

## INFORME FINAL

**Proyecto:**

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

Elaborada para:

**Subsecretaría de Pesca y Acuicultura**



Presentada por:

**AMAKAIK Consultoría Ambiental**

en consorcio con

**Plataforma de Investigación en Ecohidrología y Ecohidráulica EcoHyd**



**Con fecha:** 11 de junio de 2013

En conformidad.

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Carolina Díaz Pardo', is written over a faint, circular stamp or watermark.

Carolina Díaz Pardo  
Jefe Proyecto  
Consortio AMAKAIK, EcoHyd

Santiago, 11 de junio de 2013

## 1 DESCRIPCIÓN DEL PROGRAMA

---

1.1. Nombre del Proyecto	“Prospección de <i>Didymosphenia geminata</i> en cuerpos de agua de la Zona Centro-Sur”
1.2. Ubicación	Región de la Araucanía y de Los Ríos.
1.3. Duración del Programa	5 meses
1.4. Fondos Requeridos	\$ 19.471.625
1.5. Unidad Técnica	SUBSECRETARÍA DE PESCA Y ACUICULTURA
1.6. Grupo de trabajo Ejecutor	CONSORCIO AMAKAIK-ECOHYD
1.7. Jefe de proyecto	Carolina Díaz Pardo

---

## INTERACCIÓN DE INSTITUCIONES DENTRO DEL EQUIPO DE TRABAJO



Unidad de Gestión Sanitaria y  
Plagas Departamento  
de Acuicultura



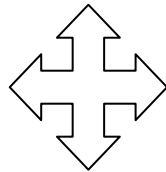
Carolina Díaz Pardo  
Dr (c) Cs. c/m Ecología y Biología  
Evolutiva (EBE), U. de Chile.  
Lic. Ciencias Ambientales c/m Biología, U.  
de Chile.  
Directora ejecutiva, AMAKAIK.  
Jefa Proyecto

Úrsula Romero Merino  
Asistente Técnico Administrativo,  
AMAKAIK.

Gladys Verches Pinilla  
Consultor Asociado, AMAKAIK.

Daniel Zamorano Castillo  
Estudiante de 5º año de Biología c/m en  
medio ambiente. Facultad de Ciencias, U.  
de Chile.  
Investigador AMAKAIK.

Nora I Maidana  
Profesora Adjunta; Facultad de Ciencias  
Exactas y Naturales de la Universidad de  
Buenos Aires.



Matías Peredo Parada  
Dr. Ing. Hidráulica y Medio Ambiente.  
U. Politécnica de Valencia, España.  
Jefe Área Ecohidráulica, EcoHyd.  
Jefe Proyecto Alternativo.

Diana Quevedo Tejada  
Dr. Ing. Hidráulica y Medio Ambiente.  
U. Politécnica de Valencia, España.  
Jefe Área Ecohidrología, EcoHyd

Paula Olea Encina  
Geógrafo, especialista en Geomática.  
Investigadora, EcoHyd.

Esperanza Parada Zamorano  
MSc en zoología. Universidad Austral.  
Directora EcoHyd

Jorge Urquieta Gonzalez  
Geomensor.  
Asistente de Investigación, EcoHyd

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



Luciano Caputo Galarce  
Dr. Estudios Avanzado en Ecología c/e Limnología, U. de Barcelona, España.

Dayane Osman Schmeisser  
Mg(c) en Ciencias, c/m Recursos Hídricos.

## ÍNDICE

<b>1</b>	<b>DESCRIPCIÓN DEL PROGRAMA</b>	<b>3</b>
<b>2</b>	<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>8</b>
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS</b>	<b>11</b>
3.1	OBJETIVOS GENERALES	11
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	11
<b>4</b>	<b>METODOLOGÍA</b>	<b>12</b>
4.1	ÁREA DE ESTUDIO	12
4.2	SELECCIÓN DE PUNTOS DE MUESTREO	14
4.3	ACTIVIDADES DE MUESTREO	16
4.3.1	<i>Primera acción: Inspección visual y descripción del tramo</i>	17
4.3.2	<i>Segunda acción: Toma de muestra de diatomeas bentónicas, parámetros in-situ y variables hidromorfológicas.</i>	17
4.3.3	<i>Tercera acción: Toma de muestra de fitoplancton y muestreo químico</i>	18
4.4	MUESTREO DE VARIABLES HIDROMORFOLÓGICA	20
<b>5</b>	<b>PROTOCOLOS DE BIOSEGURIDAD Y SEGURIDAD LABORAL</b>	<b>21</b>
5.1	BIOSEGURIDAD	21
5.2	PROTOCOLO DE SEGURIDAD EN TERRENO	22
5.3	CARTOGRAFÍA	23
<b>6</b>	<b>PROCESAMIENTO DE MUESTRAS Y DATOS</b>	<b>23</b>
6.1	DIATOMEAS BENTÓNICAS	23
6.2	MICROALGAS PLANCTÓNICAS:	24
6.2.1	<i>Recuento directo: Cámara Sedgewick-Rafter</i>	24
6.3	ANÁLISIS QUÍMICOS DE MUESTRAS DE AGUA	25
6.4	ACREDITACIONES DE ANAM	26
6.4.1	<i>Determinación de variables indirectas</i>	26
6.5	ANÁLISIS ESTADÍSTICO	27
6.5.1	<i>Cuantificación del impacto de D. geminata</i>	27
6.5.2	<i>Descripción y análisis de sitios de muestreo</i>	27
6.5.3	<i>Análisis físico-químicos</i>	28
6.5.4	<i>Análisis de microalgas planctónicas</i>	29
6.5.5	<i>Análisis de microalgas bentónicas</i>	29
6.5.6	<i>Análisis componente biológico y físico-químico</i>	29
6.5.7	<i>Análisis para comparaciones históricas de métodos y sitios prospectados</i>	30
<b>7</b>	<b>ACTIVIDADES DE DIFUSIÓN, TRANSFERENCIA DE INFORMACIÓN Y CAPACITACIÓN.</b>	<b>30</b>
<b>8</b>	<b>RESULTADOS Y ANÁLISIS</b>	<b>30</b>
8.1	PRESENCIA DE DIDYMO	38
8.2	INSPECCIÓN VISUAL	38
8.3	COMPONENTE FÍSICO-QUÍMICO	41
8.3.1	<i>Análisis estadísticos de resultados Físico-químicos</i>	44
8.4	COMUNIDAD DE MICROALGAS PLANCTÓNICAS	48
8.4.1	<i>Análisis estadísticos de resultados de microalgas planctónicas</i>	49
8.5	COMUNIDAD DE DIATOMEAS BENTÓNICAS	51
8.5.1	<i>Análisis estadísticos de resultados de diatomeas bentónicas</i>	51
8.6	ANÁLISIS COMPONENTE FÍSICO-QUÍMICO Y BIOLÓGICO	57
8.7	ANÁLISIS HISTÓRICOS DE MÉTODOS Y SITIOS PROSPECTADOS	57
8.7.1	<i>Comparación histórica de resultados y métodos para parámetros físico-químicos</i>	60

8.7.2	Comparación histórica para métodos y resultados obtenidos en Fitoplancton	62
8.7.3	Comparación histórica de métodos y resultados obtenidos para microalgas bentónicas	62
<b>9</b>	<b>COMENTARIOS METODOLÓGICOS</b>	<b>63</b>
<b>10</b>	<b>DISCUSIÓN DE RESULTADOS</b>	<b>64</b>
<b>11</b>	<b>REFERENCIAS</b>	<b>68</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1.	CUENCAS SELECCIONADAS PARA EL ESTUDIO DE VIGILANCIA Y PROSPECCIÓN DE <i>D. GEMINATA</i>	12
FIGURA 2.	ACTIVIDADES DE MUESTREO PARA LA VIGILANCIA Y PROSPECCIÓN DE <i>D. GEMINATA</i> .	16
FIGURA 3.	SISTEMA DE OBTENCIÓN DE MUESTRAS DE <i>D. GEMINATA</i> EN EL PLANCTON.	19
FIGURA 4.	DIAGRAMA RESUMEN DE LAS MEDIDAS DE BIOSEGURIDAD PARA MUESTREOS DE <i>D. GEMINATA</i> .	22
FIGURA 5.	MAPAS POR CUENCA PARA SITIOS PROSPECTADOS. SE SEÑALAN ADEMÁS SITIOS DE PROSPECCIONES ANTERIORES Y LA PRESENCIA DE DIDYMO.	33
FIGURA 5 1.	CUENCA BIOBÍO	33
FIGURA 5 2.	CUENCA IMPERIAL	34
FIGURA 5 3.	CUENCA TOLTÉN	35
FIGURA 5 4.	CUENCA BUENO	36
FIGURA 5 5.	CUENCA VALDIVIA	37
FIGURA 6.	PORCENTAJES POR CLASIFICACIÓN DE CATEGORÍA VISUAL DETERMINADA EN TERRENO PARA TODOS LOS SITIOS DE MUESTREO	40
FIGURA 7.	GRÁFICO DE CAJAS PARA NIVELES DE PH EN SITIOS SEGÚN LA PRESENCIA DE DIDYMO.	45
FIGURA 8.	GRÁFICO DE CAJAS PARA NIVELES DE VELOCIDAD DE FONDO EN SITIOS SEGÚN LA PRESENCIA DE DIDYMO.	45
FIGURA 9.	RESULTADOS DEL EJE 1 Y EJE 2 PARA PCA VARIABLES FÍSICO-QUÍMICAS <i>IN-SITU</i> .	46
FIGURA 10.	RESULTADOS DEL EJE 1 Y EJE 2 PARA PCA VARIABLES QUÍMICAS DE LABORATORIO.	47
FIGURA 11.	PARÁMETROS COMUNITARIOS DE FITOPLANCTON POR CUENCA	49
FIGURA 12.	COMPOSICIÓN COMUNIDAD FITOPLANCTÓNICA PARA CUENCAS ESTUDIADAS EN PROSPECCIONES ACTUALES.	50
FIGURA 13.	COMPOSICIÓN COMUNIDAD FITOPLANCTÓNICA PARA ANTERIORES PROYECTOS DE PROSPECCIÓN GENERADOS EN LA CUENCA.	50
FIGURA 14.	GRÁFICO DE CAJAS DE RIQUEZA DE DIATOMEAS EN SITIOS EN PRESENCIA (P) O AUSENCIA (A) DE DIDYMO.	52
FIGURA 15.	GRÁFICO DE CAJAS DE ÍNDICE DE DIVERSIDAD DE SHANON-WIENER EN SITIOS EN PRESENCIA (P) O AUSENCIA (A) DE DIDYMO.	53
FIGURA 16.	GRÁFICO DE CAJAS DE ABUNDANCIA DE DIATOMEAS EN SITIOS EN PRESENCIA O AUSENCIA DE DIDYMO.	53
FIGURA 17.	GRÁFICO DE CAJAS PARA ÍNDICES DE DIVERSIDAD POR CUENCA PARA SITIOS EN PRESENCIA O AUSENCIA DE DIDYMO	54
FIGURA 18.	GRÁFICO DE CAJAS PARA ABUNDANCIA DE DIATOMEAS POR CUENCA PARA SITIOS EN PRESENCIA O AUSENCIA DE DIDYMO	54
FIGURA 19.	DIAGRAMAS DE RANKING DE ESPECIES EN ABUNDANCIAS POR CUENCA, CONSIDERANDO LAS DOS CUENCAS MÁS AFECTADAS POR DIDYMO	55
FIGURA 20.	GRAFICO DE EJE 1 Y 2 PARA ESPECIES DE DIATOMEAS BENTÓNICAS. N° POR ESPECIE EN TABLA 15.	56

## ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1.	LISTADO DE RÍOS PROPUESTOS PARA VIGILANCIA Y PROSPECCIÓN DE <i>D. GEMINATA</i> .	15
TABLA 2.	LISTADO DE VARIABLES QUÍMICAS A ANALIZAR EN PROSPECCIÓN DE <i>D. GEMINATA</i> .	25
TABLA 3.	RESUMEN SITIOS PROSPECTADOS POR AMAKAIK-ECOHYD EN LAS REGIONES DE LA ARAUCANÍA Y LOS RÍOS.	31
TABLA 4.	RESUMEN SITIOS DIDYMO PROSPECCIÓN AMAKAIK-ECOHYD 2012	38
TABLA 5.	TABLAS DE CONTINGENCIA Y RESULTADOS DE TEST DE CHI-CUADRADO PARA CATEGORÍAS DE CLASIFICACIÓN FÍSICAS DESCRITAS EN TERRENO Y SU ASOCIACIÓN CON DIDYMO.	39
TABLA 6.	RESULTADOS FÍSICO-QUÍMICOS PARÁMETROS MEDIDOS <i>IN-SITU</i> PROYECTO ACTUAL	41

TABLA 7. RESULTADOS QUÍMICOS OBTENIDOS EN LABORATORIO PARA ACTUAL PROYECTO.	43
TABLA 8. RESULTADOS PARA TEST DE ANOVAS CON PERMUTACIONES, PARA PARÁMETROS QUÍMICOS EN SITIOS CON Y SIN DIDYMO.	44
TABLA 9. RESULTADOS ANÁLISIS PCA PARA PARÁMETROS QUÍMICOS DE LABORATORIO	47
TABLA 10. RESULTADOS ANÁLISIS PCA CON PARÁMETROS DE LABORATORIO	48
TABLA 11. ABUNDANCIA DE MICORALGAS PLANCTÓNICAS PARA SITIOS PROSPECTADOS POR CUENCA.	48
TABLA 12. RESUMEN DE RESULTADOS PARA ESPECIES DE DIATOMEAS BENTÓNICAS EN CUENCAS PROSPECTADAS.	51
TABLA 13. RESULTADOS DE TEST DE ANOVA CON PERMUTACIONES PARA ÍNDICES COMUNITARIOS EN SITIOS EN PRESENCIA O AUSENCIA DE DIDYMO.	52
TABLA 14. RESULTADOS TEST DE ANOVA CON PERMUTACIONES PARA ÍNDICES COMUNITARIOS DE PROSPECCIONES PREVIAS	56
TABLA 15. ÍNDICE NUMÉRICO DE ESPECIES EN ANÁLISIS MULTIVARIADOS.	57
TABLA 16. SITIOS MUESTREADOS POR PROYECTOS DE PROSPECCIÓN EN LAS REGIONES IX Y XIV.	58
TABLA 17. INSTRUMENTOS Y MÉTODOS PARA ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICOS EN PROYECTOS DIDYMO REALIZADOS EN LA IX Y XIV REGIÓN.	61
TABLA 18. PROMEDIOS POR PARÁMETRO QUÍMICO REGISTRADO PARA ESTE ESTUDIO Y OTROS MUESTREOS.	61
TABLA 19. COMPARACIÓN DE MÉTODOS Y RESULTADOS PARA INVESTIGACIONES ANTERIORES REALIZADAS EN LA CUENCA CON RESPECTO A FITOPLANCTON.	62
TABLA 20. COMPARACIÓN DE MÉTODOS Y RESULTADOS PARA INVESTIGACIONES ANTERIORES REALIZADAS EN LA CUENCA CON RESPECTO A DIATOMEAS BENTÓNICAS.	62

## ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO 01. RESULTADOS DE FICHAS DE TERRENO.
ANEXO 02. REPORTES DE TERRENO.
ANEXO 03. REGISTRO FOTOGRÁFICO DE RÍOS CON PRESENCIA DE DIDYMO.
ANEXO 04. ANÁLISIS HIDROMORFOLÓGICO Y ESTADÍSTICO.
ANEXO 05. LISTADOS HISTÓRICOS DE MICROALGAS PLANCTÓNICAS.
ANEXO 06. LISTADO ACTUAL DE MICROALGAS PLANCTÓNICAS.
ANEXO 07. LISTADOS HISTÓRICOS DE DIATOMEAS BENTÓNICAS.
ANEXO 08. LISTADO ACTUAL DE DIATOMEAS BENTÓNICAS.
ANEXO 09. RESULTADOS QUÍMICOS HISTÓRICOS.
ANEXO 10. REGISTRO FOTOGRÁFICO DE MICROALGAS PLANCTÓNICAS.
ANEXO 11. REGISTRO FOTOGRÁFICO DE DIATOMEAS BENTÓNICAS.
ANEXO 12. CERTIFICADOS DE ANÁLISIS QUÍMICOS EMITIDOS POR EL LABORATORIO.
ANEXO 13. SEMINARIO ESTADO ACTUAL DEL CONOCIMIENTO DE DIDYMO EN CHILE.
ANEXO 14. ALCANCES DEL ANÁLISIS DE FÓSFORO.

## 2 INTRODUCCIÓN

*Didymosphenia geminata* (Lyngbye) Schmidt es una diatomea unicelular bentónica, endémica de Hemisferio Norte, que fue descrita por primera vez en las islas Faroe (Whitton *et al.*, 2009). *D. geminata* habita en sustratos rocosos principalmente, a los que se mantiene adherida gracias a la producción de polisacáridos que le permite formar un pie de mucílago. Debido a su gran capacidad invasiva, produce proliferaciones masivas conocidas como “Didymo” o “Moco de Roca”, las que han llegado a cubrir un 100% de los sustratos (Spaulding & Elwell, 2007). Diversos estudios discuten como posible consecuencia de esta plaga de difícil erradicación, alteraciones fisicoquímicas y numerosos problemas ambientales en la fauna acuática, observándose, por ejemplo, una disminución de las poblaciones de invertebrados bentónicos, lo que afecta la disponibilidad de alimento para la fauna íctica (Whitton *et al.*, 2009), y una disminución en la disponibilidad de hábitat, lo que altera el sustrato y a la vez repercute en el proceso reproductivo de la fauna (Larned *et al.*, 2006). Este claro impacto negativo de *D. geminata* sobre la salud de los ecosistemas y por lo tanto la sustentabilidad ambiental de la cuenca, tiene implicancias ecológicas, económicas, sociales y estéticas (Kilroy *et al.*, 2005; Kilroy, 2005; Kilroy & Dale, 2006; Campbell, 2005; Branson, 2006).

Esta diatomea ha sido descrita en aguas frías y oligotróficas (Krammer & Lange-Bertalot, 1986; Kawecka & Sanecki., 2003), sin embargo estudios en distintas regiones afectadas, han identificado un aumento en su distribución a una variedad de ambientes (Spaulding & Elwell, 2007), llegando a registrarse proliferaciones en aguas con altas concentraciones de amonio, alta proporción N/Pi, en ríos con aportes de residuos agrícolas, industriales y urbanos, llegando a proponerse como clave para su presencia la proporción de P-PO4 org./P-PO4 inorg (Kilroy & Dale., 2006; Lagerstedt, 2007; Kawecka & Sanecki, 2003; Whitton *et al.*, 2009; Sundareshwar *et al.*, 2011; Bothwell & Kilroy, 2011). El pH al que se han registrado floraciones de Didymo se restringe a ríos con aguas circumneutrales (Skulberg, 1982; Dufford *et al.*, 1987), mientras que, respecto de los metales, el hierro en altas concentraciones parece ser un factor importante para su proliferación (Kilroy, 2004; Sundareshwar *et al.*, 2011).

Respecto de los factores físicos que han sido asociados al desarrollo de Didymo se encuentran: velocidad de flujo moderada, caudales no muy altos, estabilidad de sustrato, alcanzando un óptimo crecimiento sobre rocas y bolones, y aguas no muy profundas con transparencia, que permita una alta luminosidad (Kilroy, 2004; Kilroy *et al.*, 2005; Larned *et al.*, 2006; Kilroy *et al.*, 2007; Lagerstedt, 2007). Todas estas condiciones físicas son características muy comunes en los ríos chilenos. Esto, sumado a la evidencia sugerida en por Spaulding & Elwell, 2007, proveniente de los resultado de modelos de nicho ecológico, que indican que Didymo puede estar presente en todos los continentes excepto en la Antártida, alertan sobre el riesgo de invasión a gran parte de Chile si no se implementan medidas de prevención y desinfección.

*D. geminata* fue documentada por primera vez en Chile en 1962 en el Lago Sarmiento y el Río Cisnes (Asprey *et al.*, 1964; Rivera, 1983), antecedente que resulta muy cuestionable,



particularmente ante el no registro de la especie, en sedimentos obtenidos desde el fondo del Lago Sarmiento (datos no publicados, Carolina Díaz). No hubo observación de la especie hasta el verano del 2010 en la Subcuenca Futaleufú, siendo éste además el primer registro de forma masiva en América de Sur. Esto provocó que la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura mediante Resolución Ex N°3064/2010 declarara plaga de *D. geminata* en sectores de la Subcuenca Futaleufú (Subsecretaría de Pesca y Acuicultura, 2010), a fin de poder destinar más recursos para realizar estudios y establecer medidas que permitan evitar su dispersión. Desde entonces, diversos estudios han sido financiados por la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura, el Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura (SERNAPESCA) y el Centro de Investigaciones de los Ecosistemas de la Patagonia (CIEP), incluyendo todo tipo de material de difusión y capacitaciones dirigidas a los distintos sectores con competencias en el tema y/o que resultan afectados por esta plaga.

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

Conocer las condiciones en las que *D. geminata* se desarrolla, sean éstas físicas, químicas o biológicas, permitiría inferir qué sistemas tienen más riesgo de ser invadidos y por lo tanto, establecer efectivas medidas de protección para evitar la propagación a estos sistemas. Sin embargo, diversos estudios han reportado no encontrar patrones físico-químicos para la distribución de la especie, entre los que destacan Subsecretaría de Pesca y Acuicultura /Poch-UChile, 2011a; Subsecretaría de Pesca y Acuicultura /Poch-UChile, 2011b; Subsecretaría de Pesca y Acuicultura /Poch-UChile, 2011c; Subsecretaría de Pesca y Acuicultura /Poch-UChile, 2012. Lamentablemente, considerando que además no se utilizan las mismas metodologías de muestreo y análisis, reunir dicha información en búsqueda de resultados más concluyentes, se hace imposible. Es por esta razón que es muy importante mantener la continuidad de los estudios que sí son comparativos y que además, siguen absolutamente los lineamientos de todos los proyectos desarrollados por POCH-U Chile y que han sido plasmados en el Manual publicado por la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura, pretendiendo convertirse en la metodología estándar para el monitoreo de *D. geminata* en Chile.

En las prospecciones, monitoreos y programas de vigilancia realizados en las regiones de Araucanía y Los Ríos entre los años 2010 y 2012, no se había detectado la presencia de *D. geminata*. Sin embargo, muestras obtenidas por SERNAPESCA de ambas regiones durante noviembre y diciembre 2012 y su posterior análisis en los laboratorios de AMAKAIK, al resultar con presencia de *Didymo* obligaron al equipo consultor y a esta Subsecretaría de Pesca y Acuicultura a modificar los puntos de muestreo propuestos inicialmente para el presente proyecto. En adición a esto, SERNAPESCA ayuda a aumentar los puntos de

muestreo en la Subcuenca Alto Bío-Bío, Región de La Araucanía, financiando una extensión de proyecto que permita acotar los límites del área de plaga. Estos últimos resultados se incluyen también en este informe para poner en contexto regional la situación de la plaga.

El presente estudio considera también los resultados obtenidos en las prospecciones previas ejecutadas en ambas regiones, permitiendo, con la integración de una mayor cantidad de puntos de muestreo, lograr una visión completa del fenómeno existente y optimizar así la calidad de los análisis y conclusiones. Esto es posible ya que en este informe se da continuidad metodológica a los antecedentes previos, analizando la información biológica, físico-química, cartográfica e hidrográfica de manera consistente. Además, fueron implementadas innovaciones metodológicas que favorecieron el análisis de datos, obteniendo resultados que nos acercan a la comprensión del fenómeno de la plaga Didymo y también otras innovaciones que facilitaron el flujo de información entre el equipo consultor y la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura, permitiéndole a esta última optimizar sus tiempos de gestión.

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 Objetivos generales

Ampliar la información respecto a la presencia/ausencia de *D. geminata* en aquellos ríos de importancia para la acuicultura y pesca recreativa de las regiones de la Araucanía y de los Ríos.

#### 3.2 Objetivos específicos

A fin de dar cumplimiento al objetivo general del estudio, se han definido los siguientes objetivos específicos:

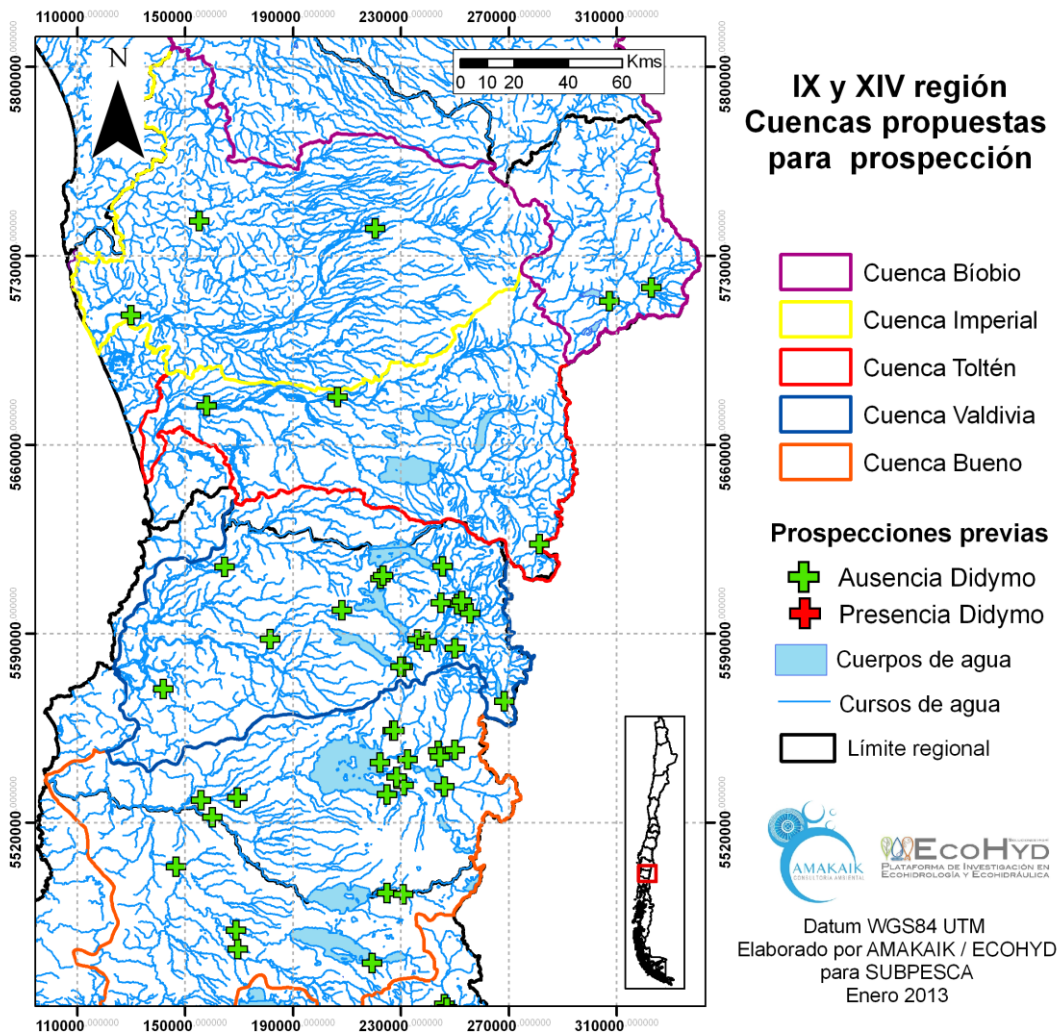
- Prospectar la presencia/ausencia de *D. geminata* en ríos ya prospectados en estudios anteriores.
- Prospectar la presencia/ausencia de *D. geminata* en ríos seleccionados no considerados en estudios anteriores.
- Determinar los parámetros fisicoquímicos en cada uno de los ríos prospectados y efectuar su análisis para determinar asociación con *D. geminata*.
- **OBJETIVO EXTRA PROPUESTO:** Divulgación de los resultados en las regiones de interés con el fin de informar el estado de los ríos respecto a *D. geminata* y realizar una capacitación sobre buenas prácticas para evitar o controlar la colonización.

## 4 METODOLOGÍA

### 4.1 Área de estudio

La Subsecretaría de Pesca y Acuicultura ha seleccionado 43 ríos de las regiones de La Araucanía y Los Ríos. En la Región de la Araucanía un total de 13 ríos se analizaron, 12 de ellos en dos puntos de muestreo cada uno, pertenecientes a las cuencas Bío-Bío, Imperial y Toltén, mientras que en la Región de Los Ríos un total de 30 ríos fueron analizados en las cuencas Valdivia y Bueno, pudiendo muestrear 22 de ellos en dos puntos de muestreo cada río (ver Figura 1).

Figura 1. Cuencas seleccionadas para el estudio de vigilancia y prospección de *D. geminata*



Cabe destacar que los ríos que debieron ser cambiados, al no poder muestrear uno de los puntos propuestos, fueron seleccionados siguiendo los criterios discutidos con la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura. A estos, se adicionó la sugerencia de parte de lugareños y operadores turísticos sobre migración de peces desde grandes ríos hacia cursos más pequeños para desovar. Si bien, no se realiza pesca en dichos ríos, estos podrían verse afectados si los peces transportan células de *D. geminata* en sus escamas (hipótesis sugerida en una serie de informes y publicaciones sobre el tema).

Tal como fue señalado en la propuesta técnica inicial presentada a la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura, en las campañas de muestreo se levantó información sobre la presencia o ausencia de *D. geminata*, en plancton y bentos, y de variables ambientales (físicoquímicas, hidromorfológicas, biológicas, antrópicas, etc.) a modo de explicar las condiciones en las cuales se ve favorecida la colonización y/o establecimiento de esta microalga.

Los cuerpos de agua considerados por la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura a muestrear en este estudio se señalan en la Tabla 1.

Los ríos a vigilar que hubieran sido prospectados previamente, en el presente estudio se monitorearon en lo posible en el mismo punto de muestreo según las coordenadas UTM definidas en los estudios anteriormente realizados. Excepciones a esta regla estuvieron determinadas por impedimentos logísticos o cambios importantes en el tramo que podían alterar los análisis en ese punto (ej. litoral convertido en un basural, bebedero de ganado o en un nuevo cruce de vehículos).

En caso de haberse incluido un nuevo punto de muestreo en estos ríos, se procuró que estuviera ubicado aguas arriba del punto preexistente. De esta forma los puntos preexistentes quedarían aguas abajo, y por lo tanto, se realizaría un muestreo que incluyera todas las variables descritas en la Tabla 1. Esta medida perseguía que los puntos ya prospectados mantuvieran el mismo nivel de información de estudios anteriores, permitiendo la comparación entre ellos. En su defecto, se fijó como criterio que en lo posible todos los puntos ya prospectados tuvieran muestreo completo, mientras que en los nuevos puntos, aún cuando no pudieran ser seleccionados aguas arriba del preexistente, se realizara sólo muestreo bentónico (Tabla 1).

En cuanto a los nuevos ríos a vigilar, los criterios de selección de sitios de muestreo se indican en el **Manual para el Monitoreo e Identificación de la Microalga Bentónica *Didymosphenia geminata***, de la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura (Díaz *et al.*, 2012). Los criterios para la selección de sitios de muestreo incluyen las siguientes consideraciones:

- Seleccionar sitios de desarrollo de actividades antrópicas consideradas como posibles vectores de Didymo, tales como las actividades de pesca recreativa, deportiva y turística, deportes acuáticos como kayaking y rafting, etc.

- Observar características hidráulicas, físicas y químicas, que podrían ser críticas para la floración y proliferación de *D. geminata*.
- Zonas de vulnerabilidad ambiental, como por ejemplo descargas de residuos.
- Accesibilidad del tramo y sitio de muestreo bajo condiciones de seguridad.
- Condiciones de terreno favorables para las actividades de muestreo, como por ejemplo tipo de sustrato (rocoso), profundidad (somera), etc.
- Selección del punto de muestreo preferentemente aguas arriba y aguas abajo de afluentes de mayor importancia en cada río para inferir presencia o ausencia de *D. geminata* en estos afluentes no muestreados.
- Representatividad de los distintos hábitats del río, diferenciando las zonas rítrónicas, medias y potámicas.

#### 4.2 Selección de puntos de muestreo

Este estudio propuso, de acuerdo a lo indicado en la propuesta técnica, considerar 2 puntos de muestreo por río. Esto, sujeto a factibilidad logística para acceder y/o desarrollar el muestreo bajo las condiciones apropiadas. De esta manera, se propuso analizar 86 puntos de muestreo, correspondiendo a 43 ríos pertenecientes a las Regiones La Araucanía y Los Ríos.

Como se observa en la Tabla 1, para cada río se señalan dos tipos de muestreo distinto:

- **Muestreo Tipo 1:** muestreo basal, que considera el desarrollo de inspección visual, registro de parámetros *in-situ*, obtención de muestra bentónica y observación/medición de características/variables físicas del tramo muestreado. Generalmente punto aguas arriba, punto nuevo seleccionado en cada río con características físicas adecuadas para el desarrollo de Didymo, pero sin observación de mucosidad sospechosa.
- **Muestreo Tipo 2:** muestreo completo, incluye todas las actividades del muestreo Tipo 1, a las que se suman la obtención de muestra planctónica y colecta de agua para análisis químico. Punto preferentemente más aguas abajo, previamente prospectado y/o con sospecha de Didymo.

En el ítem 4.3 “Actividades de Muestreo”, se detallan las actividades desarrolladas en las distintas etapas de cada tipo de muestro, las que a su vez se encuentran esquematizadas en la Figura 2.

Cuando no fue posible muestrear uno de los ríos propuestos por razones impuestas por el trabajo en terreno (litoral inaccesible, cambio en las condiciones de acceso en los únicos tramos con las características adecuadas para muestrear, crecida del río, litoral modificado, etc.) o no fue posible realizar ambos puntos de muestreo propuestos en un río (considerando principalmente problemas de accesibilidad a un tramo lo suficientemente diferente o distante del otro punto en el mismo río), éste fue reemplazado por un nuevo río o bien por un tercer punto en alguno de los ríos de mayor extensión.

Tabla 1. Listado de ríos propuestos para vigilancia y prospección de *D. geminata*.

Región		Aguas Arriba,					Aguas Abajo,						
		Punto de muestreo Tipo 1					Punto de muestreo Tipo 2						
		IV	IS	B	P	Q	F	IV	IS	B	P	Q	F
Araucanía	Biobío	X	X	X			X	X	X	X	X	X	X
	Trancura	X	X	X			X	X	X	X	X	X	X
	Liucura	X	X	X			X	X	X	X	X	X	X
	Pucón	X	X	X			X	X	X	X	X	X	X
	Caburgua	X	X	X			X	X	X	X	X	X	X
	Cautín	X	X	X			X	X	X	X	X	X	X
	Toltén	X	X	X			X	X	X	X	X	X	X
	Allipén	X	X	X			X	X	X	X	X	X	X
	Liucura Sur	X	X	X			X	X	X	X	X	X	X
	Pedregoso	X	X	X			X	X	X	X	X	X	X
	Maichín	X	X	X			X	X	X	X	X	X	X
	Curaco	X	X	X			X	X	X	X	X	X	X
	Panqui	X	X	X			X	X	X	X	X	X	X
Los Ríos	Cruces	X	X	X			X	X	X	X	X	X	X
	Llancahue	X	X	X			X	X	X	X	X	X	X
	Zahuil	X	X	X			X	X	X	X	X	X	X
	Huenehue	X	X	X			X	X	X	X	X	X	X
	Pillanleufu	X	X	X			X	X	X	X	X	X	X
	Neltume	X	X	X			X	X	X	X	X	X	X
	Mañío	X	X	X			X	X	X	X	X	X	X
	Cua-Cuá	X	X	X			X	X	X	X	X	X	X
	Liquiñe	X	X	X			X	X	X	X	X	X	X
	San Pedro	X	X	X			X	X	X	X	X	X	X
	Llanquihue	X	X	X			X	X	X	X	X	X	X
	Fuy	X	X	X			X	X	X	X	X	X	X
	Enco	X	X	X			X	X	X	X	X	X	X
	Remehue	X	X	X			X	X	X	X	X	X	X
	Hua-Hum	X	X	X			X	X	X	X	X	X	X
	Caunahue	X	X	X			X	X	X	X	X	X	X
	Florín	X	X	X			X	X	X	X	X	X	X
	Blanco en Enco	X	X	X			X	X	X	X	X	X	X
	Chihuío	X	X	X			X	X	X	X	X	X	X
	Curriñe	X	X	X			X	X	X	X	X	X	X
	Cumilahue/Curinilahue	X	X	X			X	X	X	X	X	X	X
	Calcurrupe	X	X	X			X	X	X	X	X	X	X
	Nilahue	X	X	X			X	X	X	X	X	X	X
Bueno	X	X	X			X	X	X	X	X	X	X	
	Lipinza	X	X	X			X	X	X	X	X	X	X
	Riñinahue	X	X	X			X	X	X	X	X	X	X
	Reyehueico	X	X	X			X	X	X	X	X	X	X
	Rupumeica	X	X	X			X	X	X	X	X	X	X

Región	Aguas Arriba, Punto de muestreo Tipo 1						Aguas Abajo, Punto de muestreo Tipo 2					
	IV	IS	B	P	Q	F	IV	IS	B	P	Q	F
	Quinchilca	X	X	X			X	X	X	X	X	X
Blanco en Maihue	X	x	x			X	X	X	X	X	X	X

Ríos presentes en las regiones de La Araucanía y Los Ríos. Leyenda: IV: Inspección Visual; IS: Parámetros *In-situ*; B: Muestra Bentónica; P: Muestra Planctónica; Q: Química; F: Física.

### 4.3 Actividades de muestreo

Las actividades de muestreo para cada sitio se realizaron de acuerdo a lo indicado en el **Manual para el Monitoreo e Identificación de la Microalga Bentónica *Didymosphenia geminata*** (Díaz *et al.*, 2012) y se ilustran en Figura 2. En gris se destacan los dos tipos de muestra que se obtuvo sólo en el punto de muestreo de cada río en el que se consideró muestreo completo, que tal como se indicó previamente, correspondía a aquellos puntos ya prospectados y el punto más aguas abajo en los nuevos ríos prospectados.

Figura 2. Actividades de muestreo para la vigilancia y prospección de *D. geminata*.



Como parte del muestreo, se consideró fundamental tener un buen registro fotográfico de cada etapa de muestreo, pero principalmente de las características del punto de muestreo y del sustrato muestreado.

Se muestrearon dos puntos de cada río, cuando las condiciones logísticas lo permitieron. Los puntos seleccionados en cada río se definieron de acuerdo a que estuvieran a una



distancia suficiente y que presentaran condiciones representativas del sector considerando las variables de interés para el estudio de la *Didymosphenia geminata*.

La acción de prospectar de un tramo de río puede ser descrita en tres acciones. a) La primera constituye una inspección visual y descripción del tramo en donde se realizó la prospección. b) La segunda corresponde a la obtención de la muestra bentónica de *D. geminata* y el registro de los parámetros *in-situ* y de variables hidromorfológicas. c) La tercera corresponde a la toma de muestra de microalgas planctónicas y obtención de muestras de agua para análisis químico. Estas metodologías se encuentran detalladas en la propuesta técnica presentada al Servicio y en el Manual de la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura (Díaz *et al.*, 2012).

#### 4.3.1 Primera acción: Inspección visual y descripción del tramo

Se realizó una inspección visual del tramo, recorriendo aproximadamente 300 metros en los alrededores, con el fin de identificar posibles lugares en que se encuentre *Didymosphenia geminata*. Durante la inspección visual fue seleccionado el tramo donde se tomaron las muestras, el cual constaba de 100 metros paralelos al cauce del río. Se hizo un registro fotográfico georreferenciado de cada punto, el cual fue incluido en una base de datos georreferenciada.

En paralelo a la inspección visual se describió el sistema fluvial considerando tipo de sustrato en orillas, tipo de río (unicauce, multicauce, trenzado, etc.), mesohábitat presentes en el tramo inspeccionado (ritrónicas, medias y potámicas), presencia de vegetación ripariana que pudiera dar sombra al tramo prospectado, entre otras, completando con esta información una ficha de terreno, previamente diseñada y de formato estándar para todos los sitios de muestreo, esta ficha se encuentra en el **Manual para el Monitoreo e Identificación de la Microalga Bentónica *Didymosphenia geminata*** (Díaz *et al.*, 2012; ver ANEXO 1)

La selección de puntos de muestreo fue dirigida (no aleatoria). Esto porque varios sectores de cada río fueron examinados con el objetivo de maximizar la probabilidad de encuentro de Didymo, en caso que éste estuviera presente en el río. Por esta razón, observar alguna cobertura mucosa sospechosa en el río es un criterio de selección de sitio de muestreo automáticamente y por sobre los otros criterios de selección. En caso de observar presencia de masa mucilaginosa, se estimó el porcentaje de cobertura y el grado de crecimiento en al menos tres transectos perpendiculares al litoral, hacia el centro del río, no superando una profundidad de 60 cm.

#### 4.3.2 Segunda acción: Toma de muestra de diatomeas bentónicas, parámetros *in-situ* y variables hidromorfológicas.

En los transectos determinados por la inspección visual, se muestreó preferentemente sustrato rocoso (comunidades epilíticas) de acuerdo a la cobertura dominante. Varias muestras (muestra integrada) de un área de 4 cm<sup>2</sup> o de 1 cc, en caso de presentar

mucosidad abundante, fueron depositadas en un tubo que posteriormente se fijó con formalina al 4% para su traslado al laboratorio de AMAKAIK en Santiago donde fueron analizadas. Esta metodología de muestreo integrado permite capturar mayor variabilidad de microambientes al interior del transecto y, por ende, de la comunidad de diatomeas bentónicas. Esta etapa de obtención de la muestra en cada transecto (ya seleccionado de manera no aleatoria) también fue dirigida, ya que las rocas fueron seleccionadas de acuerdo a su aspecto sospechoso de presentar *Didymo*.

Se utilizaron cepillos (área) o espátulas descartables (volumen) para raspado del material sobre el sustrato rocoso y se recolectó en un frasco debidamente etiquetado (etiquetas resistentes al agua) y sellado para evitar pérdida de material. Para cuantificar la biomasa bentónica se registró el número de superficies y/o volúmenes muestreados. Al conocer esta área y/o volumen del que se obtuvo la muestra, los resultados se expresaron en células/mm<sup>2</sup> o células/mm<sup>3</sup>. La muestra de volumen fue medida en centímetros cúbicos, siempre utilizando instrumentos descartables para dar cumplimiento al protocolo de bioseguridad (Díaz *et al.*, 2012).

Junto con la obtención de la muestra biológica bentónica, en esta etapa se registraron las variables hidromorfológicas (Ítem 4.4) y los parámetros físico-químicos *in-situ*.

En cada uno de los 86 sitios de muestreo, se registraron *in-situ* los siguientes parámetros físico-químicos: Temperatura (T°), pH, Conductividad Eléctrica (CE), Oxígeno Disuelto (OD) y porcentaje de saturación de Oxígeno (%O). La medición de estos parámetros se realizó mediante una sonda multiparamétrica WTW, específicamente diseñada para mediciones en terreno. Cada uno de estos parámetros fue registrado en duplicado en cada sitio de muestreo, efectuando las mediciones en ambos extremos del tramo seleccionado para desarrollar todas las actividades de muestreo (en Anexo 1 se indican los valores promedio por tramo o transecto). Cabe señalar que los electrodos se calibraron antes de su uso en cada punto de muestreo, con las soluciones apropiadas para este equipo multiparamétrico específicamente, que es de mayor precisión que los electrodos que se utilizan de manera independiente

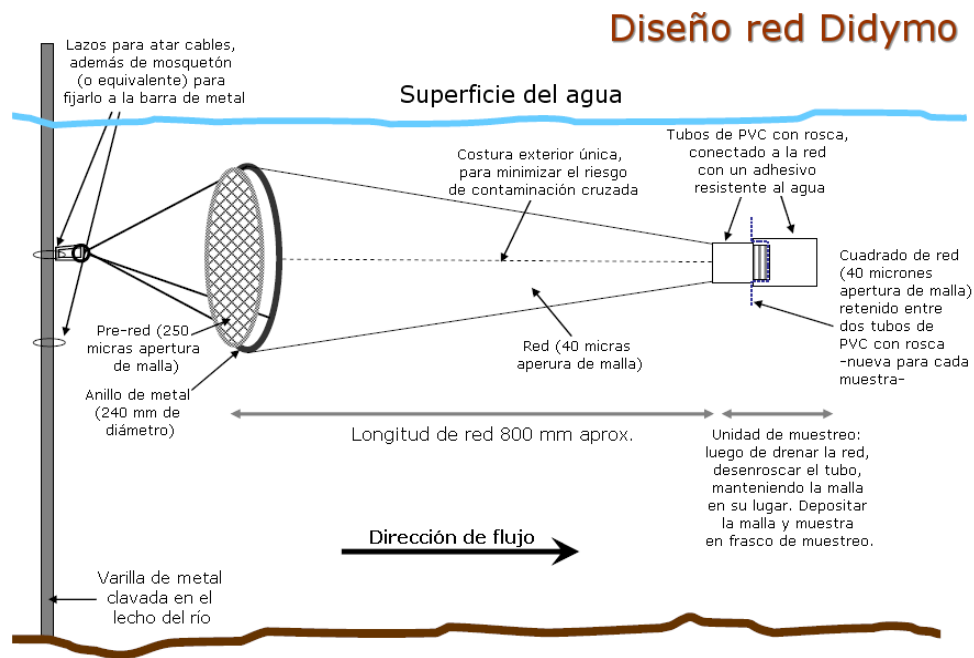
#### 4.3.3 Tercera acción: Toma de muestra de fitoplancton y muestreo químico

Se utilizó una red de fitoplancton con un cono y red contenedora de la muestra de apertura de malla de 40 micras. Otra red de 200 µm ubicada en la abertura del cono evita que partículas de gran tamaño perjudiquen la obtención de la muestra planctónica. La red fue suspendida durante 10 minutos, sugeridos por NIWA (Kilroy & Dale, 2006 y Díaz *et al.*, 2012). La red se sostuvo a un vástago quedando fija a una profundidad tal que estuviera completamente sumergida, pero que no quedara en contacto con el fondo, para que los sedimentos no ingresaran a la muestra y perjudicaran el proceso de obtención y luego de análisis de ésta (Figura 3).

El material recolectado fue vertido en un frasco debidamente tapado, sellado, etiquetado (resistente al agua), y fijado con solución lugol al 2% para ser transportado a los laboratorios de AMAKAIK en Santiago, donde fueron analizados.

Junto con la obtención de la muestra biológica planctónica, en esta etapa se tomaron muestras de agua para realizar los análisis químicos, que se describen en el ítem correspondiente.

Figura 3. Sistema de obtención de muestras de *D. geminata* en el plancton.



Fuente: Díaz *et al*, 2012

En cuanto al muestreo de agua superficial para el análisis químico, se obtuvieron muestras de agua en un punto por río (N=43), estas se usaron para análisis químico en laboratorio. Los análisis requeridos por la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura (propuestos en estudios previos y sugeridos en el Manual de Subsecretaría de Pesca y Acuicultura) son: Nitrato, Nitrito, Fosfato Orgánico e Inorgánico, Silicato, y Calcio. Además de estas variables, fue sugerido analizar Hierro, debido a su citada posible relación en el desarrollo de las abundantes masas mucilaginosas de *Didymo* (Kilroy, 2004; Sundareshwar *et al.*, 2011). El material para la toma de muestras fue entregado por el laboratorio, junto con los fijadores e indicaciones para realizar la obtención de muestras de acuerdo a cada tipo de análisis a realizar posteriormente en el laboratorio.

Las muestras se mantuvieron a 4°C (hieleras con *icepacks* y permanente control de temperatura) hasta que fueron enviadas a los **laboratorios de ANAM, en Puerto Montt**. La cercanía del laboratorio con las regiones a muestrear permitió disminuir al mínimo el tiempo en que las muestras debían estar con cadena de frío hasta que se analizaron en el laboratorio. Esto era muy importante ya que en muchos casos los datos obtenidos son

cuestionables debido a que es muy difícil mantener la cadena de frío bajo condiciones extremas del trabajo en terreno antes que las muestras pudieran ser analizadas. El detalle de las metodologías utilizadas en cada análisis se detalla en el ítem de análisis de muestras.

Las muestras de análisis químicos se realizaron en un solo punto por río, dando prioridad a los mismos puntos realizados en prospecciones anteriores. En caso de los nuevos ríos, el punto seleccionado fue aquel ubicado más aguas abajo.

#### 4.4 Muestreo de variables hidromorfológica

Por su parte, las variables hidromorfológicas medidas fueron velocidad superficial, velocidad media de la columna de agua, velocidad de fondo, profundidad en el transecto y tipo de sustrato, entre otras (Anexo 1 y Anexo 4). Las velocidades (superficial, media y fondo) se midieron mediante un molinete digital modelo FP 101 (precisión 0,1 m/s). Estas velocidades fueron medidas en cada uno de los transectos definidos en el tramo prospectado, en la medida que la profundidad del flujo lo permitiera (Díaz *et al.*, 2011). La profundidad se midió con el mismo molinete ya que posee una barra graduada milimétrica.

Para profundidades menores a 50 cm, se midió la velocidad a 0,6 veces la profundidad. En este caso, la velocidad media es igual a la medida.

Para profundidades comprendidas entre 50 cm y 150 cm se midió la velocidad a dos profundidades distintas, a 0,2 veces la profundidad y a 0,8 veces la profundidad. La velocidad media se determinó mediante la siguiente fórmula:

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

Donde:

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

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

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

Para profundidades mayores a 150 cm. se medirá la velocidad en tres puntos a 0,2, 0,6 y 0,8 veces la profundidad. Para estos casos, la velocidad media se determinará mediante la siguiente fórmula:

$$V_m = \frac{V_{0,2} + 2V_{0,6} + V_{0,8}}{4}$$

En donde:

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

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

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

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

Esta medición de velocidad se realizó siempre y cuando no haya estado en riesgo la integridad de los técnicos en terreno y siguiendo los protocolos de seguridad estipulado en el equipo consultor.

Se determinó la granulometría de una muestra de sustrato representativa de los transectos seleccionados en el tramo. Esta granulometría se realizó *in-situ* bajo los parámetros de clasificación de sedimentos de la USGS y que fue de interés para el estudio de *D. geminata*. Además se realizó una estimación mediante técnica fotográficas (Crozzoli & Batalla 2003) del sustrato representativo (Anexo 1 y Anexo 4).

En cuanto a la medición de las variables hidromorfológicas, se realizaron mediciones tanto en tramos de ríos ya prospectados anteriormente como en los tramos de los nuevos ríos por prospectar.

Como una variable indirecta se caracterizó el régimen hidrológico de cada uno de los tramos prospectados, distinguiendo con especial énfasis a aquellos de origen lacustre, nival o pluvial. Esta variable puede tener un rol importante en la explicación de la presencia o ausencia de *D. geminata* (Skulberg, 1982; Dufford *et al.*, 1987; ver Anexo 4).

## **5 PROTOCOLOS DE BIOSEGURIDAD Y SEGURIDAD LABORAL**

El equipo consultor estuvo consciente de la alta capacidad de propagar la plaga en caso de no tomar las medidas de bioseguridad sugeridas para el monitoreo de Didymo, por ello se rigió por el capítulo de bioseguridad del manual de la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura (Díaz *et al.*, 2012).

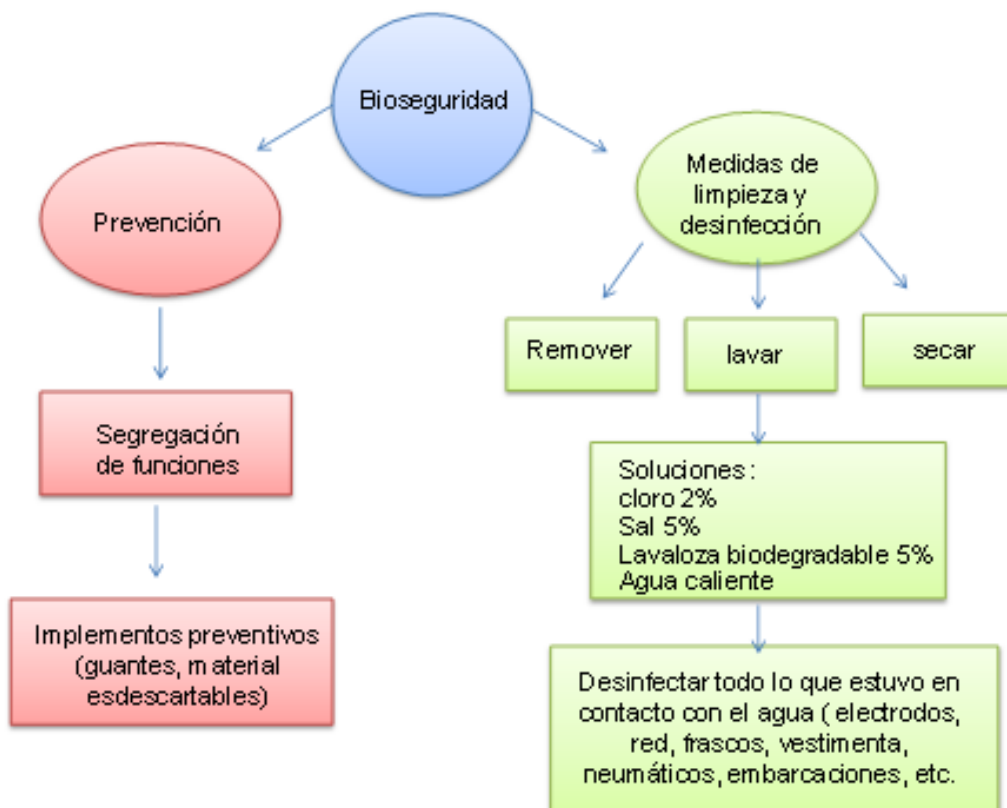
Asimismo, se destaca que el equipo consultor está capacitado mediante protocolos internos de seguridad laboral en terreno, los que constan de procedimientos y equipos de seguridad preventivos para actuar en caso de emergencia.

### **5.1 Bioseguridad**

El protocolo de bioseguridad (Figura 4) establece dos tipos de medidas, preventivas y de limpieza y desinfección. Dentro de las medidas de prevención se encuentran todas aquellas tendientes a evitar o disminuir el contacto con la plaga, en caso de estar eventualmente trabajando en ríos con presencia de *D. geminata*, mientras que las medidas de limpieza y desinfección son “Remover/Lavar/Secar”, tal como se señala en los protocolos del NIWA de Nueva Zelanda y adaptadas para Chile en el Manual de la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura (Díaz *et al.*, 2012). Para la etapa de secado, en el caso del desarrollo de muestreos extensivos en corto plazo como los ejecutados para este tipo de muestreos, es necesario considerar varios sets de implementos y trajes para muestreo

en agua, pudiendo intercalar su uso y dando tiempo así para que el material pudiera llegar a secarse.

Figura 4. Diagrama resumen de las medidas de bioseguridad para muestreos de *D. geminata*.



Nuestro equipo de trabajo posee amplia experiencia, tanto en el desarrollo del protocolo como en el trabajo de terreno en que este procedimiento se ha llevado a cabo cientos de veces. Por ello en nuestras campañas de muestreo se extreman las medidas de bioseguridad asociadas a esta plaga y también las medidas tendientes a evitar la contaminación de muestras con otras microalgas no pertenecientes al punto de muestreo. En este sentido, cada vez que el material previamente desinfectado se reutilizara, debía lavarse una vez más en agua del río del sitio de muestreo antes de realizar el procedimiento de muestreo en él, de esta manera se evitaría alterar la proporción de células viables de la nueva muestra colectada.

## 5.2 Protocolo de seguridad en terreno

El equipo consultor completo contó con seguros de vida/accidentes. Además, se cuenta de manera permanente con un protocolo en seguridad en terreno que especifica procedimientos para prevenir accidentes y procedimientos en caso de accidentes, tanto en terreno, como en el traslado.

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

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

### 5.3 Cartografía

Se realizó cartografía digital de la ubicación de las zonas de muestreo determinadas *a priori* por los especialistas para ser evaluadas en terreno, las cuales fueron posteriormente seleccionadas en terreno en función de la accesibilidad.

Además, el equipo de profesionales que ejecutó el terreno, contaba con programas computacionales especializados para obtener información geográfica en ruta. Estos programas son utilizados con conexión a GPS y permiten seleccionar mejor los puntos de muestreo, evitando así perder tiempo buscando puntos inaccesibles.

## 6 PROCESAMIENTO DE MUESTRAS Y DATOS

### 6.1 Diatomeas Bentónicas

El detalle de la metodología aplicada en las actividades de preparación, análisis e identificación taxonómica de diatomeas, se detalla en el protocolo “Protocolo para el análisis de diatomeas en sistemas lóticos chilenos” (Díaz, 2010) y en el Manual de la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura (Díaz *et al.*, 2012), ambos elaborados por la especialista en diatomeas de aguas continentales de esta propuesta.

Cada muestra obtenida en terreno fue inspeccionada para determinar la proporción del total de células viables dentro de la muestra y el porcentaje de células viables de *D. geminata*. En las muestras provenientes de puntos de muestreo Tipo 1 aquí termina el análisis biológico, mientras que en las muestras Tipo 2 en las que se realiza el análisis completo de la comunidad de diatomeas bentónicas, este porcentaje se usa posteriormente para corregir las abundancias totales de diatomeas obtenidas y para corregir también la abundancia de *D. geminata* en la muestra respecto de la proporción de ellas que estaba viva antes del procedimiento de digestión. Una vez digerida la muestra se realizan los preparados permanentes, ambas etapas fundamentales para la correcta observación microscópica de los caracteres de importancia taxonómica en diatomeas y el recuento de células por *taxa*. Esto, debido a que la taxonomía de diatomeas se basa en

caracteres morfológicos del frústulo, los que no son observables con la metodología utilizada para observación de fitoplancton, así como tampoco es posible realizar este procedimiento de identificación a nivel de especie con un microscopio con un aumento inferior a 1000x.

En cada preparado permanente se hizo un recuento mínimo de 200 valvas de diatomeas (Battarbee, 1986). Las muestras fueron analizadas en el laboratorio de AMAKAIK, utilizando microscopios Axisostar II Plus, Zeiss, que cuentan con conexión a un sistema de captura (Canon EOS) y análisis digital de imágenes (Axio Vision, Zeiss), para una adecuada determinación taxonómica de los ejemplares. Este instrumental y la metodología de análisis, incluyendo los criterios y bibliografía utilizada para la determinación taxonómica, también se encuentran descritos en el protocolo ya mencionado. Cabe destacar que las muestras fueron analizadas en el mismo laboratorio y por aquellos especialistas que realizaron los análisis de las muestras de las 4 prospecciones previas de la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura, ejecutadas por POCH-U Chile, lo que resultó fundamental para la comparación de los resultados obtenidos.

Con las matrices de abundancia resultantes del recuento de las muestras, se calcularon los índices comunitarios de diversidad de Shannon-Wiever y de equitatividad de Evenness.

## 6.2 Microalgas planctónicas:

Las muestras obtenidas en terreno, fueron analizadas de acuerdo a lo establecido en el manual de la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura (Díaz *et al*, 2012).

Se analizó cualitativamente una alícuota de cada muestra, con aumento total de 400X para identificación y registro fotográfico de microalgas. La identificación de los *taxa* se realizó con microscopía óptica y utilizando literatura taxonómica detallada en el siguiente ítem. Se estimó la abundancia relativa de *D. geminata* (en %) y se confeccionó un listado de fitoplancton acompañante en cada uno de los puntos de muestreo.

### 6.2.1 Recuento directo: Cámara Sedgewick-Rafter

Si bien las muestras de río presentan una baja concentración de microalgas, las muestras obtenidas con red (volumen filtrado variable, pero llega a ser incluso superior a 1000 litros en los 10 minutos de suspensión de la red) alcanzan una elevada concentración de organismos, materia orgánica y/o sedimento, por lo que la metodología adecuada para realizar el análisis cuantitativo fue mediante la utilización de una cámara de Sedgewick-Rafter cuadrículada. El detalle de este procedimiento se encuentra detallado en Díaz *et al* 2012.

Dependiendo de la densidad de microalgas se debió optar por contar transectos o campos. En este caso se realizaron recuentos de un mínimo de 150 campos o los que fueran necesarios para que la especie más abundante alcance un número de 100 individuos, pero no superando los 300 campos.



Por último, los resultados se expresaron en concentración por unidad de volumen de muestra (células/ml), mediante una ecuación cuyo resultado se multiplicó o dividió por el factor correspondiente (dilución o concentración).

La identificación de los *taxa*, tanto en el análisis cualitativo como cuantitativo, se realizó en los laboratorios de AMAKAIK, Santiago, utilizando para ello microscopios Carl Zeiss Axiostar II Plus, con objetivos de microscopía invertida especializados para análisis de este tipo de muestras. Se usó para su clasificación el apoyo de claves y guías disponibles Ej: Bourrelly P, (1968,1970), Patrick & Reimer, 1966, trabajos de Patricio Rivera para Chile, Guillermo Tell para Argentina, Parra y Bicudo, 1996, Parra *et al.*, 1982; Rivera, 1983; Round, 1993.

Se dejó registro fotográfico para cada muestra identificada mediante cámara adosada a microscopio y archivo digital en computador. Con los datos obtenidos se calcularon los índices comunitarios de diversidad de Shannon-Wiever y de equitatividad de Evenness.

### 6.3 Análisis químicos de muestras de agua

Las muestras fueron enviadas a los **laboratorios de ANAM, en Puerto Montt**. La cercanía del laboratorio con las regiones a muestrear permitió disminuir al mínimo el tiempo en que las muestras debían estar con cadena de frío hasta ser analizadas. Las metodologías de análisis empleadas por ANAM son de acuerdo al SM= "Standard Methods for Examination of Water and Wastewater" APHA, AWWA, WEF, 21th ED., 2005, y poseen límites de detección muy inferiores a los utilizados en las prospecciones previas de Didymo. De esta manera, se pretendía poder incluir los valores de las 3 variables que estaban bajo el límite de detección (nitrito: 0,13 mg/l, fosfato orgánico e inorgánico: 0,6 mg/l). La metodología y el respectivo límite de detección de cada analito se señalan en la Tabla 2. Para detalles del análisis de fósforo ver ANEXO 14.

**Tabla 2. Listado de variables químicas a analizar en prospección de *D. geminata*.**

Componentes	Análisis	Límite de detección mg/L	Principio
Calcio Total	SM 3120 B	0,5300	Espectroscopía de Emisión Atómica
Nitrato	SM 4110 B	0,0030	Cromatografía Iónica
Nitrito	SM 4110 B	0,0300	Cromatografía Iónica
Fósforo orgánico (P Total para estimar P org)	SM 4500-P B y E	0,0004	Digestión y Colorimetría
Fosfato inorgánico	SM 4500-P E	0,0010	Colorimetría
Sílice Total	SM 3120 B	0,0600	Espectroscopía de Emisión Atómica
Hierro Total * EXTRA	SM 3120 B	0,0200	Espectroscopía de Emisión Atómica

Fuente: Laboratorio ANAM.

#### 6.4 Acreditaciones de ANAM

- Acreditación por parte del Instituto Nacional de Normalización (INN).
- Acreditación según Nch-ISO 17025 como laboratorio de ensayo en las áreas de:
  - Microbiología para aguas
  - Físico-Química para aguas
  - Físico-Química para aguas bajo convenio SISS-INN
  - Muestreo Manual y Automático para aguas residuales
  - Muestreo Manual y Automático para agua potable y aguas crudas
- Acreditaciones de la Sociedad Chilena de la Ciencia del Suelo en las áreas de:
  - Ensayos Físico-Químicos de suelos afectados por sales
  - Ensayos Físico-Químicos de suelos ácidos
  - Análisis de Bromatos en muestras líquidas de acuerdo a la Recomendación de la OMS para agua de Bebida.
- Análisis de RESPEL acreditados por el INN y autorizados por el SEREMI RM, en concordancia al Reglamento Sanitario sobre manejo de Residuos Peligrosos (D.S. 148/2003)

Adicionalmente, ANAM participa regularmente en programas de intercomparación nacionales e internacionales, permitiendo a sus clientes asegurar la competencia profesional bajo estándares reconocidos en el mundo. Ver más detalles en [http://www.anam.cl/certificaciones\\_acreditaciones.html](http://www.anam.cl/certificaciones_acreditaciones.html).

##### 6.4.1 Determinación de variables indirectas

Dentro del estudio, fue incluida la determinación de ciertas variables en gabinete que pudiera tener una influencia importante al momento de explicar la presencia o ausencia de *D. geminata*. Entre las variables indirectas se realizó una descripción del régimen hidrológico de los ríos prospectados.

Esta caracterización se llevó a cabo mediante el análisis histórico de los caudales circulantes por estos ríos, realizando un análisis estadístico de los caudales registrados en las estaciones fluviométricas administradas por la Dirección General de Aguas (DGA). En los ríos que no se contaba con estaciones fluviométrica, se obtuvo una descripción del régimen hidrológico mediante la Clasificación Eco-Hidrológica de los ríos de Chile (Peredo-Parada *et al.*, 2011). Esta clasificación realiza una clasificación y caracterización de los ríos de Chile considerando varias variables ambientales, entre las que destaca el Régimen Hidrológico. Este análisis completo se encuentra en el Anexo 4.

## 6.5 Análisis Estadístico

Se realizaron análisis estadísticos que van orientados a encontrar una relación entre la presencia/ausencia de *D. geminata* y las variables ambientales, y a registrar los avances de la distribución de la plaga a nivel nacional.

### 6.5.1 Cuantificación del impacto de *D. geminata*

Para lograr cuantificar el impacto de la invasión biológica utilizando criterios geográficos se registró la cantidad de cuencas, subcuencas y subsubcuencas las cuales han sido invadidas por la plaga. Esta información geográfica fue obtenida desde bases de datos pertenecientes a la Dirección General de Aguas (DGA).

Se utilizó esta aproximación porque al señalar un río por su nombre genérico como invadido por la plaga, no se logra visualizar claramente el avance de ésta, dado que este nombre considera en la mayoría de los casos todo el curso principal del río. En cambio al utilizar el criterio de cuenca como medida del impacto asociamos la presencia de *Didymo* a un área geográfica y a una comunidad en particular, de modo que sí es posible medir el avance de la plaga.

Por otra parte, se decidió utilizar como aproximación una simplificación de las posibles formas de propagación de la plaga, para estimar su grado de avance. De este modo, todo sitio con reciente presencia de *Didymo* ubicado aguas abajo de un sitio anteriormente colonizadas por la plaga fue catalogado como “colonizado por dispersión de la especie” (por deriva). De lo contrario, todo sitio con reciente presencia de *Didymo* y sin la plaga aguas arriba fue catalogado como “colonizado por acción del hombre u otros vectores biológicos” (aguas arriba se requiere un tercero que lo propague). Estos sitios también fueron analizados a nivel de cuencas, subcuencas y subsubcuencas, considerando unidades únicas invadidas al interior de la cuenca también como “colonizado por acción del hombre u otros vectores biológicos”, ya que unidades geográficas recientemente invadidas insertas en cuencas previamente sin registro de *Didymo* no pueden ser colonizadas de manera natural, requiriendo también el transporte de un tercero. La información de presencia/ausencia de *Didymo* en las cuencas analizadas fue obtenida desde Subsecretaría de Pesca y Acuicultura/Poch-U Chile, 2011a y Subsecretaría de Pesca y Acuicultura/Poch-U Chile, 2011c (ANEXO 7).

### 6.5.2 Descripción y análisis de sitios de muestreo

La descripción de los sitios de muestreo se hizo utilizando la información obtenida de las inspecciones visuales realizadas en terreno (sección 4.3.1), esto por medio de estadística descriptiva. Para determinar la posible asociación de los sitios positivos para *Didymo* con ciertas características físicas categorizadas, se utilizaron tablas de Chi-cuadrado. Sólo se utilizó información de puntos aguas abajo de sitios *Didymo*, intentando dilucidar las diferencias físicas de los sitios donde aún no ha colonizada la plaga. Se realizó el análisis utilizando las variables “tipo de hábitat”, “claridad de agua” y “forma del canal donde se

ubica el tramo”, ya que las otras categorías presentan sesgos propios de los objetivos y métodos del muestreo. Los sitios con más de dos categorías fueron clasificados en aquella con mayor impacto para el hábitat.

### 6.5.3 Análisis físico-químicos

Dado que, desde el laboratorio sólo es posible obtener los valores de Fosfato inorgánico y Fósforo total, se debe estimar las concentraciones de Fosfato orgánico por medio de ecuaciones que utilizan los pesos moleculares.

A partir del Fosfato inorgánico, molécula compuesta de 4 átomos de oxígeno y 1 de Fósforo, se extrae el valor de masa que correspondería al Fósforo, multiplicándolo por 0.32, obteniendo así el Fósforo inorgánico. Este valor es sustraído del valor de Fósforo total y se obtiene el Fósforo orgánico. Finalmente, al multiplicar el Fósforo orgánico por 3.12, se obtiene el Fosfato orgánico (ver ANEXO 14).

Para determinar si existe similitud química entre los sitios con o sin presencia de Didymo se realizó, en primer lugar, un Análisis de Componentes Principales (PCA) utilizando el programa CANOCO 4.5 (Ter Braak & Smilauer, 1998). Este análisis logra agrupar los diferentes sitios de muestreo en función de su condición físico-química (Rodríguez, 2009), permitiéndonos observar el nivel de similitud entre los puntos con presencia de Didymo y el resto de los sitios. Este análisis se realizó con los sitios de análisis químico de laboratorio y con todos los sitios, pero sólo con variables medidas *in-situ*. En el primer caso se utilizó: Fosfato orgánico, Fosfato inorgánico, NO<sub>3</sub>, NO<sub>2</sub>, Ca, Fe, SiO<sub>2</sub>, OD, pH, temperatura y Conductividad Eléctrica (CE). En el segundo caso, sólo se utilizó OD, pH, temperatura, CE, velocidad de corriente media y de fondo. Las variables que explicaban menos del 0.0001% de la variabilidad total fueron excluidas, maximizando el desempeño del análisis.

Con el objetivo de determinar si existen diferencias significativas entre los sitios con o sin presencia de Didymo para cada uno de los parámetros físico-químicos, se realizaron análisis individuales. Se utilizaron pruebas de ANOVA de una vía con permutaciones (Anderson & Legendre, 1999) para realizar estas comparaciones, esto debido a la baja cantidad de datos que determina el uso de análisis no paramétricos. Se utilizaron 999 permutaciones. Para el caso de los parámetros *in-situ*, se utilizaron todos los sitios muestreados. Para los parámetros que no presentaron resultados significativos se replicó el análisis sólo con los sitios aguas abajo de la presencia de Didymo, buscando observar un cambio en la composición físico-química luego de su presencia en el tramo.

La ventaja que otorgan los análisis de permutaciones es comprobar si los resultados obtenidos son producto del azar considerando su distribución no paramétrica. Lo que el análisis realiza es una gran cantidad de combinaciones aleatorias de los datos, generando una curva de distribución de resultados el cual es comparado con el resultado original. Si la probabilidad de ocurrencia de dicho resultado es menor al 0,05, se asume que no es determinado por el azar.

#### 6.5.4 Análisis de microalgas planctónicas

Debido al tipo de muestreo que implica la captura de microalgas planctónicas, la información más valiosa que nos entrega es con respecto a la composición de la comunidad de la cuenca. Frente a esto nuestros análisis se focalizan en la comparación de las comunidades de fitoplancton a nivel de cuenca y a su comparación de cuencas en presencia y ausencia de *Didymo*. Esta comparación también se realizó a nivel histórico con datos de fitoplancton obtenido en anteriores prospecciones (datos presentes en ANEXO 5). Finalmente se realizó un análisis DCA (Análisis Canónico Destendenciado) buscando asociación de especies según su presencia y abundancia.

#### 6.5.5 Análisis de microalgas bentónicas

Como primera aproximación, se realizaron comparaciones por medio de ANOVAs con permutaciones de los índices comunitarios para los sitios en ausencia y presencia de *Didymo*. Se realizó un PCA (Análisis de Componentes Principales) buscando asociación de las especies de diatomeas en su abundancia y su relación con *Didymo*.

Para analizar en profundidad la composición de la comunidad de las poblaciones de especies de diatomeas bentónicas se realizaron gráficos de ranking de especies según su abundancia (Jaksic & Marone, 2007). Esto consiste en el ordenamiento de las especies en función de su porcentaje de abundancia relativa, de mayor a menor, graficando el porcentaje de abundancia en función a su lugar en el ranking. Se han descrito tipos de distribuciones para estos gráficos en función de las características de la comunidad. Cuando una sola especie domina la comunidad, los datos se ajustan a una “Distribución Geométrica” (Whittaker, 1965), mientras que las comunidades con altos niveles de competencias y abundancias equilibradas, la distribución se ajusta a una “Distribución de Rama Quebrada” (MacArthur, 1957). Finalmente, las comunidades con gran cantidad de especies y niveles intermedio de competencia, presentan una “Distribución Log-normal” (Preston, 1948). Estas comparaciones de distribución se realizaron manera nivel cualitativo, graficando las distribuciones hipotéticas junto con los resultados del análisis de la comunidad bentónica de este estudio.

El resultado esperado para una comunidad con una especie invasora formando parte de ella de manera dominante, como es el caso de *Didymo* en algunos puntos en que hay un desarrollo de cobertura mucosa importante observado en la inspección visual, es que su distribución se ajuste a la “distribución Geométrica”, mientras que comunidades con una invasión reciente deberían presentar distribuciones de “Rama quebrada” o “Log-normal”.

#### 6.5.6 Análisis componente biológico y físico-químico

Para reunir en un análisis tanto el componente biológico como el componente físico-químico se realizó un CCA (Análisis de Componentes Canónicos). Se utilizó la herramienta *Forward Selection* para optimizar la explicación del análisis extrayendo los parámetros físico-químicos que expliquen bajo porcentaje de variación. Se utilizaron tanto los parámetros tomados *in-situ* como los obtenidos en laboratorio.

### 6.5.7 Análisis para comparaciones históricas de métodos y sitios prospectados

Se registró el avance de la invasión comparando la cantidad de cuencas, subcuencas y subsubcuencas invadidas hasta el 2011 registradas por proyectos de la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura (Subsecretaría de Pesca y Acuicultura /Poch-U Chile, 2011a; Subsecretaría de Pesca y Acuicultura /Poch-U Chile, 2011c), con los resultados actuales.

Para determinar la validez de los datos obtenidos se realizó una revisión bibliográfica por parámetro físico-químico muestreado, resultados de microalgas planctónicas y bentónicas, obteniendo valores históricos para las regiones prospectadas y para otras cuencas en condiciones de explotación contrastantes. Por otro lado, los métodos y resultados se compararon con anteriores muestreos Didymo realizados en la misma zona (registros históricos de prospecciones previas en ANEXOS 5, 7 y 9).

## **7 ACTIVIDADES DE DIFUSIÓN, TRANSFERENCIA DE INFORMACIÓN Y CAPACITACIÓN.**

Aunque no fue señalado en las bases, se propuso realizar un seminario en la IX Región de Araucanía y un segundo en la XIV Región de Los Ríos. El objetivo de estos seminarios fue difundir los resultados del proyecto, analizar y discutir la situación actual de Didymo en Chile con énfasis en cada una de las regiones estudiadas.

Los seminarios estuvieron dirigidos a un público amplio, convocando a todos los sectores en torno a los sistemas acuáticos de cada región, tanto públicos como privados, servicios públicos con competencia, autoridades, estudiantes, usuarios del sector turismo y pesca recreativa, entre otros. Los resultados de las actividades de difusión y seminarios se detallan en el ANEXO 13.

## **8 RESULTADOS Y ANÁLISIS**

Según lo comprometido por este proyecto, se muestrearon 86 sitios, 43 de ellos fueron muestreos Tipo 1 y los otros 43 fueron muestreos de Tipo 2 (revisar ítem 4.2). 4 sitios fueron prospectados en la cuenca Bío-Bío, 3 sitios fueron prospectados en la cuenca del Río Imperial, 20 sitios prospectados en cuenca Río Toltén, 36 sitios prospectados en la cuenca del Río Valdivia y 24 sitios prospectados en la cuenca del Río Bueno (Ver Tabla 3 y Figura 5). Con respecto a la subcuenca Alto Bío-Bío, 11 sitios extra fueron muestreados (sumados a los 4 de la parte alta de la cuenca), 7 con muestreos de Tipo 2, 2 con muestreo Tipo 1 y 2 muestreos sólo bentónicos para análisis de células viables en busca de Didymo con el objetivo de acotar el área de plaga (Ver tabla 3 y Figura 5).

De los sitios sugeridos en la propuesta técnica (Métodos, Tabla 1), se realizaron 9 cambios de río y sitios, 8 muestreos basales y 1 muestreo completo. Más detalle en reportes de terreno expuestos en el ANEXO 2.

Tabla 3. Resumen sitios prospectados por Amakaik-Ecohyd en las regiones de La Araucanía y Los Ríos.

Cuenca	Tipo de muestreo	Código	Huso	Coordenada UTM		Altitud	Presencia de Didymo		
				Este	Norte		Inspección visual	Bentos	Plancton
Río Biobío	2	PUNTO1-BIOBIO-SERNAPESCA	19	312358	5710699	1075 m	NO	NO	NO
	2	PUNTO6-BIOBIO-SERNAPESCA	19	312939	5725249	856 m	NO	NO	NO
	-	PUNTO EXTRA SOLO BENTOS2	19	313721	5726809	892 m	NO	NO	-
	-	PUNTO EXTRA SOLO BENTOS1	19	312775	5727825	984 m	NO	NO	-
	1	PUNTO EXTRA-TALLON/BIOBIO	19	307871	5736015	890 m	SÍ	SÍ	-
	2	PUNTO EXTRA-LOLEN/BIOBIO	19	304804	5739115	728 m	SÍ	SÍ	SÍ
	2	PUNTO3-LONQUIMAY-SERNAPESCA	19	302649	5742708	961 m	NO	NO	NO
	2	PUNTO2B-BALSARAHUE-SERNAPESCA	19	303930	5746375	822 m	SÍ	SÍ	SÍ
	1	PUNTO2-CARACOLES-SENAPESCA	19	299622	5753714	918 m	SÍ	SÍ	-
	2	PUNTO4-RANQUIL-SERNAPESCA	19	304712	5764176	981 m	NO	NO	NO*
	2	PUNTO5-BIOBIO-SERNAPESCA	19	298630	5768744	970 m	SÍ	SÍ	SÍ
	1	AMK-BIOBIO1	19	307338	5713364	1125 m	NO	NO	-
	2	AMK-BIOBIO2	19	318362	5718433	1024 m	NO	NO	NO
	1	AMK-LIUCURA1	19	322831	5718400	1091 m	NO	NO	-
2	AMK-LIUCURAN2	19	318830	5720176	1032 m	NO	NO	NO	
Río Imperial	1	AMK-CAUTIN1	19	246052	5737418	487 m	NO	NO	-
	1	AMK-CAUTIN1*	19	162825	5701530	29 m	NO	NO	-
	2	AMK-CAUTIN2	19	220502	5740183	312 m	NO	NO	NO
Río Toltén	2	AMK-CABURGUA2	19	254611	5652100	277 m	NO	NO	NO
	2	AMK-LIUCURA2	19	250763	5649870	260 m	NO	NO	SÍ
	1	AMK-LIUCURAS1	19	263447	5655523	361 m	NO	NO	-
	1	AMK-MAICHIN1	19	289258	5646634	519 m	NO	NO	-
	2	AMK-MAICHIN2	19	279765	5643881	395 m	NO	NO	NO
	1	AMK-PANQUI1	19	281987	5651219	847 m	NO	NO	-
	2	AMK-PANQUI2	19	272913	5641533	376 m	NO	NO	NO
	1	AMK-PUCON1	19	276033	5641316	383 m	NO	NO	-
	2	AMK-PUCON2	19	249494	5648692	250 m	NO	SÍ	SÍ
	1	AMK-TRANCURA1	19	281371	5623111	596 m	NO	NO	-
	2	AMK-TRANCURA2	19	280532	5632528	393 m	NO	NO	NO
	1	AMK-ALLIPEN1	19	220247	5677195	202 m	NO	NO	-
	2	AMK-ALLIPEN2	19	196107	5675713	104 m	NO	NO	NO
	1	AMK-CURACO1	19	232447	5673198	311 m	NO	NO	-
	2	AMK-CURACO2	19	221772	5673908	219 m	NO	NO	NO
	1	AMK-PEDRGSO1	19	224116	5659109	291 m	NO	NO	-
	2	AMK-PEDRGSO2	19	212867	5659437	172 m	NO	NO	NO
	1	AMK-TOLTEN1	19	201815	5668328	128 m	NO	NO	-
	2	AMK-TOLTEN2	19	158046	5674446	28 m	NO	NO	NO
	Río Valdivia	1	AMK-BCO ENCO1	19	230852	5577642	134 m	NO	NO
2		AMK-BCO ENCO2	19	229995	5577521	125 m	NO	NO	NO
1		AMK-CRUCES1	19	172296	5622152	52 m	NO	NO	NO
2		AMK-CRUCES2	19	164563	5615101	19 m	NO	NO	NO
2		AMK-CUACUA2	19	251099	5600880	210 m	NO	NO	NO
1		AMK-ENCO1	19	232042	5583084	128 m	SÍ	SÍ	-
2		AMK-ENCO2	19	229890	5577589	114 m	SÍ	SÍ	SÍ
1		AMK-FUTA1	19	142087	5569327	5 m	NO	NO	NO
1		AMK-FUY1	19	250038	5584509	508 m	NO	SÍ	-
1		AMK-FUY1*	19	248389	5584579	512 m	SÍ	SÍ	-
2		AMK-FUY2	19	243533	5587436	209 m	SÍ	SÍ	SÍ
1		AMK-HUAHUM1	19	269118	5559329	614 m	NO	NO	-
2		AMK-HUAHUM2	19	268410	5564979	616 m	NO	NO	NO
2	AMK-HUENEHUE2	19	222583	5610127	129 m	NO	NO	NO	

	1	AMK-HUICHAL1	19	230389	5576410	124 m	NO	NO	-
	1	AMK-LINOICO1	19	243526	5612228	218 m	NO	NO	-
	1	AMK-LIQUINE1	19	258684	5595319	307 m	NO	NO	-
	2	AMK-LIQUINE2	19	255770	5597447	228 m	NO	NO	NO
	1	AMK-LLANCAH1	19	245473	5614865	249 m	NO	NO	-
	2	AMK-LLANCAH2	19	243198	5612631	220 m	NO	NO	NO
	1	AMK-LLANQHUE1	19	239636	5587013	179 m	SÍ	SÍ	-
	2	AMK-LLANQHUE2	19	235835	5587370	137 m	SÍ	SÍ	SÍ
	1	AMK-MANIO1	19	208547	5598339	287 m	NO	NO	-
	2	AMK-MANIO2	19	205201	5597817	257 m	NO	NO	NO
	1	AMK-NELTUME1	19	242962	5588479	199 m	NO	NO	-
	2	AMK-NELTUME2	19	242490	5588053	205 m	NO	NO	NO
	1	AMK-QUINCHIL1	19	194287	5576794	101 m	NO	NO	-
	2	AMK-QUINCHIL2	19	187000	5575303	61 m	NO	NO	NO
	1	AMK-REMEHUE1	19	199571	5568933	160 m	NO	NO	-
	2	AMK-REMEHUE2	19	196073	5573752	118 m	NO	NO	NO
	2	AMK-REYEHUEI2	19	252629	5601964	219 m	NO	NO	NO
	1	AMK-SANPEDRO1	19	203968	5591462	110 m	NO	NO	-
	2	AMK-SANPEDRO2	19	181593	5587972	34 m	SÍ	SÍ	SÍ
	1	AMK-ZAHUIL1	19	227378	5609729	208 m	NO	NO	-
	2	AMK-ZAHUIL2	19	223388	5611452	138 m	NO	NO	NO
Río Bueno	1	AMK-BCOCUMI1	19	234462	5544750	114 m	NO	NO	-
	1	AMK-BCOMAIHU1	19	243975	5546606	170 m	NO	NO	-
	2	AMK-BCOMAIHU2	19	242001	5540513	102 m	NO	NO	NO
	1	AMK-BUENO1	19	192941	5537462	49 m	NO	NO	-
	2	AMK-BUENO2	19	169519	5529165	13 m	NO	NO	NO
	2	AMK-CALCRRPE2	19	222397	5542209	70 m	NO	NO	NO
	1	AMK-CALCURRPE1	19	230129	5542998	81 m	NO	NO	-
	1	AMK-CAUNAHUE1	19	227023	5553940	154 m	NO	NO	-
	2	AMK-CAUNAHUE2	19	222564	5547587	67 m	NO	NO	NO
	2	AMK-CHIHUIO2	19	250049	5546818	295 m	NO	NO	NO
	1	AMK-COIQUE1	19	204222	5550216	69 m	NO	NO	-
	2	AMK-CUMILAHU2	19	232537	5543347	101 m	NO	NO	NO
	1	AMK-CUMILAHUE1	19	235553	5544952	124 m	NO	NO	-
	2	AMK-CURRINE2	19	244521	5544205	146 m	NO	NO	NO
	1	AMK-FLORIN1	19	233190	5556465	362 m	NO	NO	-
	2	AMK-FLORIN2	19	227621	5554005	154 m	NO	NO	NO
	1	AMK-HUEINAHU1	19	251759	5532976	172 m	NO	NO	-
	2	AMK-HUEINAHU2	19	246187	5533373	95 m	NO	NO	NO
	1	AMK-IGNAO1	19	187353	5536100	53 m	NO	NO	-
	2	AMK-NILAHUE2	19	228627	5536674	90 m	NO	NO	NO
	1	AMK-NILHUE1	19	231006	5533777	128 m	NO	NO	-
	1	AMK-RININAHU1	19	227008	5530392	115 m	NO	NO	-
	2	AMK-RININAHU2	19	224840	5530295	64 m	NO	NO	NO
	2	AMK-RUPMEICA2	19	251751	5532932	176 m	NO	NO	NO
	2	AMK-SICHAHUE2	19	228797	5545062	106 m	NO	NO	NO

Muestrs tipo 1 son basales, muestrs tipo 2 son completos (revisar ítem 4.2).



Figura 5. Mapas por cuenca para sitios prospectados. Se señalan además sitios de prospecciones anteriores y la presencia de Didymo.

Figura 5 1. Cuenca Bío-Bío

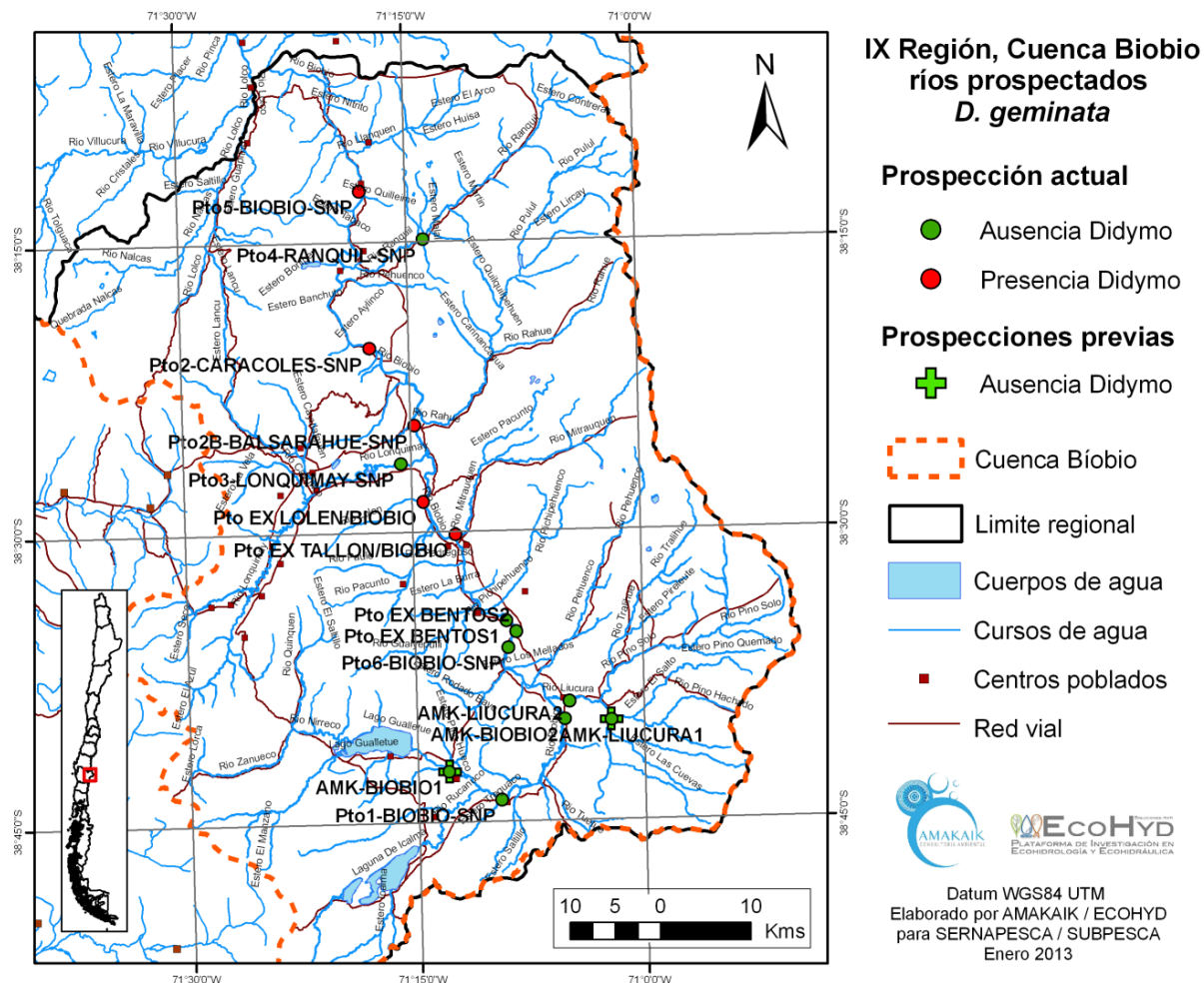
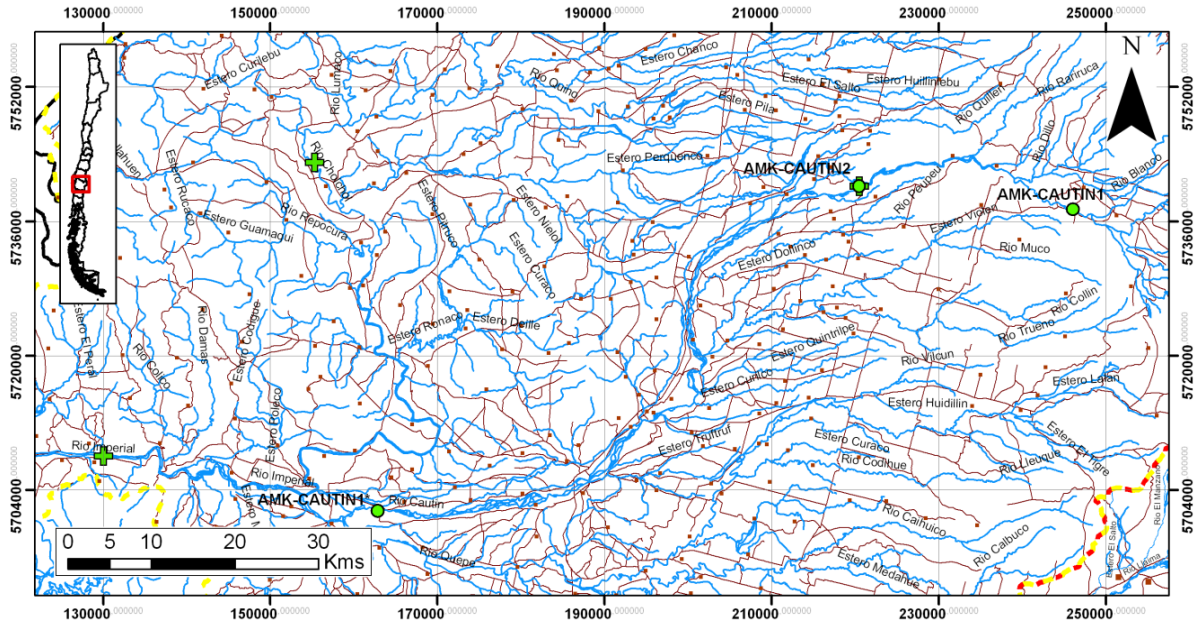


Figura 5 2. Cuenca Imperial



**IX región, cuenca Imperial**  
**Prospección *D. geminata***



Datum WGS84 UTM  
 Elaborado por AMAKAIK / EcoHYD  
 para SUBPESCA  
 Enero 2013

**Prospección actual**

● Ausencia Didymo

● Presencia Didymo

**Prospecciones previas**

✚ Ausencia Didymo

✚ Presencia Didymo

▭ Cuenca Imperial

▭ Cuenca Toltén

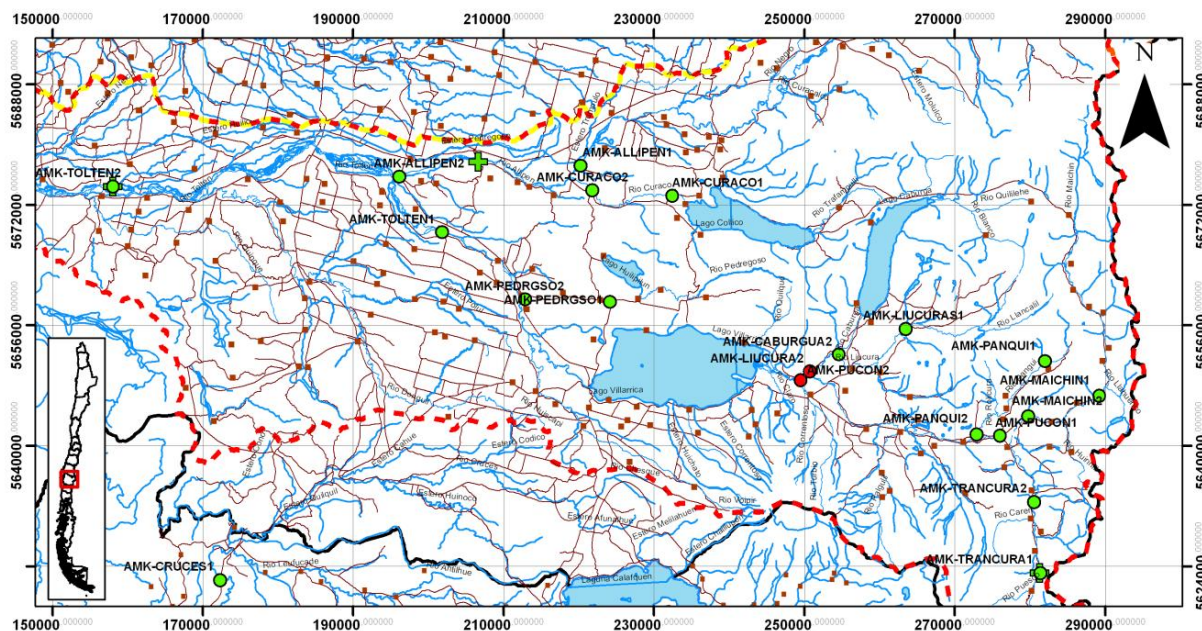
■ Cuerpos de agua

— Cursos de agua

■ Centros poblados

— Red vial

Figura 5 3. Cuenca Toltén



**IX región, cuenca Toltén**  
**Prospección *D. geminata***



Datum WGS84 UTM  
Elaborado por AMAKAIK / EcoHYD  
para SUBPESCA  
Enero 2013

**Prospección actual**

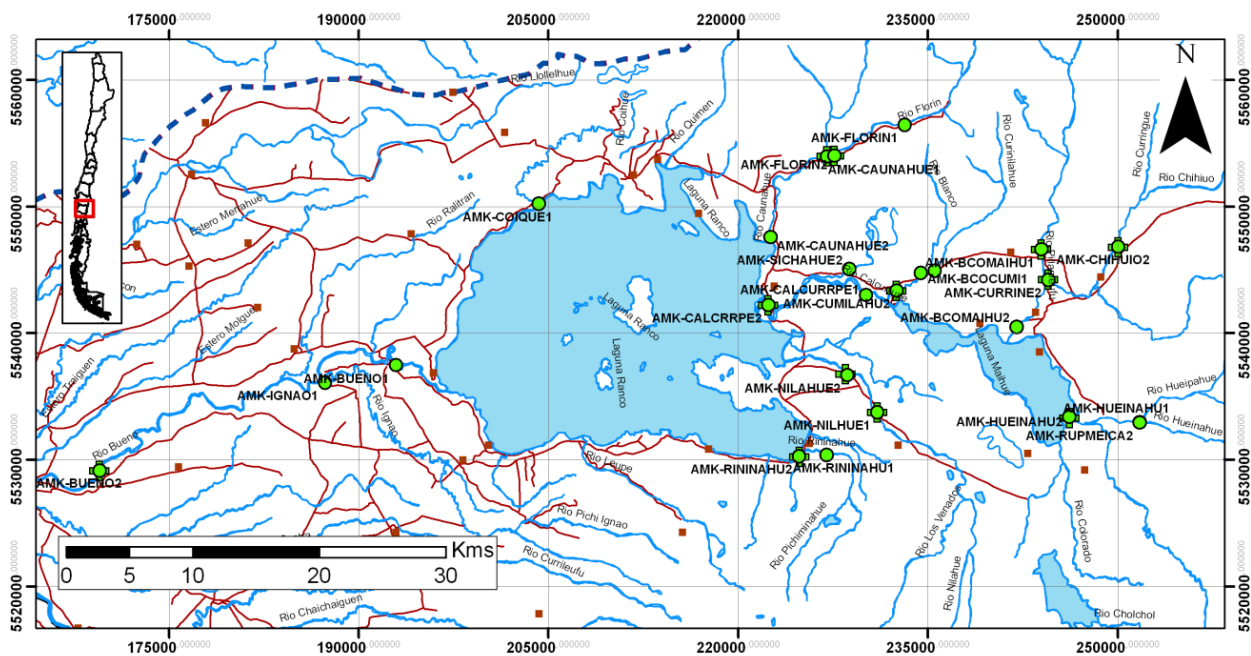
- Ausencia Didymo
- Presencia Didymo

**Prospecciones previas**

- ✚ Ausencia Didymo
- ✚ Presencia Didymo

- ▭ Cuenca Imperial
- ▭ Cuenca Toltén
- Cuerpos de agua
- Cursos de agua
- Centros poblados
- Red vial

Figura 5 4. Cuenca Bueno



**XIV región, cuenca Bueno**  
**Prospección *D. geminata***



Datum WGS84 UTM  
Elaborado por AMAKAIK / EcoHYD  
para SUBPESCA  
Enero 2013

**Prospección actual**

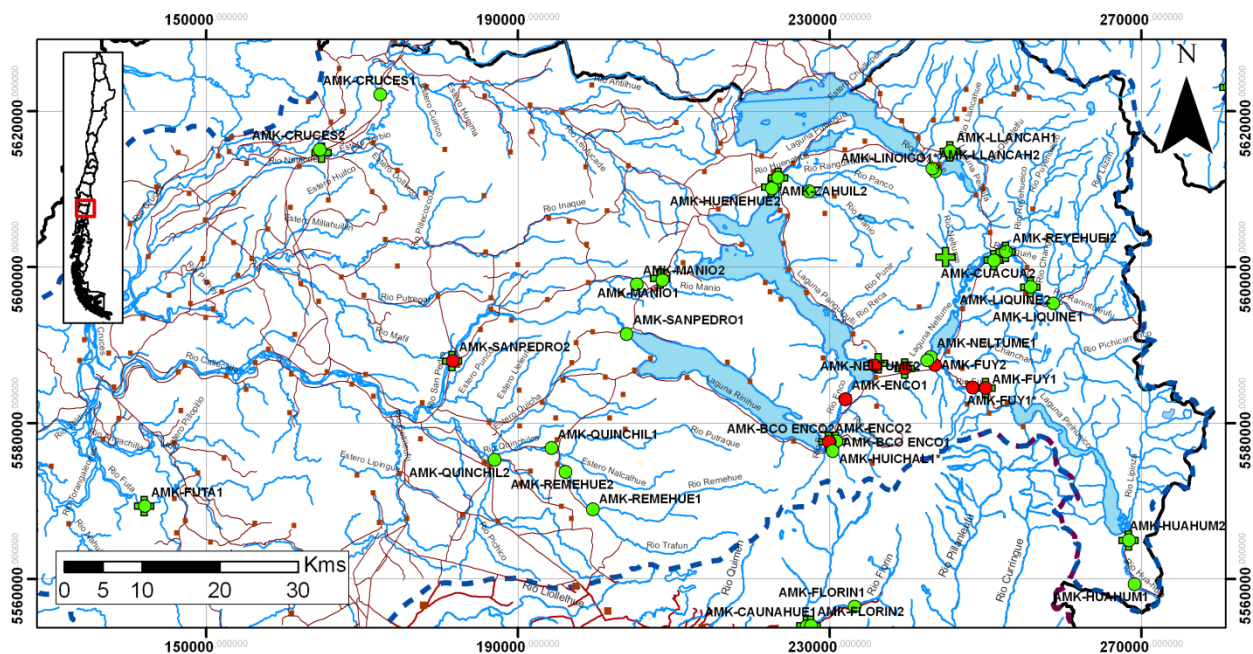
- Ausencia Didymo
- Presencia Didymo

**Prospecciones previas**

- + Ausencia Didymo
- + Presencia Didymo

- Cuenca Valdivia
- Cuenca Bueno
- Cuerpos de agua
- Cursos de agua
- Centros poblados
- Red vial

Figura 5 5. Cuenca Valdivia



**XIV región, cuenca Valdivia**  
**Prospección *D. geminata***



Datum WGS84 UTM  
 Elaborado por AMAKAIK / EcoHYD  
 para SUBPESCA  
 Enero 2013

**Prospección actual**

- Ausencia Didymo
- Presencia Didymo

**Prospecciones previas**

- + Ausencia Didymo
- + Presencia Didymo

- Cuenca Valdivia
- Cuenca Bueno
- Cuerpos de agua
- Cursos de agua
- Centros poblados
- Red vial

## 8.1 Presencia de Didymo

De los 97 sitios prospectados en total, se registró presencia de Didymo en bentos en 14 de ellos sin registro anterior de la plaga. Esto fue en los ríos Bío-Bío (5 sitios), Pucón (1 sitio), Enco (2 sitios), Fuy (3 sitios), San Pedro (1 sitio) y Llanquihue (2 sitios). En total se registraron 6 ríos con Didymo (+ Liucura Sur en Plancton), 3 cuencas, 4 subcuencas y 9 subsubcuencas (ver Tabla 4).

Tabla 4. Resumen sitios Didymo prospección Amakaik-Ecohyd 2012

Sitios en presencia de Didymo			
Cuenca	Subcuenca	Subsubcuenca	código sitio
Río Bío-Bío	Río Bío-Bío Alto (hasta después junta Río Lamin)	Río Bío-Bío entre arriba junta Río Ranquil y Río Lamin	PUNTO5-BIOBIO-SERNAPECA
		Río Bío-Bío entre Río Lonquimay y Río Ranquil	PUNTO2B-BALSARAHUE-SERNAPECA
		Río Bío-Bío entre Río Pichipehuenco y Río Lonquimay	PUNTO2-CARACOLES-SENAPESCA
			PUNTO EXTRA-LOLEN/BIOBIO
Río Toltén	Río Pucón	Río Pucón entre Río Curileufu y desembocadura Lago Villarrica	PUNTO EXTRA-TALLON/BIOBIO
			AMK-PUCON2
Río Valdivia	R. San Pedro (entre desagüe L. Panguipulli y bajo R. Quinchilca)	Río Enco	AMK-ENCO1
			AMK-ENCO2
	Río Valdivia Alto (hasta desagüe Lago Panguipulli)	Río San Pedro entre Río Mañío y Río Quinchilca	AMK-SANPEDRO2
			Lago Panguipulli
		Río Fuy entre desagüe Lago Pirehueico y Río Neltume	AMK-FUY1
			AMK-FUY1*
			AMK-FUY2
		Río Llanquihue entre junta Ríos Fuy y Neltume y desembocadura en Lago Panguipulli	AMK-LLANQHUE1

Al comparar los resultados con registros anteriores se observa que la estimación del porcentaje de propagación para los sitios recientes (ver propuesta de estimación en métodos) es en un 100% “colonizado por acción del hombre u otros vectores biológicos”, ya que es imposible que estas cuencas fueran invadidas por Didymo de manera natural (por deriva). Esto porque si bien se trata de cuencas binacionales, no hay registro de *D. geminata* en la parte alta de las cuencas en territorio chileno y tampoco en ha sido registrada la especie en la parte perteneciente al territorio argentino.

## 8.2 Inspección visual

Debido a los métodos de muestreo y a la época del año del estudio, ciertas características de los sitios presentan un sesgo esperable, como el porcentaje de sombre del tramo (78% de sitios despejados), el tipo de sustrato (69% de sitios con alto porcentaje de bolones) y las condiciones meteorológicas al muestrear (85% en condiciones despejadas). Por otro lado, los sitios presentaron un gran porcentaje de aguas transparentes (75%) y hábitat rápidos (92%). La forma del canal donde se ubica el tramo se caracterizó por presentar en su mayoría una forma sinuosa (47%) o una forma recta (26%) (Ver Tabla 5).

Con respecto a la asociación de ciertos factores físicos y Didymo, los test de Chi-cuadrado arrojan resultados significativos para la ausencia de la plaga en sitios “rápidos someros”. En tanto, ninguna forma del canal o claridad del agua presentó asociación con Didymo (ver Tabla 5).

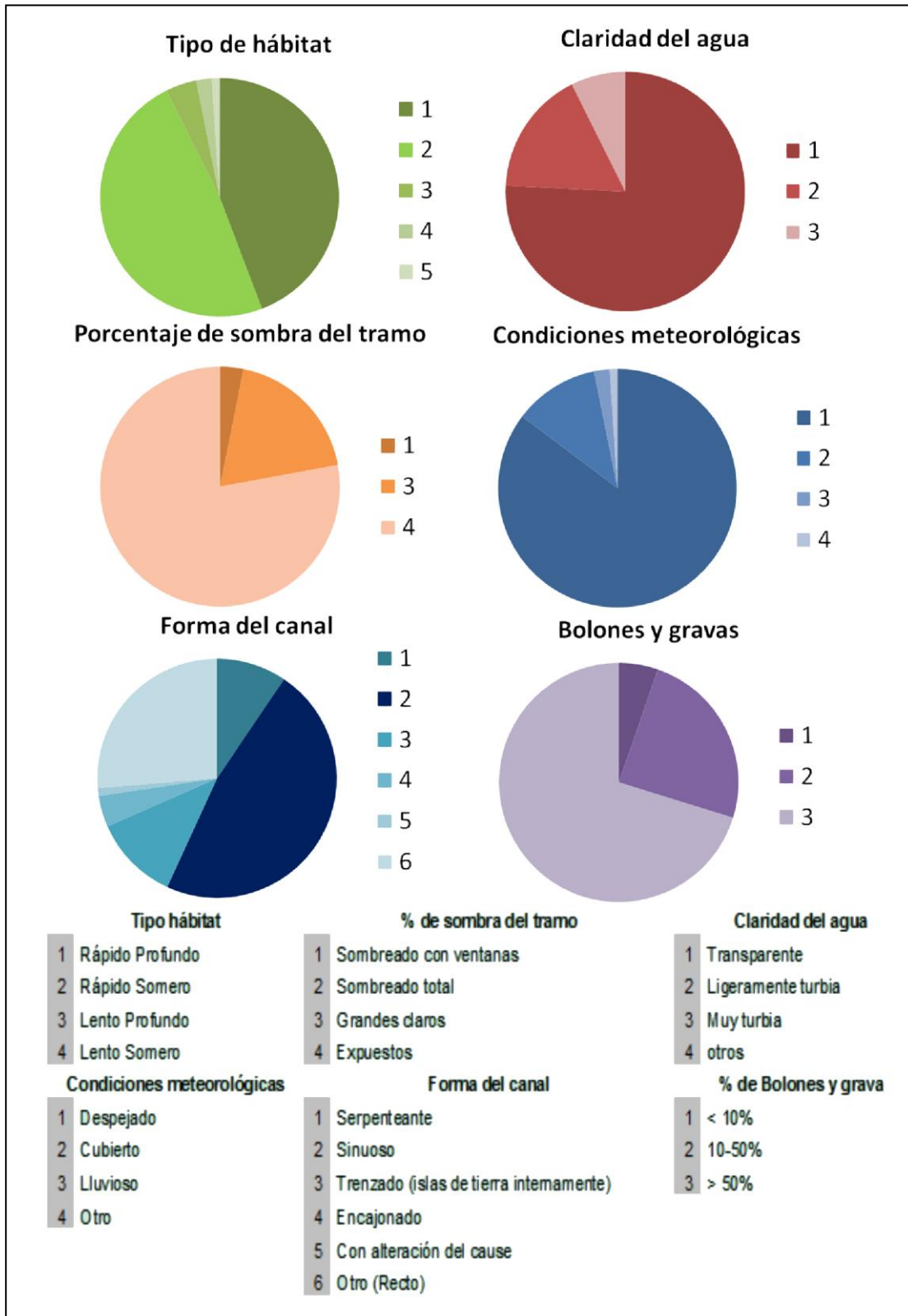
**Tabla 5. Tablas de contingencia y resultados de test de chi-cuadrado para categorías de clasificación físicas descritas en terreno y su asociación con Didymo.**

<b>Frecuencia de sitios asociados a presencia (P) o ausencia (A) de Didymo</b>			
<b>Tipo de hábitad</b>			
	<b>A</b>	<b>P</b>	X-squared = 15.019, df = 4, p-value = <b>0.005</b>
Rápido Profundo	30	12	
Rápido Somero	45	1	
Lento Profundo	4	0	
Lento Somero	1	1	
pozo	1	0	
<b>Claridad del agua</b>			
	<b>A</b>	<b>P</b>	X-squared = 1.5581, df = 2, p-value = 0.4589
Transparente	63	9	
Ligeramente turbia	13	3	
Muy turbia	5	2	
<b>Forma del canal donde se ubica el tramo</b>			
	<b>A</b>	<b>P</b>	X-squared = 1.6839, df = 5, p-value = 0.891
Serpenteante	8	1	
Sinuoso	39	6	
Trenzado (islas de tierra internamente)	9	2	
Encajonado	4	0	
Con alteración del cause	1	0	
Otro (Recto)	20	5	

Respecto de los resultados de los parámetros *in-situ*, sólo la variable de velocidad de corriente cuenta con valores bajo el límite de detección del instrumento (0.1 m/s). Esto se debe a la baja corriente presente en el litoral de algunos tramos muestreados (ver Tabla 6).

De las variables medidas en laboratorio, Nitrato y Nitrito presentan sobre un 90% de mediciones bajo el límite de detección en ambos proyectos (ver Tabla 7; ver detalle de límites de detección en Tabla 17).

Figura 6. Porcentajes por clasificación de categoría visual determinada en terreno para todos los sitios de muestreo.





### 8.3 Componente Físico-químico

Tabla 6. Resultados físico-químicos parámetros medidos *in-situ* proyecto actual

Mediciones <i>in-situ</i> actual proyecto								
Cuenca	Código estación	T° del agua (°C)	Oxígeno (%)	OD (mg/l)	pH	CE (uS/cm)	Vel. media (m/s)	Vel. Fondo (m/s)
Río Biobío	PUNTO1-BIOBIO-SERNAPESCA	14.75	105.5	9.27	7.77	42	1.65	0.65
	AMK-BIOBIO1	13.3	110.40	9.99	6.38	38.50	0.81	0.23
	AMK-LIUCURA1	11.9	106.15	9.87	7.91	47.50	1.56	0.60
	AMK-BIOBIO2	15.05	110.15	9.60	7.95	39.50	1.76	0.64
	AMK-LIUCURAN2	10.15	103.60	10.19	7.83	38.50	1.55	0.74
	PUNTO6-BIOBIO-SERNAPESCA	12.9	110.05	10.27	7.92	40.50	1.35	0.86
	PUNTO EXTRA-TALLON/BIOBIO	14.7	104.50	9.36	8.33	43.00	0.89	0.64
	PUNTO EXTRA-LOLEN/BIOBIO	14.6	122.10	10.27	8.16	48.00	1.70	0.99
	PUNTO3-LONQUIMAY-SERNAPESCA	12.2	113.70	11.06	7.67	49.00	1.34	1.31
	PUNTO2B-BALSARAHUE-SERNAPESCA	13.6	106.10	9.79	8.08	47.00	0.70	<0.10
	PUNTO2-CARACOLE-SERNAPESCA	14.1	103.70	9.74	8.32	27.00	<0.10	<0.10
	PUNTO4-RANQUIL-SERNAPESCA	9.75	125.85	12.41	7.92	65.50	3.27	1.01
PUNTO5-BIOBIO-SERNAPESCA	15.2	104.55	9.50	8.23	48.00	2.74	1.37	
Río Imperial	AMK-CAUTIN2	15.90	115.65	11.03	8.39	57.00	0.99	0.68
	AMK-CAUTIN1*	19.20	117.05	10.50	8.77	61.50	1.79	0.74
	AMK-CAUTIN1	11.50	114.30	11.59	8.26	60.00	1.16	0.85
Río Toltén	AMK-TOLTEN1	16.80	106.60	10.67	8.49	45.00	1.25	1.29
	AMK-ALLIPEN2	16.35	113.70	10.77	8.27	56.50	1.25	0.93
	AMK-TOLTEN2	16.35	103.80	10.09	7.93	48.00	2.16	0.89
	AMK-PEDRGSO2	16.00	107.20	10.46	7.61	35.50	2.50	0.98
	AMK-PEDRGSO1	14.45	103.15	10.18	7.83	23.00	1.57	0.86
	AMK-CURACO2	18.90	108.05	9.76	7.75	22.00	1.76	0.91
	AMK-ALLIPEN1	15.90	109.50	10.79	8.34	70.00	0.56	0.81
	AMK-CURACO1	17.35	112.85	10.41	7.91	17.50	1.55	1.28
	AMK-MAICHIN2	16.70	109.00	10.06	8.14	43.00	2.04	1.75
	AMK-TRANCURA1	13.40	117.45	11.35	8.25	51.50	1.91	1.16
	AMK-PUCON1	17.25	111.15	10.32	7.94	44.50	1.35	0.78
	AMK-MAICHIN1	18.70	110.60	10.37	7.96	41.00	2.42	1.16
	AMK-TRANCURA2	18.50	110.40	10.04	8.04	44.00	2.86	1.82
	AMK-PANQUI2	15.95	101.40	9.54	7.92	41.00	1.60	0.95
	AMK-PANQUI1	15.50	105.20	9.34	7.98	53.00	1.54	0.33
	AMK-CABURGUA2	10.45	113.80	12.21	7.97	37.00	1.22	0.62
	AMK-LIUCURA2	13.15	122.15	12.49	8.18	47.00	1.79	1.55
	AMK-LIUCURAS1	19.15	108.75	9.55	8.16	49.50	1.43	0.89
AMK-PUCON2	12.80	105.80	10.77	8.15	46.00	2.30	0.51	
Río Valdivia	AMK-LIQUINE2	16.50	119.75	11.20	8.05	43.00	2.00	1.89
	AMK-LIQUINE1	14.65	111.05	10.78	8.32	43.00	1.94	0.94
	AMK-LLANCAH2	17.00	109.09	10.13	8.30	62.00	2.15	1.35
	AMK-REYEHUEI2	19.60	110.50	10.49	8.14	37.00	1.73	1.58
	AMK-LLANCAH1	17.25	106.90	9.92	8.19	64.00	1.35	0.45
	AMK-LINOICO1*	22.70	113.75	9.30	7.95	27.00	2.65	1.48
	AMK-CUACUA2	14.40	110.50	10.76	8.18	45.00	0.57	0.54
	AMK-ZAHUIL1	17.75	118.05	11.05	7.86	15.50	1.01	0.77
	AMK-ZAHUIL2	23.55	102.90	9.04	8.13	24.00	1.96	1.09
	AMK-HUENEHUE2	21.80	137.00	12.05	8.13	52.50	2.07	1.61
	AMK-NELTUME2	22.15	143.50	12.26	8.00	39.50	0.66	0.58
	AMK-LLANQHUE2	19.55	102.40	9.24	8.62	42.50	1.12	0.81
	AMK-FUY1	19.15	131.85	11.25	8.19	40.50	0.70	0.57
AMK-LLANQHUE1	18.80	135.20	11.50	8.22	31.50	0.84	0.60	

	AMK-NELTUME1	24.75	124.50	9.70	7.95	37.00	2.30	0.98
	AMK-HUAHUM2	19.40	136.30	11.45	8.15	41.00	3.75	1.30
	AMK-HUAHUM1	19.60	103.50	9.60	8.16	47.50	1.94	1.00
	AMK-BCO ENCO2	14.05	102.60	10.20	8.22	44.50	2.55	1.33
	AMK-ENCO2	17.55	104.55	9.83	8.37	41.00	0.69	0.14
	AMK-BCO ENCO1	14.30	103.60	10.45	8.30	45.00	2.46	1.15
	AMK-ENCO1	17.65	103.15	9.70	8.23	37.50	1.21	0.78
	AMK-HUICHAL1*	16.75	101.65	9.74	8.51	71.00	1.70	1.52
	AMK-FUY2	16.40	105.20	10.48	8.45	42.00	1.64	1.18
	AMK-FUY1*	20.20	110.05	9.41	8.32	39.00	1.84	1.54
	AMK-MANIO2	15.80	106.25	10.24	7.92	18.00	1.71	0.74
	AMK-MANIO1	13.60	98.20	9.78	7.96	19.00	1.06	0.96
	AMK-SANPEDRO2	20.50	114.50	10.31	8.47	42.00	0.82	0.58
	AMK-REMEHUE2	21.10	114.80	65.96	8.37	32.50	1.16	0.67
	AMK-SANPEDRO1	19.40	104.55	9.54	8.34	41.50	1.14	0.95
	AMK-REMEHUE1	19.60	108.40	9.83	8.03	34.00	2.00	2.08
	AMK-QUINCHIL1	19.85	110.80	9.95	8.16	28.50	1.68	1.12
	AMK-CRUCES2	22.65	117.25	10.12	8.13	110.50	0.59	0.73
	AMK-CRUCES1	20.15	110.10	9.94	7.95	39.00	2.17	0.82
	AMK-QUINCHIL2	18.75	114.25	10.56	7.72	28.00	3.18	1.47
	AMK-FUTA1	19.85	93.25	8.35	7.04	19.00	<0.1	<0.1
Río Bueno	AMK-HUEINAHU2	18.70	127.30	11.76	8.39	59.50	2.08	1.42
	AMK-CURRINE2	16.75	102.75	9.87	8.16	71.50	1.46	1.56
	AMK-HUEINAHU1	14.40	112.55	11.32	8.36	67.00	1.29	1.61
	AMK-BCOMAIHU1	16.70	106.05	10.09	8.18	133.50	1.52	1.73
	AMK-CALCRRPE2	22.15	109.75	9.96	7.95	56.50	1.59	0.61
	AMK-FLORIN2	13.20	101.95	9.41	7.63	73.00	1.48	0.93
	AMK-NILAHUE2	15.20	95.95	9.64	5.88	2.35	1.63	1.01
	AMK-RININAHU2	14.10	109.10	11.06	5.70	80.00	0.93	0.52
	AMK-RININAHU1	13.80	104.50	10.57	5.40	76.50	1.40	0.71
	AMK-NILHUE1	14.80	105.40	10.77	8.95	263.50	1.78	1.27
	AMK-FLORIN1	14.30	107.30	10.41	7.58	82.00	1.56	1.82
	AMK-BCOMAIHU2	12.20	103.20	10.90	8.71	106.00	3.00	1.58
	AMK-CHIHUIO2	13.40	111.00	11.48	6.73	56.00	1.66	0.98
	AMK-CUMILAHU2	23.60	110.50	10.41	7.76	76.00	1.33	0.56
	AMK-SICHAHUE2	15.50	126.25	12.35	7.63	22.00	1.07	0.80
	AMK-BCOCUMI1	14.60	104.20	10.62	7.26	38.00	1.08	0.46
	AMK-CALCURRPE1	21.10	130.40	11.60	7.82	52.00	1.27	0.93
	AMK-CUMILAHUE1	25.10	124.20	11.81	7.68	73.00	1.55	0.84
	AMK-CAUNAHUE1	23.80	114.25	11.64	7.86	51.00	1.71	1.29
	AMK-BUENO2	23.60	127.25	11.63	8.16	60.00	1.74	1.25
	AMK-BUENO1	24.50	123.35	11.07	8.10	54.00	0.84	0.86
	AMK-IGNAO1	23.90	136.90	11.95	8.11	66.00	2.07	0.74
	AMK-COIQUE1	22.90	117.10	12.27	7.74	96.00	1.52	0.61
	AMK-RUPMEICA2	14.15	103.80	10.42	8.30	62.00	1.12	0.93
	AMK-CAUNAHUE2	19.20	112.20	10.44	7.30	68.00	2.43	1.74

Tabla 7. Resultados químicos obtenidos en laboratorio para actual proyecto.

\* Valor obtenido por estimación numérica

Parámetros químicos obtenidos en laboratorio										
Código estación	Ca mg/L	Fosfato inorg mg/L	Fósforo Total mg/L	Fósforo inorg* mg/L	Fósforo org* mg/L	Fosfato org* mg/L	Fe mg/L	N- NO3- mg/L	N- NO2- mg/L	SiO <sub>2</sub> mg/L
AMK-TRANCURA2	4.98	0.018	0.013	0.006	0.007	0.022	0.09	<0.046	<0.009	23.5
AMK-PANQUI2	6.61	0.003	0.003	0.001	0.002	0.006	0.24	<0.046	<0.009	15
AMK-CABURGUA2	5.12	0.025	0.017	0.008	0.009	0.027	0.04	<0.046	<0.009	15
AMK-LIUCURA2	6.13	0.043	0.029	0.014	0.015	0.046	0.06	0.395	<0.009	19.3
AMK-CAUTIN2	6.02	0.034	0.02	0.011	0.009	0.027	0.13	<0.046	<0.009	21.4
AMK-TOLTEN2	5.2	0.037	0.023	0.012	0.011	0.033	0.2	<0.046	<0.009	15
AMK-ALLIPEN2	5.35	0.077	0.047	0.025	0.022	0.067	0.29	<0.046	<0.009	19.3
AMK-CURACO2	3.26	0.028	0.016	0.009	0.007	0.021	0.25	<0.046	<0.009	8.6
AMK-PEDRGSO2	4.54	0.025	0.014	0.008	0.006	0.018	0.12	<0.046	<0.009	19.3
AMK-CALCRRPE2	5.79	0.089	0.05	0.029	0.021	0.064	0.04	<0.046	<0.009	15
AMK-CHIHUIO2	8.83	<0.001	<0.0004	<0.001	<0.001	<0.001	0.04	<0.046	<0.009	15
AMK-CUMILAHU2	9.41	<0.001	<0.0004	<0.001	<0.001	<0.001	0.11	<0.046	<0.009	19.3
AMK-BUENO2	5.55	<0.001	<0.0004	<0.001	<0.001	<0.001	0.02	<0.046	<0.009	15
AMK-CAUNAHUE2	9.49	0.009	0.008	0.003	0.005	0.016	0.03	<0.046	<0.009	15
AMK-SICHAHUE2	4.71	0.003	0.003	0.001	0.002	0.006	0.35	<0.046	<0.009	10.7
AMK-PUCON2	5.54	0.052	0.038	0.017	0.021	0.064	0.06	<0.046	<0.009	19.3
AMK-LIQUINE2	5.39	0.006	0.006	0.002	0.004	0.012	0.06	<0.046	<0.009	15
AMK-LLANCAH2	6.96	0.046	0.033	0.015	0.018	0.055	0.15	<0.046	<0.009	27.8
AMK-REYEHUEI2	5.48	0.012	0.01	0.004	0.006	0.019	0.03	<0.046	<0.009	17.1
AMK-CUACUA2	5.74	0.012	0.01	0.004	0.006	0.019	0.09	<0.046	<0.009	15
AMK-ZAHUIL2	2.77	<0.001	<0.0004	<0.001	<0.001	<0.001	0.08	<0.046	<0.009	15
AMK-HUENEHUE2	5.28	<0.001	<0.0004	<0.001	<0.001	<0.001	0.02	<0.046	<0.009	15
AMK-NELTUME2	5.2	<0.001	<0.0004	<0.001	<0.001	<0.001	0.07	<0.046	<0.009	10.7
AMK-LLANQHUE2	5.7	0.009	0.009	0.003	0.006	0.019	0.02	<0.046	<0.009	15
AMK-HUAHUM2	6.6	<0.001	<0.0004	<0.001	<0.001	<0.001	0.05	<0.046	<0.009	10.7
AMK-BCO ENCO2	3.49	0.031	0.024	0.010	0.014	0.043	0.06	<0.046	<0.009	8.6
AMK-ENCO2	4.48	0.021	0.017	0.007	0.010	0.031	0.04	<0.046	<0.009	19.3
AMK-FUY2	4.8	0.003	0.003	0.001	0.002	0.006	<0.02	<0.046	<0.009	12.8
AMK-MANIO2	5.84	0.009	0.01	0.003	0.007	0.022	<0.02	0.07	<0.009	19.3
AMK-SANPEDRO2	4.57	0.003	0.003	0.001	0.002	0.006	<0.02	<0.046	<0.009	10.7
AMK-REMEHUE2	3.93	0.003	0.003	0.001	0.002	0.006	0.03	<0.046	<0.009	8.6
AMK-CRUCES2	3.53	<0.001	<0.0004	<0.001	<0.001	<0.001	0.27	<0.046	<0.009	17.1
AMK-BCOMAIHU2	9.58	<0.001	<0.0004	<0.001	<0.001	<0.001	0.08	0.271	<0.009	21.4
AMK-FLORIN2	11.45	<0.001	<0.0004	<0.001	<0.001	<0.001	0.06	<0.046	<0.009	12.8
AMK-NILAHUE2	17.81	0.095	0.055	0.031	0.024	0.074	0.17	<0.046	<0.009	38.5
AMK-RUPMEICA2	9.64	0.003	0.003	0.001	0.002	0.006	0.03	0.375	<0.009	12.8
AMK-HUEINAHU2	8.86	<0.001	<0.0004	<0.001	<0.001	<0.001	0.24	<0.046	<0.009	12.8
AMK-CURRINE2	9.79	<0.001	<0.0004	<0.001	<0.001	<0.001	0.04	<0.046	<0.009	15
AMK-RININAHU2	5.11	0.018	0.016	0.006	0.010	0.031	0.07	<0.046	<0.009	21.4
AMK-QUINCHIL2	3.45	0.003	0.003	0.001	0.002	0.006	0.08	<0.046	<0.009	10.7
PUNTO1-BIOBIO-SERNAPESCA	5.78	0.012	0.009	0.004	0.005	0.016	0.21	<0.046	<0.009	17.1
AMK-BIOBIO2	6.21	0.034	0.026	0.011	0.015	0.046	0.34	<0.046	<0.009	19.3
AMK-LIUCURAN2	5.92	0.101	0.081	0.033	0.048	0.147	0.47	<0.046	<0.009	19.3
PUNTO6-BIOBIO-SERNAPESCA	5.97	0.031	0.028	0.010	0.018	0.055	0.39	1.04	<0.009	19.3
PUNTO EXTRA-LOLEN/BIOBIO	5.8	0.037	0.03	0.012	0.018	0.055	0.42	0.451	<0.009	19.3
PUNTO3-LONQUIMAY-SERNAPESCA	7.32	0.064	0.057	0.021	0.036	0.111	0.49	<0.046	<0.009	15
PUNTO2B-BALSARAHUE-SERNAPESCA	6.53	0.037	0.037	0.012	0.025	0.076	0.43	<0.046	<0.009	19.3
PUNTO4-RANQUIL-SERNAPESCA	9.1	0.086	0.078	0.028	0.050	0.153	0.62	<0.046	<0.009	15
PUNTO5-BIOBIO-SERNAPESCA	6.4	0.049	0.041	0.016	0.025	0.077	0.4	<0.046	<0.009	19.3

### 8.3.1 Análisis estadísticos de resultados Físico-químicos

Los resultados para los test de ANOVA arrojan sólo diferencias significativas para la velocidad de fondo y el pH (ver Tabla 8). En sitios con presencia de Didymo, las velocidades muestran una clara tendencia a ser menores (ver ANEXO 4) y el pH más alcalino (ver Figura 7 y Figura 8).

**Tabla 8. Resultados para test de ANOVAS con permutaciones, para parámetros químicos en sitios con y sin Didymo.**

Resultados ANOVA con permutaciones parámetros <i>in-situ</i>						
	g.l.	SS	MS	F value	p-anova	p-permutación
Temperatura del agua	1	2.57	2.57	0.19	0.66	0.68
Residuales	93	1239.31	13.33			
saturación de oxígeno	1	11.17	11.17	0.12	0.73	0.73
Residuales	93	8868.53	95.36			
Oxígeno disuelto	1	15.85	15.85	0.48	0.49	0.15
Residuales	93	3101.55	33.35			
pH	1	1.65	1.65	5.56	0.02	0.02
Residuales	92	27.29	0.30			
CE	1	1707.30	1707.30	1.90	0.17	0.16
Residuales	92	82878.21	900.85			
Velocidad media	1	1.45	1.45	3.69	0.06	0.05
Residuales	91	35.71	0.39			
Velocidad de fondo	1	0.95	0.95	5.66	0.02	0.01
Residuales	91	15.30	0.17			
Resultados ANOVA con permutaciones parámetros de laboratorio						
	g.l.	SS	MS	F value	p-anova	p-permutación
Calcio	1	7.58	7.58	1.18	0.28	0.30
Residuales	48	307.77	6.41			
Fosfato inorgánico	1	7.02E-05	7.02E-05	0.09	0.77	0.78
Residuales	48	3.78E-02	7.88E-04			
Fósforo total	1	2.05E-04	2.05E-04	0.48	0.49	0.48
Residuales	48	2.03E-02	4.23E-04			
Fósforo inorgánico	1	9.24E-06	9.24E-06	0.11	0.74	0.75
Residuales	48	4.07E-03	8.48E-05			
Fósforo orgánico	1	1.34E-04	1.34E-04	0.95	0.34	0.36
Residuales	48	6.77E-03	1.41E-04			
Fosfato orgánico	1	1.25E-03	1.25E-03	0.95	0.34	0.34
Residuales	48	6.35E-02	1.32E-03			
Hierro total	1	4.38E-03	4.38E-03	0.18	0.67	0.67
Residuales	48	1.16E+00	2.41E-02			
Nitrato	1	1.60E-04	1.60E-04	0.01	0.94	0.85
Residuales	48	1.32E+00	2.76E-02			
Sílice total	1	1.11	1.11	0.04	0.84	0.80
Residuales	48	1280.74	26.68			

Figura 7. Gráfico de cajas para niveles de pH en sitios según la presencia de Didymo.

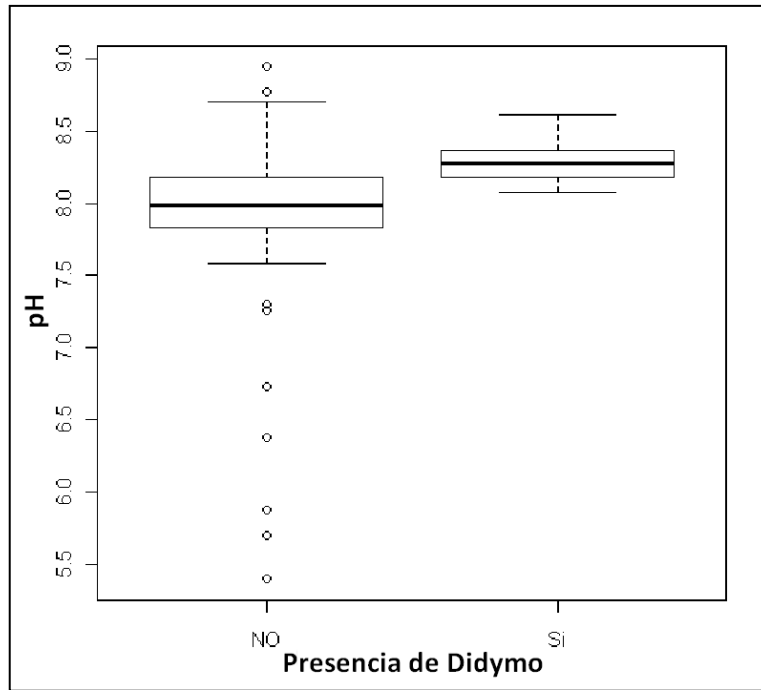
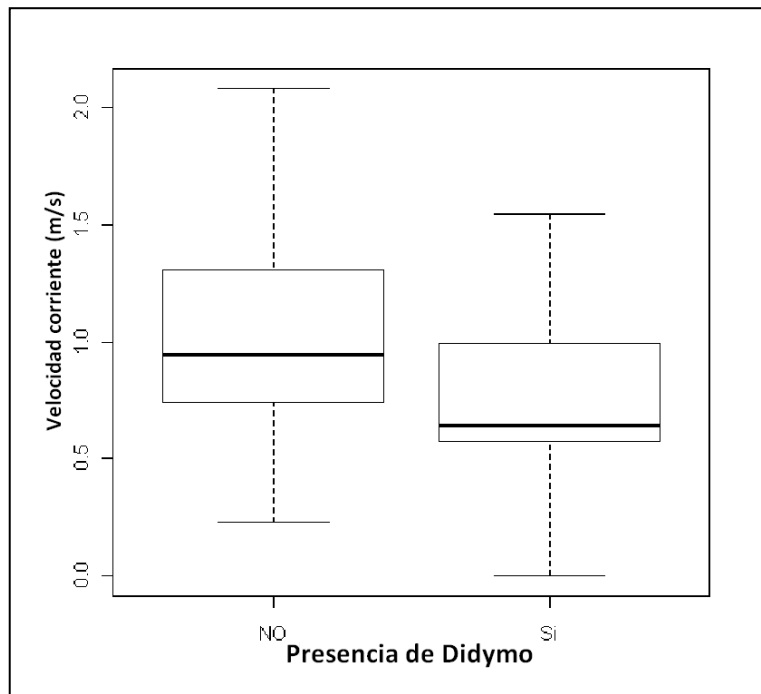
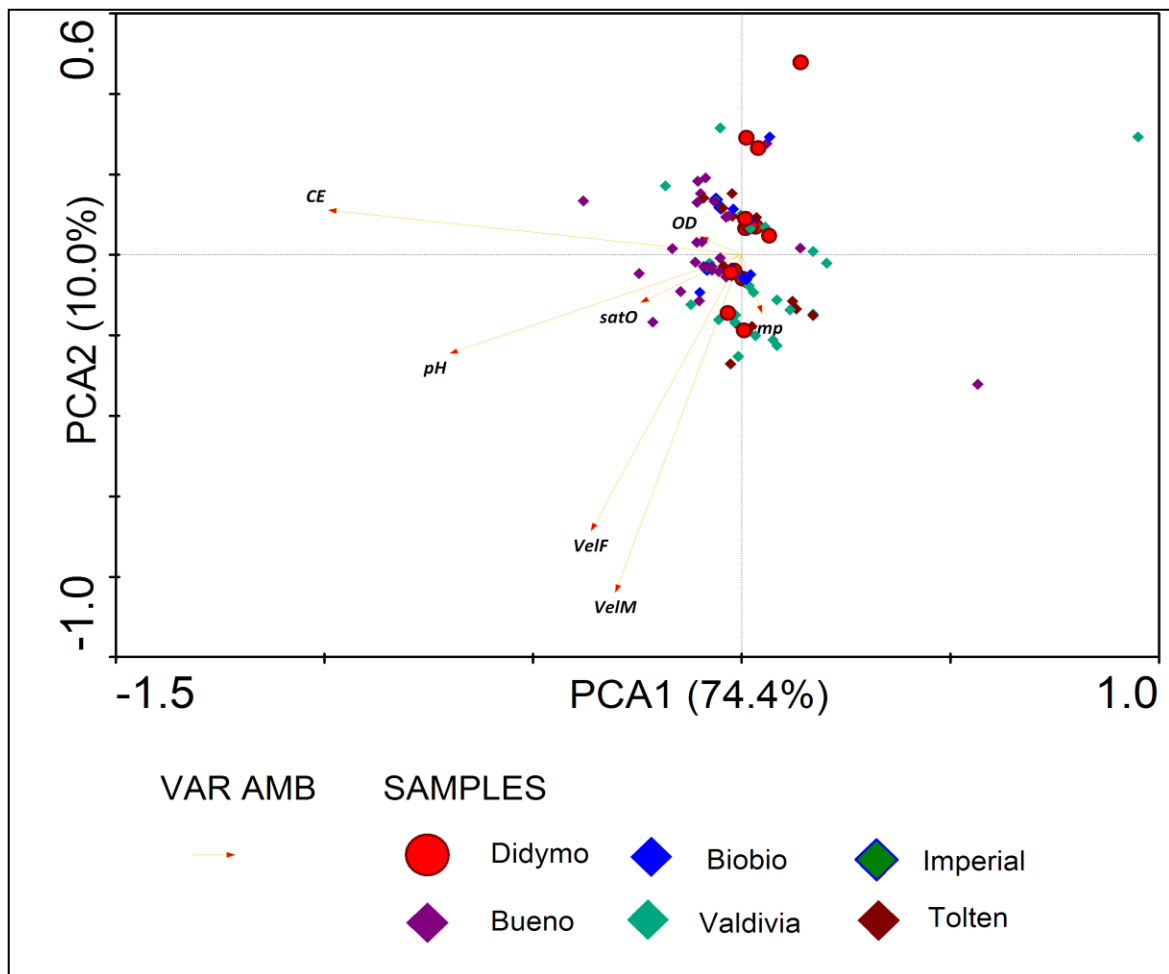


Figura 8. Gráfico de cajas para niveles de Velocidad de fondo en sitios según la presencia de Didymo.



El análisis de PCA con parámetros químicos en laboratorio e *in-situ*, arroja un 84.4% de explicación de variabilidad de los datos en sus dos primeros ejes (eje 1: 74,4%; eje 2: 10,0%). Las variables químicas que se asocian fuertemente al eje 1 son la Conductividad Eléctrica (CE) y el pH, mientras que el eje 2 se asocia fuertemente a las velocidades de corriente (VelF y VelM) (ver Tabla 9 y Figura 9). Por otro lado, el PCA de todos los parámetros químicos explica en 83% de variabilidad de los datos en sus dos primeros ejes (eje 1: 64,8%; eje 2: 18,5%), el primer eje se encuentra fuertemente asociado por la Conductividad eléctrica (CE), mientras que el segundo eje se encuentra asociado al porcentaje de saturación de Oxígeno (satO en Fig 9) y el Sílice total (Si). Las especies químicas Nitrógeno y Fósforo fueron excluidas del análisis debido a la baja variabilidad explicada. Los sitios en presencia de Didymo se asocian en un área particular dentro de los ejes del gráfico, posicionándose cercanos al eje 2, en el vector de Sílice (ver Figura 10 y Tabla 10).

Figura 9. Resultados del eje 1 y eje 2 para PCA variables físico-químicas *in-situ*.

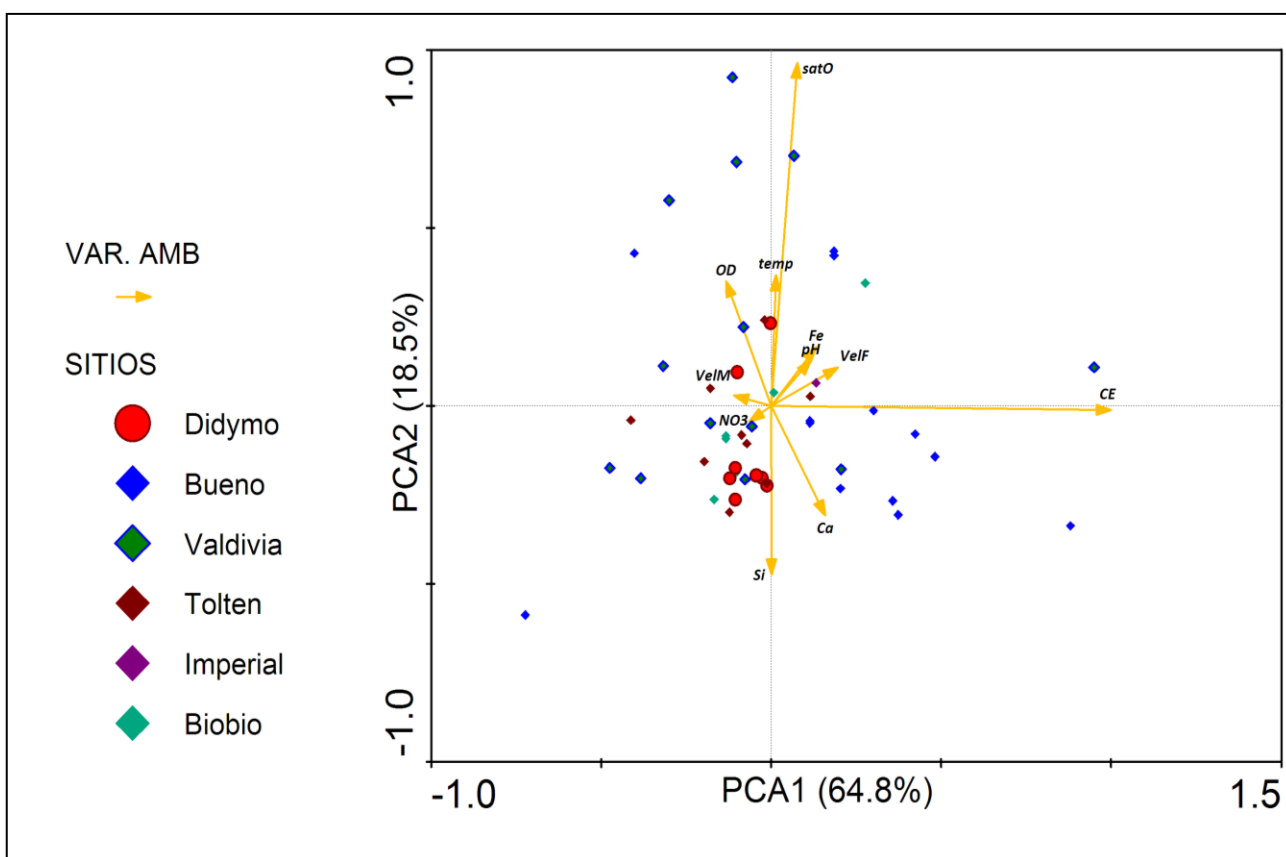


El color del punto representa sitios en presencia de Didymo o su cuenca de origen, esto solo en caso de ausencia de Didymo.

Tabla 9. Resultados análisis PCA para parámetros químicos de laboratorio

Resultados análisis PCA				
	Eje1	Eje2	Eje3	Eje4
Valor propio	0.05	0.007	0.003	0.001
% varianza explicada acumulada	74.4	84.4	88.3	90.4
Representación en el eje de cada parámetro				
	Eje1	Eje2	Eje3	Eje4
Temperatura (temp)	1.2973	1.1019	2.5159	0.8801
Saturación de Oxígeno (satO)	1.1149	0.8318	-0.2626	0.2258
Oxígeno disuelto (OD)	1.5457	-1.8211	-0.3929	0.6849
pH	0.8513	0.7844	-0.149	-0.6246
Conductividad eléctrica (CE)	-0.6196	-0.2536	0.2941	-0.0183
Velocidad media (VelM)	0.9106	2.0525	-0.2938	-7.636
Velocidad de Fondo (VelF)	0.5495	1.1822	0.0923	-5.4432

Figura 10. Resultados del eje 1 y eje 2 para PCA variables químicas de laboratorio.



El color del punto representa sitios en presencia de Didymo o su cuenca de origen, esto solo en caso de ausencia de Didymo.

Tabla 10. Resultados análisis PCA con parámetros de laboratorio

Resultados análisis PCA				
	Eje1	Eje2	Eje3	Eje4
Valor propio	0.648	0.184	0.101	0.037
% varianza explicada acumulada	64.8	83.3	93.4	97.1
Representación en el eje de cada parámetro				
	Eje1	Eje2	Eje3	Eje4
Temperatura (temp)	0.0142	0.3669	0.0732	-0.1833
Saturación de Oxígeno (satO)	0.0769	0.9638	-0.2341	0.0976
Oxígeno disuelto (OD)	-0.1326	0.3493	0.9209	0.1093
pH	0.1169	0.1278	0.0344	-0.4075
Conductividad eléctrica (CE)	0.9996	-0.0112	0.025	-0.001
Velocidad media (VelM)	-0.1099	0.0296	-0.1942	0.0349
Velocidad de Fondo (VelF)	0.1969	0.1076	-0.053	0.083
Calcio (Ca)	0.1591	-0.3072	-0.0727	0.5322
Hierro (Fe)	0.1324	0.1652	-0.0538	0.1039
Nitrato (NO3)	-0.0637	-0.044	-0.0334	0.0614
Sílice (Si)	0.0012	-0.4736	-0.1723	0.8425

#### 8.4 Comunidad de microalgas planctónicas

Se han identificado un total de 63 *taxa* de fitoplancton en los sitios prospectados en la IX y XIV región, registrando un promedio de 2.88 ind/ml. En el sitio AMK-TOLTEN se encontró alta presencia de *Fragilaria*, filamentos que aumentan el conteo de células debido a su conformación fisiológica, aumentando el promedio de la cuenca Toltén. Las cuencas con mayor diversidad de especies son Bueno y Valdivia. En todos los casos se registro Didymo en estado bentónico y planctónico, excepto en el sitios AMK-LIUCURA2, de la cuenca del Toltén (ver Tabla 11). Más detalle de resultados en ANEXO 6.

Tabla 11. Abundancia de microralgas planctónicas para sitios prospectados por cuenca.

		Cuenca				
		Biobío	Bueno	imperial	Toltén	Valdivia
Abundancia (ind/ml)	Max	2.22	6.25	1.07	88.99	2.88
	Promedio	1.20	1.50	1.06	<b>9.55</b>	1.11
	Min	0.23	0.18	1.06	0.23	0.21
Riqueza de <i>taxa</i> (S)	Max	17.00	19.00	13.00	19.00	17.00
	Promedio	<b>13.22</b>	10.92	13.00	12.00	12.61
	Min	9.00	2.00	13.00	7.00	4.00
Índice de Diversidad	Max	3.33	3.58	3.05	3.50	<b>3.79</b>
	Promedio	2.63	2.33	2.76	2.40	2.76
	Min	1.23	0.19	2.46	0.17	1.68
Índice de Equitatividad	Max	0.91	0.94	0.82	0.92	0.95
	Promedio	0.71	0.68	0.74	0.68	<b>0.76</b>
	Min	0.39	0.19	0.66	0.05	0.47



#### 8.4.1 Análisis estadísticos de resultados de microalgas planctónicas

La composición planctónica a nivel de cuenca es muy poco variada y muestra dominancia del grupo taxonómico *Bacillariophyceae*. La cuenca del río Valdivia es la que presenta mayor diversidad, diferenciándose sin embargo levemente del resto de las cuencas (ver Figura 11 y Figura 12).

Respecto de la abundancia de fitoplancton por cuenca, destaca el sobresaliente valor registrado en la cuenca Toltén, siendo la riqueza taxonómica el valor que modifica la diversidad y equitatividad (Ver Figura 11). El análisis de DCA para la comunidad de microalgas planctónicas explica sólo un 31% de variabilidad de los datos en los dos primeros ejes del análisis, descartando este análisis estadístico como una herramienta útil para nuestros resultados.

Al comparar la composición fitoplanctónica registrada en prospecciones anteriores de las cuencas estudiadas, podemos observar sobre en 80% de presencia *Bacillariophyceae* en todas las cuencas del sector. No es posible apreciar cambios importantes que puedan ser generados por la presencia de *Didymo* en las cuencas de los ríos Bío-Bío, Toltén y Valdivia, dado que las diferencias observadas al interior del porcentaje complementario a las *Bacillariophyceae* puede deberse a que en el actual proyecto hay un importante aumento de la presión de muestreo en las cuencas con *Didymo*, además del cambio de analista (ver Figura 12 y Figura 13).

Figura 11. Parámetros comunitarios de fitoplancton por cuenca

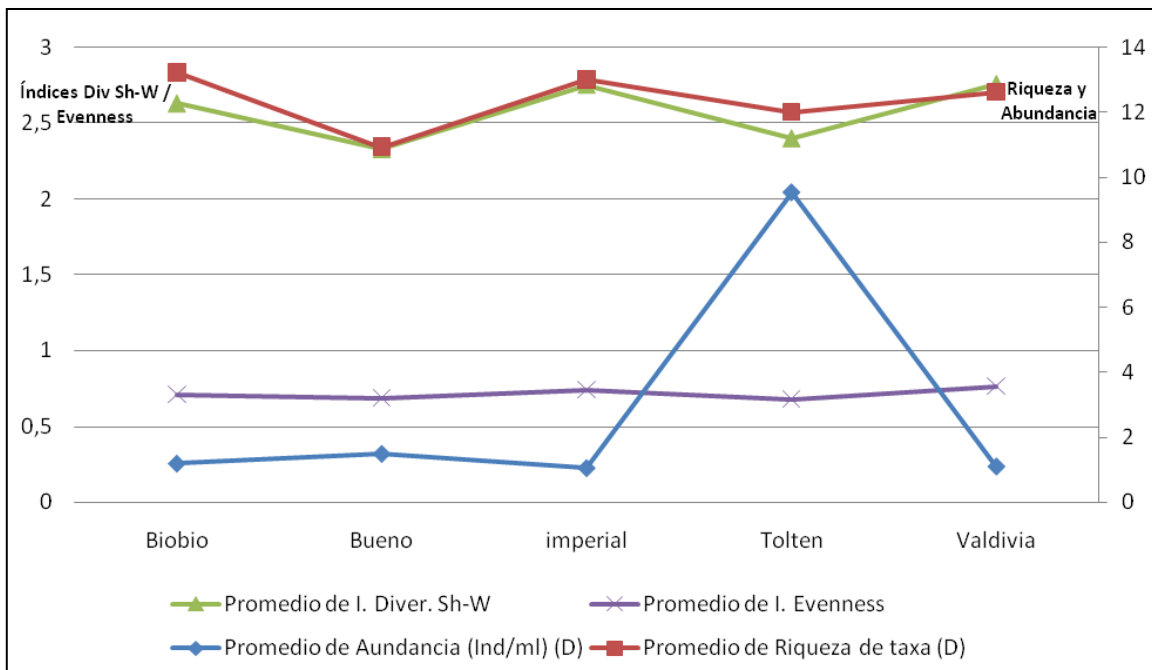


Figura 12. Composición comunidad fitoplanctónica para cuencas estudiadas en prospecciones actuales.

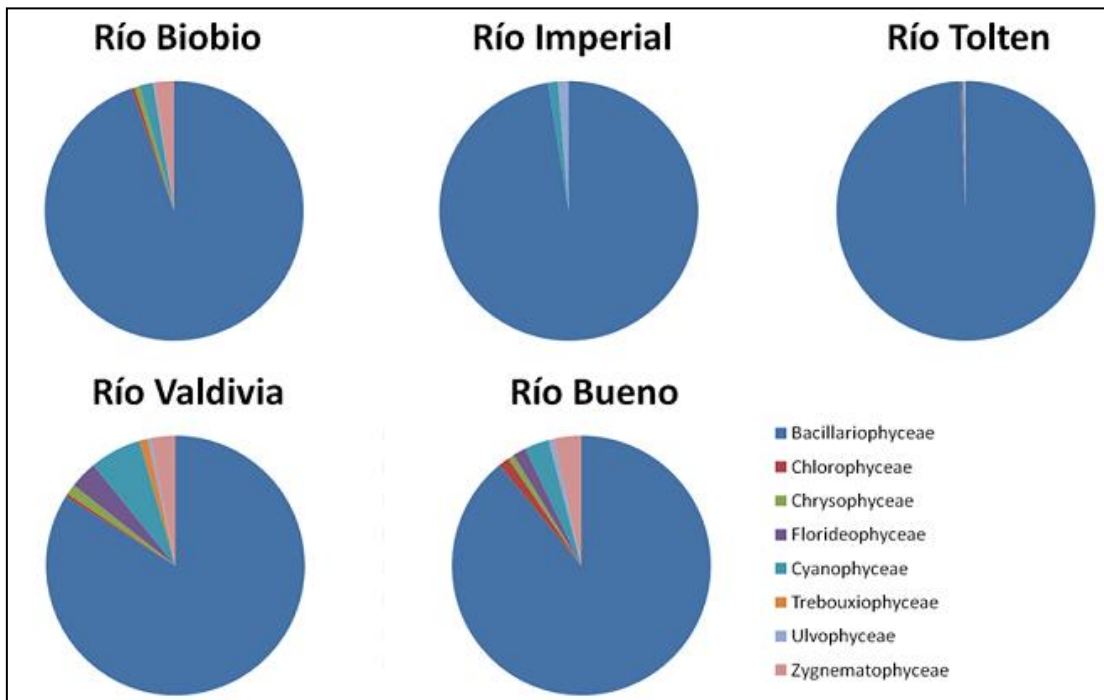
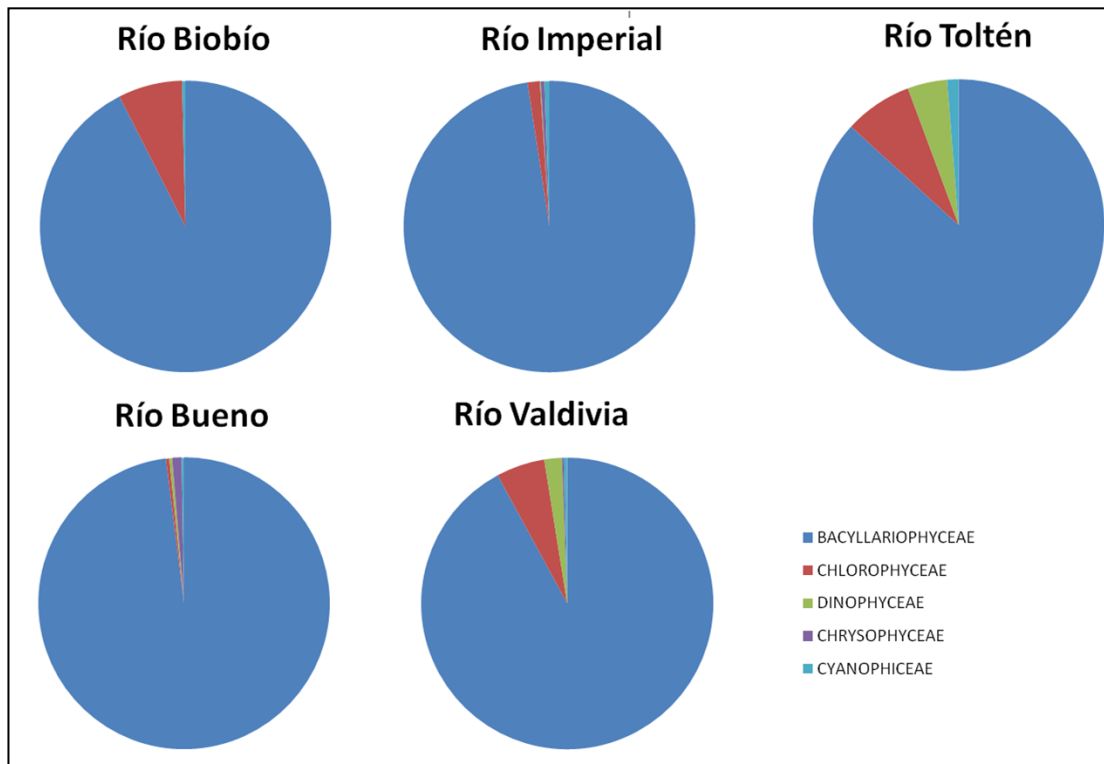


Figura 13. Composición comunidad fitoplanctónica para anteriores proyectos de prospección generados en la cuenca.



## 8.5 Comunidad de diatomeas bentónicas

En total se identificaron un total de 94 *taxa* de diatomeas en las cuencas prospectadas, alcanzando una abundancia promedio de 60990 cel/mm<sup>2</sup> (ver ANEXO 8). La cuenca que presentó mayor diversidad y riqueza fue la cuenca del río Bío-Bío, por otro lado, la cuenca del río Toltén presentó la mayor abundancia promedio (ver Tabla 12).

Comparando la comunidad de diatomeas bentónica en los puntos con Didymo es posible apreciar considerables diferencias. En AMK-ENCO1 la presencia de Didymo está acompañada de abundante *Gomphoneis*, mientras que en AMK-ENCO2, fue registrada una alta abundancias de células de *D. geminata* viables e inviables, con y sin pedúnculo. En tanto, AMK-FUY1 presentó muy pocas diatomeas, con sólo algunas células de *D. geminata* viables y algunos pedúnculos sueltos y en el bentos de AMK-FUY2 se registraron muchas células de *D. geminata*, con pedúnculos sueltos principalmente (Ver ANEXO 6).

**Tabla 12. Resumen de resultados para especies de diatomeas bentónicas en cuencas prospectadas.**

		Cuenca				
		Bióbio	Imperial	Toltén	Valdivia	Bueno
Abundancia total (cel/mm <sup>2</sup> )	Max	399475.44	20096.08	748255.87	211463.62	121030.00
	Promedio	131095.94	20096.08	80472.18	35098.13	38187.75
	Min	1341.68	20096.08	386.16	200.98	1908.82
Riqueza (N especies)	Max	32.00	24.00	29.00	28.00	18.00
	Promedio	24.18	24.00	17.90	14.65	13.15
	Min	19.00	24.00	11.00	7.00	7.00
I. Diver. Sh-W	Max	4.27	3.68	4.01	3.95	3.53
	Promedio	3.79	3.68	3.46	2.91	2.80
	Min	2.71	3.68	2.99	1.62	1.99
I. Evenness	Max	0.93	0.80	0.93	0.91	0.91
	Promedio	0.83	0.80	0.85	0.77	0.76
	Min	0.63	0.80	0.81	0.54	0.54

### 8.5.1 Análisis estadísticos de resultados de diatomeas bentónicas

Los test de ANOVA con permutaciones indican que los sitios en presencia de Didymo presentan mayores niveles de diversidad, riqueza de especies y de abundancia, mientras que la equitatividad no presenta diferencias significativas (ver Tabla 13, figura 14, 15, 16). A nivel de cuencas, solo Bío-Bío presenta mayores abundancias de diatomeas, mientras que presenta menores niveles de diversidad y riqueza de especies en los sitios con Didymo, contrario a lo que sucede en la cuenca del río Valdivia (ver figura 17 y 18).

**Tabla 13. Resultados de test de ANOVA con permutaciones para índices comunitarios en sitios en presencia o ausencia de Didymo.**

Resultados test de ANOVA con permutaciones. Índices comunitarios bentónicos						
Parámetros	gl	SC	MS	F	P-anova	P-perm
Abundancia (cel/mm <sup>2</sup> )	1	6.13E+11	6.1316E+11	14.89179	0.00032717	<b>0.003</b>
Residuales	50	2.06E+12	4.1174E+10			
Riqueza de especies	1	141.9795	141.97955	3.766956	0.05792266	0.063
Residuales	50	1884.5397	37.69079			
índice de diversidad	1	2.025866	2.0258658	5.262149	0.02603193	<b>0.03</b>
Residuales	50	19.249415	0.3849883			
índice de equitatividad	1	0.01544022	0.01544022	1.33021	0.2542515	0.281
Residuales	50	0.58036757	0.01160735			

**Figura 14. Gráfico de cajas de riqueza de diatomeas en sitios en presencia (P) o ausencia (A) de Didymo.**

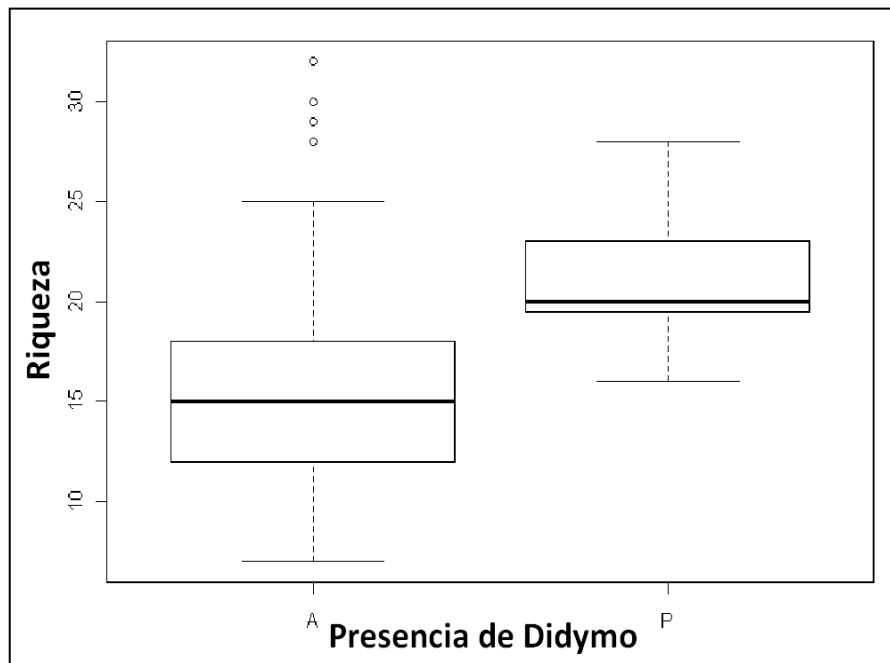


Figura 15. Gráfico de cajas de Índice de diversidad de Shanon-Wiener en sitios en presencia (P) o ausencia (A) de Didymo.

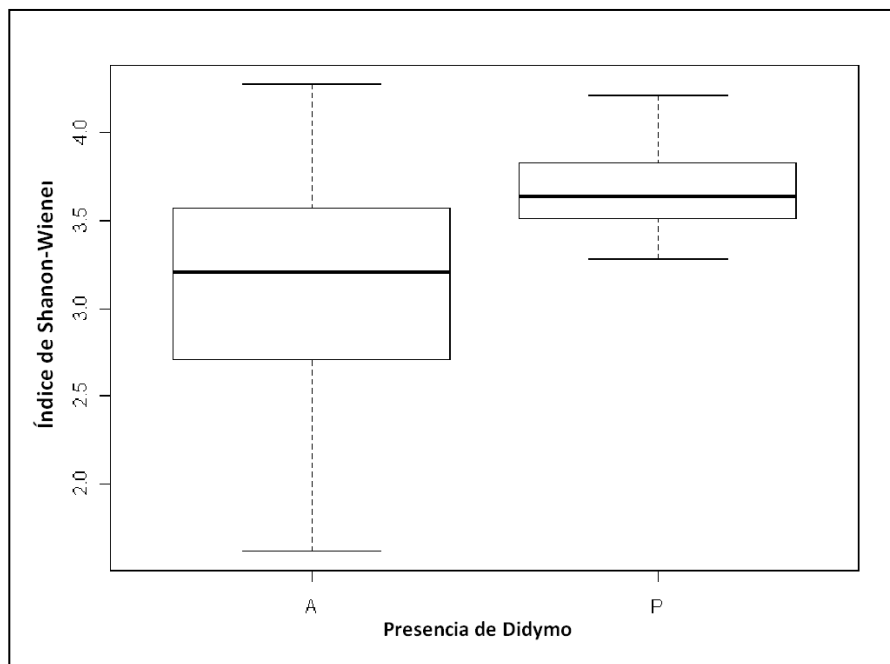


Figura 16. Gráfico de cajas de abundancia de diatomeas en sitios en presencia o ausencia de Didymo.

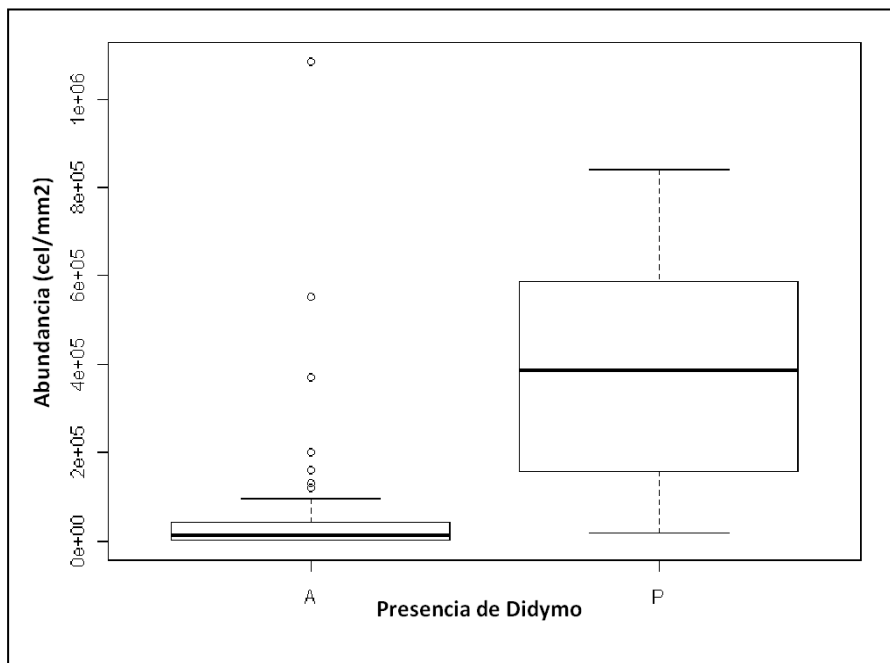


Figura 17. Gráfico de cajas para índices de diversidad por cuenca para sitios en presencia o ausencia de Didymo

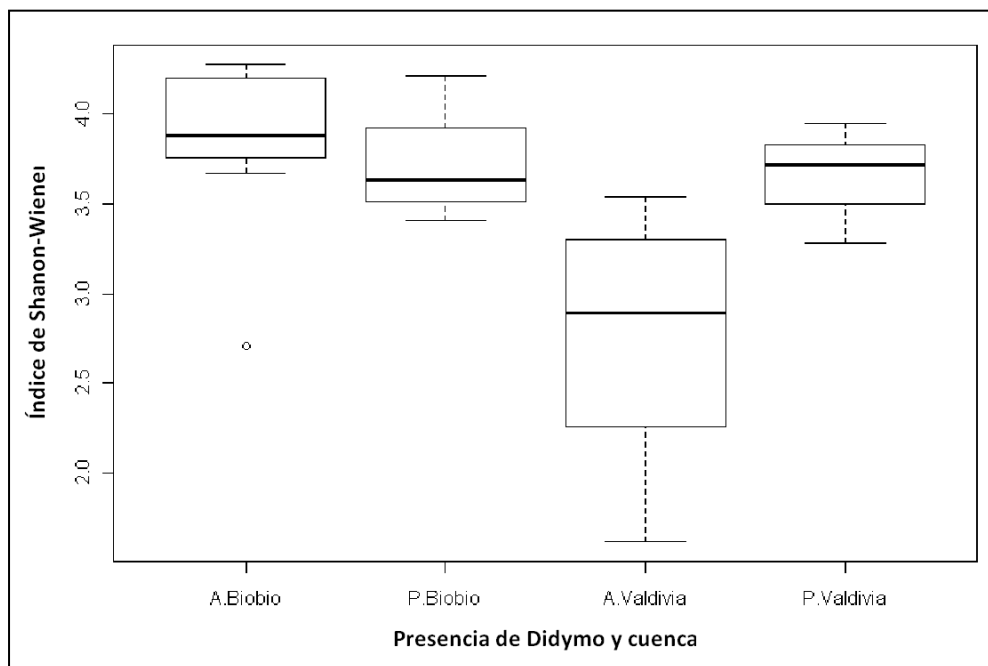
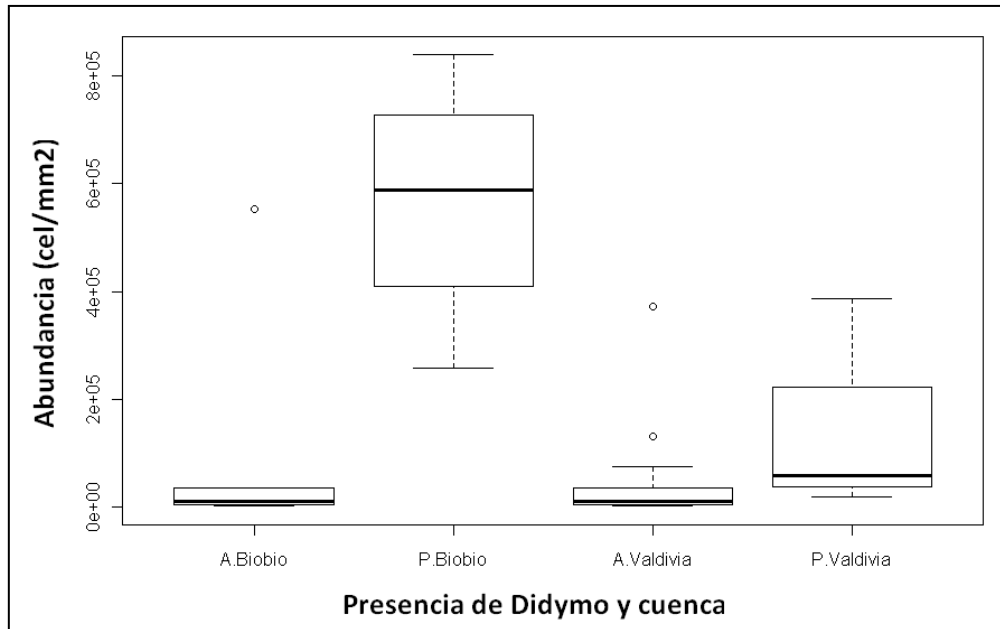


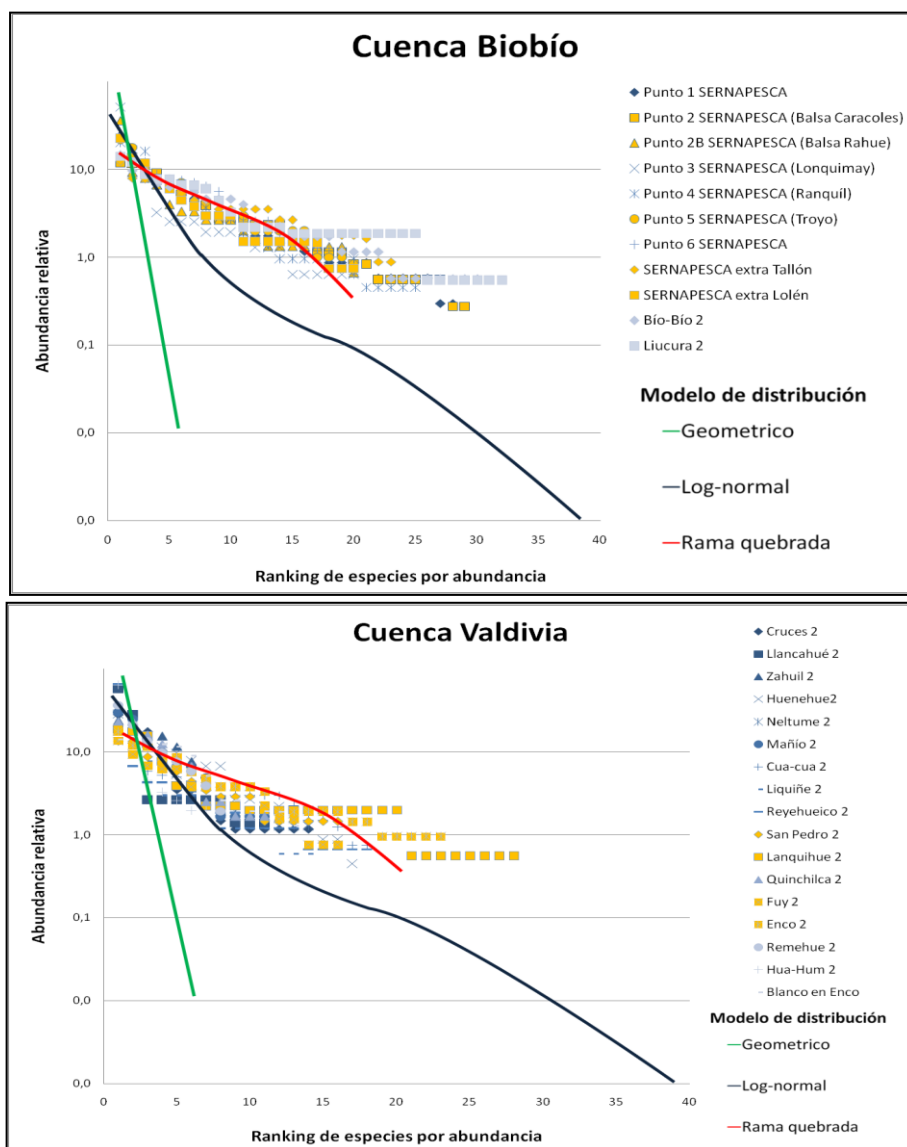
Figura 18. Gráfico de cajas para abundancia de diatomeas por cuenca para sitios en presencia o ausencia de Didymo



Los diagramas de ranking de especies por abundancia señalan que todas las poblaciones de diatomeas se ajustan a un patrón de distribución log-normal o rama quebrada. Las poblaciones en presencia de *Didymo* no modifican los patrones de abundancia de especies (ver Figura 19).

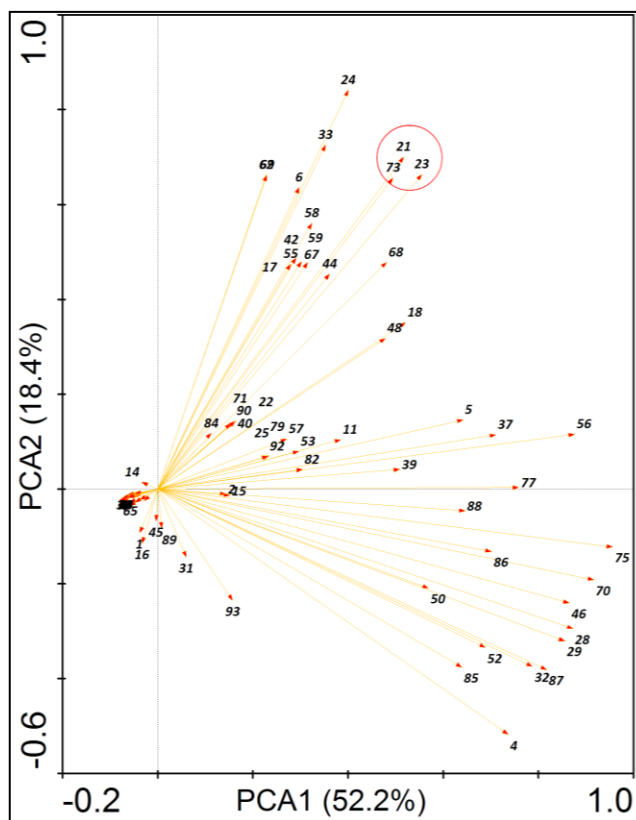
El análisis de componentes principales (PCA) para especies bentónicas explica un 74% de la varianza de los datos en sus dos primeros ejes y *Didymo* se asocia fuertemente a ciertas especies como *Encyonema minutiforme* y *Nitzschia spp.* (Ver Figura 20 y Tabla 15).

Figura 19. Diagramas de ranking de especies en abundancias por cuenca, considerando las dos cuencas más afectadas por *Didymo*



En amarillo se muestran las poblaciones con presencia de *Didymo*. Cada línea en el gráfico muestra un tipo de distribución de abundancias de especies propuestas por distintos autores. La distribución Log-normal fue descrita por Preston en 1948, la distribución geométrica fue propuesta por Wittaker en 1965 y la distribución Rama quebrada fue descrita por MacArthur en 1957.

Figura 20. Grafico de eje 1 y 2 para especies de diatomeas bentónicas. Nº por especie en tabla 15.



Respecto de la relación entre los parámetros comunitarios como riqueza y diversidad con los puntos positivos para *Didymo* registrados en este estudio, cabe señalar que los ANOVAs con permutaciones de dos vías realizados con los índices comunitarios determinados en prospecciones previas, que incluyen otras regiones, siguen este mismo patrón mostrando también una mayor diversidad de especies de diatomeas en las cuencas de Aysén, Palena y Baker exclusivamente en los sitios Didymo, mientras que sólo para la cuenca de Yelcho se registra un aumento significativo de la abundancia de diatomeas en sitios Didymo (ver Tabla 14).

Tabla 14. Resultados test de ANOVA con permutaciones para índices comunitarios de prospecciones previas

ANOVA factorial con permutaciones prospecciones previas					
índice de Diversidad	g.l.	MS	F	p-perm	p-anova
Presencia <i>D. geminata</i>	1	5.508	7.246	0.009	<b>0.015</b>
Cuenca	3	1.412	1.857	0.147	0.172
Interacción	3	0.483	0.636	0.595	0.6
Residuales	59	0.760			
ANOVA factorial con permutaciones prospecciones previas					
Abundancia de diatomeas	g.l.	MS	F	p-perm	p-anova
Presencia <i>D. geminata</i>	1	3.6E+11	38.997	0.000	<b>0.001</b>
Cuenca	3	1.4E+11	15.394	0.000	<b>0.001</b>
Interacción	3	1.2E+11	12.733	0.000	<b>0.001</b>
Residuales	59	9.3E+09			



Tabla 15. Índice numérico de especies en análisis multivariados.

índice especies análisis multivariados					
1	<i>Achnanthes convergens</i>	31	<i>Fragilaria germainii</i>	61	<i>Navicula sp</i>
2	<i>Achnanthes minutissima v saprophila</i>	32	<i>Fragilaria nana</i>	62	<i>Navicula spp</i>
3	<i>Achnanthes oblongella</i>	33	<i>Frustulia amphipleuroides</i>	63	<i>Navicula tripunctata</i>
4	<i>Achnantheidium exiguum</i>	34	<i>Frustulia rhomboides</i>	64	<i>Navicula viridula</i>
5	<i>Achnantheidium minutissimum</i>	35	<i>Frustulia vulgaris</i>	65	<i>Naviculadicta utermoehlii</i>
6	<i>Adlafia minuscula</i>	36	<i>Geissleria decussis</i>	66	<i>Neidium ampliatum</i>
7	<i>Amphora veneta</i>	37	<i>Gomphoneis minuta</i>	67	<i>Nitzschia bacillum</i>
8	<i>Aulacoseira distans</i>	38	<i>Gomphoneis sp</i>	68	<i>Nitzschia cf fonticola</i>
9	<i>Brachysira neoexilis</i>	39	<i>Gomphonema angustum</i>	69	<i>Nitzschia cf paleacea</i>
10	<i>Cavinula pseudoscutiformis</i>	40	<i>Gomphonema auritum</i>	70	<i>Nitzschia dissipata</i>
11	<i>Cocconeis placentula v euglypta</i>	41	<i>Gomphonema calcifugum</i>	71	<i>Nitzschia fonticola</i>
12	<i>Cocconeis pseudothumensis</i>	42	<i>Gomphonema clevei</i>	72	<i>Nitzschia frustulum</i>
13	<i>Cyclotella ocellata</i>	43	<i>Gomphonema gracile</i>	73	<i>Nitzschia gracilis</i>
14	<i>Cymbella affinis</i>	44	<i>Gomphonema minutum</i>	74	<i>Nitzschia inconspicua</i>
15	<i>Cymbella cf cistula</i>	45	<i>Gomphonema pseudoaugur</i>	75	<i>Nitzschia spp</i>
16	<i>Cymbella cistula</i>	46	<i>Gomphonema pumilum</i>	76	<i>Nitzschia suchlandtii</i>
17	<i>Denticula kuetzingii</i>	47	<i>Gomphonema scharfii</i>	77	<i>Pennada</i>
18	<i>Diatoma mesodon</i>	48	<i>Gomphonema sp1</i>	78	<i>Pinnularia araucanensis</i>
19	<i>Diatoma moniliformis</i>	49	<i>Gomphonema spp</i>	79	<i>Pinnularia viridis</i>
20	<i>Diatoma vulgaris</i>	50	<i>Hannaea arcus</i>	80	<i>Planothidium delicatulum</i>
21	<i>Didymosphenia geminata</i>	51	<i>Karayevia clevei</i>	81	<i>Planothidium frequentissimum</i>
22	<i>Discostella stelligera</i>	52	<i>Melosira varians</i>	82	<i>Planothidium lanceolatum</i>
23	<i>Encyonema minutiforme</i>	53	<i>Meridion circulare</i>	83	<i>Psammothidium subatomoides</i>
24	<i>Encyonema minutum</i>	54	<i>Navicula aff perminuta</i>	84	<i>Pseudostaurosira brevistriata</i>
25	<i>Encyonema silesiacum</i>	55	<i>Navicula capitatoradiata</i>	85	<i>Reimeria sinuata</i>
26	<i>Encyonopsis microcephala</i>	56	<i>Navicula cryptotenella</i>	86	<i>Rhoicosphenia abbreviata</i>
27	<i>Epithemia adnata</i>	57	<i>Navicula cryptotenelloides</i>	87	<i>Rhopalodia gibba</i>
28	<i>Fragilaria capucina</i>	58	<i>Navicula gregaria</i>	88	<i>Staurosirella pinnata</i>
29	<i>Fragilaria capucina v vaucheriae</i>	59	<i>Navicula lanceolata</i>	89	<i>Synedra acus</i>
30	<i>Fragilaria construens f subsalina</i>	60	<i>Navicula obsoleta</i>	90	<i>Tabellaria cf flocculosa</i>
				91	<i>Tabellaria flocculosa</i>
				92	<i>Trozos de Didyma</i>
				93	<i>Ulnaria ulna</i>

## 8.6 Análisis componente físico-químico y biológico

Para lograr explicar un 56.9% de la varianza, el análisis CCA descartó 12 variables físico-químicas, utilizando finalmente sólo el Sílice, Temperatura del agua, Saturación de Oxígeno, pH y Calcio. Sin embargo, gráficamente ninguna especie se asocia a algún eje, aglomerándose en el centro del gráfico, no siendo el CCA una herramienta útil en este caso.

## 8.7 Análisis históricos de métodos y sitios prospectados

Utilizando las presentes prospecciones y las 2 anteriormente realizadas en estas regiones, en total, se han muestreado 101 sitios diferentes a los largo de las regiones IX y XIV, siendo 69 de estos sitios (73%) muestreados sólo en una ocasión. Cuando se analiza la frecuencia de monitoreo histórica con la que cuentan los sitios de la presente prospección, 65 nunca antes han sido muestreados (62% del total de sitios) y ningún sitio ha sido muestreado en más de 3 ocasiones (ver Tabla 16).

Tabla 16. Sitios muestreados por proyectos de prospección en las regiones IX y XIV.

Cuenca	Río y sitio	Poch-UChile, Verano 2010	Poch-UChile, Otoño 2011	Amakaik-Ecohyd, Verano 2012
Río Bío-Bío	BIO-BIO4			No
	LIUCURA2			No
	BIO-BIO2			No
	BIO-BIO3			si(B/P)
	LONQUIMAY			No
	BIO-BIO6			No
	BIO-BIO (LOLEN)			si(B/P)
	BIO-BIO5			si(B/P)
	RANQUIL			No
	BIO-BIO1	no		No
	LIUCURA1	no		No
	BIO-BIO (CARACOLE)			si(B)
	BIO-BIO (TALLON)			si(B)
	BIO-BIO 7			No
BIO-BIO 8			No	
Río Imperial	CAUTIN2			no
	CAUTIN1		no	no
	CAUTIN1*			no
	IMPERIAL		no	
	CHOL-CHOL		no	
Río Toltén	ALLIPEN1			no
	ALLIPEN2			no
	TOLTEN2			no
	CURACO2			no
	CURACO1			no
	TOLTEN1		no	no
	PEDRGSO2			no
	PEDRGSO1			no
	LIUCURAS1			no
	CABURGUA2			no
	PANQUI1			no
	LIUCURA2			no
	PUCON2			si(B/P)
	MAICHIN1			no
	MAICHIN2			no
	PANQUI2			no
	PUCON1			no
	TRANCURA2			no
	TRANCURA1		no	no
ALLIPEN		no		
Río Valdivia	CRUCES1	no		no
	CRUCES2			no
	LLANCAH1		no	no
	LLANCAH2			no
	LINOICO1*			no
	ZAHUIL2		no	no
	HUENEHUE2		no	no
	ZAHUIL1			no
	REYEHUEI2		no	no
	CUACUA2		no	no
	MANIO1			no
	MANIO2		no	no
LIQUINE2		no	no	

	LIQUINE1			no	
	SANPEDRO1	no		no	
	NELTUME1			no	
	NELTUME2		no	no	
	SANPEDRO2	no		si (B/P)	
	FUY2	no		si (B/P)	
	LLANQHUE2		no	si (B/P)	
	LLANQHUE1		no	si(B)	
	FUY1*			si(B)	
	FUY1	no		si(B)	
	ENCO1		no	si (B)	
	BCO ENCO1		no	no	
	ENCO2			si (B/P)	
	BCO ENCO2			No	
	QUINCHIL1			no	
	HUICHAL1*			no	
	QUINCHIL2			no	
	REMEHUE2			No	
	FUTA1	no		No	
	REMEHUE1			No	
	HUAHUM2		no	No	
	HUAHUM1			No	
Río Bueno	FLORIN1			No	
	FLORIN2			No	
	CAUNAHUE1			No	
	COIQUE1			No	
	CAUNAHUE2			No	
	CHIHUIO2		no	No	
	BCOMAIHU1		no	No	
	SICHAHUE2			No	
	CUMILAHUE1			No	
	BCOCUMI1			No	
	CURRINE2		no	No	
	CUMILAHU2		no	No	
	CALCURRPE1			No	
	CALCRRPE2			No	
	BCOMAIHU2			No	
	BUENO1			No	
	NILAHUE2	no		No	
	IGNAO1			No	
	NILHUE1		no	No	
	HUEINAHU2		no	No	
	HUEINAHU1			No	
	RUPMEICA2			No	
	RININAHU1			No	
	RININAHU2			No	
	BUENO2		no	No	
	BUENO3	no			
		<b>TOTAL</b>	<b>10</b>	<b>26</b>	<b>97</b>
		Sitios Didymo	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>14</b>

Detección de Didymo en bentos (B) o en plancton (P). Celdas en blancos señalan sitios no prospectados.

### 8.7.1 Comparación histórica de resultados y métodos para parámetros físico-químicos

La principal diferencia en la instrumentación para mediciones *in-situ* es en la determinación digital de la velocidad de la corriente (velocidad de fondo, media y superficial), mientras que en los estudios previos se utilizó la metodología del objeto flotante para estimar la velocidad superficial. Con respecto a los análisis químicos en laboratorio, los actuales métodos utilizados mantienen o mejoran los límites de detección en todos los análisis. Si bien las especies de fósforo (distintas formas químicas de fósforo) analizadas no son exactamente las mismas, actuales límites de detección son dos y tres órdenes de magnitud más sensibles (ver Tabla 17). Ver detalle de mediciones históricas en ANEXO 9 y en ANEXO 14, algunos alcances sobre el análisis de fósforo.

Para evaluar los resultados en un contexto nacional e intentar comprender algunos valores que parecen algo extremos, comparamos los resultados del presente estudio y los obtenidos en prospecciones previas con un estudio clásico en ríos de la X Región de Los Lagos y un reciente trabajo recopilatorio de una cuenca altamente industrializada, la cuenca de Cachapoal (EcoHyd-AMAKAIK para la Subsecretaría del Medio Ambiente, según datos históricos proporcionados por la Dirección General de Aguas). Al comparar los resultados con Campos *et al* 1988, se observa que el Sílice de esta prospección es comparable con los valores documentados por Campos para los afluentes del lago Llanquihue. Sin embargo el promedio de las prospecciones previas supera el doble de esta medición, sin descartar que se trate de un factor estacional dado que se trata de variaciones dentro del mismo orden de magnitud. Por otra parte, como era esperable, observamos que la mayoría de los resultados se alejan considerablemente de los valores obtenidos en la cuenca del río Cachapoal. Sin embargo, en el caso del Nitrato Total y Sílice, extrañamente los valores detectados en prospecciones anteriores se asemejan a lo registrado en esta cuenca que se caracteriza por estar sometida a altas presiones antrópicas (DGA, 1966-2010; ver Tabla 18).

Tabla 17. Instrumentos y métodos para análisis físico-químicos en proyectos Didymo realizados en la IX y XIV región.

instrumentos medición <i>in-situ</i>				
	Poch-UChile, 2011*		Amakaik-Ecohyd, 2012	
pH	Equipo multiparámetro Hanna Instruments, Modelo pHep 4 (HI 98127); Rango de pH: 0,0 - 14,0		Sonda multiparametrica WTW; Rango de pH: 0,0 - 14,0	
Conductividad eléctrica (µS/cm)	Equipo multiparámetro de Hanna Instruments Modelo Dist 5 (HI 98311); Rango de CE: 0 – 3.999 µS/cm		Sonda multiparametrica WTW; Rango de CE: 0 – 500 mS/cm	
Temperatura (°C)	Equipo multiparámetro Hanna Instruments, Modelo pHep 4 (HI 98127); Rango de Temperatura 0,0 – 60,0 °C		Sonda multiparametrica WTW; Rango de Temperatura 0,0 – 80,0 °C	
Oxígeno disuelto	Oxigenómetro portátil		Sonda multiparametrica WTW; Rango de Oxígeno: 0,0 – 19,99 mg/l	
Velocidad de la corriente (m/s)	Método de objeto flotante		Molinete digital modelo FP 101; Rango de velocidad: 0,1 – 4,5 m/s	
Métodos de análisis químico en laboratorio				
	Poch-UChile 2011*		Amakaik-Ecohyd 2012	
	Método	límite de detección	método	límite de detección
Calcio	SM 3120 B en Standard Methods 21th, 2005	1.78 **	SM 3120B en Standard Methods 21th, 2005	1.78
Nitrato	Método colorimétrico, en Standard Methods 21th, 2005	***	SM 4110B en Standard Methods 21th, 2005	0.046
Nitrito	Método colorimétrico, en Standard Methods 21th, 2005	0.13	SM 4110B (2005) en Standard Methods 21th, 2005	0.009
Fósforo orgánico	SM 3120 B en Standard Methods, 21th 2005	0.6	-	
Fósforo inorgánico	SM 3120 B en Standard Methods 21th, 2005	0.6	-	
Sílice	4500-SiO2 Standard Methods 21th, 2005	0.2**	SM 4500-SiO2 C Standard Methods 21th, 2005	0.2
Fosfato (P-PO4)	-		SM 4500-P E Standard Methods 21th, 2005	0.001
Fósforo total	-		SM 4500-P E Standard Methods 21th, 2005	0.0004
Hierro total	-		SM 3120 B	0.02

\* Referencia para estudio: Subsecretaría de Pesca y Acuicultura /Poch-UChile 2011b. \*\* No señalado en informe, pero se determino según el método. \*\*\* No señalado en el informe.

Tabla 18. Promedios por parámetro químico registrado para este estudio y otros muestreos.

Promedios químicos registrados en diferentes lugares de Chile (mg/l)							
Autor	Amakiak-Ecohyd (2012)	Poch-UChile* (2011)	DGA (1966-2010)	Campos <i>et al.</i> (1988)			
lugar	X y XI región	X y XI región	Cuenca Cachapoal, VI región	Río Pescado	Río Blanco	Río Tepú	Lago Llanquihue
Sílice	16.67	51.49	11.98	16.8	14.3	9.7	3.2
Calcio	6.52	4.18	53.36	0.8	1.2	1.4	2.7
Nitrato	<0.009	<0.13	0.015	0.156**	0.135**	0.248**	0.077**
Nitrito	0.10	0.71	1.550	-	-	-	-
Fósforo inorgánico	0.01	<0.6	-	-	-	-	-
Fósforo orgánico	0.01	<0.6	0.11	-	-	-	-
Hierro	0.17	-	3.46	-	-	-	-

\* Referencia para estudio: Subsecretaría de Pesca y Acuicultura /Poch-UChile 2011b. \*\*valores cuestionados por la comunidad científica.

### 8.7.2 Comparación histórica para métodos y resultados obtenidos en Fitoplancton

Las metodologías de captura y determinación de fitoplancton utilizadas en la actual prospección son las mismas utilizadas anteriormente, sin embargo, existe una diferencia de cinco órdenes de magnitud para sus valores de abundancia promedio de células por ml., lo que sugiere hay un error en las estimaciones de abundancia. Cuando comparamos estos resultados con los obtenidos por Campos *et al.* (1988) en estudios realizados en el Lago Llanquihue, vemos que las abundancias determinadas en cel/ml son muy inferiores a las registradas en anteriores prospecciones, esto, a pesar de que el autor señala una condición eutrófica del cuerpo de agua léntico considerado en este estudio y, los que por definición otorgan mayor estabilidad para generación de una comunidad fitoplanctónica más abundante que la existente en un sistema lótico (ver Tabla 19). Dado esto, se transformaron las abundancias absolutas en abundancias relativas (%), obviando así la diferencia en magnitudes y haciendo comparables los resultados en términos de su proporción en cada muestra.

**Tabla 19. Comparación de métodos y resultados para investigaciones anteriores realizadas en la cuenca con respecto a fitoplancton.**

	<b>Poch-UChile 2011*</b>	<b>Amakaik-Ecohyd 2012</b>	<b>Campos <i>et al.</i> 1988</b>
Captura	Red Fitoplancton	Red Fitoplancton	Botella Van Dorn
determinación taxonómica	Sedgewick Rafter de 1 ml de muestras originales o diluidas y homogenizadas	Sedgewick Rafter de 1 ml de muestras originales o diluidas y homogenizadas	Cámaras de sedimentación Utermohl en muestras de 5, 10 y 25 ml
promedio (cel/mL)	160218	2.84	2.8

\*cita: Subsecretaría de Pesca y Acuicultura /Poch-UChile (2011c).

### 8.7.3 Comparación histórica de métodos y resultados obtenidos para microalgas bentónicas

Los métodos de muestro y determinación de especies utilizados en estudios anteriores son iguales a los utilizados en este proyecto. El valor de abundancia promedio de células/mm<sup>2</sup> en ambos proyectos presenta diferencias dentro del mismo orden de magnitud (ver Tabla 20), lo que puede deberse a una variación estacional, a la inclusión de nuevos puntos en este estudio o bien al aumento considerable de puntos muestreados a nivel espacial. Cabe señalar que las muestras fueron analizadas por las mismas especialistas de las prospecciones previas y por lo tanto el criterio utilizado es idéntico.

**Tabla 20. Comparación de métodos y resultados para investigaciones anteriores realizadas en la cuenca con respecto a diatomeas bentónicas.**

	<b>Poch-UChile 2011*</b>	<b>Amakaik-Ecohyd 2012</b>
Captura	Barrido de rocas	Barrido de rocas
Determinación taxonómica	Digestión acida y montaje de preparados permanentes	Digestión acida y montaje de preparados permanentes
promedio cel/mm <sup>2</sup>	12577	60990

\*cita: Subsecretaría de Pesca y Acuicultura/Poch-UChile (2011c).

## 9 COMENTARIOS METODOLÓGICOS

Desde el año 2010 cuando se detectó por primera vez Didymo en Chile, se han realizado diferentes estudios y prospecciones entre las regiones IX y XII. Por lo anterior, es pertinente considerar la información ya disponible y necesario comparar todos presentes resultados con los previamente obtenidos. A saber:

1. Al comparar la metodología con la cual se muestrean y/o determinan las variables físico-químicas y biológicas, es posible observar que en el actual proyecto se presentan considerables mejoras. Con respecto a los parámetros medidos *in-situ*, el nivel de la instrumentalización utilizada se optimiza al momento de incorporar la utilización de equipo multiparamétrico de mayor precisión y flujómetro digital, que cuantifica de manera mucho más exacta la velocidad de la corriente del río en los sitios prospectados respecto de la metodología de objeto flotante.
2. Con respecto a los parámetros químicos medidos en laboratorio, para todas las variables se mantuvo o redujo el límite de detección. Para el caso de especies químicas de Fósforo y Nitrógeno, la disminución es de varios niveles de magnitud. Esto es particularmente importante ya que se ha documentado la oligotrofia de los ríos del sur de Chile, haciendo necesario muy bajos niveles de detección para lograr cuantificar el valor real de estos parámetros. Esto, sumado a que también se ha documentado la necesidad de conocer las concentraciones de nutrientes en las que vive *D. geminata*. En este contexto, nuestros resultados señalan que es necesario disminuir aún más estos niveles de detección, ya que, a pesar de la mejora implementada, ciertos registros continúan por debajo de su respectivo límite de detección.
3. Desde el punto de vista de la gestión de obtención y entrega de información (ANEXO 2), se procedió al análisis microscópico *in-situ* de las muestras biológicas, notificando rápidamente el avance de la plaga a la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura. Esta mejora en la gestión de datos implica la presencia del especialista en reconocimiento de microalgas bentónicas en las campañas de terreno, lo que significa una integración total de la información, pudiendo relacionar directamente las características del sitio de muestreo y la comunidad bentónica asociada, validando fuertemente la interpretación y análisis de nuestros resultados. Por otra parte, cabe señalar que este paso es fundamental para determinar *in-situ* cambios en la planificación de muestreo, lo que permite optimizar recursos al acotar el muestreo en los sitios de real interés.
4. La información físico-química obtenida para prospecciones anteriores presenta ciertas diferencias con las registradas en el actual proyecto. Puntualmente, los valores de Nitrato y Sílice que se han registrado en prospecciones anteriores son muy altos, y se asemejan a los detectados en cuencas con alto nivel de industrialización. En Chile no existen registros que nos puedan ayudar a dilucidar si los valores registrados anteriormente para estos parámetros podrían ser reflejo de ciertos fenómenos naturales, de modo que frente a esto sólo nos queda utilizar las bases de datos

existentes con cierto nivel de cautela. El resto de los parámetros registrados en prospecciones previas se presenta recurrentemente bajo el límite de detección, limitando fuertemente su posible uso.

5. Los análisis de diatomeas bentónicas entre las prospecciones previas y las actuales son totalmente comparables tanto a nivel metodológico como de resultados. Cabe señalar que no se reportan en Chile estudios de diatomeas bentónicas en estas regiones que presenten registros tan detallados a nivel taxonómico, de modo que esta base de datos biológica generada a partir de las prospecciones financiadas por la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura es de gran importancia para el conocimiento del patrimonio biológico de los ríos del sur de Chile.
6. Por su parte, la base de datos de microalgas plantónicas registrada anteriormente en estas cuencas es comparable a nivel metodológico, sin embargo, la abundancia registrada fue de decenas a centenas de miles de microalgas por ml, superando incluso a las de un lago en condiciones eutróficas. Este hecho sugiere un error en su cálculo. Por lo tanto todos los datos fueron expresados en abundancia relativa para realizar las comparaciones correspondientes.
7. En la Tabla 16 se representa la frecuencia con la que se han prospectados sitios en búsqueda de *Didymo*. En ella es posible observar cómo cerca del 70% de los sitios sólo ha sido muestreado en una ocasión, siendo el foco de todos los estudios la búsqueda de sitios *Didymo*. De este modo, en Chile hoy nos encontramos aún en etapa prospectiva de la plaga, desplazando a una situación secundaria la vigilancia y monitoreo de sitios anteriormente prospectados. Entendiendo que los recursos disponibles para realizar estos estudios son limitados, se recomienda concentrar los esfuerzos en fortalecer los muestreos de vigilancia.

## 10 DISCUSIÓN DE RESULTADOS

El avance de la plaga es un hecho evidente. *Didymo* ha logrado colonizar las cuencas de los ríos Bío-Bío, Valdivia y Toltén, a cientos de kilómetros de los anteriores registros de *Didymo*, en la cuenca del río Puelo en la X Región. La colonización de *Didymo* a regiones biogeografías de difícil acceso para especies de microalgas bentónicas, sugiere que la dispersión es de origen antrópico (no por deriva) o producida por vectores biológicos capaces de migrar grandes distancias (algún tercero con capacidad de migrar transporta la plaga). Este hecho merece dos comentarios: primero, si el vector de dispersión es el hombre o las aves migratorias, y considerando el gran turismo presente en la zona y que las aves tienen capacidad de migrar grandes distancias, no es exagerado sugerir que los “propágulos” de *Didymo* tienen actualmente acceso a **todas** las cuencas del sur de Chile (igual probabilidad de invasión). Segundo, si es el hombre el principal factor de dispersión, la plaga puede ser detenida en gran medida utilizando mecanismos de gestión que logren regular la limpieza y desinfección de todos los objetos que ingresen a ríos contaminados y, principalmente, educando respecto de esta plaga a la comunidad de manera más eficiente. Mientras que si un factor de propagación importante son las aves, el control es



mucho más difícil. Se sugiere realizar estudios de migración de los distintos actores del sector turístico (kayakistas, pescadores, etc.) y también de migración de aves en la región patagónica y su capacidad de transportar células de *D. geminata*.

Respecto de los resultados, las asociaciones significativas que se encuentran entre las características de inspección visual registradas (tipo de hábitat, claridad del agua, etc) y la presencia de la plaga, varían respecto de inspecciones visuales registradas en anteriores prospecciones, dificultando una interpretación clara de estos resultados. Esto sugiere que nuevas condiciones están siendo muestreadas, que condiciones en su variación natural permiten aún el desarrollo de Didymo o que el alga tiene la capacidad de colonizar ahora nuevos tipos de ambientes. Por otra parte, respecto de la inspección visual en busca de Didymo en su expresión macroscópica, pese al aumento en experiencia de nuestro equipo, sigue siendo una gran dificultad, de modo que se insiste en recomendar que las muestras deben siempre ser analizadas con microscopía óptica para confirmar la presencia de Didymo. Esto porque sigue ocurriendo que hay nuevos registros positivos en puntos que parecen no tener Didymo, mientras que otros puntos presentan abundante desarrollo mucoso en las rocas sin presentar células de *D. geminata* en la comunidad algal.

Por otra parte, los análisis estadísticos multivariados que asocian la presencia de Didymo a los parámetros físico-químicos muestran cierta asociación con variables como el Calcio y el Sílice. Sin embargo, al realizar los análisis con cada parámetro no se encuentran resultados significativos, haciendo vaga la interpretación de esta asociación. En tanto, hay análisis que arrojan ciertos resultados significativos, como es el caso del pH. Los sitios con Didymo presentan mayores valores de pH que los sitios sin Didymo, sin embargo, esta asociación no ha sido registrada en anteriores estudios, dificultando su interpretación. Esto, sumado a que el rango de pH en el que se encuentran los ríos patagónicos es muy estrecho (generalmente de 5 a 9), por lo que las asociaciones son bajo este escenario con un rango restringido ya dado el tipo de sistema que se muestrea. Para explicar mejor este efecto, si consideráramos dentro de los puntos negativos para Didymo ríos de Chile que se encuentren en otro rango pH, claramente esta variable se asociaría a la distribución de Didymo en los ríos patagónicos (y no de otras latitudes), sólo que no se observa en estos muestreos dada la homogeneidad del sistema estudiado. Lo mismo ocurriría con la conductividad y temperatura, entre otros.

La velocidad de fondo registró valores menores en sitios en presencia de Didymo, siendo esta una asociación significativa. De esta manera, contamos con una característica física de la rivera que podría asociarse a la colonización de la plaga. Frente a esto, se hace importante recomendar el financiamiento de estudios de modelación hidrológica de las cuencas con y sin Didymo, de modo de poder establecer el rango de velocidades que limitan el crecimiento de la plaga.

Respecto de lo biológico, la metodología de muestro de fitoplancton entrega una idea de la comunidad de algas que vive aguas arriba del sitio de muestreo. De este modo, su principal uso debería ser la detección de Didymo aguas arriba del punto en el que se

obtiene la muestra, teniendo así sólo un carácter diagnóstico. De los resultados de este estudio, sólo en el sitio LIUCURA2 se encontró presencia de *Didymo* en el fitoplancton sin presentar en el bentos. Además, el estudio de la comunidad de microalgas plantónicas no presenta mayores diferencias a nivel espacial (entre cuencas) ni tampoco a nivel temporal (histórico), existiendo siempre amplia dominancia del grupo *Bacillariophyceae*.

De este modo, consideramos que la información obtenida de muestreos planctónicos no presenta un real aporte al conocimiento de las poblaciones de *Didymo* ni a las condiciones en las cuales habita. Esto porque la comunidad microalgal que se determina como acompañante de *Didymo* no necesariamente coexiste en el espacio físico desde el que *Didymo* se desprendió, pudiendo estas otras microalgas provenir desde aguas arriba del punto afectado por la plaga o incluso desde aguas abajo. Se sugiere así analizar en profundidad las ventajas que otorga la detección de todos los *taxa* de microalgas planctónicas, cuando el objetivo es la detección de patrones de asociación de *Didymo* a variables físico-químicas y biológicas. Tal vez, se optimizaría los recursos al utilizar fitoplancton sólo para detectar presencia de *Didymo* aguas arriba y programar muestreos bentónicos que permitan llegar al foco de la plaga y destinar estos recursos a incorporar otros análisis como el perifiton (comunidad microalgal bentónica completa, la que presenta desarrollo atípico aún en ausencia de *Didymo*), macroinvertebrados o peces. Incorporar todo estos análisis sería claramente la mejor manera de aproximarnos a comprender el fenómeno en estudio.

En concordancia con lo explicado en el párrafo anterior, el análisis DCA generado en búsqueda de asociación de comunidades de microalgas plantónicas no arroja resultados significativos, esto se repite para el caso del análisis CCA, donde las variables físico-químicas no explican de manera satisfactoria tampoco la distribución de especies bentónicas.

Los presentes resultados indican que aparentemente la comunidad de diatomeas bentónicas se ve beneficiada frente a la presencia de *Didymo*, aumentando en los sitios la diversidad de especies, y en ciertos otros, la abundancia total de individuos. Este fenómeno es contrario al patrón común que siguen las invasiones biológicas, las cuales excluyen a competidores cuando la invasión ya superó su etapa de expansión. Cuando vemos datos de prospecciones anteriores, es justamente en la cuenca del río Yelcho, donde se detectó por primera vez la especie, donde los niveles de abundancia de diatomeas aumentan, y la diversidad tiene a disminuir en sitios con presencia de *Didymo*, a diferencia del resto de las cuencas. Este patrón se repite en la cuenca del Bío-Bío. Frente a esto, sugerimos que la plaga se encuentra aún en un estado aún inicial de invasión para las cuencas de Valdivia y Toltén, donde aún no se posiciona como especie dominante de la comunidad bentónica. Sin embargo, los índices comunitarios de Bío-Bío sugieren que su efecto en la comunidad se asemeja a la existente en Yelcho, presentando una tasa de invasión atípica, lo que se refleja en lo observado macroscópicamente (ver videos adjuntos en versión digital del informe).

Analizando la dinámica comunitaria desde otro punto de vista, se observa que los casos excepcionales mencionados siguen reflejando el patrón común de distribución de especies presentado por todos los sitios con *Didymo*, no modificando aún la comunidad de diatomeas bentónicas de manera significativa. Esto, dado que los rankings de especies por abundancia, donde todas las comunidades *Didymo* asemejan sus distribuciones al modelo Rama quebrada, representa comunidades de alta competencia con abundancias similares por especie. Estos resultados, sugieren que cuando la plaga llegue a los niveles más avanzados de invasión encontraremos comunidades que se asocien al modelo de serie geométrica, siendo *Didymo* la especie dominante de la comunidad.

Para el conocimiento de la plaga y la real comprensión de patrones de distribución, creemos que se debe hacer hincapié en futuros estudios en el conocimiento de las comunidades de macroinvertebrados y peces, logrando conocer en profundidad el efecto de *Didymo* en todo el sistema limnológico.

Por otro lado, es necesario vigilar y monitorear con mayor frecuencia sitios anteriormente muestreados, de modo de contar con el conocimiento y comprensión del factor temporal que modifica las comunidades de especies bentónicas, descartando considerar fenómenos temporales como fenómenos *Didymo*.

Por otra parte, consideramos necesario comenzar a modelar posibles distribuciones de *Didymo* utilizando información hidromorfológica y físico-química, optimizando así el uso de recursos y aumentando la probabilidad de encuentro de la plaga al momento de comenzar una prospección. De este modo se recomienda mantener los muestreos químicos con la precisión alcanzada en este estudio o incluso mejor que ésta.

## 11 REFERENCIAS

- APHA (2005) Standard Methods for the examination of water and wastewaters, 21 th edition, American Public Health Association, Washington.
- Anderson, M. J. and P. Legendre. 1999. An empirical comparison of permutation methods for tests of partial regression coefficients in a linear model. *Journal of Statistical Computation and Simulation* 62: 271-303.
- Asprey J, K Benson-Evans y J Furet. (1964) A contribution to the study of South American freshwater phytoplankton. *Gayana Botánica* 10: 118.
- Battarbee R (1986). Diatoms analysis. Handbook of Holocene palaeoecology and palaeohydrology. John Wiley & Sons, New York, New York, USA. 570 pp.
- Bothwell M R & Kilroy C (2011) Phosphorus limitation of the freshwater benthic diatom *Didymosphenia geminata* determined from the frequency of dividing cells. *Freshwater Biology* 56: 565-578.
- Bourrelly P (1968) Notes sur les Péridiniens d'eau douce. *Protistologica* 4: 5-14.
- Bourrelly P (1970) Les Algues d'eau douce. Algues bleues et rouges. Tomo III. Ed. N. Boubée et Cie. 512 pp.
- Branson J (2006) *Didymosphenia geminata* economic impact assessment: Wellington, New Zealand, New Zealand Institute of Economic Research Report: 1-22.
- Campbell M L (2005) Organism Impact Assessment (OIA) for potential impacts of *Didymosphenia geminata*. All Ocean Ecology, Blairgowrie, Australia. For Biosecurity New Zealand. 82 p.
- Campos H, W Steffen, G Aguero , O Parra & L Zúñiga (1988) Limnological study of lake Llanquihue (Chile) morphometry, physics, chemistry and primary productivity. *Arch. Hydrobiol. (Suppl)* 1: 37–67.
- Crozzoli L & RJ Batalla (2003) Aplicación de la fotografía al análisis granulométrico de ríos con lecho de gravas. *Rev C&G* 17 (3-4): 29-39.
- Díaz C.A. 2010, Centro Nacional del Medio Ambiente (CENMA) de la Universidad de Chile. Presentado a: Dirección General de Aguas (DGA). Director de Proyecto: Dr (c) Ximena Molina, CENMA – Universidad de Chile. ANEXO Protocolo para el análisis de diatomeas en sistemas lóticos chilenos.
- Díaz C, X Molina & V Montecino (2012) Manual para el monitoreo e identificación de la microalga bentónica *Didymosphenia geminata*. Producido por POCH-Universidad de Chile y financiado por la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura. Diseño e impresión Menssage. 74 pp.
- Dufford R, H Zimmerman, L Cline & J Ward (1987) Responses of epilithic algae to regulation of Rocky Mountain streams. En: Craig JF y JB Kemper, eds. *Regulates streams: advances in ecology*: New York, Plenum Press: 383-390.
- Jaksic F y Marone L (2007) *Ecología de Comunidades*. Segunda edición ampliada. Ediciones Universidad Católica de Chile, Santiago
- Kawecka B & J Sanecki (2003) *Didymosphenia geminata* in running waters of southern Poland—symptoms of change in water quality? *Hydrobiology* 495: 193–201.
- Kilroy C (2004) A new alien diatom, *Didymosphenia geminata* (Lyngbye) Schmidt: its biology, distribution, effects and potential risks for New Zealand fresh waters. NIWA, Christchurch, New Zealand. 34p.
- Kilroy C (2005) Test to determine the effectiveness of methods for decontaminating materials that have been in contact with *Didymosphenia geminata*: National Institute of Water and Atmospheric Research, New Zealand, Client Report, CHC2005-005, NIWA Project MAF05501.
- Kilroy C, A Lagerstedt, A Davey & K Robinson (2007) Studies on the survivability of the invasive diatom *Didymosphenia geminata* under a range of environmental and chemical conditions. NIWA Client Report CHC2006-116: 110 pp.
- Kilroy C & M Dale (2006) Biosecurity New Zealand A comparison of sampling methods for the detection of the invasive alga *Didymosphenia geminata* in New Zealand rivers. NIWA Project: MAF06509. NIWA Client Report: CHC2006-078.
- Kilroy C, B Biggs, N Blair, P Lambert, , B Jarvie, K Dey, K Robinson, & D Smale (2005) Ecological studies of *Didymosphenia geminata*: National Institute of Water an Atmospheric Research, New Zealand, Client Report CHC2005-123, NIWA Project: MAF05505.
- Krammer K & H Lange-Bertalot (1986) Süßwasserflora von Mitteleuropa. *Bacillariophyceae* (v.2). *Naviculaceae* (pt.1) Jena. Germany, Fisher. 876 p.

- Lagerstedt MA. 2007. *Didymosphenia geminata*, an example of a biosecurity leak in New Zealand. Thesis in partial fulfilment of requirements for M.Sc. in Environmental Sciences, University of Canterbury, New Zealand. 94p
- Larned S, B Biggs, N Blair, C Burns, B Jarvie, D Jellyman, C Kilroy, J Leathwick, K Lister, J Nagels, M Shallenberg, S Sutherland, J Sykes, W Thompson, K Vopel & B Wilcock (2006) Ecology of *Didymosphenia geminata* in New Zealand. Habitat and ecosystem effects-Phase 2. National Institute of Water and Atmospheric Research. Client Report CHC2006-086, NIWA Project MAF06507.
- MacArthur R (1957) On the relative abundance of bird species. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 43: 293-295.
- NCh-ISO. 17025 Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración. INN.
- Parra O, M González, V Dellarossa, P Rivera & M Orellana (1982-1983) Manual Taxonómico del Fitoplancton de Aguas Continentales; con especial referencia al fitoplancton de Chile. Editorial de la Universidad de Concepción Vol. 1, *Cyanophyceae*, 1982; Vol. 2, *Chrysophyceae-Xanthophyceae*, 1982; Vol. 3, *Cryptophyceae, Dinophyceae y Euglenophyceae*, 1982; Vol. 4, *Bacillariophyceae*, 1982; Vol. 5 (partes 1 y 2), *Chlorophyceae*, 1983.
- Parra O & C Bicudo (1996) Algas de Aguas Continentales: Introducción a la Biología y Sistemática. Ediciones Universidad de Concepción. 268 pp.
- Preston F (1948) The commonness and rarity of species. *Ecology* 29: 254 – 283.
- Patrick R & C. W. Reimer (1966) The diatoms of the United States, exclusive of Alaska and Hawaii, Volume 1-Fragilariaceae, *Eunotiaceae, Achnantheaceae, Naviculaceae*. Academy of Natural Sciences of Philadelphia Monograph No. 13, 688 pp.
- Peredo-Parada M, Martínez-Capel F, Quevedo D & A Hernández-Mascarell (2011) Implementation of an eco-hydrological classification in Chilean rivers. *Gayana*, 75 (1): 26-38.
- Resolución Exenta (SUBPESCA) 3064/2010 y sus modificaciones que declara plaga a la especie *Didymosphenia geminata* en los ríos Espolón y Futaleufú. Publ. D.O.13 de octubre de 2010
- Rivera P (1983) A guide for references and distribution for the class *Bacillariophyceae* in Chile between 18°28'S and 58°S. *Bibliotheca Diatomologica*: 1-386.
- Rodríguez O (2009) Análisis de Componentes Principales. Mayo 2009.
- Round F (1993) A review and Methods for the use of Epilithic Diatoms for Detecting and Monitoring changes in River Water Quality. *Methods for the Examination of Waters and Associated Materials*. HMSO, London. 65 p.
- Skulberg O (1982) Effects of stream regulation on algal vegetation. En: Lillehammer A y SJ Saltveit eds. *Regulated Rivers*. New York, Columbia University Press: 107-124.
- Spaulding S & L Elwell (2007) Increase in nuisance blooms and geographic expansion of the freshwater diatom *Didymosphenia geminata*: U.S. Geological Survey Open-File Report 2007-1425, 38 pp.
- Subsecretaría de Pesca y Acuicultura (2010) Presencia de *Didymosphenia geminata* en río Espolón y río Futaleufú, Región de los Lagos. Propuesta de Área de plaga. Informe Técnico N° 2064.
- Subsecretaría de Pesca y Acuicultura /Poch-UChile (2011a) Informe Final, "Prospección de la presencia de *Didymosphenia geminata* en las regiones XIV, X, XI y XII y elaboración de material de difusión tendiente a su control" Proyecto ejecutado por POCH-Universidad de Chile y financiado por la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura. Octubre 2010-enero 2011.
- Subsecretaría de Pesca y Acuicultura /Poch-UChile (2011b) Informe Final, "Prospección de la presencia de *Didymosphenia geminata* en las regiones de Los Lagos y Aysén". Mayo – septiembre 2011.
- Subsecretaría de Pesca y Acuicultura /Poch-UChile (2011c) Informe Final, "Prospección de la presencia de *Didymosphenia geminata* en las regiones de La Araucanía y Los Ríos". Junio – octubre 2011.
- Subsecretaría de Pesca y Acuicultura /Poch-UChile (2012) Informe Final, "Prospección de la presencia de *Didymosphenia geminata* en la Subcuenca del Río Yelcho y las cuencas del Río Palena y Río Baker". Noviembre 2011 – abril 2012.
- Sundareshwar P, S Upadhyay, M Abessa, S Honomichl, B Berdanier, S Spaulding, C Sandvik & A Trennepohl (2011) The paradox of algal blooms in oligotrophic waters. *Geophysical Research Letters*, 38, L10405, DOI: 10.1029/2010GL046599.

- Sundareshwar P, Upadhyay S, Abessa M, Honomichl S, Berdanier B, Spaulding S, Sandvik C, Trennepohl A (2011) *Didymosphenia geminata*: Algal blooms in oligotrophic streams and rivers. Geophysical Research Letters 38.
- Ter Braak CJF y P Smilauer (1998) Canoco for Windows (4.0). Centre for Biometry, Wageningen. Wagner B, Bennike O, Bos JAA, Cremer H, Lotter AF & M Melles. 2008. A multidisciplinary study of Holocene Sediment records from Hjort So on Store Koldewey, Northeast Greenland. Journal of Paleolimnology, 39: 381-398.
- Whittaker R (1965) Dominance and diversity in land plant communities. Science 147: 250-260.
- Whitton B, N Ellwood & B Kawecka (2009) Biology of the freshwater diatom *Didymosphenia*: a review. Hydrobiologia 630:1-37 p.