estimado ^b	1.- Su aplicación incrementa el patrimonio sanitario del país.	1.- Su aplicación sólo permite abordar el potencial riesgo sanitario de la especie a importar. 2.- Muy baja aplicabilidad normativa. 3.- Requiere personal altamente calificado para su planificación y/o ejecución.	Muy baja	6
	Ambiental	Ecológico	Alta	Medio	Medio	1.- Su aplicación incrementa el resguardo del patrimonio ecológico del país. 2.- No presenta limitaciones normativas para su implementación.	1.- Su aplicación sólo permite abordar el potencial riesgo ecológico de la especie a importar.	Alta	2
Ensayo de cohabitación	Sanitario	Sanitario	Muy baja ^a	Alto	No estimado ^b	1.- Su aplicación incrementa el patrimonio sanitario del país.	1.- Su aplicación sólo permite abordar el potencial riesgo sanitario de la especie a importar. 2.- Muy baja aplicabilidad normativa. 3.- Requiere personal altamente calificado para su planificación y/o ejecución.	Muy baja	6
	Ambiental	Ecológico	Alta	Medio	Medio-alto	1.- Su aplicación incrementa el resguardo del patrimonio ecológico del país. 2.- No presenta limitaciones normativas	1.- Su aplicación sólo permite abordar el potencial riesgo ecológico de la especie a importar.	Media-alta	3



Propuesta	Ámbito de aplicaci3n	Riesgo evaluado	Aplicabilidad normativa	Requerimiento Personal calificado	Costos	Ventajas	Desventajas	Aplicabilidad de la propuesta	Ranking
						para su implementaci3n.			
Mesocosmos	Ambiental (al aire libre)	Ambiental y Ecol3gico	Alta	Medio-alto	Alto	1.- Su aplicaci3n permite abordar el potencial riesgo ecol3gico y ambiental de la especie a importar. 2.- No presenta limitaciones normativas para su implementaci3n.	1.- Involucra un alto costo para su implementaci3n.	Media	4
	Ambiental (en laboratorio)	Ambiental y Ecol3gico	Alta	Medio-alto	Alto	1.- Su aplicaci3n permite abordar el potencial riesgo ecol3gico y ambiental de la especie a importar. 2.- No presenta limitaciones normativas para su implementaci3n.	1.- Involucra un alto costo para su implementaci3n.	Media	4
Análisis de riesgo asociado a la importaci3n de especies hidrobiol3gicas	Sanitario y Ambiental	Ambiental, Ecol3gico, Gen3tico y Sanitario	Alta	Medio-alto	Bajo	1.- Su aplicaci3n incrementa el patrimonio hidrobiol3gico del pa3s, considerando aspectos ambientales, ecol3gicos, gen3ticos y sanitarios. 2.- Involucra un bajo costo para su aplicaci3n.	1. No involucra experimentaci3n, por lo tanto, presenta mayor incertidumbre.	Alta	1

^a Los centros destinados para experimentaci3n de organismos hidrobiol3gicos con pat3genos en Chile presentan restricciones establecidas en marco del T3tulo VII del decreto 319 del 2001 (MINECOM).

^b Costos de implementaci3n no estimados debido a que s3lo se consideraron las propuestas que tuvieran una aplicabilidad normativa media, media-alta o alta.



La **tabla 15** presenta atributos que permiten identificar ventajas comparativas entre metodologías, priorizando su factibilidad de aplicación en el marco del proceso de primera importación de especies hidrobiológicas. En relación a esto, se presenta un ranking de metodologías, en donde las últimas no son sugeridas para su aplicación, principalmente, debido a las restricciones normativas que conlleva la experimentación con patógenos en Chile, lo que pondera estas metodologías (desafío sanitario y cohabitación sanitaria) como de muy baja aplicabilidad en el marco de una primera importación de organismos hidrobiológicos. Los ensayos de mesocosmos, si bien representan metodologías altamente informativas, permitiendo abordar el riesgo ambiental y ecológico, presenta altos costos para su aplicación. Adicionalmente, para la ejecución y análisis de estos ensayos es requerido personal calificado (medio-alto). Por estos motivos, la aplicabilidad de la propuesta es considerada como media y tanto los mesocosmos al aire libre, como en laboratorio, fueron ubicados en la posición 4 del ranking y se recomienda su aplicación, considerando aquellos atributos que podrían representar una desventaja comparativa frente a otras metodologías, principalmente los costos de aplicación que son a cargo del solicitante.

En la tercera posición del ranking se encuentran los ensayos de cohabitación ambiental (Tabla 10), los cuales presentan una aplicabilidad media-alta, debido a su moderado (medio-alto) valor de implementación, el personal requerido para ello. Además, su aplicación involucra restricciones normativas que dificulten su aplicación. Así mismo, los ensayos de desafío y/o tolerancia ambiental presenta las mismas ventajas descritas para los de cohabitación, pero al presentar menores costos para su implementación fue posicionada en el lugar 2 del ranking entregado.

Finalmente, los análisis de riesgo, al ser estudios de gabinete (no experimentales), presentan una alta factibilidad, un bajo costo y un requerimiento de personal con experiencia en este tipo de análisis, fueron ubicados en la primera posición del ranking. Sin embargo, se recomienda la complementación con estudios experimentales, excepto en aquellos casos de organismos con ciclos de vida complejos (por ejemplo, macroalgas).

5.10. Validación de nuevas propuestas metodológicas a través de taller de expertos.

En relación a la validación de las nuevas propuestas metodológicas elaboradas en el marco de los Estudios Sanitarios con Efectos de Impacto Ambiental, asociados al proceso de internación de especies hidrobiológicas de primera importación al país, con fecha 05 de agosto del 2022 se realizó un Taller de Expertos con la participación de 10 personas, entre representantes de la autoridad sectorial, investigadores de Universidades, y representantes tanto de empresas que realizaron solicitudes de importación de especies, como del Instituto de Fomento Pesquero.



La actividad permitió recopilar los comentarios y recomendaciones dados por los expertos, los que fueron incluidos como parte de las nuevas propuestas metodológicas de los estudios que se presentan en el presente informe.

La actividad se realizó de manera conjunta con la validación de las modificaciones propuestas a la actual normativa. De los representantes de IFOP, cabe lugar señalar que únicamente dos de ellos (Juan Carlos Quintanilla y Jaiber J. Solano) participaron de la presentación de los resultados relativo a las propuestas de modificación y de las nuevas propuestas metodológicas, en tanto que solo uno de ellos intervino en la discusión generada (Jaiber J. Solano) en el marco de las nuevas propuestas metodológicas, lo que finalmente permitió la validación de estas. Es importante hacer mención que tanto los representantes del SERNAPESCA como el académico de la Universidad Austral de Chile, Luis Vargas Chacoff, debieron excusarse a último minuto de participar en esta actividad. La premura de esta situación no permitió incorporar a otros expertos al proceso de validación de propuestas.

5.11. Evaluación de la factibilidad técnica y económica de las nuevas propuestas metodológicas al proceso y estudios asociados a la primera importación de especies exóticas.

5.11.1 Evaluación de factibilidad técnica de las nuevas propuestas metodológicas al proceso y estudios asociados a la primera importación de especies exóticas.

En relación con el análisis de la factibilidad técnica de implementación de las nuevas propuestas metodológicas de estudios al actual reglamento, su evaluación contempló el planteamiento de una serie de preguntas que se orientaron a identificar, por una parte, la capacidad que existe actualmente en el país para llevar a cabo la implementación de la infraestructura que se requiere para la ejecución de las propuestas metodológicas. Por otro lado, evaluaron la disponibilidad y acceso actual en el país a las tecnologías y equipamientos necesarios para realizar los estudios de la forma más adecuada posible, y la existencia de personal profesional debidamente capacitado requerido para implementar las nuevas metodologías propuestas en el marco de los estudios complementarios requeridos por la autoridad.

En la **Tabla 16** se detallan las interrogantes que fueron consideradas en la evaluación de la factibilidad técnica de implementación de las nuevas propuestas metodológicas de estudios al actual reglamento.

**Tabla 16.**

Aspectos considerados en la evaluación de la factibilidad técnica de la implementación de las nuevas propuestas metodológicas de estudios, al actual reglamento.

Interrogante	Desafío tolerancia térmica y temperatura de preferencia	Ensayo de cohabitación ecológica	Mesocosmos en laboratorio	Mesocosmos al aire libre
1- ¿Existe en Chile la capacidad de implementar la infraestructura requerida para la ejecución de la metodología propuesta?	Si	Si	Si	Si
2- ¿Existe en Chile el acceso a la tecnología y/o el equipamiento necesario para la implementación de la metodología propuesta?	Si	Si	Si	Si
3- ¿Existe en Chile el personal calificado, necesario para la implementación de la metodología propuesta?	Si	Si	Si	Si

En cuanto a la evaluación de factibilidad técnica realizada en la tabla anterior, es posible observar que la totalidad de las nuevas propuestas metodológicas de estudios son factibles de poder implementarse, disponiéndose en el país de la infraestructura requerida, de la tecnología y equipamiento necesario, y del recurso humano calificado para su implementación y ejecución. De esta forma, y considerando que las nuevas propuestas metodológicas tienen también como foco principal evitar el ingreso de especies exóticas y/o agentes patógenos causantes de enfermedades de alto riesgo sanitario, con el consecuente riesgo ambiental y sanitario que ello puede significar para el patrimonio biológico del país, es que se considera importante puedan ser incorporadas al actual reglamento de internación de especies hidrobiológicas. Adicionalmente, esto último deberá tener en consideración el nivel de complejidad de los estudios, el cual va incrementando desde los desafíos de tolerancia térmica y temperatura de preferencia hasta los estudios de mesocosmos, siendo estos últimos los que desde el punto de vista económico impliquen los mayores costos involucrados en su implementación (ver sección 5.11.2), por lo que su aplicabilidad y factibilidad económica pudiera ser baja, no obstante, se hace necesario que la autoridad competente pueda disponer de diferentes herramientas, las que puedan ser aplicadas, acorde a la especie a internar y objetivo de la importación, con el fin de cautelar la biodiversidad y patrimonio biológico del país.



5.11.2. Evaluación de factibilidad económica de las nuevas propuestas metodológicas al proceso y estudios asociados a la primera importación de especies exóticas.

Se efectuó una evaluación económica de los costos de la nueva normativa propuesta para el proceso de solicitudes de primera importación de especies exóticas, respecto de sus impactos directos como indirectos.

Para la caracterización de la propuesta, se realizó un diagrama de flujo, que considera los procesos que implican costos, algunos de los cuales son incrementales respecto del proceso actual.

Los detalles se pueden observar en la **Figura 9**.

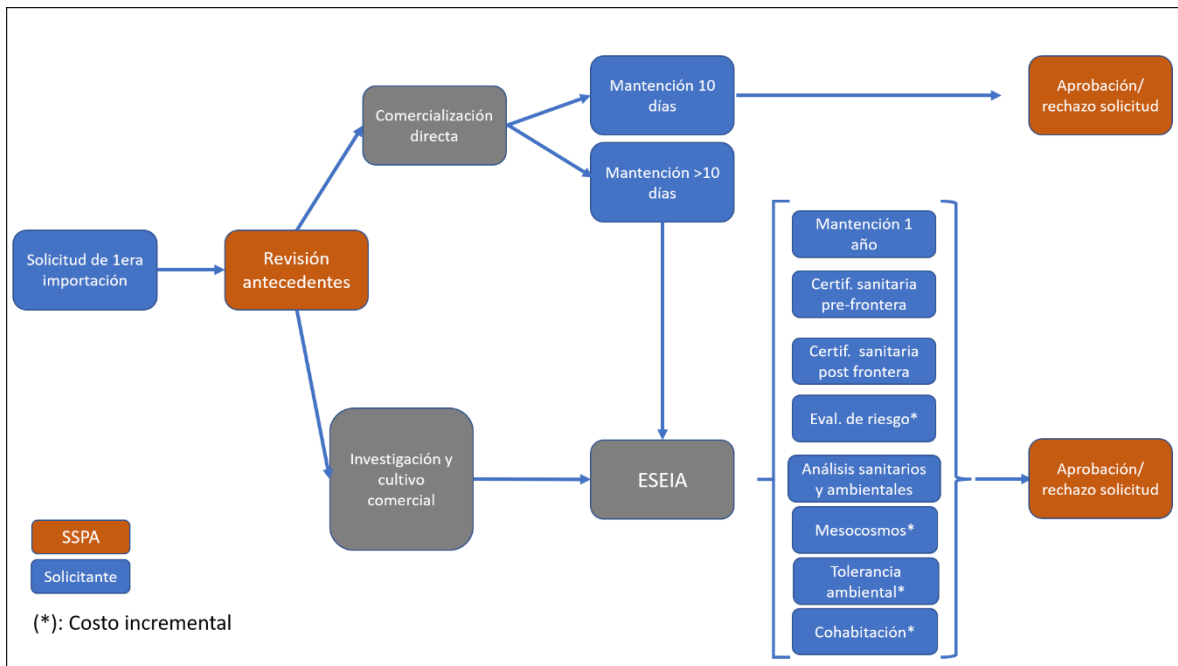


Figura 9.

Diagrama de flujo de actividades que implican costos en la nueva propuesta para el proceso de solicitudes de primera importación de especies exóticas que impliquen estudios sanitarios.

(*): Procesos que implican costos incrementales.

Identificación y valorización de costos directos

La propuesta de nuevos procesos asociados a las solicitudes de primera importación de especies exóticas, considera costos directos asociados a su cumplimiento.



Los costos de cumplimiento directo incluyen, entre otros, los gastos que deberán enfrentar las empresas o ciudadanos para cumplir con las obligaciones sustantivas o los requisitos contenidos en la norma legal.

Por otro lado, los costos de las nuevas cargas administrativas que soportaran las empresas o ciudadanos, y los funcionarios de las autoridades públicas como resultado de las actividades administrativas a realizar para cumplir con las obligaciones incluidas en las nuevas normas legales. Entre los costos directos de la aplicación de la nueva regulación propuesta, se han identificado los siguientes procesos:

- Evaluación de riesgo: Estudio de evaluación de los riesgos de ingreso de las especies solicitadas, sobre la base de antecedentes bibliográficos.
- Estudio de mesocosmos: Estudio que busca describir la respuesta de individuos, poblaciones, comunidades o ecosistemas frente a un determinado estímulo, conservando, en lo posible, la mayoría de las características bióticas y abióticas del sistema a evaluar.
- Estudio de tolerancia ambiental: Estudio que busca verificar la respuesta de un individuo o grupo de individuos de la misma especie expuestos a un determinado estímulo.
- Estudio de cohabitación: Estudio que permiten medir la respuesta de un grupo de organismos al ser expuestos en un mismo ambiente (espacio físico) con otro grupo de diferentes características con o sin contacto físico entre ellos.
- Elaboración de informes de los nuevos requerimientos: Asociado a las horas adicionales que debe incurrir el solicitante como parte de los nuevos requerimientos.

Respecto de las nuevas propuestas metodológicas desarrolladas, aquella asociada a desafíos ambientales, consideró un estudio con una duración de 2 meses, en tanto que las nuevas propuestas metodológicas relacionadas con estudios de cohabitación y estudios de mesocosmos, consideraron ambos estudios con una duración de 3 meses. Para los tres tipos de estudios mencionados anteriormente, se contempló una especie exótica de pez en dos estadios de desarrollo. Adicionalmente, los ítems considerados en la valorización, correspondieron a requisitos de los casos revisados de solicitudes de primera importación previos, donde la autoridad solicitó la ejecución de estudios sanitarios complementarios para la internación de una especie hidrobiológica de primera importación.

Para la estimación del costo unitario de los ejemplares exóticos contemplados en los tres tipos de metodologías propuestas (alevines y juveniles), se consultó directamente con las empresas que realizaron este tipo de requerimiento, específicamente de aquellas que participaron respondiendo la desarrollada, quienes aportaron con la valorización de los individuos, tanto de ejemplares en estadio de alevín como juvenil, considerando valores de mercado al año 2022. En lo que respecta al costo de



los ejemplares de peces nativos, se estimó el valor unitario del ejemplar acorde a lo valorizado en capturas dirigidas de ejemplares nativos, realizadas en el marco del Programa Permanente de Investigación “Evaluación de la situación sanitaria de peces silvestres en agua dulce y mar”, que ejecuta el IFOP.

En relación a los costos operativos relativos a la valorización, instalación y mantención de estanques, y la instalación e implementación de los acuarios, contemplados en los tres tipos de metodologías propuestas, se consideraron valores de mercado al año 2022. Para el caso de los estanques, se estimaron los costos a partir de la información obtenida de proveedores a nivel nacional especializados en la instalación y montaje de hatcheries y equipamiento especializado para la mantención de organismos acuáticos. En lo referente a los acuarios, se estimaron los costos de los acuarios junto a su instalación e implementación a partir de las consultas realizadas a tiendas acuaristas de la Región de Los Lagos.

Para la valorización del personal capacitado, los tres tipos de metodologías propuestas consideraron un perfil de tipo profesional, con experiencia en investigación y ejecución de estudios experimentales. En este sentido, se consideró el valor de hora hombre (HH) de mercado al año 2022, teniendo como referencia los valores asociados al perfil de profesional que ha participado de la ejecución de estudios experimentales en el marco del Programa Permanente de Investigación “Evaluación de la situación sanitaria de peces silvestres en agua dulce y mar”, que ejecuta el IFOP. A su vez, se consideró un valor de HH mayor en el caso del estudio de desafío, asociado a la menor duración de este.

De forma específica, para la ejecución del estudio de desafío ambiental, se valorizó la implementación de la T° de preferencia, lo que contempló la adquisición de equipos tecnológicos (videocámaras, termocuplas y equipos termostatos) acorde a valores de mercado al año 2022, consultados a proveedores especializados en este tipo de equipamiento.

En lo que respecta al desafío de mesocosmos, se valorizó su implementación, caracterización de las comunidades biológicas y medición de variables ambientales. Para los primeros dos ítems, se realizó una valorización a través de la información entregada por empresas consultoras de la región, especializadas en este tipo de estudios. Finalmente, para estimar los costos de las variables ambientales, se consideró la misma valorización utilizada en las variables ambientales detalladas en las propuestas de modificación especificadas en el objetivo específico N° 2.

Mayor detalle referente a la valorización y justificación de los costos asociados a las nuevas metodologías propuestas mencionadas en los párrafos anteriores, se presentan en las tablas **17, 18 y 19** del presente documento.

**Tabla 17.**

Detalle de la valorización de los costos asociados al estudio de desafío ambiental (tolerancia ambiental).

Costos ejemplares	Total individuos	Valor unitario (\$)	Valor total (\$)
Especie etapa (100 gr)	25	4.200	105.000
Especie etapa juvenil (700 g)	25	8.100	202.500
Total			307.500

Costos operativos	Valor unitario (\$)	Unidades	Valor total (\$)
Estanques	300.000	1	300.000
Acuarios	80.000	2	160.000
Implementación acuarios	500.000	2	1.000.000
Personal capacitado (toma de datos)	1.600.000	2	3.200.000
Instalación de estanques	450.000	1	450.000
Instalación de acuario	40.000	2	80.000
Mantenión de estanques	150.000	1	150.000
Implementación T° preferencia	1.000.000	2	2.000.000
Total			7.340.000

Costo total estudio	7.647.500
----------------------------	------------------



Tabla 18.

Detalle de la valorización de los costos asociados al estudio de cohabitación.

Tipo estudio de cohabitación				
Selección de presa	Alevín sp. estudio	juvenil sp. estudio	Alevín sp. 2	Juvenil sp. 2
Alevín especie estudio (100 g)	10	0	0	0
Juvenil especie estudio (700 g)	0	10	0	0
Alevín especie 2 (100 g)	0	0	10	0
Juvenil especie 2 (700 g)	0	0	0	10

Competencia Trófica	Competencia alevín	Competencia juvenil
Alevín especie estudio (100 g)	10	0
Juvenil especie estudio (700 g)	0	10
Alevín especie 2 (100 g)	10	0
Juvenil especie 2 (700 g)	0	10

Depredación	Depred. sp. estudio	Depred.sp.2
Alevín especie estudio (100 g)	0	20
Juvenil especie estudio (700 g)	10	0
Alevín especie 2 (100 g)	20	0
Juvenil especie 2 (700 g)	0	10



Costos ejemplares	Total peces	Valor unitario (\$)	Subtotal (\$)	Réplicas	Total (\$)
Alevín especie estudio (100 g)	40	4.200	168.000	3	504.000
Juvenil especie estudio (700 g)	30	8.100	243.000	3	729.000
Alevín especie 2 (100 g)	40	2.300	92.000	3	276.000
Juvenil especie 2 (700 g)	30	3.800	114.000	3	342.000
Total					1.851.000

Costos operativos	Valor unitario (\$)	Unidades	Valor total (\$)
Estanques	300.000	6	1.800.000
ejemplares	350.000	2	700.000
Personal toma de datos	2.400.000	2	4.800.000
Instalación estanques	450.000	6	2.700.000
Mantenimiento de estanques	150.000	6	900.000
Total			10.900.000

Costo total estudio	12.751.000
----------------------------	-------------------

**Tabla 19.**

Detalle de la valorización de los costos asociados al estudio de mesocosmos.

Costos de ejemplares	Estudios	Réplicas	Total individuos	Valor unitario (\$)	Valor total (\$)
Especie etapa (100 gr)	10	5	50	4.200	210.000
Especie etapa juvenil (700 g)	10	5	50	8.100	405.000
Total					615.000

Costos Operativos	Valor unitario (\$)	Unidades	Valor total (\$)
Estanques	300.000	10	3.000.000
Implementación mesocosmos	2.000.000	1	2.000.000
Análisis de variables ambientales	80.000	60	4.800.000
Personal capacitado (toma de datos)	2.400.000	2	4.800.000
Instalación de estanques	450.000	6	2.700.000
Mantenimiento de estanques	150.000	6	900.000
Caracterización comunidades biológicas	40.000	60	2.400.000
Total			20.600.000

Costo total estudio	21.215.000
----------------------------	-------------------

De este modo, la valorización total de los procesos nuevos identificados precedentemente, se resumen en la siguiente tabla (**Tabla 20**).

**Tabla 20.**

Costos incrementales asociados a los requerimientos a incorporar en el nuevo proceso de solicitudes de primera importación propuesto.

Ítem	Unidad	Valor (\$)	Costo total (\$)	Comentario
Evaluación de riesgo.	1	1.500.000	1.500.000	Estudio realizado por consultora externa.
Estudio de tolerancia ambiental	1	7.647.500	7.647.500	Valorizados sobre la base de costos operacionales de requerimientos y protocolos exigidos a solicitantes de autorizaciones de primera importación revisados.
Estudio de cohabitación	1	12.751.000	12.751.000	
Estudio de mesocosmos	1	21.215.000	21.215.000	
Elaboración de informes de nuevos requerimientos.	3	810.000	2.430.000	Dedicación de HH del solicitante para realizar los nuevos procesos de la solicitud.

Considerando los procesos propuestos para las solicitudes de primera importación de especies exóticas, se ha calculado un costo total incremental directo de \$45.543.500 por solicitud.

Identificación y valorización de costos de aplicación

Estos costos se refieren a las fases claves del ciclo de una nueva norma o ley, como lo es el proceso de seguimiento, cumplimiento, y al fallo o decisión final para el caso de autorizar la solicitud de primera importación.

Se ha identificado como costo de aplicación, el costo de dedicación de horas hombre de un profesional del Estado, para la revisión de informes de los antecedentes solicitados, como parte de los nuevos requerimientos (**Tabla 21**).



Tabla 21.

Costos de aplicación asociados a los requerimientos a incorporar en el nuevo proceso de solicitudes de primera importación propuesto.

Ítem	Unidad	Valor (\$)	Costo total (\$)	Comentario
Revisión de nuevos antecedentes solicitados.	45 horas hombre	18.000	810.000	Dedicación de HH de un profesional universitario para revisión de los antecedentes iniciales de la solicitud.

Costos regulatorios indirectos.

Los costos regulatorios indirectos se refieren a los costos incurridos en ámbitos o mercados relacionados o experimentados por los consumidores, gobiernos u otras partes interesadas, pero que no están bajo el alcance directo de la regulación propuesta. En relación a la propuesta de nueva normativa asociada a solicitudes de primera importación de especies exóticas, no se han identificado costos que puedan generarse a través de cambios en los precios y/o disponibilidad y/o calidad de los bienes o servicios producidos en los entes regulados.

Entre los costos indirectos de incumplimiento se considera pertinente tener a la vista un efecto no cuantificado, y que se refiere al desincentivo de nuevos solicitantes de primeras importaciones de especies exóticas, considerando el aumento en los requerimientos y costos asociados al proceso, generando menores inversiones y/o un desincentivo a la innovación o diversificación del sector regulado.

Con todos los antecedentes presentados previamente, fue posible la cuantificación de los costos totales generados a partir de la implementación de la modificación normativa, dado por la suma de los costos directos, los costos de aplicación y los costos indirectos (**Tabla 22**).



Tabla 22.

Costos totales asociados al nuevo proceso de solicitudes de primera importación propuesto.

Tipo de costo	Valor (\$)
Costos directos	45.543.500
Costos de aplicación	810.000
Total	46.353.500

Por otro lado, considerando la propuesta de nuevos procesos de solicitudes de primera importación de especies exóticas, se realizó un análisis cualitativo de los beneficios directos e indirectos producto de la implementación de la misma.

Beneficios directos.

Entre los beneficios directos asociados a la implementación del nuevo proceso y requerimientos para las solicitudes de primera importación de especies exóticas se encuentran el asegurar el resguardo del patrimonio ecológico, la biodiversidad y el estatus sanitario del país, asociado a las nuevas exigencias de caracterización de los ejemplares animales vivos autorizados para su ingreso al país. Ello redundará en una mejora del bienestar de los ciudadanos del país, que podrán disponer de un entorno que asegure la biodiversidad, que sea libre de enfermedades de origen animal o zoonóticas, libre de animales que puedan constituirse en plagas o de efectos ambientales indeseados causados por efecto del asentamiento de animales exóticos en nichos ecológicos nacionales.

Beneficios indirectos.

Un beneficio indirecto identificado en la aplicación de la propuesta normativa corresponde al efecto indirecto en la industria acuicultura nacional por el cumplimiento de parte de los solicitantes de primeras importaciones de especies exóticas, asegurándose de esta forma su patrimonio biológico a través del resguardo del ingreso de especies nocivas o enfermedades asociadas a las especies introducidas, y que pudieran afectar la competitividad del sector.

Considerando que la acuicultura en Chile es uno de los sectores que aportan en mayor medida al PIB del país, el asegurar las condiciones favorables para su desarrollo y las implicancias de su éxito, que incluyen la empleabilidad y la estabilidad social de las zonas donde se desarrolla, constituye un efecto indirecto relevante.



6. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

A través del desarrollo de las actividades humanas, especialmente con el aumento del comercio internacional, el número de especies exóticas introducidas a nuevos ecosistemas, aumenta constantemente en todo el mundo. En este sentido, los impactos de las especies exóticas invasoras (EEI) en la biodiversidad son bien reconocidos (Mollet *et al.*, 2017; Spatz *et al.*, 2017; Shabani *et al.*, 2020; Pyšek *et al.*, 2020). En consecuencia, existen numerosas políticas, reglamentos y mandatos internacionales y nacionales para prevenir nuevas introducciones y limitar la propagación geográfica de EEI. A pesar de esto, los registros de EEI aumentan continuamente debido a factores como la perturbación del hábitat, el cambio climático y una mayor diversidad, frecuencia e intensidad de vectores antropogénicos asociados con la globalización de las redes de comercio y transporte (Capinha *et al.*, 2015; Seebens *et al.*, 2017, Seebens *et al.*, 2018; Turbelin *et al.*, 2017; McGeoch y Jetz, 2019). Ello ha llevado a que la cantidad de especies exóticas esté aumentando en todas las regiones geográficas y tipos de hábitat, y se espera que la cantidad de especies exóticas establecidas aumente en un 36 % en las próximas tres décadas (Seebens *et al.*, 2020).

En este sentido, y con la finalidad de actualizar y mejorar los ensayos de cohabitación y/o similares ejecutados en los Estudios Sanitarios con Efectos de Impacto Ambiental (ESEIA), requeridos en el marco del D.S. (MINECON) N° 730 para la primera importación de especies hidrobiológicas al país, y así propender al resguardo del patrimonio sanitario del país, se procedió a consultar reglamentos y/o normativas tanto internacionales como nacionales relacionadas con el proceso de internación de organismos acuáticos de países con sistemas desarrollados para la internación de especies hidrobiológicas exóticas, y de procesos de evaluación ambiental relacionados con la primera importación de organismos acuáticos. Las regulaciones de los países que fueron motivo de consulta (Australia, Estados Unidos, Reino Unido, Canadá, México, Namibia y Chile, además de la Unión Europea), demostraron tener procedimientos claros y bien estructurados del proceso de internación de organismos acuáticos exóticos, en lo que se refiere a los procesos de solicitudes, permisos y restricciones asociadas a las importaciones, requisitos de la certificación zoosanitaria requerida, de implementación de medidas de cuarentena y de la vigilancia y monitoreo y de enfermedades de alto riesgo de impacto sanitario. Para el caso de la normativa australiana destaca la solicitud de evaluaciones y aprobaciones ambientales asociadas a la internación de especies hidrobiológicas orientadas a la protección del medio ambiente y conservación de la biodiversidad. En el caso de Canadá, destaca la solicitud de evaluaciones de riesgo de enfermedades por medio de la Agencia Canadiense de Inspección de Alimentos, a fin de determinar los riesgos asociados a la internación de animales acuáticos vivos provenientes de un nuevo origen. A modo general, es importante hacer mención que pese a la claridad del proceso de internación de especies hidrobiológicas en los diferentes países consultados, en ninguno de ellos se menciona de forma explícita la exigencia y



cumplimiento de requerimientos complementarios como evaluaciones sanitarias y ambientales asociadas al riesgo de internación de especies hidrobiológicas exóticas de primera importación, a través de la ejecución de estudios de cohabitación y/o ensayos experimentales, que permitan evaluar y determinar tanto el riesgo de transmisión de patógenos de alto riesgo o interés, o las potenciales interacciones ecológicas entre las especies a importar y las especies nativas o no nativas presentes en el país. La excepción la constituye la normativa chilena, que señala en el marco de su actual Decreto N° 730, que aprueba el reglamento de internación de especies hidrobiológicas de primera importación al país, la exigencia de realizar, de acuerdo a las características del organismo y el objetivo de la importación, Estudios Sanitarios con Efectos de Impacto Ambiental (ESEIA), con la finalidad única de disminuir el riesgo sanitario-ambiental asociado a la internación de la especie, y de esta forma propender al resguardo del patrimonio sanitario del país.

En relación al análisis de los estudios sobre el impacto de la internación de especies exóticas a nuevos territorios, un método importante para identificar metodologías que permitan abordar preguntas en específico son las revisiones bibliográficas convencionales (Okoli y Schabram, 2010; Rowe, 2014). El presente informe se basa en este enfoque para describir las metodologías asociadas a la identificación del impacto potencial que podría tener la importación de especies exóticas por primera vez. Si bien, no fue posible encontrar literatura específica asociada a primeras importaciones/internaciones, los trabajos que evalúan de forma amplia los efectos de especies exóticas, no nativas, o de especies invasoras en un ecosistema, fueron considerados como un punto de partida importante para abordar dicho objetivo. Cabe destacar que, una de las limitantes que puede tener esta visión, estaría asociada a que algunos de los estudios revisados se enfocan en especies exóticas ya establecidas o naturalizadas y, por lo tanto, adaptadas localmente en los ambientes evaluados (Busst y Britton, 2017; Domínguez-Almeda *et al.*, 2021). Sin embargo, los enfoques experimentales que se utilizan en los estudios aquí abordados, si pueden ser adoptados para la evaluación de primeras importaciones, más no así los resultados y conclusiones de los modelos en específico.

Si bien los ensayos de mesocosmos fueron los de mayor presencia en la literatura analizada, la categorización de micro y mesocosmos tiende a ser ambigua, al no existir un límite claramente establecido entre ambos tipos de estudios, aunque este tiende a establecerse en función del tamaño y la complejidad del sistema experimental (Stewart *et al.*, 2013; Alabrano *et al.*, 2020). Para efectos de la revisión bibliográfica, en este informe se propuso mantener la categorización entregada por los autores de las publicaciones revisadas, mientras que estos dos (micro y mesocosmos) fueron agrupados para el análisis comparativo. Este agrupamiento evita las ambigüedades en la categorización y no tiene repercusiones en el análisis de fortalezas y debilidades, ya que estas fueron consideradas en su conjunto.



Los trabajos revisados, si bien, permitieron generar una amplia categorización de las metodologías a abordar para evaluar el impacto de las especies exóticas sobre los ecosistemas, también elucidan una gran complejidad a escala fina de estas metodologías. Es decir, que cada una de estas categorías permiten, a su vez, evaluar diferentes parámetros en relación a los procesos biológicos que se quieran abordar. Por ejemplo, los ensayos de cohabitación desarrollados por Brink y Hunting (2017) evaluaron rasgos de comportamiento para evaluar la competencia por refugio y alimento del cangrejo invasor *Carcinus maenas* frente a la nativa *Hemigrapsus takanoi*; mientras que otros estudios de cohabitación se enfocan en evaluar la transmisión de patógenos entre especies invasoras y nativas, a partir de la infestación experimental (por ejemplo, inyección intra-peritoneal) de una de estas especies (Rimmer *et al.*, 2016; Matras *et al.*, 2018). Esta misma subcategorización, implica diferentes complejidades tanto en el diseño, como en el costo de los análisis a realizar.

Respecto al análisis comparativo de las metodologías identificadas que se generó a partir de las fortalezas y debilidades de las metodologías consultadas, se ha podido observar que si bien, no hay una categorización que permita identificar la o las metodologías más apropiadas que se debiesen considerar, y que fueron obtenidas a partir de los estudios sobre el impacto de la internación de especies exóticas a nuevos territorios, es factible poder evidenciar algunas metodologías que tienen una mayor aplicabilidad en referencia al riesgo sanitario y ambiental. En este sentido, las metodologías referidas al uso de mesocosmos y microcosmos presentan aspectos que son considerados como fortalezas, por ejemplo, la evaluación de mayores niveles de organización y mayor representatividad del ambiente natural. Sin embargo, aquellas metodologías llevadas a cabo *in situ* representan un riesgo sanitario y ambiental al entorno, ya que mantienen el intercambio entre el sistema de experimentación o ensayo y el ambiente. Este tipo de ensayos, junto con los ensayos de exclusión y cohabitación *in situ*, si bien tienen fortalezas importantes al permitir predecir de mejor manera el impacto potencial de las especies exóticas, podrían no ser recomendables como un primer ensayo en el contexto de la primera importación de organismos hidrobiológicos.

En el contexto del resguardo del patrimonio ambiental y sanitario, las metodologías que involucran cohabitación entre especies y ensayos de desafío en sistemas cerrados y/o controlados pudiesen considerarse más apropiados y aplicables. Esto, debido a que en el circuito en que se desarrollan, se permite la realización de una vigilancia sanitaria y ambiental activa, con barreras que impiden el ingreso y escape de individuos y/o patógenos hacia el ambiente natural.

De acuerdo a lo establecido en el decreto 319 del Ministerio de Economía, Fomento y Reconstrucción (MINECON, 2002), el cual “*aprueba el reglamento de medidas de protección, control y erradicación de enfermedades de alto riesgo para las especies hidrobiológicas y cuyo espíritu es resguardar el patrimonio sanitario del país*”, en este estudio se considera relevante darle prioridad al riesgo sanitario



y ambiental como criterio al seleccionar aspectos que constituyan mejoras o modificaciones a implementar en las metodologías actualmente utilizadas en los ensayos de laboratorio o de cohabitación incluidos en el D.S. N° 730/95. Lo anterior, en consideración a los impactos negativos que una especie exótica puede causar en un determinado ambiente, los que podrían incluir desde efectos de depredación, competencia con especies nativas, cambios en el hábitat, hibridación con especies autóctonas, hasta la propagación de nuevos agentes patógenos (parásitos, bacterias, virus, hongos) (Gozlan *et al.*, 2010) que inclusive pudiesen ser más virulentos para los nuevos huéspedes debido a la falta de inmunidad innata en las especies nativas (Sheath *et al.*, 2015).

El análisis de las solicitudes que permitió la caracterización del proceso de primera importación a nivel nacional, identificó cuatro objetivos generales de las solicitudes, los que determinan la exigencia del requerimiento de información por parte de la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura, en términos de aspectos científico – técnicos, de análisis requeridos, infraestructura requerida, entre otros. En esta línea, se identificó que el objetivo “bases biológicas y productivas para la adaptación, desarrollo y optimización de la tecnología de cultivo de la especie, con enfoque a una futura comercialización en Chile” es aquel que mayormente se asoció a las solicitudes de ESEIA. Lo anterior, infiriendo que el motivo detrás de este requerimiento se debe a que existe una fuerte necesidad de identificar, vigilar y controlar los riesgos biológicos, ecológicos y sanitarios asociados a la introducción al país de una especie no nativa por un plazo extendido de tiempo, como lo sería el propender la generación de una nueva actividad económica en el país, basada en cultivo o producción de esta nueva especie. En general, las solicitudes de importación a las cuales les fue requerido un estudio de cohabitación, se asociaron a especies con características ecológicas que evidencian una amplia tolerancia ambiental, incluyendo aquellas que habitan en ambientes poco profundos y/o turbios, poseen un amplio rango de tolerancia a salinidades y/o temperaturas, corresponden a especies depredadoras generalistas, o son susceptibles a un amplio rango de patógenos de interés y/o de alto riesgo (listas 1, 2 y 3 de Sernapesca), entre otros. En consideración a esta última información, se identifica la necesidad de incorporar estudios de cohabitación que busquen evaluar no solo los aspectos asociados a la determinación de potenciales interacciones ecológicas entre las especies a importar y las especies nativas o no nativas presentes en Chile, sino que también incluir el aspecto sanitario, como lo es la evaluación de la potencial transmisión de patógenos de interés o de alto riesgo, que puedan significar una potencial amenaza para estatus sanitario del país.

En relación a la percepción del proceso de internación de especies hidrobiológicas de primera importación obtenidos por medio de la encuesta aplicada, a pesar que se definió extender el plazo de respuesta para obtener un mayor número de encuestados, y contactar telefónicamente a las personas a quienes se les envió la encuesta, dejándoles de manifiesto la importancia de poder contar con sus respuestas a fin de retroalimentar el proceso, finalmente solo fue respondida por dos representantes



de una empresa, en tanto que otras dos personas se excusaron vía correo electrónico de participar del proceso.

Respecto del desarrollo y elaboración de propuestas de modificación a la actual D.S.(MINECON) N° 730 de 1995, es importante hacer mención que el objetivo principal de las medidas propuestas tuvo como finalidad y foco principal, incrementar el resguardo del patrimonio sanitario y ecológico del país, y reducir el riesgo de introducción de especies hidrobiológicas que podrían ser causantes de enfermedades de alto riesgo sanitario, con la consecuente repercusión sobre el ecosistema, más aún si se tiene como antecedente que mientras más eventos de introducción ocurran en un determinado ambiente, mayor será la probabilidad de un establecimiento exitoso con una alta posibilidad de que la especie exótica pueda afectar los ecosistemas de las especies nativas (Colautti *et al.*, 2006).

Considerando el escenario de la actual normativa vigente, ésta no detalla y/o especifica con claridad los requerimientos mínimos de información que deberían ser tomados en consideración por parte del solicitante, para los estudios complementarios relacionados con la vigilancia ambiental, sanitaria, y la descripción del hábitat entorno al lugar donde se desarrollen los ESEIA. En virtud de lo anterior, cuando los antecedentes no sean suficientes para aprobar o rechazar una solicitud de primera importación, se considera relevante que las necesidades de las propuestas identificadas puedan quedar incorporadas al actual D.S. N° 730 de 1995, o en su defecto vinculadas a éste a través de algún otro instrumento normativo. Adicionalmente, el análisis comparativo de las propuestas de modificación evidenció una aplicabilidad normativa alta, por cuanto no existirían restricciones, limitaciones, ni tampoco repercusiones sobre otras normativas en su implementación. Tal sería el caso de aquellas que, por ejemplo, puedan requerir de infraestructura especializada, recurso humano altamente capacitado, o de permisos adicionales para la manipulación y manejo de agentes patógenos causantes de enfermedades de alto riesgo sanitario. Este último sería el caso de aquellos centros destinados para la experimentación de organismos hidrobiológicos con patógenos, los que presentan restricciones establecidas en el marco del Título VII del decreto 319 del 2001, del Ministerio de Economía, Fomento y Turismo (MINECON).

En el caso particular de la propuesta de modificación orientada a describir el hábitat del entorno donde se realizarán los estudios complementarios solicitados por la autoridad pertinente, si bien ésta evidenció igualmente una factibilidad normativa y de aplicabilidad alta, en términos económicos, fue la que presentó los mayores costos, es decir, la menor factibilidad económica para la ejecución, esto atribuido principalmente a los requerimientos mínimos del tipo y cantidad de parámetros y/o variables que se requieren obtener, desde el punto vista abiótico y biótico, necesarios para generar una adecuada línea base de información que permitan a posterior realizar un apropiado monitoreo y vigilancia, que permitan determinar los efectos directos e indirectos de la especie a importar sobre el



ecosistema, y de este modo disminuir el riesgo sanitario y ambiental asociado a la internación de un organismo hidrobiológico exótico de primera importación al país.

El ingreso de especies exóticas representa una actividad importante, desde el punto de vista comercial, impulsada por la acuicultura para la diversificación de la oferta y la demanda alimentaria actual (Chopin y Tacon, 2021; Das y Manda, 2022). Ejemplo de esto, es que la acuicultura nacional de mayor importancia se encuentra representada por especies exóticas, principalmente en peces (Sernapesca, 2017). Así, esta actividad trae muchos beneficios económicos y sociales, pero no necesariamente beneficios ambientales y sanitarios (De Silva et al., 2009). Por esto, considerar los riesgos asociados al ingreso de especies exóticas, con fines económicos, para de esta manera resguardar el patrimonio sanitario e hidrobiológico del país, representa una tarea fundamental. Experimentalmente, esto puede ser abordado a partir de metodologías descritas en literatura científica que tienen como objetivo medir el impacto de especies exóticas sobre los sistemas locales, considerando el potencial impacto sanitario (Go y Whittinton, 2019) y ambiental (Stewart et al., 2013; Madeira et al., 2019). De esta manera, las metodologías que aquí se abordaron entregan lineamientos generales que permiten evaluar de forma experimental estos impactos potenciales, considerando las características propias y los tiempos de la importación limitada en el marco del D.S. 730/95 (MINECON). Además, se entregan lineamientos metodológicos para la implementación del análisis de riesgo (no experimental), de acuerdo a lo sugerido por la OMSA (Bondad-Reantaso et al., 2008) para considerar el riesgo sanitario, ecológico, genético y ambiental (Arthur et al., 2009).

El rol de las especies exóticas sobre la dispersión de patógenos exóticos (Sandlund et al., 2021) o preexistentes (Costello et al., 2020; da Costa et al., 2021) es un atributo importante a considerar. Esto ha podido ser abordado a partir de estudios de cohabitación sanitaria, como los presentados de forma general la propuesta presentada. Por ejemplo, la transmisión experimental del Virus de la Necrosis Infecciosa de Bazo y Riñón (ISKNV), desde peces ornamentales dulceacuícolas exóticos (*Xiphophorus maculatus*) al pez australiano marino Silver sweep (*Scorpiis lineolata*), fue evidenciada a partir de infestaciones experimentales y ensayos de cohabitación (Go y Whittington, 2019). Asimismo, este tipo de ensayos sanitarios ha evidenciado que tunicados invasores pueden ser reservorios de patógenos de moluscos (tales como, herpesvirus OsHV-1, *Vibrio aestuarianus*, *Bonamia ostreae* y *Minchinia spp*), representando un riesgo importante para la acuicultura en Irlanda (Costello et al., 2021). Estos antecedentes evidencian el rol potencial de especies exóticas en la diseminación de patógenos presentes en los países los cuales estos invaden. Sin embargo, todos estos antecedentes científicos corresponden a especies exóticas de ingreso frecuente a través de importaciones (caso de ISKNV en Australia) o ya establecidas en los sistemas marinos locales (patógenos de moluscos). Para el caso de una primera importación de organismos hidrobiológicos, si bien entregamos lineamientos generales para la aplicación de ensayos de desafío y cohabitación sanitaria, estas metodologías tienen



muy baja aplicabilidad. Esto es, en cierta medida, compensado con ensayos que permiten evaluar de forma experimental el potencial de establecimiento de los organismos exóticos en los sistemas locales, ya que el establecimiento de las especies exóticas representa una de las primeras etapas que gatillan los riesgos tanto ecológicos como sanitarios de las poblaciones locales (Kiruba-Sankar *et al.*, 2018).

Las invasiones biológicas se describen como el fenómeno de que una especie exótica expanda su rango geográfico y que actualmente se encuentra mediado principalmente por factores antrópicos (Elton, 2000). Una de las características de las especies invasoras es que son más euritérmicas que especies autóctonas (Boher *et al.*, 2018). Así, se ha evidenciado que uno de los primeros atributos a medir para evaluar el potencial riesgo de invasión de una especie, es su comportamiento termo regulatorio (Kelley y Notes, 2014; Turingan y Sloan, 2016), principalmente en ectotermos donde la temperatura ambiental afecta directamente su fisiología y comportamiento (Huey y Stevenson, 1979), sin desmerecer el rol importante que pueden tener otros rasgos en este fenómeno (por ejemplo, rasgos de historia de vida). Por ejemplo, al comparar 6 especies de epibentos, Zerebecki y Sorte (2011) evidenciaron que las especies invasoras presentaron mayores rangos de temperatura y temperatura crítica máxima que especies nativas, con menores rangos de distribución. Asimismo, este mismo patrón ha sido observado en estudios en peces invasores (Drouillard *et al.*, 2018; di Santo *et al.*, 2018), moluscos (Burnett *et al.*, 2018), entre otros (Kelley *et al.*, 2011; Tepolt y Somero, 2014; Madeira *et al.*, 2019). De esta manera, las metodologías aquí propuestas buscan obtener predictores de la capacidad de establecimiento y potencial rol como invasores de las especies hidrobiológicas importadas.

Uno de los atributos importantes que buscan destacar las metodologías propuestas en este estudio, son los impactos directos e indirectos de la especie de primera importación. Estos impactos, según lo describe de Silva *et al.*, (2009), son principalmente la depredación sobre especies nativas y/o locales, destrucción o cambios del hábitat, competencia con las especies nativas y/o locales, y cambios genéticos vía hibridación o introgresión. Sin embargo, debido a las limitaciones, principalmente asociadas a los tiempos de ejecución, este último atributo no fue incorporado de forma experimental. Esto, tiene relación directa con que la realización de estudios que buscan evaluar los potenciales cambios genéticos en una especie nativa producto de la hibridación o introgresión de genes provenientes de especies exóticas, requiere de amplios tiempos de interacción y experimentación. Lo anterior, debido a que estos procesos genéticos involucran la fijación y posterior expresión de los genes provenientes de la especie exótica, y consiguiente, requiere ser estudiado por varias generaciones. De esta manera, de acuerdo a la literatura revisada en marco de este proyecto, se encontraron metodologías asociadas a la evaluación experimental de procesos de hibridación únicamente en especies modelo, como *Drosophila melanogaster* (Cortot *et al.*, 2022), *Anopheles gambiae* (Bernardini *et al.*, 2019), entre otros. A su vez, para realizar estos experimentos, es necesario determinar características morfológicas y/o marcadores genéticos que permitan obtener resultados



confiables, siendo realizados por ende, en casos donde la especie exótica ya posee una larga data de interacción con la especie nativa a evaluar. Esto ha sido descrito, por ejemplo, para peces con una amplia data de interacciones, como lo realizado por Senanan *et al.*, (2004) para el caso de *Clarias macrocephalus* en Tailandia, por Prado *et al.*, (2018) para *Scophthalmus maximus* en Europa o por Glover *et al.*, (2013) para *Salmo salar* en Noruega. Lo anterior, es contrario a lo explicitado para las demás metodologías propuestas, las cuales, tal como se ha señalado, si bien poseen distintos tiempos de aplicación, pueden ser ajustados y llevados a cabo de forma satisfactoria, es decir, con resultados confiables en los tiempos a los que están sujetas las solicitudes de primera importación en marco del D.S. N° 730/95.

Sin embargo, aquellos aspectos que buscan evaluar el potencial impacto ecológico y ecosistémico si pudieron ser incorporados. Dentro de estos, los ensayos de cohabitación ecológica representan una herramienta clave para evaluar competencia interespecífica (por alimento, por refugio y/o hábitat), depredación (Brink y Hutting, 2017; Brante *et al.*, 2019; Go y Whittington, 2019), los mesocosmos representan una mayor complejidad, permitiendo evaluar, adicionalmente, efectos a niveles biológicos superiores (ecosistémicos) (Odum, 1984). En relación a este último modelo, representa un enfoque metodológico de diferentes grados de complejidad y que permiten simular condiciones ambientales para ver el impacto a largo plazo de estos cambios ambientales como acidificación oceánica (Wahl *et al.*, 2015), calentamiento global (Manea *et al.*, 2016), presencia de contaminantes (Clements *et al.*, 2012), presencia de especies exóticas (Byrnes y Stachowicz, 2009). Sin embargo, bajo el contexto del ingreso de una especie exótica, lo que se presenta es un marco general para ver el impacto a corto-mediano plazo de la especie sobre su ambiente potencial, sin considerar otros aspectos como el cambio climático y la estacionalidad. Este último, podría ser incorporado a partir de la generación de los mesocosmos propuestos, por lo menos, en dos estaciones contrastantes (invierno vs verano). Sin embargo, debe considerarse que esto podría verse limitado por los periodos establecidos en marco del D.S. 730/95 (MINECON) para los estudios sanitarios con efectos de impacto ambiental.

Respecto de la factibilidad técnica de implementación de las propuestas de modificación al actual reglamento, la totalidad de ellas evidenciaron ser muy adaptables, por cuanto las metodologías y/o análisis propuestos se encuentran disponibles en nuestro país, la mayoría de las veces ejecutados por entidades debidamente acreditadas, como laboratorios de servicio y/o consultoras externas, con las capacidades tecnológicas, de equipamiento y de personal técnico-profesional capacitado para tal efecto, lo que finalmente hace que el nivel de acceso de los usuarios a los modificaciones propuestas sea muy favorable. En esta misma línea, y considerando que la totalidad de las propuestas de modificaciones identificadas tienen como foco principal evitar el ingreso de especies exóticas y/o agentes patógenos causantes de enfermedades de alto riesgo sanitario para el país, hace que no sea posible establecer una diferenciación clara entre aquellos requisitos mínimos u óptimos que pudiesen



ser abordados en las propuestas, ni tampoco establecer que propuestas de modificación serían más prioritarias de poder implementar en la normativa actual para cautelar de mejor forma la biodiversidad y el patrimonio sanitario y ambiental del país.

En relación a las evaluaciones económicas realizadas, tanto de las modificaciones al actual proceso, así como de la nueva propuesta generada, es importante destacar que, en términos generales, el análisis de costo-beneficio es una de muchas metodologías que se pueden utilizar para la evaluación del impacto de la implementación de regulaciones. El análisis de costo-beneficio es una buena alternativa cuando los beneficios como los costos varían según la alternativa regulatoria elegida (Renda *et al.*, 2013).

En el caso particular del presente estudio, fue posible verificar las diferencias y magnitudes de los costos involucrados, dependiendo de la decisión de agregar procesos complementarios al sistema actual o implementar un sistema nuevo, siendo este último el que implicaría importantes aumentos en los costos para el requirente, producto de los nuevos procesos y requerimientos propuestos.

Al respecto, existe evidencia de que la mayor carga de costos de la implementación de políticas ambientales ha resultado ser acotado para la competitividad de las empresas e inversionistas. La evidencia reciente muestra que la implementación de políticas ambientales ambiciosas puede tener efectos adversos menores y estadísticamente significativos en el comercio, el empleo, y la productividad a corto plazo, en particular en sectores más sensibles, sin embargo, la escala de estos impactos son menores comparados con la tendencia general en la producción y, por el contrario, impulsa la innovación en el mediano plazo (Dechezleprêtre y Sato, 2020).



7. CONCLUSIONES

- La revisión y análisis de las normativas y regulaciones tanto a nivel nacional como internacional resultó ser clara y bien estructurada, sin embargo, a nivel internacional permitió verificar la inexistencia de estudios sanitarios con efectos de impacto ambiental, como requerimiento complementario asociado al proceso de primera importación de especies hidrobiológicas, a diferencia de la normativa chilena, la que si presenta dicho requerimiento, en el marco del decreto 730, que aprueba el reglamento de internación de especies de primera importación al país.
- De la revisión de la literatura se logró concluir que la metodología utilizada con mayor frecuencia en los análisis para evaluar el impacto de las especies exóticas sobre los ecosistemas fueron los ensayos de micro/mesocosmos, seguido de ensayos de cohabitación. Al mismo tiempo, se logró evidenciar la posibilidad de combinar metodologías para abordar objetivos más amplios y evaluaciones más completas, en cuanto a la predicción de este impacto. Además, se concluye que si bien se generaron categorizaciones amplias de los enfoques metodológicos (por ejemplo, micro y mesocosmos, cohabitación, ensayos de desafío, entre otros), a su vez se presentan diferentes niveles de complejidad dentro de cada uno de ellos, en el diseño, variables a medir, lo que tendría repercusiones en el costo de los análisis a realizar.
- A partir del análisis comparativo de las metodologías identificadas en consideración a sus fortalezas y debilidades, se puede concluir que, dentro de todas las metodologías evaluadas, existirían algunas que tendrían una mayor aplicabilidad en referencia al riesgo sanitario y ambiental. En este sentido, aquellas metodologías referidas a ensayos bajo condiciones de circuito cerrado o controlado (cohabitación, desafío, micro-mesocosmos), poseen fortalezas relevantes en el contexto del proceso primera importación de especies hidrobiológicas, destacándose el bajo riesgo sanitario y ambiental asociado. De esta manera, este tipo de atributos son considerados de alta relevancia a fin de resguardar el patrimonio sanitario del país.
- Se realizó la caracterización del actual proceso de importación de especies hidrobiológicas, a partir de la revisión y análisis de las solicitudes de primera importación que fueron solicitadas de manera formal a la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura, permitiendo identificar cuatro objetivos generales asociados a las solicitudes de primera importación.
- Las solicitudes de importación asociadas al objetivo “bases biológicas y productivas para la adaptación, desarrollo y optimización de la tecnología de cultivo de la especie, con enfoque a una futura comercialización en Chile” se asociaron en gran medida a solicitudes de ESEIA, que



incluyeron estudios de vigilancia sanitaria, ambiental y en un menor porcentaje a estudios de cohabitación.

- Se generaron las propuestas de modificación en el marco del actual reglamento de internación de especies hidrobiológicas de primera importación al país, donde se establecieron cuáles debieran ser los requerimientos mínimos de información a ser presentados en el marco de los ESEIA. Estas consideraron principalmente aspectos relacionados a la descripción del hábitat del entorno a instalaciones donde se realizarán los ESEIA y lo relativo a la vigilancia ambiental y sanitaria, que permitan en su conjunto identificar potenciales efectos directos e indirectos de la especie a internar sobre el ecosistema y el patrimonio sanitario del país.
- Se evaluó y realizó un análisis comparativo de las diferentes propuestas de modificación elaboradas en base a una serie de atributos identificados a través del análisis de las mismas, que permitió identificar las ventajas y desventajas de cada una, y que llevó a determinar una alta aplicabilidad normativa de las modificaciones propuestas, y factibilidad de poder ser vinculadas al actual reglamento, a través de algún otro instrumento normativo definido por la autoridad sectorial competente.
- La ejecución del taller de expertos en el que participaron representantes de la autoridad sectorial, de las empresas que elevaron solicitudes de primera importación entre los años 2015 y 2021, y representantes de universidades y del Instituto Fomento Pesquero, permitió validar las propuestas de modificación al actual reglamento, a través de las opiniones surgidas y recomendaciones dadas por los asistentes a la actividad.
- La evaluación de la factibilidad técnica de la implementación de las propuestas de modificación al actual proceso y estudios asociados a la primera importación de especies exóticas, permitió establecer un alto grado de adaptabilidad de todas las modificaciones propuestas, además de un nivel muy favorable de acceso de los usuarios a las modificaciones propuestas al D.S. (MINECON) N° 730 de 1995. En este sentido, no fue posible establecer una separación clara entre requisitos mínimos u óptimos, ni establecer una priorización en su implementación, por cuanto el fin de las propuestas elaboradas tiene como foco primordial el resguardo del ingreso de agentes patógenos, enfermedades o el impacto ecológico que el ingreso de una especie exótica podría causar en el ecosistema.
- Las nuevas metodologías propuestas, permiten evaluar el potencial riesgo de establecimiento se invasión de las especies a importar. Adicionalmente, consideran diferentes niveles de organización biológica a evaluar, los cuales incluyen la capacidad de aclimatación a nivel de organismo, la



tolerancia térmica a nivel de poblaciones, la competencia interespecífica a nivel de comunidades y el rol trófico de la especie a nivel ecosistémico.

- Si bien se entregan lineamientos generales para el desarrollo de ensayos sanitarios (desafío y cohabitación), la factibilidad normativa de estos es muy baja y por lo tanto no se sugiere como una metodología a aplicar en el corto plazo, durante la evaluación sanitaria con efectos de impacto ambiental solicitada en el marco del D.S. 730/95 (MINECON).
- Las evaluaciones económicas (específicamente de costos de implementación) efectuadas, tanto para las modificaciones al actual proceso de solicitudes de primera importación de especies exóticas, como para la nueva propuesta para dicho procedimiento, muestran importantes diferencias en los costos en que deberá incurrir el requirente de aplicarse una u otra alternativa.
- Considerando que la propuesta de un nuevo proceso para la solicitud de primeras importaciones de especies exóticas considera nuevos y mayores requerimientos, incluyendo estudios específicos y complejos, los costos asociados a cada solicitud serán mayores a los actuales. No obstante, lo anterior, si bien ello puede asociarse con un desincentivo a la generación de este tipo de solicitudes, se han comprobado las ventajas que la implementación de mayores regulaciones asociadas al resguardo del patrimonio ecológico tiene en el mediano y largo plazo.



8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Albarano, L., M. Costantini, V. Zupo, G. Lofrano, M. Guida, and G. Libralato. 2020. Marine sediment toxicity: A focus on micro- and mesocosms towards remediation. *Science of The Total Environment* 708:134837.
- Alcaraz, C., Bisazza, A. & García-Berthou, E. 2008. Salinity mediates the competitive interactions between invasive mosquitofish and an endangered fish. *Oecologia* 155: 205–213.
- Almeida, D. & Grossman, G.D. 2012. Utility of direct observational methods for assessing competitive interactions between non-native and native freshwater fishes. *Fisheries Management and Ecology* 19: 157–166.
- Alofs KM, Jackson DA. 2014. Meta-analysis suggests biotic resistance in freshwater environments is driven by consumption rather than competition. *Ecology* 95:3259–3270
- Altizer S, Ostfeld RS, Johnson PT, Kutz S, Harvell CD. 2013 Climate change and infectious diseases: from evidence to a predictive framework. *Science* 341, 514– 519. doi:10.1126/science.1239401.
- Anderson MJ, Gorley RN, Clarke KR (2008) PERMANOVA A? for PRIMER: guide to software and statistical methods. PRIMER-E Limited, Plymouth.
- Amaral, J. R., L. R. Manna, R. Mazzoni, V. Neres-Lima, P. S. Marques, R. W. El-Sabaawi, and E. Zandonà. 2021. Testing the short-term effects of a fish invader on the trophic ecology of a closely related species. *Hydrobiologia* 848:2305-2318.
- Angot, V., & Brasseur, P. (1993). European farmed Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) are safe from anisakid larvae. *Aquaculture*, 118, 339e344.
- Arbačiauskas, K., *et. al.* 2008. Assessment of biocontamination of benthic macroinvertebrate communities in European inland waterways. *Aquatic Invasions* 3:211–230.
- Arthur, J.R., Bondad-Reantaso, M.G., Campbell, M.L., Hewitt, C.L., Phillips, M.J., & Subasinghe, R.P. (2009). Understanding and applying risk analysis in aquaculture: a manual for decision-makers.
- Auffan, M., M. Tella, C. Santaella, L. Brousset, C. Paillès, M. Barakat, B. Espinasse, E. Artells, J. Issartel, A. Masion, J. Rose, M. R. Wiesner, W. Achouak, A. Thiéry, and J.-Y. Bottero. 2014.



- An adaptable mesocosm platform for performing integrated assessments of nanomaterial risk in complex environmental systems. *Scientific Reports* 4:5608.
- Ayadi, A., M. Auffan, and J. Rose. 2020. Ontology-based NLP information extraction to enrich nanomaterial environmental exposure database. *Procedia Computer Science* 176:360-369.
- Bates, A. E., McKelvie, C. M., Sorte, C. J., Morley, S. A., Jones, N. A., Mondon, J. A., Bird, T. J. & Quinn, G. (2013). Geographical range, heat tolerance and invasion success in aquatic species. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 280(1772), 20131958.
- Bates, D., Mächler, M., Bolker, B. M., & Walker, S. C. (2015). Fitting linear mixed-effects models using lme4. *Journal of Statistical Software*, 67(1), <https://doi.org/10.18637/jss.v067.i01>.
- Bass, D., Rowley, A. F., & Coates, C. J. (2022). Diagnostic approaches in invertebrate pathology. *Invertebrate Pathology*, 61.
- Batheria R., D. Jain. 2016. Water quality assessment of lake water: a review. *Sustainable water Resources management* 2, 161-173.
- Bercovier, H., Fishman, Y., Nahary, R., Sinai, S., Zlotkin, A., Eyngor, M., ... & Hedrick, R. P. (2005). Cloning of the koi herpesvirus (KHV) gene encoding thymidine kinase and its use for a highly sensitive PCR based diagnosis. *BMC microbiology*, 5(1), 1-9.
- Bernardini, F., Kriezis, A., Galizi, R., Nolan, T., & Crisanti, A. (2019). Introgression of a synthetic sex ratio distortion system from *Anopheles gambiae* into *Anopheles arabiensis*. *Scientific Reports*, 9(1), 1-8.
- Blackburn TM, Cassey P, Duncan RP, Evans KL, Gasten KJ. 2004. Avian extinction risk and mammalian introductions on oceanic islands. *Science* 305: 1955-1958.
- Blackburn, T.M., Pysek, P., Bacher, S., Carlton, J.T., Duncan, R.P., Jarosik, V., Wilson, J.R.U. & Richardson, D.M. 2011. A proposed unified framework for biological invasions. *Trends in Ecology and Evolution* 26: 333–339.
- Blanquart F *et al.* 2016 A transmission-virulence evolutionary trade-off explains attenuation of HIV-1 in Uganda. *Elife* 5, e20492. doi:10.7554/eLife.20492.
- Boltovskoy, D., Correa, N., Sylvester, F., & Cataldo, D. (2015). Nutrient recycling, phytoplankton grazing, and associated impacts of *Limnoperna fortunei*. In *Limnoperna fortunei* (pp. 153-176). Springer, Cham.



- Bondad-Reantaso, M. G., Arthur, J. R., & Subasinghe, R. P. (Eds.). (2008). Understanding and applying risk analysis in aquaculture. Rome, Italy: Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- Bradley, BA; Laginhas, BB; Whitlock, R; Allen, JM; Bates, AE; Bernatchez, G; Diez, JM; Early, R; Lenoir, J; Vila, M; Sorte, CJB. 2019. Disentangling the abundance-impact relationship for invasive species. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 116:9919-9924.
- Brante, A., Riera, R., & Riquelme, P. 2019. Aggressive interactions between the invasive anemone *Anemonia alicemartinae* and the native anemone *Phymactis papillosa*. *Aquatic Biology*, 28, 127-136.
- Britton JR. 2012. Testing strength of biotic resistance against an introduced fish: ¿inter-specific competition or predation through facultative piscivory? *PLoS ONE* 7:e31707.
- Britton, J. R., C. Gutmann Roberts, F. Amat Trigo, E. T. Nolan, and V. De Santis. 2019. Predicting the ecological impacts of an alien invader: Experimental approaches reveal the trophic consequences of competition. *Journal of Animal Ecology* 88:1066-1078.
- Britton, J.R., Davies, G.D. & Harrod, C. 2010. Trophic interactions and consequent impacts of the invasive fish *Pseudorasbora parva* in a native aquatic foodweb: a field investigation in the UK. *Biological Invasions* 12: 1533–1542.
- Bruesewitz, D. A. (2008). The effects of invasive zebra mussels (*Dreissena polymorpha*) on nitrogen cycling in freshwater ecosystems of the Midwestern United States. University of Notre Dame.
- Burnett, J. L., Kevin, L. P., Wong, A., Allen, C. R., Haak, D. M., Stephen, B. J., & Uden, D. R. 2018. Thermal tolerance limits of the Chinese mystery snail (*Bellamya chinensis*): Implications for management. *American Malacological Bulletin*, 36(1), 140-144.
- Busst, G. M. A. and J. R. Britton. 2017. Comparative trophic impacts of two globally invasive cyprinid fishes reveal species-specific invasion consequences for a threatened native fish. *Freshwater Biology* 62:1587-1595.
- Byers J, Reichard S, Randall JM, Parker IM, Smith CS, Lonsdale WM, Atkinson AE, Seastedt TR, Williamson M, Chornesky E, Hayes D. 2002. Directing research to reduce the impact of nonindigenous species. *Conservation Biology* 16: 630–640. doi: 10.1046/j.1523-1739.2002.01057.x
- Cabral JA, Marques JC (1999) Life history, population dynamics and production of eastern mosquitofish, *Gambusia holbrooki* (Pisces, Poeciliidae), in rice fields of the lower Mondego River Valley, western Portugal. *Acta Oecol* 20:607–620.



- Caiola, N. & De Sostoa, A. 2005. Possible reasons for the decline of two native toothcarps in the Iberian Peninsula: evidence of competition with the introduced Eastern mosquitofish. *Journal of Applied Ichthyology* 21: 358–363.
- Capinha, C., Essl, F., Seebens, H., Moser, D., Pereira, H.M., 2015. The dispersal of alien species redefines biogeography in the Anthropocene. *Science* 348, 1248–1251.
- Capps, K. A., A. Ulseth, and A. S. Flecker. 2015. Quantifying the top-down and bottom-up effects of a non-native grazer in freshwaters. *Biological Invasions* 17:1253-1266.
- Caraco, N.F., Cole, J.J., Raymond, P.A., Strayer, D.L., Pace, M.L., Findlay, S.E.G. & Fischer, D.T. 1997. Zebra mussel invasion in a large, turbid river: phytoplankton response to increased grazing. *Ecology* 78: 588–602.
- Cassey, P., S. Delean, J. L. Lockwood, J. S. Sadowski, and T. M. Blackburn. 2018. Dissecting the null model for biological invasions: A meta-analysis of the propagule pressure effect. *PLoS Biology* 16:1– 15.
- Cataldo, D., A. Vinocur, I. O'Farrell, E. Paolucci, V. Leites, and D. Boltovskoy. 2012. The introduced bivalve *Limnoperna fortunei* boosts *Microcystis* growth in Salto Grande reservoir (Argentina): evidence from mesocosm experiments. *Hydrobiologia* 680:25-38.
- Cataldo, D., Vinocur, A., Paolucci, E., Leites, V., & Boltovskoy, D. (2012). The introduced bivalve *Limnoperna fortunei* boosts *Microcystis* growth in Salto Grande reservoir (Argentina): evidence from mesocosm experiments. *Hydrobiologia*, 680(1), 25-38.
- Catford, J. A., Jansson, R., & Nilsson, C. 2009. Reducing redundancy in invasion ecology by integrating hypotheses into a single theoretical framework. *Diversity and Distributions*, 15, 22–40. <https://doi.org/10.1111/j.1472-4642.2008.00521.x>
- Catford, J. A., P. A. Vesk, D. M. Richardson, and P. Pyšek. 2012. Quantifying levels of biological invasion: Towards the objective classification of invaded and invulnerable ecosystems. *Global Change Biology* 18:44–62.
- Chopin, T., & Tacon, A. G. (2021). Importance of seaweeds and extractive species in global aquaculture production. *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture*, 29(2), 139-148.
- Colautti, R.I., Grigorovich, I.A. & MacIsaac, H.J. 2006. Propagule pressure: a null model for biological invasions. *Biological Invasions* 8: 1023–1037.



- Colwell, R. K. 2009. Biodiversity: concepts, patterns, and measurement. Pages 257–263 in S. A. Levin, editor. *The Princeton guide to ecology*. Princeton University Press, Princeton, New Jersey, USA.
- Corbeil, Serge; Williams, Nette; McColl, Ken; Bergfeld, Jemma; Crane, Mark. Biotechnology and the diagnosis and surveillance of aquatic animal pathogens. In: OIE Global Conference on Aquatic Animals Health Programmes; 28-30 June 2011; Panama City, Panama. OIE Publishing; 2011. 39. <http://hdl.handle.net/102.100.100/103912?index=1>.
- Cortot, J., Farine, J. P., Houot, B., Everaerts, C., & Ferveur, J. F. (2019). Experimental introgression to evaluate the impact of sex specific traits on *Drosophila melanogaster* incipient speciation. *G3: Genes, Genomes, Genetics*, 9(8), 2561-2572.
- Costello, K. E., Lynch, S. A., McAllen, R., O’Riordan, R. M., & Culloty, S. C. (2021). The role of invasive tunicates as reservoirs of molluscan pathogens. *Biological Invasions*, 23(2), 641-655.
- Cottin, D., Roussel, D., Foucreau, N., Hervant, F., & Piscart, C. (2012). Disentangling the effects of local and regional factors on the thermal tolerance of freshwater crustaceans. *Naturwissenschaften*, 99(4), 259-264.
- Crooks, J. 1998. Habitat alteration and community-level effects of an exotic mussel, *Musculista senhousia*. *Marine Ecology Progress Series* 162: 137–152.
- Curtin, J. (2018). *lmSupport: Support for Linear Models*. R package version 2.9.13. <https://CRAN.R-project.org/package=lmSupport>.
- Curtis, D. L., & McGaw, I. J. (2012). Salinity and thermal preference of Dungeness crabs in the lab and in the field: Effects of food availability and starvation. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 413, 113-120
- da Costa, A. R., de Abreu, D. C., Chideroli, R. T., do Espirito, K. M. D. S., Gonçalves, D. D., Di Santis, G. W., & de Pádua Pereira, U. (2021). Interspecies transmission of *Edwardsiella ictaluri* in Brazilian catfish (*Pseudoplatystoma corruscans*) from exotic invasive fish species. *Diseases of Aquatic Organisms*, 145, 197-208.
- DAISIE 2009. *Handbook of alien species in Europe*. Dordrecht: Springer.
- Das, S. K., & Mandal, A. 2022. Diversification in Aquaculture Resources and Practices for Smallholder Farmers. In *Agriculture, Livestock Production and Aquaculture* (pp. 263-286). Springer, Cham.



- Davies GD, Britton JR. 2015. Assessing the efficacy and ecology of biocontrol and biomanipulation for managing invasive pest fish. *J Appl Ecol* 52:1264–1273.
- de Silva, S. S., Nguyen, T. T., Turchini, G. M., Amarasinghe, U. S., & Abery, N. W. (2009). Alien species in aquaculture and biodiversity: a paradox in food production. *Ambio: a journal of the human environment*, 38(1), 24-28.
- Dechezleprêtre, A., & Sato, M. 2020. The impacts of environmental regulations on competitiveness. *Review of Environmental Economics and Policy*.
- Di Santo, V., Jordan, H. L., Cooper, B., Currie, R. J., Beiting, T. L., & Bennett, W. A. 2018. Thermal tolerance of the invasive red-bellied pacu and the risk of establishment in the United States. *Journal of thermal biology*, 74, 110-115.
- Díaz, F., Re-Araujo, A. D., Carpizo-Ituarte, E., Garcia-Esquivel, Z., Larios-Soriano, E., Perez-Carrasco, L., & Lerma, E. (2021). Thermal Physiological Performance and Thermal Metabolic Scope of the Whelk *Kelletia kelletii* (Forbes, 1850) (Gastropoda: Neptunidae) Acclimated to Different Temperatures. *Zoological Studies*, 60.
- Dick, J. T. A., K. Gallagher, S. Avlijas, H. C. Clarke, S. E. Lewis, S. Leung, D. Minchin, J. Caffrey, M. E. Alexander, C. Maguire, C. Harrod, N. Reid, N. R. Haddaway, K. D. Farnsworth, M. Penk, and A. Ricciardi. 2013. Ecological impacts of an invasive predator explained and predicted by comparative functional responses. *Biological Invasions* 15:837-846.
- Dick, J. T., Lavery, C., Lennon, J. J., Barrios-O'Neill, D., Mensink, P. J., Robert Britton, J., Médoc, V., Boets, P., Alexander, M. E., Taylor, N. G., Dunn, A. M., Hatcher, M. J., Rosewarne, P. J., Crookes, S., Maclsaac, H. J., Xu, M., Ricciardi, A., Wasserman, R. J., Ellender, B. R., Caffrey, J. M. 2017. Invader Relative Impact Potential: A new metric to understand and predict the ecological impacts of existing, emerging and future invasive alien species. *Journal of Applied Ecology*, 54, 1259–1267. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.12849>.
- Didham RK, Tylianakis JM, Gemmill NJ, Rand TA, Ewers RM. 2007. The interactive effects of habitat loss and species invasion on native species decline. *Trends in Ecology and Evolution* 22: 489-496.
- Didham RK, Tylianakis JM, Hutchison MA, Ewers RM, Gemmill NJ. 2005. Are invasive species the drivers of ecological change? *Trends in Ecology and Evolution* 20: 470–474. doi: 10.1016/j.tree.2005.07.006.
- Doherty-Bone, T. M., A. M. Dunn, F. L. Jackson, and L. E. Brown. 2019. Multi-faceted impacts of native and invasive alien decapod species on freshwater biodiversity and ecosystem functioning. *Freshwater Biology* 64:461-473.



- Dominguez-Almela, V., J. South, and J. R. Britton. 2021. Predicting the competitive interactions and trophic niche consequences of a globally invasive fish with threatened native species. *Journal of Animal Ecology* 90:2651-2662.
- Drake JM and Bossenbroek J (2004) The potential distribution of zebra mussels in the United States. *BioScience* 54: 931–941.
- Drouillard, K. G., Feary, D. A., Sun, X., O'Neil, J. A., Leadley, T., & Johnson, T. B. (2018). Comparison of thermal tolerance and standard metabolic rate of two Great Lakes invasive fish species. *Journal of Great Lakes Research*, 44(3), 476-481.
- Dzialowski AR, Lennon JT, Smith VH. 2007. Food web structure provides biotic resistance against plankton invasion attempts. *Biol Invasions* 9:257–267.
- Elias, M., M. S. Islam, M. H. Kabir & M. K. Rahman, 1995. Biological control of mosquito larvae by Guppy fish. *Bangladesh Medical Research Council Bulletin* 21: 81–86.
- Elton CS. 2000. *The Ecology of Invasions by Animals and Plants*. University of Chicago Press, Chicago, pp 15–32.
- FAO. *Aquaculture production. Year book of Foods and Agriculture Organization of United Nation*, Rome, 2005.
- Faul, F., Erdfelder, E., Lang, A.-G., & Buchner, A. (2007). G*Power 3: A flexible statistical power analysis program for the social, behavioral, and biomedical sciences. *Behavior Research Methods*, 39, 175-191.
- Faul, F., Erdfelder, E., Buchner, A., & Lang, A.-G. (2009). Statistical power analyses using G*Power 3.1: Tests for correlation and regression analyses. *Behavior Research Methods*, 41, 1149-1160.
- Faust CL, McCallum HI, Bloomfield LSP, Gottdenker NL, Gillespie TR, Torney CJ, DobsonAP, Plowright RK. 2018. Pathogen spillover during land conversion. *Ecol. Lett.* 21,471– 483. doi:10.1111/ele.12904.
- Frost CM *et al.* 2019. Using network theory to understand and predict biological invasions. *Trends Ecol Evol* 34:831–843.
- Fryxell DC, Arnett HA, Apgar TM, Kinnison MJ, Palkovacs EP (2015) Sex ratio variation shapes the ecological effects of a globally introduced freshwater fish. *Proc R Soc B* 282:20151970.



- Gérard, J. and L. Triest. 2018. Competition between invasive *Lemna minuta* and native *L. minor* in indoor and field experiments. *Hydrobiologia* 812:57-65.
- Gilad, O., Yun, S., Andree, K. B., Adkison, M. A., Zlotkin, A., Bercovier, H., ... & Hedrick, R. P. (2002). Initial characteristics of koi herpesvirus and development of a polymerase chain reaction assay to detect the virus in koi, *Cyprinus carpio koi*. *Diseases of Aquatic Organisms*, 48(2), 101-108.
- Glover, K. A., Pertoldi, C., Besnier, F., Wennevik, V., Kent, M., & Skaala, Ø. (2013). Atlantic salmon populations invaded by farmed escapees: quantifying genetic introgression with a Bayesian approach and SNPs. *BMC genetics*, 14(1), 1-19.
- Go, J., y Whittington, R. (2019). Experimental transmission of infectious spleen and kidney necrosis virus (ISKNV) from freshwater ornamental fish to silver sweep *Scorpius lineolata*, an Australian marine fish. *Diseases of Aquatic Organisms* 137.1 (2019): 1-21.
- Goggins, J., & Dunn, N. (2019). Aquatic invasive species program. *Strategic plan, 2024*.
- Goubert C, Henri H, Minard G, Valiente Moro C, Mavingui P, Vieira C, Boulesteix M. 2017 Highthroughput sequencing of transposable element insertions suggests adaptive evolution of the invasive Asian tiger mosquito towards temperate environments. *Mol. Ecol.* 26, 3968–3981. (doi:10.1111/mec.14184).
- Gozlan RE, Britton JR, Cowx I, Copp GH. 2010. Current knowledge on non-native freshwater fish introductions. *J Fish Biol* 76:751–786.
- Gozlan, R.E. 2008. Introduction of non-native freshwater fish: Is it all bad? *Fish and Fisheries* 9: 106–115.
- Gozlan, R.E., St-Hilaire, S., Feist, S.W., Martin, P. & Kent, M.L. 2005. Disease threat to European fish. *Nature* 435: 1046.
- Gray, W. L., Mullis, L., LaPatra, S. E., Groff, J. M., & Goodwin, A. (2002). Detection of koi herpesvirus DNA in tissues of infected fish. *Journal of Fish Diseases*, 25(3), 171-178.
- Green, L., Havenhand, J. N., & Kvarnemo, C. (2020). Evidence of rapid adaptive trait change to local salinity in the sperm of an invasive fish. *Evolutionary Applications*, 13(3), 533–544. <https://doi.org/10.1111/eva.12859>.
- Green, L., & Kvarnemo, C. (2019). Sperm-duct gland content increases sperm velocity in the sand goby. *Biology Open*, 8(3), 1–6. <https://doi.org/10.1242/bio.037994>.



- Green P, MacLeod CJ (2016). "simr: an R package for power analysis of generalized linear mixed models by simulation." *Methods in Ecology and Evolution*, *7*(4), 493-498. doi: 10.1111/2041-210X.12504 (URL: <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12504>), <URL: <https://CRAN.R-project.org/package=simr>>.
- Grevstad FS (1999a) Experimental invasions using biological control introductions: the influence of release size on the chance of population establishment. *Biological Invasions* 1: 313–232.
- Gurevitch J, Padilla DK. 2004. Are invasive species a major cause of extinctions? *Trends in Ecology and Evolution* 19: 470–474. doi: 10.1016/j.tree.2004.07.005.
- Gutiérrez-Yurrita, P. J., M. Ilhéu, J. Bernardo, and C. Montes. 2015. Microcosms as an Ecological Tool to Assess the Environmental Effect Caused by Introduced Species in Temporary Wetlands. *International Proceedings of Chemical, Biological and Environmental Engineering (IPCBE)* 85:16-21.
- Habit, E.; González, J.; Ortiz-Sandoval, J.; Elgueta, A.; Sobenes, C. 2015. Efectos de la invasión de salmónidos en ríos y lagos de Chile. *Ecosistemas*, vol. 24, núm. 1, enero-abril, pp. 43-51.
- Hänfling, B., Bolton, P., Harley, M. & Carvalho, G.R. 2005. A molecular approach to detect hybridisation between crucian carp (*Carassius carassius*) and non-indigenous carp species (*Carassius* spp. and *Cyprinus carpio*). *Freshwater Biology* 52: 403–417.
- Hardin JW, Hilbe JM (2007) *Generalized linear models and extensions*. Stata Press, Texas.
- Hendrix, L. J., Carter, M. W., & Scott, D. T. (1982). Covariance analyses with heterogeneity of slopes in fixed models. *Biometrics*, 38, 641–650. <https://doi.org/10.2307/2530045>.
- Hilbe J (2014) *Modeling count data*. Cambridge University Press, New York.
- Huey, R. B., & Stevenson, R. D. (1979). Integrating thermal physiology and ecology of ectotherms: a discussion of approaches. *American Zoologist*, 19(1), 357-366.
- Hulme, P.E. 2009. Trade, transport and trouble: managing invasive species pathways in an era of globalization. *Journal of Applied Ecology* 46: 10–18.
- Hulme, P.E., Bacher, S., Kenis, M., Klotz, S., Kühn, I., Minchin, D., Nentwig, W., Olenin, S., Panov, V., Pergl, J., Pysek, P., Roques, A., Sol, D., Solarz, W. & Vilà, M. 2008. Grasping at the routes of biological invasions: a framework for integrating pathways into policy. *Journal of Applied Ecology* 45: 403–414.



- Jackson MC, Allen R, Pegg J, Britton JR. 2013. ¿Do trophic subsidies affect the outcome of introductions of a non-native freshwater fish? *Freshw Biol* 58:2144–2153.
- Jeschke, J., Bacher, S., Blackburn, T.M., Dick, J.T.A., Essl, F., Evans, T., Gaertner, M., Hulme, P.E., Kühn, I., Mrugala, A., Pergl, J., Pysek, P., Rabitsch, W., Ricciardi, A., Richardson, D.M., Sendek, A., Vilà, M., Winter, M. & Kumschick, S. 2014. Defining the impact of non-native species. *Conservation Biology*, DOI: 10.1111/cobi.12299.
- Johnson PTJ, Olden JD, Solomon CT, Vander Zanden MJ (2009) Community and ecosystem effects of invasive predators and herbivores in an experimental aquatic system. *Oecologia* 159:161–170. doi:10.1007/s00442-008-1176-x.
- Johny, T. K., Swaminathan, T. R., Sood, N., Pradhan, P. K., & Lal, K. K. (2022). A panoptic review of techniques for finfish disease diagnosis: The status quo and future perspectives. *Journal of Microbiological Methods*, 196, 106477.
- Kahn, S. A., Beers, P. T., Findlay, V. L., Peebles, I. R., Durham, P. J., Wilson, D. W., *et al.* (1999a). Import risk analysis on non-viable salmonids and non-salmonids marine finfish (p. 409). Canberra: Australian Quarantine and Inspection Service.
- Karila, P., Jensen, J., & Holmgren, S. (1993). Galanin-like immunoreactivity in extrinsic and intrinsic nerves to the gut of the Atlantic cod, *Gadus morhua*, and the effect of galanin on the smooth muscle of the gut. *Cell & Tissue Research*, 271, 537–544. <https://doi.org/10.1007/BF02913738>.
- Kelley, A. L., de Rivera, C. E., & Buckley, B. A. 2011. Intraspecific variation in thermotolerance and morphology of the invasive European green crab, *Carcinus maenas*, on the west coast of North America. *Journal of experimental marine biology and ecology*, 409(1-2), 70-78.
- Kerfoot, J.R. 2012. Thermal tolerance of the invasive *Belonesox belizanus*, pike killifish, throughout ontogeny. *Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological Genetics and Physiology*, 317(5), 266-274.
- King, S., & Warburton, K. (2007). The environmental preferences of three species of Australian freshwater fish in relation to the effects of riparian degradation. *Environmental Biology of Fishes*, 78(4), 307-316.
- Kiruba-Sankar, R., Raj, J. P., Saravanan, K., Kumar, K. L., Angel, J. R. J., Velmurugan, A., & Roy, S. D. (2018). Invasive species in freshwater ecosystems—threats to ecosystem services. In *Biodiversity and climate change adaptation in Tropical islands* (pp. 257-296). Academic Press.



- Kolar CS & Lodge DM. 2001. Progress in invasion biology: predicting invaders. *Trends in Ecology & Evolution* 16: 199–204
- Kolar CS & Lodge DM. 2002. Ecological predictions and risk assessments for alien species. *Science* 298: 1233–1236.
- Kumlu, M., Türkmen, S., & Kumlu, M. (2010). Thermal tolerance of *Litopenaeus vannamei* (Crustacea: Penaeidae) acclimated to four temperatures. *Journal of Thermal Biology*, 35(6), 305-308.
- Kuznetsova, A., Brockhoff, P. B., & Christensen, R. H. B. (2017). lmerTest Package: Tests in linear mixed effects models. *Journal of Statistical Software*, 82(13), <https://doi.org/10.18637/jss.v082.i13>.
- Lamberti GA, Resh VH (1983) Stream periphyton and insect herbivores: an experimental study of grazing by a caddisfly population. *Ecology* 64:1124–1135.
- Latombe *et al.* 2017. A vision for global monitoring of biological invasions. *Biol Cons* 213:295–308.
- Locatello, L., Pilastro, A., Deana, R., Zarpellon, A., & Rasotto, M. B. (2007). Variation pattern of sperm quality traits in two gobies with alternative mating tactics. *Functional Ecology*, 21(5), 975–981. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2435.2007.01314.x>.
- Luke, S. G. (2017). Evaluating significance in linear mixed-effects models in R. *Behavior Research Methods*, 49(4), 1494–1502. <https://doi.org/10.3758/s13428-016-0809-y>.
- Lunestad, B. T. (2003). Absence of nematodes in farmed Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) in Norway. *Journal of Food Protection*, 66, 122e124.
- Madeira, C., Mendonca, V., Leal, M. C., Diniz, M. S., Cabral, H. N., Flores, A. A., & Vinagre, C. 2019. Present and future invasion perspectives of an alien shrimp in South Atlantic coastal waters: an experimental assessment of functional biomarkers and thermal tolerance. *Biological Invasions*, 21(5), 1567-1584.
- Marentette, J. R., Fitzpatrick, J. L., Berger, R. G., & Balshine, S. (2009). Multiple male reproductive morphs in the invasive round goby (*Apollonia melanostoma*). *Journal of Great Lakes Research*, 35(2), 302–308. <https://doi.org/10.1016/j.jglr.2009.01.009>.
- McGeoch, M.A., Jetz, W., 2019. Measure and reduce the harm caused by biological invasions. *One Earth* 1, 171–174.
- McKnight, S.K. & Hepp, G.R. 1995. Potential effect of Grass carp herbivory on waterfowl foods. *The Journal of Wildlife Management* 59: 720–727.



- Mieczan, T., W. Plaska, M. Adamczuk, M. Toporowska, and A. Bartkowska. 2022. Effects of the Invasive Fish Species *Ameiurus nebulosus* on Microbial Communities in Peat Pools. *Water* 14.
- Ministerio de Economía, Fomento y Reconstrucción. 2002. Reglamento de Medidas de Protección, Control y Erradicación de enfermedades de alto riesgo para las especies hidrobiológicas. Subsecretaría de Pesca y Acuicultura.
- Ministerio de Medio Ambiente (MMA) 2021. <http://especies-exoticas.mma.gob.cl/index.php/invasionesbiologicas/>
- Mollot, G., Pantel, J.H., Romanuk, T.N., 2017. Chapter two - the effects of invasive species on the decline in species richness: a global meta-analysis. *Adv. Ecol. Res.* 56, 61–83.
- Morse, J., A. Baldrige & L. Sargent, 2013. Invasive crayfish *Orconectes rusticus* (Decapoda, Cambaridae) is a more effective predator of substrate nesting fish eggs than native crayfish (*O. virilis*). *Crustaceana* 86: 387–402.
- Moudy RM, Meola MA, Morin LL, Ebel GD, Kramer LD. 2007 A newly emergent genotype of West Nile virus is transmitted earlier and more efficiently by *Culex* mosquitoes. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 77, 365– 370. (doi:10.4269/ajtmh.2007.77.365).
- Nentwig, W. 2007. Biological invasions. Berlin: Springer.
- Nyström, P. (2002). D. Holdich (Ed.), *Ecology. Biology of freshwater crayfish*. London, UK: Blackwell Sciences Ltd.
- OIE (2021). Código sanitario de los animales acuáticos. 23rd Ed.
- OIE. (2010). Handbook on import risk analysis for animals and animal products (2nd ed., vol. 1).
- Odum, E. P. (1984). The mesocosm. *BioScience*, 34(9), 558-562.
- Ogden N. H., *et al.*, 2019. Emerging infectious diseases and biological invasions: a call for One Health collaboration in Science and management. *R. Soc. open sci* 6:181577. <http://dx.doi.org/10.1098/rsos.181577>.
- Okoli, C. and K. Schabram. 2010. A guide to conducting a systematic literature review of information systems research.
- Pawelec-Olesińska, A. 2020. Ecological and behavioural factors determining relationships between native and invasive species of freshwater fish.



- Peterson AT and Vieglais DA (2001) Predicting species invasions using ecological niche modeling. *BioScience* 51: 363– 371.
- Pimentel, D., Zuniga, R. & Morrison, D. 2005. Update on the environmental and economic costs associated with alieninvasive species in the United States. *Ecological Economics* 52: 273–288.
- Pipe, R. K., Coles, J. A., & Farley, S. R. (1995). Assays for measuring immune response in the mussel *Mytilus edulis*. *Tech Fish Immunol*, 4, 93-100.
- Potts, W. M., 1998. A nutritional evaluation of effluent grown algae and zooplankton as feed ingredients for *Xiphophorus helleri*, *Poecilia reticulata* and *Poecilia velifera* (Pisces: Poeciliidae). Rhodes University.
- Powell KL., Chase JM., Knight TM. 2011. A synthesis of plant invasion Effects on Biodiversity across spacial scale. *American Journal of Botany* 98: 539-548.
- Prado, F. D. D., Vera, M., Hermida, M., Blanco, A., Bouza, C., Maes, G. E., ... & AquaTrace Consortium. (2018). Tracing the genetic impact of farmed turbot *Scophthalmus maximus* on wild populations. *Aquaculture Environment Interactions*, 10, 447-463.
- Pretell-Monzón, K., Saavedra-Olivos, K., Calderón-Romero, A., Alvarado, V. Q., de Lama, D. A., Mata, B. B., & Gómez-Sánchez, M. (2019). Sanitary surveillance of wild peneidae in the main tidal channels of Tumbes, Perú. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú (RIVEP)*, 30(4), 1724-1733.
- Pysek, P, Hulme, PH & Nentwig, W 2009. Glossary of the main technical terms used in this handbook. In: DAISIE, ed. *Handbook of alien species in Europe*. Dordrecht: Springer, pp. 375–379.
- Pysek, P. & Richardson, D.M. 2010. Invasive species, environmental change and management, and health. *Annual Review of Environment and Resources* 35: 25–55.
- Pyšek, P., Hulme, P.E., Simberloff, D., Bacher, S., Blackburn, T.M., *et al.*, 2020. Scientists' warning on invasive alien species. *Biol. Rev.* 95, 1511–1534.
- Quintanilla, J. C., M. P. González, J. P. García, P. Olmos, and S. Contreras-Lynch. 2021. Horizontal transmission of *Piscirickettsia salmonis* from the wild sub-Antarctic notothenioid fish *Eleginops maclovinus* to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) under experimental conditions. *Journal of Fish Diseases* 44:993-1004.
- R Core Team. (2013). R: A language and environment for statistical computing. <https://www.r-project.org/>.



- R Core Team. (2014). R: A language and environment for statistical computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing. Retrieved from <http://www.R-project.org/>
- Reichard S (2001) The search for patterns that enable prediction of invasion. In: Groves RH, Panetta FD and Virtue JG (eds) Weed Risk Assessment, pp 10–19. CISRO Publishing, Collingwood, Victoria, Australia.
- Reizenberg, J. L. (2017). The thermal tolerances and preferences of native fishes in the Cape Floristic Region: towards understanding the effect of climate change on native fish species (Master's thesis, University of Cape Town).
- Renda, A., Schrefler, L., Luchetta, G., & Zavatta, R. 2013. Assessing the costs and benefits of Regulation. CEPS Study Final Report to the EC, 2013, [Global Governance Programme], [European, Transnational and Global Governance] - <http://hdl.handle.net/1814/39884>.
- Richardson, M.J., Whoriskey, F.G. & Roy, L.H. 1995. Turbidity generation and biological impacts of an exotic fish *Carassius auratus*, introduced into shallow seasonally anoxic ponds. *Journal of Fish Biology* 47: 576–585.
- Rimmer, A. E., R. J. Whittington, A. Tweedie, and J. A. Becker. 2016. Susceptibility of a number of Australian freshwater fishes to dwarf gourami iridovirus (Infectious spleen and kidney necrosis virus). *Journal of Fish Diseases* 40:293-310.
- Rixon, C. A., Duggan, I. C., Bergeron, N., Ricciardi, A., & Macisaac, H. J. 2005. Invasion risks posed by the aquarium trade and live fish markets on the Laurentian Great Lakes. *Biodiversity & Conservation*, 14(6), 1365-1381.
- Rojas Molina, F. M., S. J. De Paggi, and D. Frau. 2012. Impacts of the invading golden mussel *Limnoperna fortunei* on zooplankton: a mesocosm experiment.
- Rosewarne, P., Mortimer, R. J., Newton, R. J., Grocock, C., Wing, C. D., & Dunn, A. M. (2016). Feeding behaviour, predatory functional responses and trophic interactions of the invasive Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*) and signal crayfish (*Pacifastacus leniusculus*). *Freshwater Biology*, 61, 426–443. <https://doi.org/10.1111/fwb.12717>.
- Rowe, F. 2014. What literature review is not: diversity, boundaries and recommendations. *European journal of information systems* 23:241-255.
- Senanan, W., Kapuscinski, A. R., Na-Nakorn, U., & Miller, L. M. (2004). Genetic impacts of hybrid catfish farming (*Clarias macrocephalus* × *C. gariepinus*) on native catfish populations in central Thailand. *Aquaculture*, 235(1-4), 167-184.



- Sandlund, N., Rønneseth, A., Ellul, R. M., Nylund, S., & Sandlund, L. (2021). *Pasteurella* spp. Infections in Atlantic salmon and lumpsucker. *Journal of Fish Diseases*, 44(8), 1201-1214.
- Seebens, H., Bacher, S., Blackburn, T.M., Capinha, C., Dawson, W., *et al.*, 2020. Projecting the continental accumulation of alien species through to 2050. *Glob. Chang. Biol.* (in press).
- Seebens, H., Blackburn, T.M., Dyer, E.E., Genovesi, P., Hulme, P.E., *et al.*, 2018. Global rise in emerging alien species results from increased accessibility of new source pools. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 115, E2264–E2273.
- Seebens, H., Blackburn, T.M., Dyer, E.E., Genovesi, P., Hulme, P.E., *et al.*, 2017. No saturation in the accumulation of alien species worldwide. *Nat. Commun.* 8, 14435.
- Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura (Sernapesca). 2017. Anuarios estadísticos. Cosechas Centros de Cultivo Región. Consultado 21 de junio de 2022.
- Shabani, F., Ahmadi, M., Kumar, L., Sohljouy-fard, S., Tehrany, M.S., *et al.*, 2020. Invasive weed species' threats to global biodiversity: future scenarios of changes in the number of invasive species in a changing climate. *Ecol. Indic.* 116, 106436.
- Sheath, D.J., Williams, C.F., Readingm A.J., & Britton, J.R. (2015). Parasites of non-native freshwater fishes introduced into England and Wales suggest enemy release and parasite acquisition. *Biological Invasions*, 17, 2235-2246. <https://doi.org/10.1007/s10530-015-0857-8>
- Simberloff D. 2011. Non-natives: 141 scientists object. *Nature* 475: 36–36. doi: 10.1038/475036
- Simon, K.S., Townsend, C.R., Biggs, B.J.F., Bowden, W.B. & Frew, R.D. 2004. Habitat-specific nitrogen dynamics in New Zealand streams containing native or invasive fish. *Ecosystems* 7: 777–792.
- Spatz, D.R., Zilliacus, K.M., Holmes, N.D., Butchart, S.H.M., Genovesi, P., *et al.*, 2017. Globally threatened vertebrates on islands with invasive species. *Sci. Adv.* 3, e1603080.
- Steinman, A. D., Lamberti, G. A., & Leavitt, P. (1996). Biomass and pigments of benthic algae. In F. R. Hauer, & G. A. Lamberti (Eds.), *Methods in stream ecology* (pp. 357–359). Oxford, UK: Elsevier Inc.
- Stephane Champely (2020). pwr: Basic Functions for Power Analysis. R package version 1.3-0. <https://CRAN.R-project.org/package=pwr>.
- Stewart, R. I. A., M. Dossena, D. A. Bohan, E. Jeppesen, R. L. Kordas, M. E. Ledger, M. Meerhoff, B. Moss, C. Mulder, J. B. Shurin, B. Suttle, R. Thompson, M. Trimmer, and G. Woodward. 2013.



Chapter Two - Mesocosm Experiments as a Tool for Ecological Climate-Change Research. Pages 71-181 in G. Woodward and E. J. O'Gorman, editors. *Advances in Ecological Research*. Academic Press.

- Stuart-Smith, R. D., Edgar, G. J., & Bates, A. E. (2017). Thermal limits to the geographic distributions of shallow-water marine species. *Nature Ecology & Evolution*, 1(12), 1846-1852.
- Sutherland WJ, Pullin AS, Dolman PM, Knight TM. 2004. The need for evidence-based conservation. *Trends in Ecology & Evolution* 19: 305–308. doi: 10.1016/j.tree.2004.03.018.
- Sutherst RW (2003) Prediction of species' geographical ranges. *Journal of Biogeography* 30: 1944–1945.
- Taylor, C. M. & A. Hastings, 2005. Allee effects in biological invasions. *Ecology Letters* 8: 895–908.
- Taylor, N. G. 2016. Why are invaders invasive? Development of tools to understand the success and impact of invasive species. University of Leeds.
- Tepolt, C. K., & Somero, G. N. 2014. Master of all trades: thermal acclimation and adaptation of cardiac function in a broadly distributed marine invasive species, the European green crab, *Carcinus maenas*. *Journal of Experimental Biology*, 217(7), 1129-1138.
- Tsang, A. H. F. & D. Dudgeon. 2021. A comparison of the ecological effects of two invasive poeciliids and two native fishes: a mesocosm approach. *Biological Invasions* 23:1517-1532.
- Turbelin, A.J., Malamud, B.D., Francis, R.A., 2017. Mapping the global state of invasive alien species: patterns of invasion and policy responses. *Glob. Ecol. Biogeogr.* 26, 78–92.
- Turingan, R., & Sloan, T. 2016. Thermal resilience of feeding kinematics may contribute to the spread of invasive fishes in light of climate change. *Biology*, 5(4), 46.
- Underwood AJ. 1996. Detection, interpretation, prediction and management of environmental disturbances: Some roles for experimental marine ecology. *Journal of Experimental Marine Biology & Ecology* 200: 1–27. doi: 10.1016/S0022-0981(96)02637-8.
- Usio N, Nakata K, Kawai T, Kitano S (2007) Distribution and control status of the invasive signal crayfish (*Pacifastacus leniusculus*) in Japan. *Jap J Limnol* 68:471–482. doi: 10.3739/rikusui.68.471.
- Van den Brink, A. & S. Hutting. 2017. Clash of the crabs: Interspecific, inter-cohort competition between the native European green crab, *Carcinus maenas* and the exotic brush clawed crab *Hemigrapsus takanoi* on artificial oyster reefs. *Journal of Sea Research* 128:41-51.



- Vilà, M., Basnou, C., Pysek, P., Josefsson, M., Genovesi, P., Gollasch, S., Nentwig, W., Olenin, S., Roques, A., Roy, D., Hulme, P.E. & DAISIE partners, 2010. How well do we understand the impacts of alien species on ecosystem services? A pan-European, cross-taxa assessment. *Frontiers in Ecology and the Environment* 8: 135–144.
- Vitousek, P.M., D'Antonio, C.M., Loope, L.L., Rejmánek, M. & Westbrooks, R. 1997. Introduced species: a significant component of human-caused global change. *New Zealand Journal of Ecology* 21: 1–16.
- Vonesh J, McCoy M, Altwegg R, Landi P, Measey J. 2017. Functional responses can't unify invasion ecology. *Biol Invasions* 19:1673–1676.
- Warbanski, M. L., P. Marques, T. C. Frauendorf, D. A. T. Phillip & R. W. El-Sabaawi, 2017. Implications of guppy (*Poecilia reticulata*) life-history phenotype for mosquito control. *Ecology and Evolution* 7: 3324–3334.
- Wendling, C. C., & Wegner, K. M. (2013). Relative contribution of reproductive investment, thermal stress and *Vibrio* infection to summer mortality phenomena in Pacific oysters. *Aquaculture*, 412, 88-96.
- Wendling C.C., Batista F.M., Wegner K.M. (2014). Persistence, seasonal dynamics and pathogenic potential of *Vibrio* communities from Pacific oyster hemolymph. *PLoS ONE* 9, e94256. (doi:10.1371/journal.pone.0094256).
- Westhoff, J. T., & Rosenberger, A. E. (2016). A global review of freshwater crayfish temperature tolerance, preference, and optimal growth. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 26(3), 329-349.
- Whiles MR, Hall RO Jr, Dodds WK, Verburg P, Huryn AD, Pringle CM, Lips KR, Kilham SS, Colón-Gaud C, Rugenski AT, Peterson S, Connelly S (2013). Disease-driven amphibian declines alter ecosystem processes in a tropical stream. *Ecosystems* 16:146–157.
- Williamson M (1996) *Biological Invasions*. Chapman and Hall, London, 244 pp.
- Wilson-Leedy, J. G., & Ingermann, R. L. (2007). Development of a novel CASA system based on open source software for characterization of zebrafish sperm motility parameters. *Theriogenology*, 67(3), 661–672. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2006.10.003>.



- Wood, L. E., Guilder, J., Brennan, M. L., Birland, N. J., Taleti, V., Stinton, N., ... & Thrush, M. A. (2022). Biosecurity and the ornamental fish trade: a stakeholder perspective in England. *Journal of Fish Biology*, 100(2), 352-365.
- Xu, M., X. Mu, J. T. A. Dick, M. Fang, D. Gu, D. Luo, J. Zhang, J. Luo, and Y. Hu. 2016. Comparative Functional Responses Predict the Invasiveness and Ecological Impacts of Alien Herbivorous Snails. *PLOS ONE* 11:e0147017.
- Zandona`, E., S. K. Auer, S. S. Kilham, J. L. Howard, A. López Sepulcre, M. P. O'Connor, R. D. Bassar, A. Osorio, C. M. Pringle & D. N. Reznick, 2011. Diet quality and prey selectivity correlate with life histories and predation regime in Trinidadian guppies. *Functional Ecology* 25: 964–973.
- Zerebecki, R. A., & Sorte, C. J. (2011). Temperature tolerance and stress proteins as mechanisms of invasive species success. *PLOS one*, 6(4), e14806.
- Zhiyong Zhang and Yujiao Mai (2022). WebPower: Basic and Advanced Statistical Power Analysis. R package version 0.8.6. <https://CRAN.R-project.org/package=WebPower>.
- Zuur AF, Ieno EN, Walker NJ, Saveliev AA, Smith GM (2009) *Mixed Effects Models and Extensions in Ecology with R*. Springer, New York.

A N E X O S

ANEXO 1

Actas de reuniones de coordinación y generales



Puerto Montt, 22 de diciembre de 2021

Acta Reunión de Coordinación N°1

Proyecto "Revisión, actualización y mejoramiento de los ensayos de cohabitación, que forman parte del estudio sanitario con efectos de impacto ambiental requerido en el marco de la internación de especies de primera importación (D.S. (MINECON) N° 730 del 1995".

Fecha de reunión: 22 de diciembre de 2021

1. Asistencia (mediante videoconferencia):

En Valparaíso:

- Maureen Alcayaga (Subpesca)
- Carolina Molina (Subpesca)
- Malú Zavando (FIPA Subpesca)

En Puerto Montt:

- Juan Carlos Quintanilla (IFOP)

2. Objetivo:

Presentar el plan de trabajo, metodologías y procedimientos del estudio. Coordinar las actividades a realizar con el representante de FIPA y las contrapartes técnicas de Subpesca.

3. Temas tratados:

- Juan Carlos Quintanilla de IFOP realizó presentación del proyecto adjudicado, en la que se incluyeron los antecedentes del estudio, objetivos, resumen metodológico de cada una de las actividades, equipo de trabajo y carta Gantt.
- Finalizada la presentación, el representante de IFOP indica la necesidad de poder tener acceso a las solicitudes de primera importación de especies hidrobiológicas exóticas realizadas por peticionarios, y que hayan sido aprobadas para tal efecto, y a la vez consulta por la persona responsable y vía para canalizar dicho requerimiento. Frente a ello, Carolina Molina de la Subpesca, indica que el requerimiento se le debe hacer directamente a ella, el cual puede hacerse vía correo electrónico, poniendo a disposición aquellas solicitudes de importación de especies hidrobiológicas que dispongan de estudios de cohabitación, como aquellas que no cuentan con estudios.
- Malú Zavando del FIPA Subpesca, se incorpora posteriormente a la reunión, ya que se encontraba en otro compromiso. En su intervención, entrega información de índole

1



administrativo, acorde a los procedimientos que utilizan los estudios FIPA para el desarrollo de los proyectos. De igual modo, solicita que, en lo posible, sea copiada en los correos de requerimientos del proyecto. Adicionalmente, indica que se deberá avisar con anticipación al FIPA en caso de requerirse cambios, solicitudes de prórroga o aplazamiento de informes.

- Por su parte, Carolina Molina de la Subpesca, indica que, respecto de la presentación del proyecto adjudicado, esta fue completa y acorde a la propuesta técnica. Solo comenta que respecto de las mejoras en las metodologías planteadas en el objetivo específico N° 2, sería importante para la Subpesca considerar la selección de las especies nativas con las que se hacen los ensayos de cohabitación (junto a las especies exóticas), conocer bien el n mínimo de individuos que se requeriría para los ensayos de cohabitación, y finalmente abordar lo relativo a las instalaciones donde se realizarán los ensayos, teniendo como referencia los espacios, estructuras e instalaciones con que cuentan los peticionarios que han realizado este tipo de estudios.
- Maureen Alcayaga de la Subpesca, sugiere igualmente en atención al objetivo específico N° 2, que debería considerarse, en la generalidad, una propuesta de diseño metodológico para estudios de cohabitación que considere los requisitos mínimos cumplibles para especies objetivo de cultivo. En el caso de especies como las macroalgas, donde no hay mayor claridad al respecto, no deberían ser sometidas a importación con estudios SEIA, por lo que podría evaluarse darle un enfoque como propuesta de análisis de riesgo de invasión de especies exóticas.
- Finalmente, Carolina Molina solicita, que, en relación a la entrega de los informes corregidos, se deje explicitado en el documento o a través de una carta, las páginas donde se abordaron las observaciones realizadas.

4. Principales acuerdos:

- IFOP solicitará a la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura, mediante correo electrónico, los antecedentes relacionados con solicitudes previas de primera importación de especies hidrobiológicas exóticas realizadas por peticionarios. SUBPESCA, se compromete a entregar los antecedentes que sean requeridos.
- IFOP considerará los comentarios señalados por Carolina Molina, en atención a las mejoras en las metodologías planteadas en el objetivo específico N° 2, algunos de los cuales si fueron mencionados en la propuesta técnica.
- IFOP considerará las sugerencias indicadas por Maureen Alcayaga, en atención a las mejoras en las metodologías planteadas en el objetivo específico N° 2.
- IFOP considerará, a solicitud de SUBPESCA, la elaboración de un documento que dará respuesta a las observaciones realizadas por el evaluador cuando se haga entrega de un informe corregido, e indicará la numeración de página del informe donde sean abordadas las observaciones.



Puerto Montt, 24 de junio de 2022

Acta de Reunión General N° 1

Proyecto “Revisión, actualización y mejoramiento de los ensayos de cohabitación, que forman parte del estudio sanitario con efectos de impacto ambiental requerido en el marco de la internación de especies de primera importación (D.S. (MINECON) N° 730 del 1995”.

Fecha de reunión: 24 de junio de 2022

1. Asistencia (mediante videoconferencia):

En Valparaíso:

- Maureen Alcayaga (Subpesca)
- Carolina Molina (Subpesca)

En Puerto Montt:

- Juan Carlos Quintanilla (IFOP)
- Jaiber Solano (IFOP)
- Margarita González (IFOP)

2. Objetivo:

Presentar una caracterización de las etapas del proceso relativo a la importación de especies hidrobiológicas de primera internación, elaborado a partir de las solicitudes de importación analizadas, a fin de identificar en qué lugar del proceso se enmarcaron los nuevos estudios requeridos.

3. Temas tratados:

- Juan Carlos Quintanilla de IFOP realizó una presentación que involucró, esquemáticamente y a través de un árbol de decisión, todo el proceso relacionado a la primera importación de especies hidrobiológicas, el que se elaboró a partir de la revisión de los antecedentes de las solicitudes de primera importación. Ello permitió poder identificar en qué lugar del proceso se enmarcarían las nuevas metodologías de estudios propuestos que se están solicitando.
- Una vez finalizada la presentación, y para una mayor comprensión del proceso, Maureen Alcayaga de SUBPESCA toma la palabra, y realiza una explicación detallada de los pasos que sigue la SUBPESCA cuando se recibe una solicitud de internación de una especie

1



hidrobiológica al país, ejemplificando ello a través de algunas experiencias que han tenido como autoridad, en solicitudes de importación de especies hidrobiológicas exóticas.

- A partir del árbol de decisión presentado, IFOP consulta si es bueno que haya quedado explícito en el esquema lo relativo a la utilización de sistemas abiertos, en los casos cuando el objetivo futuro de la especie a internar sea el cultivo. Al respecto, Maureen Alcayaga señala que existe una intención de la SUBPESCA que el ingreso de cualquier nueva especie exótica, cuyo objetivo final sea el cultivo, no pase por un sistema abierto, y que se mantenga siempre bajo condiciones controladas. De igual modo, indica que actualmente no hay claridad en la norma en este sentido y tampoco lo prohíbe. Al respecto, señala que sería bueno mantener el sistema abierto en la propuesta del árbol de decisión desarrollada (con restricciones particulares, que permitan desistir al solicitante), a fin de que se tenga como antecedente de que si en algún momento se llegara a tener la intención de ingresar una nueva especie exótica cuya finalidad de cultivo sea en un sistema abierto, la decisión sería rechazada por parte de la SUBPESCA.
- Maureen Alcayaga de SUBPESCA, señala que sería relevante poder considerar estudios de corta duración de tolerancia ambiental para las especies que se desean importar, y que pudiera servir de antecedente para considerar o no la solicitud de algún otro estudio complementario. En este sentido, Margarita González de IFOP, señala que, si bien este tipo de estudio ya había sido considerado por parte del equipo de trabajo, este podría incorporarse y considerarse como una modificación propuesta a la solicitud de antecedentes generales (biológicos) de la especie a importar. En aquellos casos que no exista evidencia científica que permita establecer rangos de tolerancia de T°, se propone realizar un estudio como parte de los ESEIA.
- Adicionalmente Margarita González señala que, en lo referente a los estudios de desafío sanitario, cohabitación ecológica y mesocosmos, que serían parte de las nuevas metodologías de estudios propuestos (ESEIA), pasarían a ser parte integrante de los resultados del objetivo específico N° 3, puesto que el tema de esta reunión se ha centrado en la revisión general del proceso de primera importación (objetivo específico N° 2).
- Por su parte, Carolina Molina de la SUBPESCA, señala que, sería recomendable poder incorporar antecedentes que ayuden a la gestión, especialmente lo relativo a estudios de cohabitación, que son los que están más faltos de respaldo, principalmente en lo relativo al número de ejemplares requeridos en los ESEIA. En este sentido, Jaiber Solano de IFOP indica que, dado que la diversidad de taxas es tan amplia, es muy complejo poder definir un "n" determinado. En este sentido, el representante de IFOP indica que esta parte del proyecto se está abordando en base al establecimiento de criterios específicos, más que a entregar un "n" establecido.
- Finalmente, Juan Carlos Quintanilla consulta por las apreciaciones generales y comentarios finales al árbol de decisión elaborado. En este sentido, los representantes de SUBPESCA manifiestan, en una primera instancia, encontrarlo claro y que aborda todos los pasos relativos al proceso. De igual modo, señalan que volverán a revisarlo con calma, y nos harán llegar sus observaciones, de existir.



4. Principal acuerdo:

- En cuanto se dispongan en detalle de los antecedentes relativos a las nuevas metodologías de estudios propuestos desarrolladas por parte de IFOP (desafío sanitario, cohabitación ecológica y mesocosmos), éste solicitará a la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura, una nueva reunión para la presentación de las mismas. Tanto Carolina Molina como Maureen Alcayaga, manifiestan su interés y disposición para participar de esta nueva reunión, lo que permitirá rescatar sus apreciaciones y comentarios acerca de las nuevas metodologías elaboradas, y así dar cumplimiento a las actividades comprometidas en el proyecto.



Puerto Montt, 19 de julio de 2022

Acta Reunión General N° 2

Proyecto “Revisión, actualización y mejoramiento de los ensayos de cohabitación, que forman parte del estudio sanitario con efectos de impacto ambiental requerido en el marco de la internación de especies de primera importación (D.S. (MINECON) N° 730 del 1995”.

Fecha de reunión: 19 de julio de 2022

1. Asistencia (mediante videoconferencia):

En Valparaíso:

- Maureen Alcayaga (Subpesca)
- Carolina Molina (Subpesca)

En Puerto Montt:

- Juan Carlos Quintanilla (IFOP)
- Jaiber Solano (IFOP)
- Felipe Pontigo (IFOP)
- Margarita González (IFOP)

2. Objetivo:

Presentar las nuevas metodologías de estudios propuestos en el marco de la internación de especies hidrobiológicas de primera importación

3. Temas tratados:

- Jaiber Solano de IFOP realizó una presentación acerca de las nuevas metodologías relacionadas con ensayos de desafío, ensayos de cohabitación ecológica, ensayos de exclusión y estudios de mesocosmos, propuestos en el marco de la importación de especies hidrobiológicas exóticas de primera internación. En su presentación, destaca la relevancia de poder descartar todos aquellos ensayos o estudios que consideren experimentación *in situ*, dado el potencial impacto biológico y ambiental que ello pudiese generar sobre el patrimonio biológico y sanitario del país.
- En relación a los desafíos de tolerancia térmica, Jaiber Solano señala como propuesta que primeramente se realice una aclimatación en laboratorio acorde a las temperaturas locales, y luego se ejecuten los ensayos de exposición, los que se deberían realizar a un rango mayor de temperatura. En este sentido, se propone que sean no menos de 10°C de diferencia, por debajo y por encima de la T° de aclimatación.

1



- Maureen Alcayaga de la SUBPESCA, solicita aclarar cómo a partir de la temperatura de aclimatación (temperatura ambiental) se podría conocer el óptimo de la temperatura de la especie. En este sentido, el representante de IFOP señala que para dilucidar ello, se propone la realización de un ensayo de temperatura de preferencia del organismo, acorde de poder estimar su curva de desempeño y así conocer sus valores extremos, donde se reduciría el desempeño del organismo.
- Por su parte, en relación a los criterios para definir el número de ejemplares necesarios para los ensayos de desafío, Jaiber Solano señala que ello se realizará por medio de la talla y peso de los individuos (densidad) en función de optimizar el bienestar animal, considerando un nivel de replicación mínimo de 3. En este sentido, Maureen Alcayaga consulta cómo se abordará el número de ejemplares requeridos, en caso que no exista ningún tipo de información de la especie a importar. Al respecto, Maureen Alcayaga concuerda con un nivel de replicación mínimo de 3. Sin embargo, respecto de la talla y peso de individuos, señala que el objetivo era obtener información más concreta del número de ejemplares, ya que actualmente no existe esa información.
- En relación a esto último, Margarita González de IFOP señala que acorde a lo mencionado por representantes de SUBPESCA en la reunión de coordinación N° 2, en general la importación de una especie debiera derivar de un cultivo previo ya existente, y no desde zonas naturales, donde probablemente no exista ningún tipo de información, más aún si se considera que son muy pocas las zonas autorizadas desde las cuales se podría importar especies al país. Por lo tanto, estos antecedentes podrían representar un punto de partida para conocer las densidades que maximizan el bienestar animal.
- Respecto de los ensayos de desafío, Maureen Alcayaga, señala que en los ensayos de desafío que se proponen, no deberían considerarse los ensayos de desafío sanitarios, por cuanto la parte sanitaria estaría cubierta con la vigilancia sanitaria específica (muestreo de ejemplares) que se realiza dentro de todo el marco de tiempo que dure el estudio. En relación a este punto, se acordó mantener los antecedentes en relación a los ensayos de desafío sanitario, sin embargo, que estos no sean considerados como propuestas (en sentido estricto), debido a su imposibilidad de aplicación en la actualidad.
- En relación a los ensayos de cohabitación inter-especies, Maureen Alcayaga señala que, para el caso particular de este tipo de ensayos, el interés estará siempre dirigido al bien superior que en el caso de Chile sería la biodiversidad, por lo que, se hace necesario tener claridad al establecer los criterios para definir las especies cohabitantes. Esto concuerda con lo presentado por Jaiber Solano, quien señala como criterios relevantes el considerar la presencia y la disponibilidad en Chile de las especies que se desean mantener en cohabitación con las especies exóticas para poder realizar los estudios, además de las relaciones filogenéticas con especies de susceptibilidad conocida.
- Respecto de los estudios de mesocosmos (al aire libre y en laboratorio), Jaiber Solano señala que la ventaja de implementar este tipo de estudios radicaría en que permiten la realización de



una vigilancia ambiental, evaluar interacciones biológicas y permite hacer una extrapolación de los potenciales impactos que podrían ocurrir hasta un nivel ecosistémico.

- En términos de tiempo, Maureen Alcayaga consulta cuanto tiempo implicaría desde el ensayo de desafío hasta el mesocosmos. Al respecto, Jaiber Solano señala que eso dependería de la especie, pero en términos generales, los ensayos de desafío no deberían ser superiores a 1 mes por grupo.
- Carolina Molina de la SUBPESCA consulta que, dada la complejidad que requiere la implementación de estudios de mesocosmos, si se podría llegar a prescindir de este tipo de estudio o siempre se deberían implementar, o bien se pudieran entregar directrices de cuando utilizarlo y con qué tipo de especies. Al respecto, Jaiber Solano indica que este tipo de estudio debería quedar como un ensayo recomendado y a criterio de la autoridad para su aplicación.

4. Principal acuerdo:

- IFOP se compromete a hacer envío a los representantes de la SUBPESCA de las fichas resumidas conteniendo toda la metodología asociada a los estudios de desafío, cohabitación y mesocosmos, que corresponden a las nuevas metodologías de estudios propuestos en el marco de la internación de especies hidrobiológicas de primera importación.
- Por su parte, la SUBPESCA sugerirá el nombre del representante del Servicio Nacional de Pesca, que debería ser considerado como parte del panel de expertos en el taller de validación de las propuestas metodológicas a realizar.



Puerto Montt, 05 de agosto de 2022

Acta taller de expertos FIPA Primera Importación

Proyecto “Revisión, actualización y mejoramiento de los ensayos de cohabitación, que forman parte del estudio sanitario con efectos de impacto ambiental requerido en el marco de la internación de especies de primera importación (D.S. (MINECON) N° 730 del 1995”.

Fecha de reunión: 05-08-2021

Hora: 10:00 - 13:00 hrs.

Nota: Previo a la realización del taller, se hizo envío a todas las personas invitadas, un documento que contenía en detalle la información asociada a (1) las propuestas de mejora a los procedimientos y/o análisis para la evaluación ambiental y sanitaria en marco del proceso de internación de especies hidrobiológicas de primera importación en Chile y (2) las propuestas de nuevas metodologías para la evaluación ambiental y sanitaria en marco del proceso de internación de especies hidrobiológicas de primera importación a Chile.

Participantes:

Carolina Molina	SUBSECRETARIA DE PESCA Y ACUICULTURA
Carlos Diaz Millard	TRANSANTARTIC
Maureen Alcayaga	SUBSECRETARIA DE PESCA Y ACUICULTURA
Luis Castañeda	UNIVERSIDAD DE CHILE
Cesar Rivera	ESTURIONES ANDES
Marcela Díaz	ESTURIONES ANDES
Juan Carlos Quintanilla	INSTITUTO DE FOMENTO PESQUERO
Sergio Contreras	INSTITUTO DE FOMENTO PESQUERO
Jaiber Solano	INSTITUTO DE FOMENTO PESQUERO
Felipe Pontigo	INSTITUTO DE FOMENTO PESQUERO



1. Presentación Juan Carlos:

"Generación de propuestas de modificación a los estudios asociados al actual proceso de primera importación"

1.1 Solicitud de certificados sanitarios:

- **Maureen:** Esta información si está en el artículo 10 del 730 numeral 2, a lo mejor se podría explicitar en el reglamento. Está el requerimiento en el reglamento. Se podría evaluar esta situación para dejarlo más claro por si no se logra entender bien.
- **Carlos:** No recuerda mucho al respecto ya que su importación fue el año 2015. *Venerupus fulastra* (almeja babosa) fue la especie que quisieron importar. Trabajaron con fundación Chile para el cultivo de almejas. Si bien ya estaban con otro proyecto de almejas, quisieron tomarlo como algo en paralelo. Dice que el proceso fue muy largo y se demoraron 2 años en responder. El proyecto inicial fue de 200 mil dólares y tuvo como objetivo probar la generación de larvas y luego escalar a algo más industrial.
- **Juan Carlos:** En virtud de lo planteado, entonces sería recomendable que todo quede más explícito, ya que acorde a lo revisado en el Decreto Supremo N° 730, no está la información expuesta de forma muy clara. |

1.2 Descripción del hábitat donde se realizará el ESEIA en términos bióticos y abióticos:

- **Maureen:** Los decretos supremos no entregan información específica. Los detalles se agregan en una resolución. No se debería agregar ya que no puede ser tan grande el cuerpo legal. Propone que queden explicitados en una resolución.
- **Carlos:** Señala que le complicó que no le dieran facilidades. Dice que desearon la realización de estudios ya que no los podían abordar. Agrega que no le gustaría volver a realizar una nueva importación. Insiste que debe primar el patrimonio sanitario del país, pero reitera que es necesario agilizar las cosas, sin dejar de hacerlo bien. Pide reiteradamente que debe haber facilidades.
- **Cesar:** El 2016 importaron esturiones. La experiencia para ellos fue muy fluida. En su opinión es por la especie ya que hay un gran seguimiento (CITES). Tuvieron claro que necesitaban hacer todos los estudios. Para lo abiótico y en específico en la cohabitación, señalan que fue simple realizar este estudio por lo que todo está incorporado en ese estudio. Señala que es necesario encadenar los procesos.



- **Maureen:** En general, los centros de cultivo cuando realizan una importación, ya tienen aprobado todos los cumplimientos sectoriales, como el control sanitario, control sanitario animal, la evaluación del hábitat donde está el centro de cultivo, y también el seguimiento. Cuando el centro tiene muchos años ya otorgado, es necesario actualizar todas estas autorizaciones. Si hay un seguimiento, puede considerarse como actualización. Se podría (abióticos y bióticos) que podrían ser requeridos, y la SUBPESCA podría asignar cuales deberían de ser evaluados.
 - **Cesar:** Se debería hacer una separación de 2 tipos de acuicultura (agua/tierra). En relación a los puntos a evaluar.
 - **Maureen:** Comenta que el espíritu de la norma es permitir las importaciones, pero en ningún caso para mantención en sistemas abiertos. Sólo se autoriza en circuito controlado.
 - **Carolina:** Los parámetros y/o variables propuestas debería ser lo mínimo a solicitar. La SUBPESCA puede analizar y solicitar otra variable si fuese necesario.
- ✓ **No se proponen nuevas variables a medir en este punto.**

1.3 Identificación de los efectos directos e indirectos de la especie sobre las especies acuáticas silvestres y en cultivo, existentes en la zona zoogeográfica que corresponda:

- **Maureen:** Hace mención a lo mismo señalado en el punto anterior, indicando que el detalle de todos los parámetros mínimos requeridos se podría realizar por medio de una resolución exenta.
- **Carolina:** Realiza comentario similar a Maureen, indicando que el requerimiento de solicitud de parámetros podría ser abierto, en función de la especie a importar.
- **Cesar:** De acuerdo. Está preocupado por el tema del ensayo de desafío sanitario.
- **Juan Carlos:** Comenta que el detalle asociado al ensayo de desafío se abordará en la presentación de Jaiber Solano, como parte de las nuevas metodologías propuestas.

1.4 Caracterización de los efectos directos e indirectos de la especie a importar sobre el ecosistema acuático:

- **Maureen:** Actualmente la ejecución de los Estudios Sanitarios con efectos de Impacto Ambiental (ESEIA) está en el reglamento. Cuando se solicita, se contacta a los importadores quienes proponen en el estudio, luego la SUBPESCA ajusta los ESEIA. Tienen pautas y les complica



establecer cosas puntuales. Quizás sea bueno poner lo que recomienda la OMSA. Lo importante es que esté claro que la vigilancia se hace para los patógenos a los que las especies son susceptibles. Recordar que también participa el SERNAPESCA. En esta propuesta, los ensayos de desafío y cohabitación sanitaria no deberían ser incluidos. Los ensayos de tolerancia ambiental si pueden ser parte del estudio de cohabitación, pensando en una etapa previa a este estudio, el cual podría aplicarse solo en los casos que corresponda. Como ejemplo, para los esturiones ya existe información asociada que respalda que tienen una amplia tolerancia térmica.

- **Luis:** Sería bueno considerar la variación genética del stock a importar, pueden evolucionar y adaptarse.
- **Maureen:** En virtud de lo planteado, vuelve a proponer la importancia de proponer estudios de tolerancia ambiental.

1.5 Proponer un sistema de monitoreo preventivo de las variables sanitarias y ecológicas:

- Sin comentarios al respecto. Se abordará en la presentación de Jaiber.

2. Presentación Jaiber:

“Diseño y elaboración de nuevas propuestas metodológicas para el proceso de primera importación de especies exóticas”

2.1 Comentarios generales.

- **Carolina:** Le parece bien, la SUBPESCA se enfoca en cohabitación y les parece apropiado. Podrían recomendar cuándo realizar 1, 2 o 3 análisis. Principalmente consultan sobre los ensayos de mesocosmos.
- **Jaiber:** El mesocosmos debería realizarse en función del riesgo. Ejemplo, si el centro cerrado está muy cerca de un cuerpo de agua, debería ser necesario.
- **Carolina:** Podrían detallar los criterios para realizar los mesocosmos.



- **Jaiber:** Muchas de las metodologías no son tan exigentes. En el texto se propone un mesocosmos de 2 meses, no es a una escala mayor. Lo mismo para las otras metodologías que son propuestas, son acotadas. Los tiempos están en el texto enviado.
- **Carolina:** La parece bien, es mucho más de lo la SUBPESCA tiene actualmente.
- **Luis:** Las condiciones de aclimatación son controladas. ¿Esa temperatura está pensada que sea constante o no?
- **Jaiber:** Si, la temperatura en la que los organismos estarían durante el proceso productivo sería constante.
- **Luis:** La representatividad en condiciones controladas no es muy alta. Hay evidencia de que no hay mucha asociación por ejemplo en aspectos sanitarios.
- **Jaiber:** Se podría simular agregando un tratamiento de temperatura asociado a los demás ensayos.
- **Maureen:** Es necesario prestar mucha atención a lo que se refiere al trabajo con patógenos de riesgo.
- **Jaiber:** Esto se plantea sólo acotado a patógenos presentes en el país.
- **Luis:** Faltó agregar cuáles son los beneficios y evidencias de los aportes de estas metodologías frente a una determinada eventualidad.
- **Maureen:** Indica que como autoridad les complica el componente sanitario por la forma de aplicar. Plantea que podría ir como una recomendación menos imperativa.
- **Cesar:** Está un poco confundido y complicado con la presentación. Cuando se realiza una solicitud se hacen 4 estudios (sanitarios, cohabitación, ambiental y entorno). No está de acuerdo con el agregar el componente sanitario.
- **Jaiber:** Por eso son importantes los antecedentes, no es necesario repetir algo que está previamente reportado.
- **Maureen:** Consulta si sería una propuesta adicional a la vigilancia de los peces.
- **Jaiber:** Si, la idea de este proyecto es mejorar la cohabitación y revisar nuevas metodologías.
- **Maureen:** Los estudios controlados con patógenos deben contar con infraestructura especial y con permisos especiales. Recordar que los peces llegan en estado de cuarentena.



Jaiber: Reitero que son propuestas. Se tomar3n los comentarios y se adaptará para que quede como recomendaci3n, no algo imperativo.

3. Conclusiones:

A modo de cierre del taller, se concluye que respecto del tema sanitario, ser3a bueno considerar de que, si se llegaran a considerar los estudios sanitarios como parte de los nuevos estudios propuestos, esto deber3a ir acompa3ado con todos los antecedentes posibles, incluso de experiencias y resultados en otros pa3ses, que permitan su respaldo cient3fico, para que la SUBPESCA pueda evaluar y as3 disponer del fundamento que se requiere para poder incorporar estos antecedentes al actual reglamento. Los antecedentes ser3n acompa3ados en el documento en extenso.



Puerto Montt, 27 de octubre de 2022

Acta Reunión General N° 3

Proyecto "Revisión, actualización y mejoramiento de los ensayos de cohabitación, que forman parte del estudio sanitario con efectos de impacto ambiental requerido en el marco de la internación de especies de primera importación (D.S. (MINECON) N° 730 del 1995)".

Fecha de reunión: 27 de octubre de 2022

1. Asistencia (mediante videoconferencia):

En Valparaíso:

- Maureen Alcayaga (Subpesca)
- Carolina Molina (Subpesca)

En Puerto Montt:

- Juan Carlos Quintanilla (IFOP)
- Jaiber Solano (IFOP)
- Felipe Pontigo (IFOP)

2. Objetivo:

Presentar la forma en cómo se han abordado las observaciones realizadas por la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura en el informe de calificación técnica emitido.

3. Temas tratados:

- Juan Carlos del IFOP realiza la introducción a la reunión, indicando que la finalidad de esta reunión es evaluar las correcciones que realizó la SUBPESCA en el informe técnico de calificación. Además, señala que, de las 6 observaciones realizadas en total, las 4 primeras (observaciones de formato) ya fueron abordadas en la versión corregida del preinforme final, en tanto de las 2 observaciones restantes (observaciones de fondo) aquella relacionada con el cálculo del N° de individuos en las nuevas metodologías propuestas será el motivo principal de la presente reunión.
- Juan Carlos, agrega además que los comentarios que surgieron de la última reunión sostenida, están siendo abordados de forma de darle cumplimiento a lo que está establecido en los TTR. Esto considera la elaboración de una tabla comparativa que incorpore un análisis crítico de los estudios que se han realizado a partir de la revisión de las solicitudes, y que se acordó en la reunión de incorporar a la versión corregida del preinforme final dada su importancia y pertinencia, a pesar que no se hayan tenido observaciones asociadas al objetivo específico N° 2 en el informe de calificación técnica realizado por la SUBPESCA. Finalmente, el representante de IFOP termina diciendo que las actas de las 2 reuniones generales realizadas con integrantes de la SUBPESCA, una en el mes de junio y la otra en julio del 2022, serán



enviadas a Maureen Alcayaga y Carolina Molina de la SUBPESCA, para su revisión y visto bueno, y así incorporarlas a la versión corregida del preinforme final.

- Por su parte, Jaiber Solano del IFOP, presenta la metodología y procedimiento utilizado para abordar de mejor forma el cálculo del número de individuos en las nuevas metodologías propuestas. En su presentación, señala que para ello, se establecen 3 conceptos claves para el cálculo del "n", y que corresponden al tamaño del efecto, el cual nos ayuda a medir la magnitud del efecto que queremos evaluar, y varía en función del enfoque estadístico que se requiera, la potencia estadística, que se define como la probabilidad de rechazar correctamente la hipótesis nula, y cuyo valor de 0,8 corresponde al aceptado en la literatura para distintos ensayos, y finalmente el nivel de significancia.
- Adicionalmente, Jaiber Solano presenta una tabla con el detalle de los métodos estadísticos, medidas de tamaño del efecto y los umbrales sugeridos para la detección de la magnitud del efecto, y en una segunda tabla presenta los 3 ensayos sugeridos con sus variables respuestas, pruebas estadísticas, paquete de (R) y los parámetros adicionales. Luego se presentan gráficas de los dos escenarios que contemplan los 4 modelos estadísticos. El primer escenario es para determinar un pequeño efecto y el segundo es para una magnitud de un mediano efecto, donde varían desde 60 a 120 individuos, aproximadamente. De lo presentado, se sugiere que se mantengan los parámetros de potencia estadística y nivel de significancia en 0,8 y 0,05; respectivamente. Además de sugerir el uso de los paquetes estadísticos de R, Jaiber Solano indica que el programa G*Power también puede ser utilizado para estos fines.
- Carolina Molina, consulta respecto a la tabla donde se presentan los ensayos sugeridos, variables respuestas, pruebas estadísticas, paquete de (R), parámetros adicionales, si esta información pudiera servir de complemento a lo informado en la reunión anterior, donde el "n" dependía de la talla, peso y en función del bienestar animal, y poder hacer uso combinado de esta información, por la necesidad de la SUBPESCA de contar con un respaldo estadístico para tener un número mínimo de individuos.
- Jaiber señala que, lo que es posible de realizar es estimar el "n" antes de realizar el ensayo, y si esto arroja, por ejemplo, que con 30 individuos hay una potencia estadística para detectar magnitudes de pequeño efecto, ello permitiría reducir a 30 el N° de individuos a utilizar, en el dado caso que inicialmente haya considerado un número de individuos por sobre este valor. En el caso que el "n" sea mayor (más de 30 individuos), se puede buscar un valor umbral intermedio entre el pequeño y mediano efecto (según tabla) para la detección de la magnitud del efecto. La otra alternativa posible para abordar ello, sería calcular el tamaño del efecto luego de realizar el experimento, y considerar las implicancias que este tamaño de efecto tiene en la interpretación de los resultados.
- Maureen Alcayaga consulta cómo se podría evaluar el efecto del desplazamiento de comunidades, como sería posible ponderar y determinar si sería un efecto bajo, mediano o alto. Jaiber señala que, en este caso, la primera alternativa sería revisar si existen antecedentes que permitan determinar la magnitud del efecto, de lo contrario, dependería del efecto que se podría permitir en este tipo de población. Por ejemplo, si el desplazamiento que genera sería tan pequeño, al punto de no generar un impacto tan grande en el ecosistema, estaría bien utilizar un tamaño del efecto de 0,2. Pero si uno considera que este efecto del 0,2 pudiese generar un impacto importante, se podría manejar el tamaño del efecto en función de su umbral.
- Jaiber sugiere que sería recomendable poder consensuar los "n" requeridos para los estudios antes de la fase de experimentación, teniendo siempre en consideración que, si el efecto es muy pequeño, ello



implicará que los "n" serán tan altos, que en la práctica quizás no sea posible de abordarlos, y en la realidad quizás estos no tengan impactos significativos.

- Adicionalmente, Jaiber señala que no correspondería aplicar los parámetros de la OMSA sugeridos por SUBPESCA en su evaluación del informe prefinal para la estimación del "n", ya que no son aplicables debido a su enfoque sanitario. Por lo demás, cuando se trata de una prevalencia desconocida, el cálculo del "n" asume una prevalencia esperada del 2%, y ello requiere de un número de individuos tan altos, que no son abordables en la práctica.
- Carolina Molina señala que si bien la metodología presentada para poder llegar a establecer un número de individuos en base a los 3 parámetros presentados no permite determinar un "n" específico, sería interesante poder aplicar algún otro criterio que pudiera facilitar o justificar el "n" en función de los modelos presentados. Ello podría permitir ajustar el número de individuos más racionalmente para el importador, ya que, como autoridad, siempre asumieron que determinar un "n" específico siempre sería complejo de abordar. En este sentido, la representante de SUBPESCA indica que los modelos presentados cuentan, en parte, con el respaldo estadístico que como autoridad requieren.
- Jaiber señala nuevamente que, como primera recomendación estaría flexibilizar el tamaño del efecto a no más allá de un efecto mediano, es decir, eligiendo un valor que vaya entre tamaño del efecto pequeño y mediano, permitiendo de esta forma manejar la robustez de las herramientas estadísticas. En este sentido, la propuesta o recomendación que se hace es manejar la potencia estadística en 0,8 y la magnitud del efecto entre pequeño y mediano.
- En virtud de lo presentado, Maureen Alcayaga señala que ellos como autoridad verán si el procedimiento para estimar el número de individuos requeridos a importar es posible de poder aplicar y utilizar. En este sentido, Jaiber señala que, lo establecido y solicitado en los TTR del proyecto, es poder determinar un "n" que tenga un sustento estadístico, y que la forma de obtenerlo está alineado con lo presentado. Además, el representante de IFOP señala que la metodología dada para estimar el número de individuos podría ser complementada con un par de ejemplos, específicamente de los estudios que se ejecutaron, para poder ser analizada en virtud de lo presentado.
- Los representantes de SUBPESCA agradecen la información presentada, señalando que esto viene a complementar en buenos términos la información que se disponía, y ahora como autoridad verán la forma de como poder utilizar esta información.

4. Principal acuerdo:

- IFOP se compromete a hacer envío de las actas de las reuniones generales sostenidas en los meses de junio y julio del 2022 a los representantes de SUBPESCA, para su visto bueno, e incorporación a los anexos del preinforme final en su versión corregida.
- Una vez que IFOP haya terminado de compilar y analizar la información que permita estimar el número de individuos a utilizar en los estudios que han sido requeridos por la autoridad, se sostendrá una reunión a solicitud de la SUBPESCA (fecha por definir), para poder analizar los resultados obtenidos, independiente que estos se vayan a presentar en el preinforme final corregido.

ANEXO 2

Formato de encuesta y correo electrónico conductor



ENCUESTA
Estudio FIPA N° 2021-12

“Revisión, actualización y mejoramiento de los ensayos de cohabitación, que forman parte del estudio sanitario con efectos de impacto ambiental requerido en el marco de la internación de especies de primera importación (D.S.(MINECON) N° 730 de 1995)”.

Objetivo:

El objetivo de la presente encuesta es conocer la impresión de las personas naturales o representantes de empresas que han llevado a cabo un proceso de internación de especies hidrobiológicas al país. Específicamente, se busca caracterizar las experiencias desde el punto de vista técnico y de factibilidad operativa y financiera. Lo anterior, con la finalidad de actualizar y mejorar los ensayos de cohabitación y/o similares que sean solicitados a través de los Estudios Sanitarios con Efectos de Impacto Ambiental (ESEIA), requeridos en marco del D.S. (MINECON) N° 730 de 1995 para la primera importación de especies hidrobiológicas vivas.

Para dar cumplimiento a ello, se plantean el siguiente set de preguntas a través de 4 ítems.

● **Ítem 1: Del Proceso de primera importación**

1. ¿Cree Ud. que el tiempo de un (1) año desde la aprobación de la solicitud de importación limitada es suficiente para la realización del estudio ESEIA?
 - a) Si.
 - b) No, creo que es necesario disponer de más tiempo

2. De las siguientes etapas, ¿Cuál consideró fue(ron) la(s) menos expedita(s) dentro del proceso? (marcar una o más opciones)
 - a) Formulación de la solicitud de primera importación
 - b) Elaboración del TTR para la ejecución del ESEIA para la aprobación de la importación limitada
 - c) Solicitud de antecedentes complementarios
 - d) Ejecución del ESEIA
 - e) Revisión y aprobación del ESEIA
 - f) Aprobación de la primera importación

3. Al revisar la normativa y previo al ingreso de su solicitud inicial ¿Le pareció que el marco normativo sobre la exigencia del estudio ESEIA fue:
 - a) Muy claro.
 - b) Claro.
 - c) Confuso.
 - d) Muy confuso.

● **Ítem 2: Del ámbito técnico - operativo**



1. Dentro de su solicitud, se le solicitó: (marcar una o más alternativas):
 - a) Uso de cuarentena.
 - b) Certificaciones.
 - c) Otro, mencione_____
2. Si le fue solicitado el uso de cuarentena ¿Cuáles fueron los requerimientos? (describir brevemente)
3. Si le fue solicitado cumplir con certificaciones, ¿Cuáles fueron?
4. Como resultado de la revisión de su solicitud, ¿Le fue solicitado el ESEIA?
 - a) Si.
 - b) No.
5. Dentro de los estudios sanitarios solicitados en marco del ESEIA, se encuentran: (marcar una o más alternativas):
 - a) Detección de patógenos de alto riesgo.
 - b) Cohabitación entre especies para determinar transmisión de patógenos.
 - c) Inspección visual de los individuos.
 - d) No aplica (no fue solicitado el ESEIA).
6. Dentro de los estudios ambientales que les fueron solicitados en marco del ESEIA, se encuentran: (marcar una o más alternativas):
 - a) Cohabitación entre especies para evaluar interacciones tróficas.
 - b) Caracterización del entorno a las instalaciones en términos bióticos y abióticos.
 - c) Bioensayos para determinar el efecto ambiental en la especie de primera importación.
 - d) No aplica (no fue solicitado el ESEIA).
7. Dado los requerimientos establecidos por normativa, ¿Fue necesaria la importación de algún equipamiento tecnológico avanzado, que haya provocado un retraso en el proceso de primera importación?
 - a) Si
 - b) No.
8. En caso de haber observado mortalidad en la unidad de cuarentena o la unidad de mantenimiento, ¿Pudo determinar la causa?
 - a) Si.
 - b) No.
 - c) No aplica (no se presentó mortalidad)
9. En caso de haber observado mortalidad en la unidad de cuarentena o la unidad de mantenimiento, ¿En qué rango de porcentaje ocurrió?



- a) 0 - 25%
- b) 25 - 50%
- c) 50 - 75%
- d) 75 - 100%
- e) No aplica (no se presentó mortalidad)

10. ¿Detectó algún hallazgo sanitario (Sinología clínica o detección de patógeno)?

- a) Si.
- b) No.

11. Si detectó algún hallazgo, ¿La unidad contaba con un procedimiento para saber cómo accionar?

- a) Si.
- b) No.

12. ¿Cuál fue la especie importada donde detectó el hallazgo?

13. ¿Cuál fue la patología/agente patógeno identificada(o) en los ejemplares donde se detectó el hallazgo?

● **Ítem 3: Del ámbito financiero**

1. Los costos por concepto de compra de equipamiento tecnológico avanzado, como sistemas de filtración, desinfección, recirculación y/o tratamiento de efluentes, sumado a los costos asociados a su implementación (asesoría, instalación, capacitación, y mantenimiento), los considera:

- a) Bajos.
- b) Medios.
- c) Altos.

2. Los costos por concepto de estudios o análisis específicos (sanitarios, ambientales, ensayos experimentales por cohabitación) que le fueron solicitados por la autoridad, a través de la normativa, los considera:

- a) Bajos.
- b) Medios.
- c) Altos.

3.- Los costos en la implementación de nuevas dependencias, adquisición de materiales e insumos, contratación y capacitación de personal, necesarios para cumplir con la normativa, los considera:



- a) Bajos.
- b) Medios.
- c) Altos.

● **Ítem 4: Aspectos generales del procedimiento**

1. ¿Cómo evaluaría el procedimiento actual de internación de especies hidrobiológicas de primera importación en el marco del D.S. (MINECON) N° 730 de 1995 al país? Ejemplo: requisitos, plazos, tramitación, revisión de documentos, otros.
 - a) Muy simple
 - b) Moderadamente simple
 - c) Moderadamente complejo
 - d) Muy complejo

2. ¿Qué aspecto(s) del procedimiento actual cree que es(son) necesario(s) mejorar: (marcar una o más opciones)
 - a) Requisitos.
 - b) Plazos.
 - c) Tramitación
 - d) Revisión de documentos
 - e) Otro: _____

- 2.- ¿Tiene alguna sugerencia o comentario final al procedimiento de internación de especies hidrobiológicas de primera importación implementado en la actualidad? (Describir brevemente).



Juan Carlos Quintanilla <juancarlos.quintanilla@ifop.cl>

Encuesta Proyecto FIPA 2021-12 - SUBPESCA - INTERNACIÓN DE ESPECIES HIDROBIOLÓGICAS DE PRIMERA IMPORTACIÓN

11 mensajes

Juan Carlos Quintanilla <juancarlos.quintanilla@ifop.cl>

4 de abril de 2022, 12:17

Para: Juan Carlos Quintanilla <juancarlos.quintanilla@ifop.cl>

Cco: contacto@acuicolaalas.cl, ftisne@acuicolaalas.cl, amoreno@acuicolaalas.cl, nlagos@med.uchile.cl, amadrid@marinefarms.cl, rwesterm@uach.cl, sales@friosur.cl, mvasquez@vyscongelados.cl, langostas@hotmail.com, jacqueline@importa.cl, cdiaz@transantartic.com, jsacreravera@gmail.com, jpdiaz@unap.cl, cihdesec@cihde.cl, c.rivera@esturiones-andes.cl, dbossonney@suka.cl, jose_troncoso@cargill.com, pgomez@udec.cl, aabumohor@chilesan.cl, luis_rivera_pisagua@hotmail.com, afarias@uach.cl, pchavez@algaschile.com, german.reig@ubo.cl, MARGARITA GONZALEZ <margarita.gonzalez@ifop.cl>, Felipe Pontigo Moenne-Loccoz <felipe.pontigo@ifop.cl>, Juan Carlos Quintanilla <juancarlos.quintanilla@ifop.cl>, juancarlos.quintanillac@gmail.com

Estimados

Junto con saludarlos, les contacto en el marco del Proyecto FIPA 2021-21 "Revisión, actualización y mejoramiento de los ensayos de cohabitación, que forman parte del estudio sanitario con efectos de impacto ambiental requerido en el marco la internación de especies de primera importación (D.S.(MINECON) N° 730 de 1995)".

La finalidad de este correo es que puedan responder una encuesta, que encontrarán en el link adjunto, la que no les tomará más de 10 minutos. A partir de ella, conoceremos vuestra impresión, ya sea como personas naturales o representantes de empresas y universidades, que han llevado a cabo un proceso de internación de especies hidrobiológicas al país.

Lo anterior, permitirá actualizar y mejorar los ensayos de cohabitación y/o similares que sean solicitados a través de los Estudios Sanitarios con Efectos de Impacto Ambiental (ESEIA), requeridos en marco del D.S. (MINECON) N° 730 de 1995, para la primera importación de especies hidrobiológicas vivas.

Link para responder encuesta:

<https://forms.gle/G3YAhc34wNW7BA6h7>

Esperando una favorable acogida al presente correo

Atentos saludos

Juan Carlos Quintanilla



Juan Carlos Quintanilla Correa
Médico Veterinario - Biólogo Marino
Investigador S Senior - Depto. Salud Hidrobiológica
Instituto de Fomento Pesquero
Balmaceda 252, Puerto Montt - CHILE
Fono: (32) 3311328 - Anexo 328

IFOP.CL

ANEXO 3

Correo electrónico conductor en el que se convoca al taller de expertos



Juan Carlos Quintanilla <juancarlos.quintanilla@ifop.cl>

Invitación Taller de Expertos - Estudio FIPA

Juan Carlos Quintanilla <juancarlos.quintanilla@ifop.cl>

28 de julio de 2022, 11:15

Para: Juan Carlos Quintanilla <juancarlos.quintanilla@ifop.cl>

Cco: crivera@esturiones-andes.cl, cdiaz@transantartic.com, luis.vargas@uach.cl, Maureen Alcayaga <malcayaga@subpesca.cl>, Carolina Molina Villacura <cmolina@subpesca.cl>, candaur@semapesca.cl, lecastane@gmail.com, Jaiber Solano Iguarán <jaiber.solano@ifop.cl>, Felipe Pontigo Moenne-Loccoz <felipe.pontigo@ifop.cl>, SERGIO CONTRERAS <sergio.contreras@ifop.cl>, Juan Carlos Quintanilla <juancarlos.quintanilla@ifop.cl>, Cesar Rivera <carz.rivera@gmail.com>

Estimado(a):

Junto con saludar, le contacto en el marco del proyecto FIPA 2021-12 "*Revisión, actualización y mejoramiento de los ensayos de cohabitación, que forman parte del estudio sanitario con efectos de impacto ambiental requerido en el marco la internación de especies de primera importación (D.S.(MINECON) N° 730 de 1995)*", que está siendo ejecutado por el Instituto de Fomento Pesquero.

En palabras muy generales, comentar que este estudio busca básicamente, el proponer modificaciones y/o nuevas propuestas metodológicas al actual proceso de primera importación de especies hidrobiológicas exóticas, con principal foco en los estudios complementarios que requiere la autoridad (ensayos cohabitación)

Bajo este contexto, estamos organizando un taller de expertos, cuya finalidad será consensuar las propuestas generadas. En este sentido, agradecemos desde ya vuestro interés para participar de esta actividad, lo que le dará mayor realce a ésta.

Esta actividad se llevará a cabo, de manera telemática, el **viernes 05 de agosto a las 10:00 am**. Les estaremos haciendo envío del link vía meet, a la brevedad posible

Cordialmente

Juan Carlos Quintanilla



INSTITUTO DE FOMENTO PESQUERO • CHILE

GENERANDO
CONOCIMIENTO Y
SUSTENTABILIDAD



Juan Carlos Quintanilla Correa
Médico Veterinario - Biólogo Marino
Investigador S Senior - Depto. Salud Hidrobiológica
Instituto de Fomento Pesquero - Anexo 327
Balmaceda 252,
Puerto Montt - CHILE

ANEXO 4

Acceso directo a la normativa internacional y nacional consultada



PAÍS	DOCUMENTO	DIRECCIÓN URL ACCESO A DOCUMENTOS EN LÍNEA
Australia	Environment Protection and Biodiversity Conservation Act 1999	https://www.legislation.gov.au/Details/C2021C00182
Estados Unidos	PART 93—Importation of certain animals, birds, fish, and poultry products, requirements for means of conveyance and shipping containers	https://www.ecfr.gov/current/title-9/chapter-I/subchapter-D/part-93?toc=1
	IL-36 Importation of live aquatic plants, invertebrates, fish, amphibians and reptiles	https://nrm.dfg.ca.gov/FileHandler.ashx?DocumentID=3257
	Introduction of Non-Native Aquatic Species in the Waters of the State; Provisions, sale and Inspection of Fish for Bait or Propagation Purpose; Diseased Fish	https://www.flrules.org/gateway/RuleNo.asp?ID=68A-23.008
	Chapter 68A-23. Rules Relating to Freshwater Fish	https://www.flrules.org/gateway/ChapterHome.asp?Chapter=68A-23
	Code R58-17-13 Importation of Aquatic animals or aquaculture products into Utah	https://www.law.cornell.edu/regulations/utah/Utah-Admin-Code-R58-17-13
Unión Europea	Reglamento (UE) 2017/625 del Parlamento Europeo y del Consejo	https://www.boe.es/doue/2017/095/L00001-00142.pdf



Reglamento (UE) 2016/429 del Parlamento Europeo y del Consejo	https://www.boe.es/doue/2016/084/L00001-00208.pdf
Directiva 2000/29/CE del consejo del 8 de mayo de 2020	https://www.boe.es/buscar/doc.php?id=DOUE-L-2000-81241#:~:text=L%2D2000%2D81241-Directiva%202000%2F29%2FCE%20de%20el%20interior%20de%20a%20Comunidad
	https://www.boe.es/doue/2000/169/L00001-00112.pdf

PAÍS	DOCUMENTO	DIRECCIÓN URL ACCESO A DOCUMENTOS EN LÍNEA
Reino Unido	Import of Live Fish (England and Wales) Act 1980	https://www.legislation.gov.uk/ukpga/1980/27/enacted
	Order 192 N° 3301 - The Shellfish and Specified Fish (Third Country Imports) Order1992	https://www.legislation.gov.uk/uksi/1992/3301/made/data.xht?view=snippet&wrap=true
	Order 2014 N° 143 - The Prohibition of Keeping or Release of LiveFish (Specified Species) (England)	https://www.legislation.gov.uk/uksi/2014/143/made/data.xht?view=snippet&wrap=true
	AAH2 Form - Official Document	https://www.gov.uk/government/publications/application-to-become-authorised-to-import-live-fish-and-shellfish-form-aah2
	The Fish Health Regulations 1997	https://www.legislation.gov.uk/uksi/1997/1881/made/data.pdf
	The Aquatic Animal Health (England and Wales) Regulation 2009	https://www.legislation.gov.uk/uksi/2009/463/made/data.xht?view=snippet&wrap=true
	The Animals and Animal Product (import and Export) (Wales) Regulation 2009	https://www.legislation.gov.uk/wsi/2009/390/made/data.htm



Canadá	Application for permit to import aquatic animals and/or their offal - Canadian Food Inspection Agency	https://inspection.canada.ca/about-cfia/find-a-form/form-cfia-acia-5670/eng/1413291957940/1413291959675
	C.R.C. c.296 - Health of Animals Regulations	https://laws-lois.justice.gc.ca/eng/regulations/c.r.c.,_c._296/FullText.html
	SOR/2015-121. Aquatic Invasive Species Regulations	https://laws-lois.justice.gc.ca/eng/regulations/sor-2015-121/FullText.html
	Importer Guidance for Aquatic Animal Health Import Quarantine Unit of the Canadian Food Inspection Agency (CFIA).	https://inspection.canada.ca/animal-health/aquatic-animals/imports/quarantine/importer-guidance/eng/1413461854851/1413466035021?chap=0 https://www.cbsa-asfc.gc.ca/publications/dm-md/d19/d19-8-5-eng.html

PAIS	DOCUMENTO	DIRECCION URL ACCESO A DOCUMENTOS EN LÍNEA
México	Reglamento de la Ley de Pesca, publicado en el diario oficial de la federación el 29 de septiembre de 1999, con última reforma publicada DOF 28-01-2004.	https://www.diputados.gob.mx/LeyesBiblio/regley/Reg_LPesca.pdf
	Ley Federal de Sanidad Animal, publicada en el Diario Oficial de la federación el 25 de julio de 2007	https://www.gob.mx/senasica/documentos/ley-federal-de-sanidad-animal#:~:text=Tiene%20por%20objeto%20fijar%20las,regular%20las%20buenas%20pr%C3%A1cticas%20pecuarias



	Módulo de consulta de requisitos para la importación de mercancías acuícolas. Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria	http:// https://sistemassl.senasica.gob.mx/mcra/consultaRequisitosAcuicolas.shtml
	(NOM-011-PESC-1993) Norma Oficial Mexicana. Regula la aplicación de cuarentenas, a efecto de prevenir la introducción y dispersión de enfermedades certificables y notificables	https://www.gob.mx/senasica/documentos/nom-011-pesc-1993
	(NOM-030-PESC-2000) Norma Oficial Mexicana. Establece los requisitos para determinar la presencia de enfermedades virales de crustáceos acuáticos vivos, muertos, sus productos o subproductos en cualquier presentación y Artemia (Artemia spp.), para su introducción al territorio nacional	https://www.gob.mx/senasica/documentos/nom-030-pesc-2000-102478
Namibia	Animal Health Act No. 1 of 2011 – Government Gazette of the Republic of Namibia.	https://www.lac.org.na/laws/2011/4694.pdf
	Aquaculture Act 18 of 2002, Government Gazette 30 December 2002.	https://namiblii.org/akn/na/act/2002/18/eng@2002-12-30
	Regulations relating to Import and Export of Aquatic Organisms and Aquaculture Products, Section 43. Government Notice 70 of 2010	https://www.lac.org.na/laws/annoREG/Aquaculture%20Act%2018%20of%202002%20-%20Regulations%202010-070.pdf
		https://namiblii.org/gazettes/na-government-gazette-dated-2010-04-09-no-4453



PAÍS	DOCUMENTO	DIRECCIÓN URL ACCESO A DOCUMENTOS EN LÍNEA
Chile	Ley 18.892, Ley General de Pesca y Acuicultura, Ministerio de Economía, Fomento y Reconstrucción	https://www.bcn.cl/leychile/navegar?idNorma=13315
	Decreto 320. Reglamento ambiental para la acuicultura	https://www.bcn.cl/leychile/navegar?idNorma=192512&idParte=&idVersion=
	Resolución 2662 Exenta Fija Nómina de Especies Hidrobiológicas vivas de importación autorizadas, Ministerio de Economía Fomento y Reconstrucción, Subsecretaría de Pesca y Acuicultura	https://www.subpesca.cl/portal/615/articles-112304_documento.pdf
	Decreto 72, Aprueba reglamento de certificación y otros requisitos sanitarios para la importación de especies hidrobiológicas.	https://www.subpesca.gob.cl/portal/615/w3-article-4656.html
	Resolución 1741 de 2013 y sus modificaciones, Establece Clasificación de enfermedades de alto riesgo.	https://www.subpesca.cl/portal/615/articles-101155_documento.pdf
	Decreto 319, Aprueba reglamento de medidas de protección, control y erradicación de enfermedades de alto riesgo para las especies hidrobiológicas.	https://www.subpesca.cl/portal/615/w3-article-83903.html
	Decreto 730, Aprueba reglamento de internación de especies de primera importación al país.	http://www.sernapesca.cl/normativa-relacionada/ds-minecon-no-730-1995-reglamento-de-internacion-de-especies-de-primera
	Manual de Procedimientos, Sección 3, IMP-MP3 - Procedimientos para importar especies vivas	http://www.sernapesca.cl/sites/default/files/imp-mp3_20200116.pdf
	Resolución Exenta RES EX. 6539 del 29 de septiembre del 2011. Establece exigencias para la emisión de certificados sanitarios para la internación de animales y productos de origen animal	https://www.bcn.cl/leychile/navegar/imprimir?idNorma=1030816&idVersion=2011-10-08



Resolución Exenta RES EX. 7364 del 09 de diciembre de 2016	https://www.bcn.cl/leychile/navegar?idNorma=1102082
Resolución Exenta RES EX. 1150, publicada con fecha 05 de mayo de 2000	https://www.bcn.cl/leychile/navegar?idNorma=168251
Ley 19.300 Ministerio Medio Ambiente	https://www.bcn.cl/leychile/navegar?idNorma=30667&idParte=9705635&idVersion=2021-08-13
Resolución Exenta N° 684 del 09 de agosto de 2013 del MMA	https://especies-exoticas.mma.gob.cl/wp-content/uploads/2018/12/ResEx-684-2013_Aprueba-creacion-COCEI.pdf
Decreto con Fuerza de Ley 16 (Decreto RRA-16)	https://www.bcn.cl/leychile/navegar?idNorma=3954

ANEXO 5

Caracterización y análisis de las solicitudes de primera importación
(Planilla en formato digital)

ANEXO 6

Respuestas entregadas por los representantes de empresas
a la encuesta aplicada



tem Nº 1: Del proceso de primera importación	RESPUESTAS
1. ¿Cree Ud. que el tiempo de un (1) año desde la aprobación de la solicitud de importación limitada es suficiente para la realización del estudio ESEIA?	Sí, es suficiente (ambos encuestados)
2. De las siguientes etapas, ¿Cuál consideró fue(ron) la(s) menos expedita(s) dentro del proceso? (marcar una o más opciones)	Revisión y aprobación ESEIA (1° encuestado)
	Aprobación de la primera importación (1° encuestado)
	Elaboración del TTR para la ejecución del ESEIA para la aprobación de la internación limitada (2° encuestado)
3. Al revisar la normativa y previo al ingreso de su solicitud inicial, le pareció que el marco normativo sobre la exigencia del estudio ESEIA fue	Claro, (ambos encuestados)
Item Nº 2: Del ámbito técnico - operativo	
1. Dentro de su solicitud, se le solicitó (marcar una o más opciones)	Uso cuarentena y certificaciones (ambos encuestados)
2. Si le fue solicitado el uso de cuarentena ¿Cuáles fueron los requerimientos? (describir brevemente)	Sistema control fugas (1° encuestado)
	Tratamiento afluentes y efluentes (ambos encuestados)
	Medidas mitigación y controles (1° encuestado)
3. Si le fue solicitado cumplir con certificaciones, ¿Cuáles fueron?	Certificación sanitaria de ingreso (1° encuestado)
	CITES (1° encuestado)
	Solo inscripción de planta para procesar (2° encuestado)
4. Como resultado de la revisión de su solicitud, ¿Le fue solicitado el ESEIA?	Sí, se solicitó (ambos encuestados)
5. Dentro de los estudios sanitarios solicitados en marco del ESEIA, se encuentran: (marcar una o más opciones)	Detección patógenos alto riesgo (ambos encuestados)
	Cohabitación entre especies para determinar interacción patógenos (1° encuestado)
	Inspección visual de los individuos (ambos encuestados)
6. Dentro de los estudios ambientales que les fueron solicitados en marco del ESEIA, se encuentran: (marcar una o más opciones)	Cohabitación entre especies para evaluar interacciones tróficas (1° encuestado)
	Caracterización del entorno a las instalaciones en términos bióticos y abióticos (ambos encuestados)
7. Dado los requerimientos establecidos por normativa, ¿Fue necesaria la importación de algún equipamiento tecnológico avanzado, que haya provocado un retraso en el proceso de primera importación?	No fue necesaria, (ambos encuestados)
8. En caso de haber observado mortalidad en la unidad de cuarentena o la unidad de mantenimiento, ¿Pudo determinar la causa?	No se presentó mortalidad, (ambos encuestados)
9. En caso de haber observado mortalidad en la unidad de cuarentena o la unidad de mantenimiento, ¿En qué rango de porcentaje ocurrió esta?	No se presentó mortalidad, (ambos encuestados)
10. ¿Detectó algún hallazgo sanitario (Sinología clínica o detección de patógeno)?	No se detectó (ambos encuestados)
11. En caso de detectar algún hallazgo, ¿La unidad contaba con un procedimiento para saber cómo accionar?	Sí (ambos encuestados)
12. ¿Cuál fue la especie importada donde detectó el hallazgo?	No se presentaron mortalidades ni hallazgos (ambos encuestados)
13. ¿Cuál fue la patología/agente patógeno identificada(o) en los ejemplares donde se detectó el hallazgo?	No hubo detecciones (ambos encuestados)



Item N° 3: Del ámbito financiero	
1. Los costos por concepto de compra de equipamiento tecnológico avanzado, como sistemas de filtración, desinfección, recirculación y/o tratamiento de efluentes, sumado a los costos asociados a su implementación (asesoría, instalación, capacitación, y mantención), los considera	Altos (1° encuestado) Medios (2° encuestado)
2. Los costos por concepto de estudios o análisis específicos (sanitarios, ambientales, ensayos experimentales por cohabitación) que le fueron solicitados por la autoridad, a través de la normativa, los considera:	Altos (1° encuestado) Medios (2° encuestado)
3. Los costos en la implementación de nuevas dependencias, adquisición de materiales e insumos, contratación y capacitación de personal, necesarios para cumplir con la normativa, los considera:	Altos (1° encuestado) Medios (2° encuestado)
Item N° 4: Aspectos generales del procedimiento de primera importación	
1. ¿Cómo evaluaría el procedimiento actual de internación de especies hidrobiológicas de primera importación en el marco del D.S. (MINECON) N° 730 de 1995 al país? Ejemplo: requisitos, plazos, tramitación, revisión de documentos, otros.	Moderadamente simple, (ambos encuestados)
2. ¿Qué aspecto(s) del procedimiento actual cree que es(son) necesario(s) mejorar: (marcar una o más opciones)	Plazos y revisión de documentos (1° encuestado)
	Tramitación (2° encuestado)
	Una vez aprobado el ESEIA se deberían realizar con prontitud las visitas técnicas del Servicio para normalización de la importación de las ovas o alevines de las especies objeto del estudio. (1° encuestado)
	Considerar análisis de origen para dar aprobación a la importación del organismo hidrobiológico (2° encuestado)
3. ¿Tiene alguna sugerencia o comentario final al procedimiento de internación de especies hidrobiológicas de primera importación implementado en la actualidad? (Describir brevemente)	

ANEXO 7

Invitación telemática taller de validación y respaldo fotográfico actividad



Juan Carlos Quintanilla <juancarlos.quintanilla@ifop.cl>

**Invitación: Taller Validación Propuestas vie 5 ago 2022 10am - 11am (CLT)
(luis.vargas@uach.cl)**

1 mensaje

juancarlos.quintanilla@ifop.cl <juancarlos.quintanilla@ifop.cl>

2 de agosto de 2022, 16:18

Responder a: juancarlos.quintanilla@ifop.cl

Para: luis.vargas@uach.cl, malcayaga@subpesca.cl, cmolina@subpesca.cl, crivera@esturiones-andes.cl,
cdiaz@transantartic.com, luis.castaneda@uchile.cl, jaiber.solano@ifop.cl, felipe.pontigo@ifop.cl, sergio.contreras@ifop.cl,
candaaur@semapesca.cl, carz.rivera@gmail.com

Únete con Google Meet

Vínculo de la reunión

meet.google.com/qcy-ibnv-vsd

Unirse por teléfono

(CL) +56 43 245 2070

PIN: 8541284567205

[Más números de teléfono](#)

Archivos adjuntos

 Propuestas de mejora y...



Junto con saludarlo(a), tenemos el agrado de invitarlo(a) en su calidad de experto(a) , al taller de validación de propuestas en el marco del proyecto FIPA 2021-21 "*Revisión, actualización y mejoramiento de los ensayos de cohabitación, que forman parte del estudio sanitario con efectos de impacto ambiental requerido en el marco la internación de especies de primera importación (D.S.(MINECON) N° 730 de 1995)*".

Bajo este contexto, la finalidad de esta actividad es consensuar y validar las propuestas que han sido elaboradas, tanto aquellas que proponen mejoras de los procedimientos y/o análisis requeridos, como las nuevas propuestas metodológicas para la evaluación ambiental y sanitaria en marco del proceso de internación de especies hidrobiológicas de primera importación a Chile.

En el archivo PDF adjunto encontrarán el documento que identifica y detalla las propuestas presentadas, y que serán abordadas en la actividad.

Cuándo

viernes 5 ago 2022 - 10am – 11am (Hora de Chile)

Invitados

juancarlos.quintanilla@ifop.cl - organizador
malcayaga@subpesca.cl
cmolina@subpesca.cl
crivera@esturiones-andes.cl
cdiaz@transantartic.com
luis.vargas@uach.cl
luis.castaneda@uchile.cl
jaiber.solano@ifop.cl
felipe.pontigo@ifop.cl
sergio.contreras@ifop.cl
candaur@sernapesca.cl
carz.rivera@gmail.com

[Ver información de todos los invitados](#)

Responder por luis.vargas@uach.cl

Sí

No

Tal vez

Más opciones

Invitación de [Calendario de Google](#)

Recibiste este correo electrónico porque figuras entre los asistentes al evento. Si quieres dejar de recibir actualizaciones sobre este evento, recházalo.

Si reenvías esta invitación, los destinatarios podrán enviar una respuesta al organizador, ser agregados a la lista de invitados, invitar a otras personas independientemente del estado de su propia invitación o modificar tu confirmación de asistencia. [Más información](#)



INSTITUTO DE FOMENTO PESQUERO

“Revisión, actualización y mejoramiento de los ensayos de cohabitación que forman parte del estudio sanitario con efectos de impacto ambiental requerido en el marco de la internación de especies de primera importación (D.S. (MINECON) N° 730 de 1995)”

“TALLER VALIDACIÓN PROPUESTAS”

Agosto, 2022

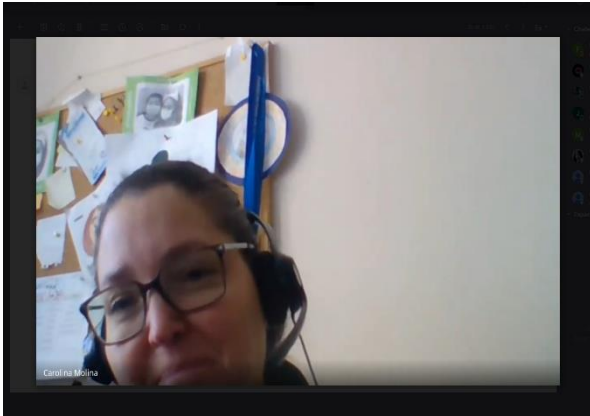
Ensayos de desafío

Describir la respuesta de un individuo o grupo de individuos expuestos a un determinado estímulo y describir su respuesta.

- Aclimatación
- Ensayos vigilancia sanitaria

INSTITUTO DE FOMENTO PESQUERO

Jalber Solano Iguarán





Propuesta de incorporación D.S N° 730

1.2.- Descripción del hábitat donde se realizará el ESEIA en términos bióticos y abióticos

Escenario actual: No se especifica la información requerida en el actual D.S. (MINECON) N° 730 de 1995, respecto de los requerimientos en términos abióticos y bióticos que deberían ser considerados para una adecuada descripción del hábitat donde se realizará el ESEIA.

Propuesta:



Juan Carlos Quintanilla



Nuevas metodologías en el marco de la evaluación ambiental del D.S. N° 730/95

Jaiber Solano Iguaran
Investigador Departamento Salud Hidrobiológica
Instituto de Fomento Pesquero
jaiber.solano@ifop.cl

Agosto 2022



Jaiber Solano Iguaran

ANEXO 8

Distribución de horas de dedicación por personal y actividad



INSTITUTO DE FOMENTO PESQUERO / DIVISIÓN INVESTIGACIÓN EN ACUICULTURA

Nombre	Actividad por profesional o técnico	Horas hombre / mes / actividad								Total por nombre
		1	2	3	4	5	6	7	8	
Juan Carlos Quintanilla	Revisión y análisis de la información bibliográfica asociada al proceso y estudios requeridos para la primera importación de especies exóticas.	24	24							48
	Análisis comparativo de las metodologías identificadas.	16	16							32
	Caracterización del actual proceso de primera importación de especies exóticas y estudios relacionados.		16	16						32
	Generación de propuestas de modificación a los estudios asociados al actual proceso de primera importación de especies exóticas.			24	24	24				72
	Evaluación y análisis comparativo de las diferentes propuestas, considerando criterios ecológicos, biogeográficos, y físico-químicos, entre otros.				16	16	16			48
	Validación de propuestas de modificación al actual proceso de primera importación de especies exóticas a través de taller de expertos.							16		16
	Evaluación de factibilidad técnica y económica de las propuestas de modificación al actual proceso y estudios asociados a la primera importación de especies exóticas.								16	16
	Diseño y elaboración de nuevas propuestas metodológicas para el proceso de primera importación de especies exóticas.			24	24	24				72
	Análisis de fortalezas y debilidades de nuevas propuestas metodológicas para la primera importación de especies exóticas.				16	16	16			48
	Validación de nuevas propuestas metodológicas a través de taller de expertos.							16		16
	Evaluación de factibilidad técnica y económica de las nuevas propuestas metodológicas al proceso y estudios asociados a la primera importación de especies exóticas.								16	16
	Actividades generales.	20			32	20			45	117
	Total HH mes	60	56	64	112	100	32	32	77	533

Nombre	Actividad por profesional o técnico	Horas hombre / mes / actividad								Total por nombre
		1	2	3	4	5	6	7	8	
Jaiber Solano	Revisión y análisis de la información bibliográfica asociada al proceso y estudios requeridos para la primera importación de especies exóticas.	8	8							16
	Análisis comparativo de las metodologías identificadas.	10	10							20
	Caracterización del actual proceso de primera importación de especies exóticas y estudios relacionados.		8	8						16
	Generación de propuestas de modificación a los estudios asociados al actual proceso de primera importación de especies exóticas.			8	8	8				24
	Evaluación y análisis comparativo de las diferentes propuestas, considerando criterios ecológicos, biogeográficos, y físico-químicos, entre otros.				24	24	24			72
	Validación de propuestas de modificación al actual proceso de primera importación de especies exóticas a través de taller de expertos.							10		10
	Evaluación de factibilidad técnica y económica de las propuestas de modificación al actual proceso y estudios asociados a la primera importación de especies exóticas.								32	32
	Diseño y elaboración de nuevas propuestas metodológicas para el proceso de primera importación de especies exóticas.			45	45	45				135
	Análisis de fortalezas y debilidades de nuevas propuestas metodológicas para la primera importación de especies exóticas.				8	8	8			24
	Validación de nuevas propuestas metodológicas a través de taller de expertos.							10		10
	Evaluación de factibilidad técnica y económica de las nuevas propuestas metodológicas al proceso y estudios asociados a la primera importación de especies exóticas.								32	32
	Actividades generales.	20			32	20			45	117
	Total HH mes	38	26	61	117	105	32	20	109	508



Nombre	Actividad por profesional o técnico	Horas hombre / mes / actividad								Total por nombre
		1	2	3	4	5	6	7	8	
Sergio Contreras	Revisión y análisis de la información bibliográfica asociada al proceso y estudios requeridos para la primera importación de especies exóticas.	16	16							32
	Análisis comparativo de las metodologías identificadas.	8	8							16
	Caracterización del actual proceso de primera importación de especies exóticas y estudios relacionados.		8	8						16
	Generación de propuestas de modificación a los estudios asociados al actual proceso de primera importación de especies exóticas.			8	8	8				24
	Evaluación y análisis comparativo de las diferentes propuestas, considerando criterios ecológicos, biogeográficos, y físico-químicos, entre otros.				8	8	10			26
	Validación de propuestas de modificación al actual proceso de primera importación de especies exóticas a través de taller de expertos.							10		10
	Evaluación de factibilidad técnica y económica de las propuestas de modificación al actual proceso y estudios asociados a la primera importación de especies exóticas.								16	16
	Diseño y elaboración de nuevas propuestas metodológicas para el proceso de primera importación de especies exóticas.			8	8	8				24
	Análisis de fortalezas y debilidades de nuevas propuestas metodológicas para la primera importación de especies exóticas.				8	8	10			26
	Validación de nuevas propuestas metodológicas a través de taller de expertos.							10		10
	Evaluación de factibilidad técnica y económica de las nuevas propuestas metodológicas al proceso y estudios asociados a la primera importación de especies exóticas.								16	16
	Actividades generales.	8			8	8			16	40
Total HH mes	32	32	24	40	40	20	20	48	256	

Nombre	Actividad por profesional o técnico	Horas hombre / mes / actividad								Total por nombre
		1	2	3	4	5	6	7	8	
Margarita González	Revisión y análisis de la información bibliográfica asociada al proceso y estudios requeridos para la primera importación de especies exóticas.	16	16							32
	Análisis comparativo de las metodologías identificadas.	16	16							32
	Caracterización del actual proceso de primera importación de especies exóticas y estudios relacionados.		16	16						32
	Generación de propuestas de modificación a los estudios asociados al actual proceso de primera importación de especies exóticas.			16	16	16				48
	Evaluación y análisis comparativo de las diferentes propuestas, considerando criterios ecológicos, biogeográficos, y físico-químicos, entre otros.				16	16	16			48
	Validación de propuestas de modificación al actual proceso de primera importación de especies exóticas a través de taller de expertos.							16		16
	Evaluación de factibilidad técnica y económica de las propuestas de modificación al actual proceso y estudios asociados a la primera importación de especies exóticas.								16	16
	Diseño y elaboración de nuevas propuestas metodológicas para el proceso de primera importación de especies exóticas.			16	16	16				48
	Análisis de fortalezas y debilidades de nuevas propuestas metodológicas para la primera importación de especies exóticas.				8	8	8			24
	Validación de nuevas propuestas metodológicas a través de taller de expertos.							16		16
	Evaluación de factibilidad técnica y económica de las nuevas propuestas metodológicas al proceso y estudios asociados a la primera importación de especies exóticas.								16	16
	Actividades generales.	20			32	20			45	117
Total HH mes	52	48	48	88	76	24	32	77	445	



INSTITUTO DE FOMENTO PESQUERO

Almte. Manuel Blanco Encalada 839

Fono 56-32-2151500

Valparaíso, Chile

www.ifop.cl



www.ifop.cl