

EN LO PRINCIPAL: SE TENGA PRESENTE. OTROSÍ: ACOMPAÑA DOCUMENTO QUE INDICA.

SUPERINTENDENCIA DEL MEDIO AMBIENTE

Sra. Fiscal Instructora

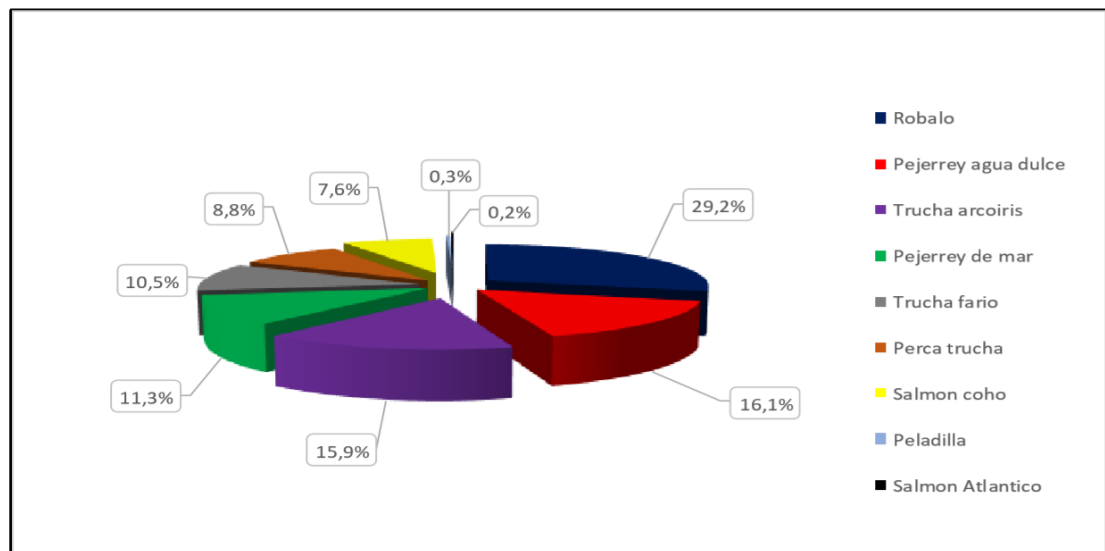
FELIPE MENESES SOTELO, abogado, por MOWI CHILE S.A. ("Compañía"), en autos administrativos ROL D-103-2018, respetuosamente digo:

1. En noviembre de 2019 el Instituto de Fomento Pesquero (IFOP) hizo público el informe denominado "**Evaluación y Seguimiento de la Situación Sanitaria de Especies Silvestres en Agua Dulce y Mar**" preparado para la Subsecretaría de Economía y EMT, como parte de un programa de investigación que tiene por objetivo monitorear las Enfermedades de Alto Riesgo (EAR) en peces silvestres y ferales de cuerpos de aguas fluviales, estuarinos y marinos de las regiones donde se han establecido las producciones de salmonídeos (La Araucanía, Los Ríos, Los Lagos, Aysén y Magallanes)
2. Si bien el estudio reporta un conjunto de datos relevantes, nos parecen de particular interés para el presente caso, los siguientes:
 - La actividad se realizó en cinco regiones, en el período diciembre de 2018 a agosto de 2019 -posterior al escape ocurrido desde el CES Punta Redonda- y la obtención de muestras se concentró en el perímetro de los centros de cultivo, fuera del área de la concesión, considerando un n muestral de mínimo 150 y máximo 180 peces, como sumatoria de las dos campañas de muestreo programadas. Por cada zona geográfica se consideró un total de 3 puntos de muestreo, con su georreferenciación respectiva¹.
 - El número de peces capturados en la totalidad de las zonas geográficas definidas fue de 4192 individuos, especies que se enmarcaron en lo establecido

¹ En relación a los muestreos, se obtuvieron ejemplares de las 29 zonas previamente definidas, las que correspondieron a las zonas distribuidas en las regiones de La Araucanía, Los Ríos, Los Lagos, Aysén y Región de Magallanes. Si bien estaba comprometido la captura de un mínimo de 150 ejemplares en las 29 zonas de estudio consensuadas, no fue posible la obtención de este número en las zonas correspondiente al lago Natri, en Chiloé, Región de Los Lagos y Puerto Natales en la Región de Magallanes y de la Antártica Chilena, obteniéndose un total de 16 y 94 ejemplares; respectivamente; después de la ejecución de reiteradas faenas de pesca en cada una de las zonas mencionadas, con condiciones climáticas desfavorables. Situación similar se ha presentado en años anteriores para el lago Natri, lo cual ya estaba en conocimiento de la contraparte técnica del estudio.

en la Resolución Exenta de la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura N°3160, del 04 de octubre del 2017 que otorgó la autorización de pesca de investigación.

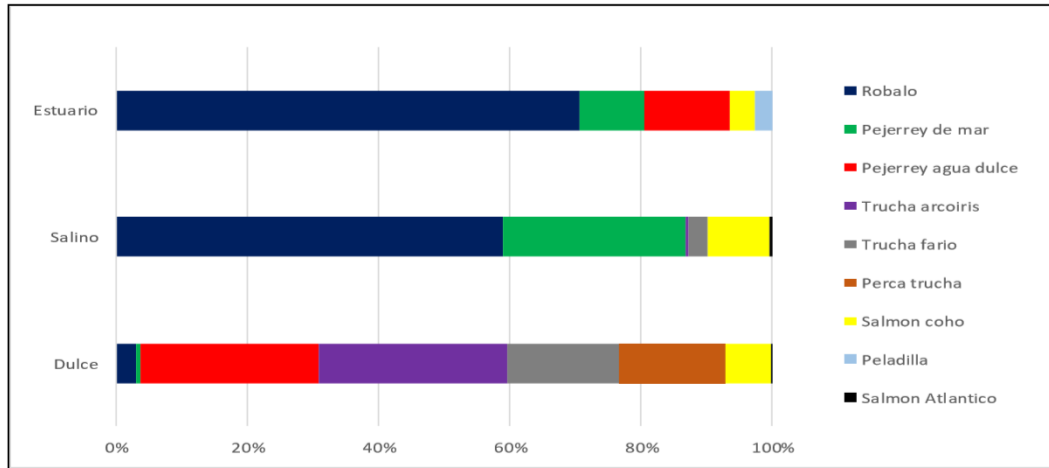
- Del total de peces capturados en las cinco regiones, 1662 (39,6%) correspondieron a peces capturados en la Región de Los Lagos, seguida por la Región de Aysén del General Carlos Ibáñez del Campo con un 23,7% (992) del total, en tercer y cuarto lugar se ubicaron las regiones de La Araucanía (617) y de Los Ríos (542) con un 14,7% y 12,9% de las capturas, respectivamente. Finalmente, en la Región de Magallanes y de la Antártica Chilena se capturó sólo el 9% (379) del total de peces (Figura 34).
- La estratificación de especies capturadas dentro de las cinco regiones muestra que el Salmón Atlántico fue el menos abundante, correspondiendo tan sólo al 0,2% de las capturas. La figura inserta a continuación grafica los resultados²:



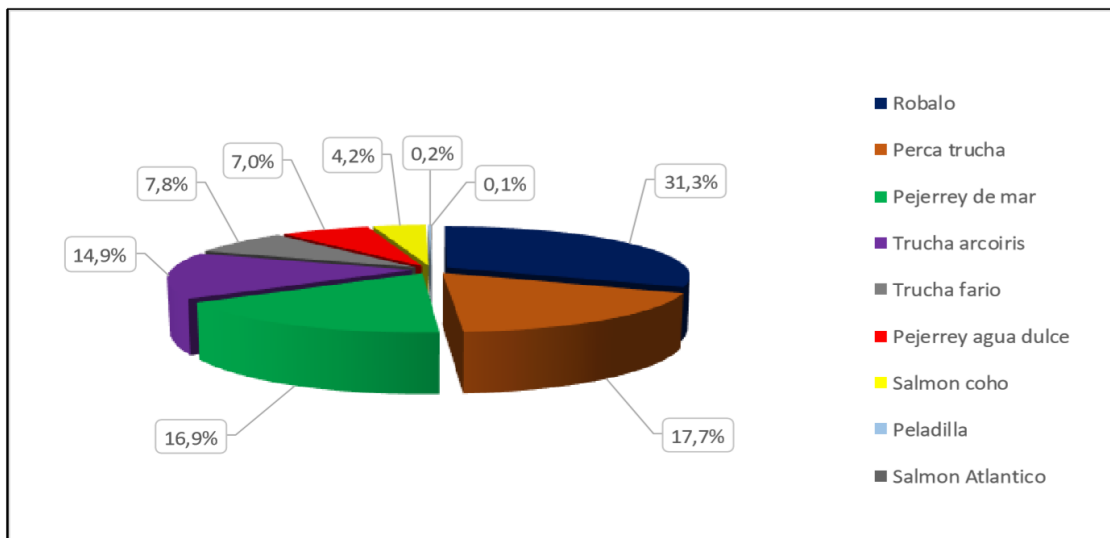
- La estratificación del porcentaje de especies capturadas por cuerpos de agua muestra que en el medio estuarino no hubo capturas de Salmón Atlántico, en tanto que, en cuerpos de agua dulce y salada, su presencia es mínima y estadísticamente cercana a cero.

² Todos los datos y figuras son extraídos del informe “Evaluación y Seguimiento de la Situación Sanitaria de Especies Silvestres en Agua Dulce y Mar” (IFOP, 2019).

- La figura inserta a continuación grafica los resultados:



- Por su parte, el análisis de capturas por región da cuenta de que, en la **Región de Los Lagos** en el período que duró el estudio, tan solo fue capturado un (1) ejemplar de Salmón Atlántico representativo de 0,1% del total de capturas (1662). El siguiente gráfico ilustra el detalle de los resultados:



- Por último, los estudios de contenido estomacal muestran que, de los 9 ejemplares de Salmón Atlántico capturados, 6 se registraron sin contenido y sólo uno evidenció materia orgánica. La tabla inserta a continuación muestra los resultados y permite efectuar una comparación con los contenidos de otras especies:

Tabla 14.
Distribución del contenido estomacal por especie capturada.

Especie	Crustáceos	Moluscos	Peces	Pellet	Poliquetos	MO	SA	SM	SS
Robalo	145	10	21	4	38	664	259	85	-
Pejerrey agua dulce	20	128	2	1	-	315	160	50	-
Pejerrey de mar	4	-	-	-	12	145	137	177	-
Trucha fario	8	8	96	1	-	153	122	51	1
Trucha arcoiris	26	29	65	5	-	210	277	53	-
Salmon coho	15	-	48	8	2	72	76	98	-
Perca trucha	120	1	12	-	-	95	131	10	-
Peladilla	-	-	2	-	-	-	4	7	-
Salmon Atlántico	-	-	-	-	-	1	6	2	-
Total general	338	176	246	19	52	1655	1172	533	1

MO: Materia orgánica, SA: Sin alimento; SM: Contenido líquido seromucoso; SS: Sero sanguinolento

4. Los resultados que arroja este estudio científico, contrastan fuertemente con el contenido del reporte “**Efectos y Consecuencias Ambientales del Escape de Salmónidos Ocurrido en el CES Punta Redonda, Isla Guar, durante Julio de 2018**” preparado por el propio IFOP a requerimiento de esa Superintendencia que, sin basarse en estudios ni datos relacionados con el escape ocurrido desde el CES Punta Redonda, efectuó un conjunto de hipótesis sobre los potenciales efectos del escape en el medio ambiente. Dichos comentarios fueron detalladamente objetados, directamente por mi representada y, adicionalmente, mediante el informe preparado por el Sr. Ismael Cáceres Montenegro, Biólogo Marino y Master en Environmental Management, Jefe de Proyectos y Coordinador Área Biótica de SGA Consultores S.A.
5. Los resultados y la evidencia empírica, por otro lado, son fuertemente consistentes con las referencias a la literatura científica acompañadas por esta parte y que se relacionan con la capacidad de sobrevivencia y establecimiento en el medio natural de la especie Salmón Atlántico -que la distinguen ampliamente de otras especies de salmónidos- y los sucesivos informes que INVASAL -un organismo científico y autónomo- ha preparado, aunque con otra orientación, sobre este asunto y que han sido acompañados a estos autos administrativos .
6. Las conclusiones de los **estudios científicos efectuados** que tienen base en capturas efectivas en la zona y en el período posterior a la ocurrencia del escape del CES Punta Redonda, **hacen insostenible la hipótesis de que el Salmón Atlántico escapado haya causado daño ambiental**, pues los datos dan cuenta de su escasísima presencia en el área, lo que convierte sus efectos eventuales -pues no se ha demostrado que se haya producido alguno- sean marginales y, en ningún caso, tengan la entidad que la Ley sobre Bases Generales del Medio Ambiente exige para que sean calificados como “daño ambiental” en su artículo 2 letra e). Cualquier otra conclusión contradice los hechos y la prueba aportada en estos autos, es infundada y carente de toda razonabilidad.

POR TANTO,

SOLICITO A USTED, tener presente lo indicado para los efectos de resolver.

OTROSÍ: Vengo en acompañar copia simple del informe “*Evaluación y Seguimiento de la Situación Sanitaria de Especies Silvestres en Agua Dulce y Mar*” (IFOP, 2019).

POR TANTO,

SOLICITO A USTED, Lo tenga por acompañado.

A handwritten signature in black ink, reading "Felipe Llanes". The signature is written in a cursive style with a large, sweeping initial 'F'.



INFORME FINAL

Convenio de Desempeño 2018

Evaluación y seguimiento de la situación sanitaria
de especies silvestres en agua dulce y mar

SUBSECRETARÍA DE ECONOMÍA Y EMT / noviembre 2019



INFORME FINAL

Convenio de Desempeño 2018
Evaluación y seguimiento de la situación sanitaria
de especies silvestres en agua dulce y mar

SUBSECRETARÍA DE ECONOMÍA Y EMT / noviembre 2019

REQUIRENTE

**SUBSECRETARÍA DE ECONOMÍA Y
EMPRESAS DE MENOR TAMAÑO**

Subsecretario de Economía y
Empresas de Menor Tamaño
Ignacio Guerrero Toro

EJECUTOR

INSTITUTO DE FOMENTO PESQUERO, IFOP

Director Ejecutivo
Luis Parot Donoso

Jefe División Investigación en Acuicultura
Leonardo Guzmán Méndez

JEFE DE PROYECTO

Juan Carlos Quintanilla Correa

AUTORES

Juan Carlos Quintanilla Correa
Margarita González Gómez

COLABORADORES

Paola Olmos Iturrieta
Loreto Ovalle Merino
Verónica Matus Cifuentes
Mario Rivas Flores
Renato Oyarzún Martínez
María Eugenia Loy Trejos
Noelia Vega Oyarzún
Katerine Subiabre Alvarado
María Paz Navarrete Ojeda
Mylena Menanteau Mansilla
Claudia Spinetto Castro
Cristián Oyarzo Maldonado
Dany Alvarez Millan



RESUMEN EJECUTIVO

El presente Programa de Investigación tiene por objetivo establecer un monitoreo de las Enfermedades de Alto Riesgo (EAR) en peces silvestres y ferales de cuerpos de aguas fluviales, estuarinos y marinos de las regiones donde se han establecido las producciones de peces salmonídeos a nivel industrial (La Araucanía, Los Ríos, Los Lagos, Aysén y Magallanes). La iniciativa considera la evaluación de especies tanto salmonídeas como no salmonídeas, respecto de la detección de agentes patógenos virales y bacterianos, tanto exóticos como endémicos de nuestro país.

Como ha sido el proceder en la ejecución del presente programa, la metodología diagnóstica utilizada para desarrollar el monitoreo ha sido la misma que en los estudios de etapas anteriores, y que corresponde a la técnica molecular de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), en tiempo real seleccionada debido a la rapidez, sensibilidad y especificidad de la misma, permitiendo entregar resultados más confiables y en un menor tiempo.

A la fecha del presente informe final, de las 29 zonas propuestas para obtención de ejemplares, se efectuó el muestreo en el 100% de las zonas comprometidas en las cinco regiones geográficas sometidas bajo monitoreo. Se cumplió con el número muestral comprometido en 27 zonas, sin embargo, en el lago Natri y en la zona de Puerto natales no se alcanzó el total de especies capturadas comprometidas, con 16 y 94 muestras, respectivamente.

Respecto de las capturas, la Región de Los Lagos fue la que concentró el mayor número de especies capturadas, seguido de la Región de Aysén del General Carlos Ibáñez del Campo, y la que concentró el menor número fue la Región de Magallanes y de la Antártica Chilena. La especie mayormente capturada correspondió a la especie róbalo, seguido de pejerrey de mar y trucha arcoiris, similar a lo presentado en etapas anteriores del programa de monitoreo.

Respecto a los análisis para la detección de agentes patógenos causantes de enfermedades de alto riesgo (EAR), de las 4190 muestras que fueron analizadas, 71 resultaron positivas, donde la Región de Aysén del General Carlos Ibáñez del Campo presentó el mayor número de muestras positivas con 30, seguido por la Región de Los Lagos con 30 muestras, Región de Magallanes y de la Antártica Chilena con 7 muestras, y finalmente la Región de Los Ríos con 6 muestras. No se presentaron muestras positivas en la Región de La Araucanía.

En relación al análisis epidemiológico efectuado, las mayores proporciones de especies silvestres que resultaron positivas a la detección de material genético de *P. salmonis* se encontraron principalmente en los barrios de la Región de Aysén del General Carlos Ibáñez del Campo, al igual que las tasas de mortalidad anual por Piscirickettsiosis en los centros de cultivo, las que presentaron niveles más altos en la misma región, siendo los barrios 21b (0,11%), 21d (0,07%) y 28b (0,07%) aquellos con mayor tasa de mortalidad por el patógeno. En el análisis de correlación efectuado entre los resultados



obtenidos de muestras positivas a agentes patógenos en peces silvestres con los resultados de la tasa mortalidad anual por Piscirickettsiosis en centros de cultivo de salmónidos, el análisis demostró la existencia de una relación de tipo positiva entre las variables, sin embargo, los resultados también indicaron que esa relación no fue significativa ($p > 0.05$).

En relación al estudio de desafío por cohabitación entre salmón del Atlántico (*S. salar*) y róbalo (*E. maclovinus*) se obtuvo una curva esperada de mortalidad en los salmónidos troyanos, con un 97% de mortalidad promedio específica a *P. salmonis* al día 17 pi, sin embargo, no se produjo mortalidad en el grupo róbalo troyano que fue inoculado igualmente que la especie salmónida. La mortalidad obtenida de róbalos cohabitantes no presentó signología clínica acorde a la presentada habitualmente en salmónidos, y dado a que no se registró mortalidad en los salmónidos cohabitantes del grupo control positivo, grupo en que se verifica la transmisión del patógeno, se procedió a invalidar el ensayo experimental, por lo que, no fue posible identificar ni evaluar la capacidad de la especie no salmónida como reservorio y transmisor del patógeno *P. salmonis*.

En relación a los análisis genéticos practicados a ejemplares de trucha arcoíris, El análisis de asignación individual de las muestras mostró tener mayor parentesco genético con individuos del grupo genético de referencia correspondiente al Lago Llanquihue (67%), seguido de individuos pertenecientes al grupo genético de referencia de Piscicultura (23%).

En cuanto a las tendencias estimadas de las capturas obtenidas entre los periodos 2010 al 2019, estas han presentado un comportamiento cíclico, aunque se pudieron observar capturas inferiores en las especies salmónidas con respecto a los peces nativos, como ha sido el comportamiento durante los últimos años de programa. Las tendencias de los resultados positivos a los patógenos en vigilancia, en términos generales, registró una disminución en la detección de los patógenos para el último período de programa, estando representadas mayormente por la bacteria *P. salmonis*.

De los 36.038 ejemplares que han sido analizados durante la totalidad del programa, el 92,86% han sido negativos a la presencia de patógenos causantes de EAR, en tanto el 7,14% dieron resultados positivos a la detección de material genético de patógenos. De ellos, el 80,5% fue positivo a *P. salmonis*, el 9,48% a *F. psychrophilum*, el 6,88% a IPNV, el 3,03% a PRV y el 0,12% a *R. salmoninarum*. (orden)

En cuanto, a la ocurrencia por región, en este período, la Región de Aysén del General Carlos Ibañez del Campo fue la que presentó el mayor número de casos positivos, seguida de la Región de Los Lagos, situación contraria a lo ocurrido en el período 2017-2018. Es importante destacar, que por primera vez en el programa, se detecta la presencia del agente patógeno *Renibacterium salmoninarum* en tres ejemplares de salmón coho capturados en la Región de Magallanes y de la Antártica Chilena.

El presente informe da cuenta de las actividades y resultados finales comprometidos en el programa durante el período 2018-2019 y los resultados acumulados desde al año 2010 al 2019.



ÍNDICE GENERAL

	Página
RESUMEN EJECUTIVO	i
ÍNDICE GENERAL	iii
ÍNDICE DE FIGURAS	v
ÍNDICE DE TABLAS	xii
ÍNDICE DE ANEXOS	xiv
1. INTRODUCCIÓN	1
2. OBJETIVO GENERAL	5
3. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	5
4. METODOLOGÍA	6
4.1. Revisión bibliográfica.....	6
4.2. Trámites y coordinación de Pesca de Investigación.....	6
4.3. Definición de puntos de muestreo	12
4.4. Ejecución de campañas de muestreo y muestreo biológico de las capturas.....	13
4.5. Análisis diagnóstico de muestras para la detección de material genético de agentes patógenos causantes de EAR en los ejemplares capturados.....	17
4.6. Análisis epidemiológico de brotes de una Enfermedad de Alto Riesgo (EAR) en peces de cultivo con el estatus Sanitario de las especies silvestres muestreadas.....	22
4.7. Estudio de desafío bidireccional por cohabitación con <i>P. salmonis</i> para las especies <i>Eleginops maclovinus</i> y <i>Salmo salar</i>	23
4.8. Análisis genéticos de ejemplares de trucha arcoíris capturados.....	25
4.9. Análisis de tendencias de las capturas y detección de material genético de agentes patógenos en las muestras analizadas y principales brechas de estudios previos....	29
5. RESULTADOS	30
5.1. Revisión bibliográfica.....	30
5.2. Trámites y coordinación de Pesca de Investigación.....	33
5.3. Definición de puntos de muestreo	35
5.4. Ejecución de campañas de pesca y muestreo biológico de las capturas	53
5.5. Análisis diagnóstico de la detección de material genético de agentes patógenos causantes de EAR en los ejemplares capturados	84



5.6.	Análisis epidemiológico de brotes de una Enfermedad de Alto Riesgo (EAR) en peces de cultivo con el estatus Sanitario de las especies silvestres muestreadas	97
5.7.	Estudio de desafío bidireccional por cohabitación con <i>P. salmonis</i> para las especies <i>Eleginops maclovinus</i> y <i>Salmo salar</i>	110
5.8.	Análisis genéticos de ejemplares de trucha arcoíris capturados.....	115
5.9.	Tendencias de las capturas y detección de material genético de agentes patógenos en las muestras analizadas y principales brechas de estudios previos....	120
6.	DISCUSIÓN.....	147
7.	CONCLUSIONES.....	154
7.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	158

ANEXOS

- Anexo 1.** Carta oficio de solicitud de Pesca de Investigación
- Anexo 2.** Resolución de Pesca de Investigación – R. Ex N° 3601 de 17 octubre 2018
- Anexo 3.** Protocolo de desafío de cohabitación
- Anexo 4.** Procedimiento de necropsia y toma de muestras de órganos
- Anexo 5.** Programa de Seminario de difusión de resultados y listado de participantes
- Anexo 6.** Documento borrador con los principales resultados del estudio
- Anexo 7.** Respuestas a observaciones del evaluador



ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1.** Diseño y disposición de grupos experimentales, por estanque, en estudio de cohabitación. Texto en rojo corresponde a peces "troyanos".
- Figura 2.** Localidades que componen los grupos de referencia de Trucha Arcoíris entre las Regiones de Arica y Parinacota y Los Lagos.
- Figura 3.** Macrozonas SUBPESCA para la Región de Los Lagos y Región de Aysén del General Carlos Ibáñez del Campo.
- Figura 4.** Estaciones de muestreo sector del Lago Caburga, Región de la Araucanía.
- Figura 5.** Estaciones de muestreo sector del Lago Calafquén, Región de La Araucanía.
- Figura 6.** Estaciones de muestreo sector del Lago Villarrica, Región de La Araucanía.
- Figura 7.** Estaciones de muestreo sector del Lago Colico, Región de La Araucanía.
- Figura 8.** Estaciones de muestreo sector Estuario y Río Valdivia, Región de Los Ríos.
- Figura 9.** Estaciones de muestreo sector Lago Riñihue, Región de Los Ríos.
- Figura 10.** Estaciones de muestreo sector Lago Panguipulli, Región de Los Ríos.
- Figura 11.** Estaciones de muestreo sector Lago Ranco, Región de Los Ríos.
- Figura 12.** Estaciones de muestreo Macrozona 1, Región de Los Lagos.
- Figura 13.** Estaciones de muestreo Macrozona 2, Región de Los Lagos.
- Figura 14.** Estaciones de muestreo sector Macrozona 3, Región de Los Lagos.
- Figura 15.** Estaciones de muestreo sector Macrozona 4, Región de Los Lagos.
- Figura 16.** Estaciones de muestreo sector Macrozona 5, Región de Los Lagos.
- Figura 17.** Estaciones de muestreo sector Lago Puyehue, Región de Los Lagos.
- Figura 18.** Estaciones de muestreo sector Lago Rupanco, Región de Los Lagos.
- Figura 19.** Estaciones de muestreo sector Lago Llanquihue, Región de Los Lagos.
- Figura 20.** Estaciones de muestreo sector Lago Chapo, Región de Los Lagos.
- Figura 21.** Estaciones de muestreo sector Lago Yelcho, Región de Los Lagos.
- Figura 22.** Estaciones de muestreo sector Lago Natri, Región de Los Lagos.
- Figura 23.** Estaciones de muestreo sector Lago Huillinco, Región de Los Lagos.
- Figura 24.** Estaciones de muestreo sector Macrozona 6, Región de Aysén.
- Figura 25.** Estaciones de muestreo sector Macrozona 7, Región de Aysén.
- Figura 26.** Estaciones de muestreo sector Macrozona 8, Región de Aysén.



- Figura 27.** Estaciones de muestreo sector de Fiordo Aysén, Región de Aysén.
- Figura 28.** Estaciones de muestreo sector de Caleta Tortel, Región de Aysén.
- Figura 29.** Estaciones de muestreo sector Río Cochrane, Región de Aysén.
- Figura 30.** Estaciones de muestreo sector Lago Riesco, Región de Aysén.
- Figura 31.** Estaciones de muestreo sector Puerto Natales, Región de Magallanes.
- Figura 32.** Estaciones de muestreo sector Capitán Aracena, Punta Arenas, Región de Magallanes.
- Figura 33.** Estaciones de muestreo sector Lago Sofía, Región de Magallanes.
- Figura 34.** Total de peces capturados en las regiones sometidas bajo estudio.
- Figura 35.** Número de peces capturados por zona geográfica de las regiones de La Araucanía y de Los Ríos.
- Figura 36.** Número de peces capturados por zona geográfica de la Región de Los Lagos.
- Figura 37.** Número de peces capturados por zona geográfica de las regiones de Aysén del General Carlos Ibáñez del Campo y Magallanes y la Antártica Chilena.
- Figura 38.** Porcentaje total de peces capturados por cuerpo de agua.
- Figura 39.** Distribución porcentual, según especie, de peces capturados en las regiones de La Araucanía, Los Ríos, Los Lagos, Aysén del General Carlos Ibáñez del Campo y de Magallanes y la Antártica Chilena.
- Figura 40.** Estratificación del porcentaje de peces capturados por cuerpo de agua.
- Figura 41.** Estratificación del porcentaje de peces capturados por Región.
- Figura 42.** Porcentaje de peces capturados en la Región de La Araucanía según especie.
- Figura 43.** Proporción de peces capturados, zona geográfica, en la Región de la Araucanía.
- Figura 44.** Porcentaje de peces capturados en la Región de Los Ríos según especie.
- Figura 45.** Proporción de peces capturados por zona geográfica en la Región de Los Ríos, según especie.
- Figura 46.** Porcentaje de peces capturados en la Región de Los Lagos según especie.
- Figura 47.** Proporción de peces capturados, por zona geográfica, para cuerpos de agua estuarinos y de mar en la Región de Los Lagos, según especie.
- Figura 48.** Proporción de peces capturados, por zona geográfica, para cuerpos de agua dulce en la Región de Los Lagos, según especie.
- Figura 49.** Porcentaje de peces capturados en la región de Aysén del General Carlos Ibáñez del Campo según especie.
- Figura 50.** Proporción de peces capturados, por zona geográfica, en la Región de Aysén del General Carlos Ibáñez del Campo, según especie.



- Figura 51.** Porcentaje de peces capturados en la Región de Magallanes y de la Antártica Chilena según especie.
- Figura 52.** Proporción de peces capturados por zona geográfica en la Región de Magallanes y de la Antártica Chilena, según especie.
- Figura 53.** Distribución por sexo de especies capturadas.
- Figura 54.** Estratificación por sexo y zonas, para la Región de la Araucanía.
- Figura 55.** Estratificación por sexo y zonas, para la Región de Los Ríos.
- Figura 56.** Estratificación por sexo y zonas, para la Región de Los Lagos.
- Figura 57.** Estratificación por sexo y zonas, para la Región de Aysén del General Carlos Ibáñez del Campo.
- Figura 58.** Estratificación por género, para la Región de Magallanes y de la Antártica Chilena.
- Figura 59.** Distribución de ejemplares según estado de madurez gonadal, para la Región de la Araucanía (estados de maduración del 1 al 7).
- Figura 60.** Distribución de ejemplares según estado de madurez gonadal, para la Región de Los Ríos (estados de maduración del 1 al 7).
- Figura 61.** Distribución de ejemplares según estado de madurez gonadal, para la Región de Los Lagos (estados de maduración del 1 al 7).
- Figura 62.** Distribución de ejemplares según estado de madurez gonadal, para la Región de Aysén del General Carlos Ibáñez del Campo (estados de maduración del 1 al 7).
- Figura 63.** Distribución de ejemplares según estado de madurez gonadal, para la Región de Magallanes y de la Antártica Chilena (estados de maduración del 1 al 7).
- Figura 64.** Distribución de ejemplares con presencia de parásitos respecto del total de peces capturados en las zonas geográficas.
- Figura 65.** Clasificación de parásitos detectados de acuerdo a su ubicación en el pez.
- Figura 66.** Distribución de peces parasitados de acuerdo al tipo de cuerpo de agua.
- Figura 67.** Composición de especies parasitadas por diversos tipos de parásitos.
- Figura 68.** Géneros y especies de parásitos detectados en los peces parasitados.
- Figura 69.** Cuadro de melanosis localizado a nivel del hígado (flecha roja) en individuo de la especie pejerrey de mar.
- Figura 70.** Presencia de granulomas a nivel de cavidad cardíaca (flecha roja) en individuo de la especie róbalo.
- Figura 71.** Presencia de estructuras quísticas (flecha roja) en individuo de la especie perca trucha.
- Figura 72.** Presencia de granulomas ubicados a nivel del bazo (flecha roja) en individuo de la especie róbalo.



- Figura 73.** Presencia de granulomas ubicados a nivel del hígado y riñón (flechas rojas) en individuo de la especie róbalo.
- Figura 74.** Presencia de adherencias (flecha roja) en ejemplar de la especie trucha arcoíris.
- Figura 75.** Presencia de larva plerocercoides de *Diphyllbothrium sp* presente en cavidad abdominal (flecha roja) de ejemplar de la especie trucha arcoíris.
- Figura 76.** Leve cuadro de renomegalia (flecha roja) a nivel de riñón posterior en ejemplar de la especie trucha arcoíris.
- Figura 77.** Infestación masiva de larvas plerocercoides de *Diphyllbothrium sp* presentes en cavidad abdominal (flechas rojas) de ejemplar de la especie trucha arcoíris.
- Figura 78.** Ejemplar adulto de *Argulus sp* localizado a nivel de piel (flecha roja) en individuo de la especie róbalo.
- Figura 79.** Distribución de patógenos PCR positivos por región de estudio.
- Figura 80.** Distribución de muestras positivas a *P. salmonis* por especie capturada (n=38).
- Figura 81.** Distribución de especies positivas a *P. salmonis* por zona en la Región de Los Lagos.
- Figura 82.** Distribución de especies positivas a *P. salmonis* por zona en la Región de Aysén del General Carlos Ibáñez del Campo.
- Figura 83.** Distribución de muestras positivas a PRV por especie capturada (n= 15).
- Figura 84.** Distribución de especies positivas a PRV por zona en las regiones de Aysén del General Carlos Ibañez del Campo, Los Lagos y Magallanes y de la Antártica Chilena.
- Figura 85.** Distribución de muestras positivas a *F. psychrophilum* por especie capturada (n= 13).
- Figura 86.** Distribución de especies positivas a *F. psychrophilum* por zona en las regiones de La Araucanía, Los Ríos, Los Lagos, Aysén del General Carlos Ibáñez del campo y Magallanes y de la Antártica Chilena.
- Figura 87.** Distribución según especie salmónida capturada.
- Figura 88.** Distribución de las especies salmónidas, según su clasificación en escapadas, asilvestradas y silvestres.
- Figura 89.** Gráfico de tasa de mortalidad específica por *P. salmonis* por cada barrio (ACS).
- Figura 90.** Mapa coropleto de los valores estimados por el promedio anual de la tasa de mortalidad mensual por barrio en la Región de Los Lagos.
- Figura 91.** Mapa coropleto de los valores estimados por el promedio anual de la tasa de mortalidad mensual por barrio en la Región de Aysén del General Carlos Ibañez del Campo.
- Figura 92.** Distribución de especies positivas capturadas por región de los barrios (ACS).
- Figura 93.** Distribución de muestras positivas por especie capturada en los barrios (ACS).
- Figura 94.** Distribución de muestras positivas por especie capturada en los barrios (ACS).



- Figura 95.** Mapa coropleto de la ocurrencia de *P. salmonis* en las especies silvestres y ferales capturadas entre 2018-2019, en la Región de Los Lagos.
- Figura 96.** Mapa coropleto de la ocurrencia de *P. salmonis* en las especies silvestres y ferales capturadas entre 2018-2019, en la Región de Aysén del General Carlos Ibañez del Campo.
- Figura 97.** Mapa coropleto de la ocurrencia de *P. salmonis* en las especies silvestres y ferales capturadas entre 2018-2019, en la Región de Magallanes y de la Antártica Chilena.
- Figura 98.** Gráfico de dispersión de datos y su línea de ajuste y correlación.
- Figura 99.** Gráfico de dispersión de datos y su línea de ajuste y correlación, sin incluir la zona de Punta Arenas.
- Figura 100.** Distribución de los estanques donde se llevó a cabo el ensayo experimental del estudio y disposición final de los ejemplares en los estanques.
- Figura 101.** Principales hallazgos observados a la necropsia de salares troyanos (flecha roja). a) esplenomegalia e intestino congestivo, b) hemorragias petequiales en ciegos pilóricos y grasa visceral, c) hígado congestivo y focos necróticos en hígado (puntos blancos).
- Figura 102.** Curvas de mortalidad acumulada del Grupo 1 (estanques N° 7 y 8) (Azul = róbalos troyanos, Rojo = salares cohabitantes).
- Figura 103.** Curvas de mortalidad acumulada del Grupo 2 (estanques N° 2, 3 y 9) (Azul = salares troyanos, Rojo = róbalos cohabitantes).
- Figura 104.** Curvas de mortalidad acumulada del Grupo control positivo (estanques 4 y 10) (Azul = salares troyanos y rojo = salares cohabitantes).
- Figura 105.** ACPD muestra evidencia para $K = 4$ grupos de poblaciones de trucha arcoíris.
- Figura 106.** Resultado de STRUCTURE, los colores corresponden a los cuatro grupos genéticos de referencia (Rojo: Todos los Santos, Verde: Llanquihue, Rojo: Piscicultura, Negro: Norte-Centro).
- Figura 107.** Resultados de asignación individual de las muestras de tejido branquial analizadas (agrupadas por sitio de muestreo), además de la ubicación de los centros de cultivo.
- Figura 108.** Tendencia de capturas de peces nativos y salmónidos totales durante el periodo de estudio que comprende desde el año 2010 hasta el año 2019.
- Figura 109.** Tendencia de capturas de peces nativos (róbalo y pejerrey de mar) totales durante el periodo de estudio que comprende desde el año 2010 hasta el año 2019.
- Figura 110.** Tendencia de capturas de peces salmónidos (trucha arcoíris) totales durante el periodo de estudio que comprende desde el año 2010 hasta el año 2019.
- Figura 111.** Tendencia de especies capturadas (pejerrey de mar y róbalos) para la zona de Estuario de Valdivia, Región de Los Ríos durante el periodo 2011 hasta el año 2019.



- Figura 112.** Tendencia de especies capturadas (pejerrey de mar y róbalo) para la zona de Hornopirén y Fiordo Comau, Región de Los Lagos, durante el período 2010 hasta el año 2019.
- Figura 113.** Tendencia de especies capturadas (pejerrey de mar, róbalo y salmón Atlántico) para la zona Puerto Natales, Región de Magallanes y de la Antártica Chilena, durante el periodo 2011 hasta el año 2019.
- Figura 114.** Tendencia de especies capturadas (perca trucha y trucha arcoiris) para la zona de Lago Chapo, Región de Los Lagos durante el periodo 2011 hasta el año 2019.
- Figura 115.** Tendencia de especies capturadas (perca trucha, trucha arcoiris y salmón coho) para la zona de Lago Llanquihue, Región de Los Lagos durante el periodo 2011 hasta el año 2019.
- Figura 116.** Tendencia de especies capturadas (pejerrey de agua dulce, salmón coho, trucha arcoiris) para la zona de Lago Rupanco, Región de Los Lagos durante el periodo de programa 2011 hasta el año 2019.
- Figura 117.** Tendencia de especies capturadas (róbalo y pejerrey de mar) para la zona de Chiloé sur, Región de Los Lagos durante el periodo 2011 hasta el año 2019.
- Figura 118.** Tendencia de especies capturadas (róbalo y pejerrey de mar) para la zona de Punta Arenas, Región de Magallanes y de la Antártica Chilena, durante el periodo 2011 hasta el año 2019.
- Figura 119.** Tendencia de especies capturadas (pejerrey de mar, róbalo y trucha arcoiris) para la zona del Estuario y Seno del Reloncaví, Región de Los Lagos durante el periodo 2010 hasta el año 2019.
- Figura 120.** Tendencia de especies capturadas (pejerrey de mar y róbalo) para la zona de Melinka y Guaitecas norte, de la Región de Aysén del General Carlos Ibáñez del Campo, durante el periodo 2010 hasta el año 2019.
- Figura 121.** Tendencia de especies capturadas (pejerrey de mar y róbalo) para la zona de Chiloé central, Región de Los Lagos durante el periodo 2010 hasta el año 2019.
- Figura 122.** Tendencia de resultados positivos totales registrados durante el periodo de estudio que comprende desde el año 2010 hasta el año 2019.
- Figura 123.** Tendencia de resultados positivos totales a *Piscirickettsia salmonis* registradas durante el periodo de estudio que comprende desde el año 2010 hasta el año 2019.
- Figura 124.** Tendencia de resultados positivos totales a *Piscirickettsia salmonis* registradas para la zona de Estuario Valdivia durante el periodo de estudio 2011 hasta el año 2019.
- Figura 125.** Tendencia de resultados positivos totales a *Piscirickettsia salmonis* registradas para la zona de Estuario y Seno del Reloncaví durante el periodo de estudio 2010 hasta el año 2019.
- Figura 126.** Tendencia de resultados positivos totales a *Piscirickettsia salmonis* registradas para la zona de Chiloé central durante el periodo de programa 2010 hasta el año 2019.



- Figura 127.** Tendencia de resultados positivos totales a *Piscirickettsia salmonis* registradas para la zona de Chiloé sur durante el periodo de programa 2011 hasta el año 2019.
- Figura 128.** Tendencia de resultados positivos totales a *Piscirickettsia salmonis* registradas para la zona de Melinka y Guaitecas norte durante el periodo de programa 2010 hasta el año 2019.
- Figura 129.** Tendencia de resultados positivos totales a *Piscirickettsia salmonis* registradas para la zona de Puerto Natales durante el periodo de programa 2011 hasta el año 2019.
- Figura 130.** Tendencia de resultados positivos de la especie róbalo a *Piscirickettsia salmonis* registradas para la totalidad de las zonas durante el periodo de programa 2010 hasta el año 2019.
- Figura 131.** Tendencia de resultados positivos de la especie pejerrey de mar a *P. salmonis* registradas para la totalidad de las zonas durante el periodo de programa 2010 hasta el año 2019.



ÍNDICE DE TABLAS

- Tabla 1.** Especies a capturar en muestreos en agua de mar según nombre común y científico.
- Tabla 2.** Especies a capturar en muestreos de agua dulce por nombre común y científico.
- Tabla 3.** Propuesta de zonas a muestrear en mar según Macrozonas por Región.
- Tabla 4.** Propuesta de lagos a muestrear por región.
- Tabla 5.** Macrozonas por región y Agrupación de Concesiones Salmoneras (ACS).
- Tabla 6.** Propuesta de las ACS prioritarias a considerar en las campañas de muestreo.
- Tabla 7.** Estados de madurez gonadal de machos y hembras de salmónidos.
- Tabla 8.** Agentes patógenos a analizar en el presente estudio, por tipo de ambiente.
- Tabla 9.** Porcentaje de análisis a realizar en el presente estudio, por especie susceptible.
- Tabla 10.** Referencias bibliográficas utilizadas en los protocolos de extracción y PCR de patógenos bajo monitoreo.
- Tabla 11.** Localidades y número de muestra de trucha arcoíris usadas para generar los grupos de referencia.
- Tabla 12.** Zonas de muestreo definidas y código asignado.
- Tabla 13.** Valores promedio de peso, longitud y factor de condición de Fulton de las especies.
- Tabla 14.** Distribución del contenido estomacal por especie capturada.
- Tabla 15.** Distribución del nivel de grasa visceral por especie capturada.
- Tabla 16.** Número de peces parasitados y capturas de peces por zona, junto al porcentaje de ejemplares parasitados por zona y total de capturas.
- Tabla 17.** Especie o género parasitario, hospedador, órgano parasitado y zona con ejemplares parasitados.
- Tabla 18.** Distribución de patógenos bajo monitoreo con resultados PCR positivos y su ocurrencia por región.
- Tabla 19.** Ocurrencia de positividad a la detección de *P. salmonis* por especie capturada.
- Tabla 20.** Ocurrencia de positividad a PRV por especie capturada.
- Tabla 21.** Ocurrencia de positividad a *F. psychrophilum* por especie capturada.
- Tabla 22.** Ocurrencia de positividad a IPNV por especie capturada.
- Tabla 23.** Ocurrencia de positividad a *R. salmoninarum* por especie capturada.
- Tabla 24.** Muestras positivas en especies salmónidas, según patógeno y clasificación.



- Tabla 25.** Distribución de muestras positivas por barrio muestreado durante el período 2018-2019.
- Tabla 26.** Vinculación de bases de datos de la proporción de muestras positivas en los barrios muestreados en el programa y la información de la tasa de mortalidad por *P. salmonis* a nivel de barrio.
- Tabla 27.** Estadísticos descriptivos.
- Tabla 28.** Análisis de autoasignación de los 4 grupos genéticos de referencia.
- Tabla 29.** Resumen de resultados positivos totales en peces silvestres, por patógeno durante los años 2010 y 2019.
- Tabla 30.** Resumen de resultados positivos totales a *Piscirickettsia salmonis* por especie durante el período comprendido entre los años 2010 y 2019.
- Tabla 31.** Resumen de resultados positivos totales a *Flavobacterium psychrophilum* por especie durante el período comprendido entre los años 2010 y 2019.
- Tabla 32.** Resumen de resultados positivos totales a *Piscine reovirus* por especie durante el período comprendido entre los años 2010 y 2019.
- Tabla 33.** Resumen de resultados positivos totales a Virus de la necrosis pancreática infecciosa (IPNv) por especie durante el período comprendido entre los años 2010 y 2019.
- Tabla 34.** Resumen de resultados positivos totales a *R. salmoninarum* por especie durante el período comprendido entre los años 2010 y 2019.
- Tabla 35.** Resumen de resultados positivos totales para cada patógeno durante el periodo de estudio que comprende desde el año 2010 hasta el año 2019.



ÍNDICE ANEXOS

- Anexo 1.** Carta oficio de solicitud de Pesca de Investigación.
- Anexo 2.** Resolución de Pesca de Investigación – R. Ex N° 3160-2017.
- Anexo 3.** Protocolo de desafío de cohabitación.
- Anexo 4.** Procedimiento de necropsia y toma de muestras de órganos.
- Anexo 5.** Programa de Seminario de difusión de resultados y listado de participantes.
- Anexo 6.** Borrador documento para paper.
- Anexo 7.** Respuestas a observaciones del evaluador.



1. INTRODUCCIÓN

El auge de la acuicultura en Chile tiene raíces históricas iniciadas a mediados del siglo XIX, mientras que la industria salmonera propiamente tal tiene sus inicios a partir de la década del 60, en ríos y lagos del sur de Chile, esto debido a que las condiciones ambientales eran favorables para su desarrollo. En la actualidad la producción se caracteriza por ser un sistema fuertemente intensivo, y por la gran importancia de la salmonicultura en la industria de los alimentos, siendo la acuicultura uno de los sectores con más rápido crecimiento en el mundo y con potenciales de crecer aún más para poder satisfacer la demanda a nivel mundial (Basulto, 2003). La situación en Chile indica que cerca de un 90% de la producción acuícola está destinada al cultivo de salmónidos, entre ellos, salmón coho, salmón del Atlántico (la especie más explotada) y trucha arco iris (SalmonChile, 2009).

La Subsecretaría de Pesca y Acuicultura, a través de su informe sectorial del mes de julio del año 2019, indica que las cosechas acumuladas a junio del 2019 fueron de 681,3 mil t, lo cual es 1,4% superior a lo registrado a igual fecha del año 2018, donde los peces aportaron con el 62,1% del total de la acuicultura. De estos, los principales recursos cosechados correspondieron a salmón del Atlántico y trucha arcoíris, con un 50,2% y 7%; respectivamente, en tanto que, en términos de salmonicultura, la representatividad de estas especies correspondió al 80,8% y 11,3%; respectivamente, en tanto que para el salmón coho fue de 7.9%. En relación a salmón del Atlántico, el recurso fue cosechado principalmente en la Región de Aysén del General Carlos Ibáñez del Campo con 210 mil t, y 44,5 mil t en la Región de Los Lagos. En el caso de trucha arcoíris, el recurso fue cosechado principalmente en la Región de Aysén del General Carlos Ibáñez del Campo con un 48,2% y la Región de Los Lagos con un 33,8%.

El crecimiento explosivo del cultivo de cualquier especie animal involucra un aumento en el riesgo de introducir y/o diseminar enfermedades que afectan directamente la salud de los mismos organismos cultivados e indirectamente a la biota local. De este modo, constantes brotes de enfermedades en los centros de cultivo pueden conducir a un aumento sustancial de infecciones y transmisión de enfermedades a centros cercanos y a la población silvestre. No obstante, ello, es importante indicar que el rol de las especies silvestres aún no está definido. Es probable que algunos agentes etiológicos desconocidos hayan estado en forma endémica en las especies nativas sin causarles un daño aparente y se hayan adaptado a estas especies de peces foráneas, las que a su vez no tendrían una constitución genética adecuada, ni memoria inmunológica, para responder con mecanismos de defensa efectivos frente a estos microorganismos (Smith *et al.*, 2001; Murray y Peeler, 2005).

Bajo este contexto, el monitoreo y la vigilancia de las enfermedades en los animales acuáticos, especialmente en especies silvestres, es una labor que se ha venido realizando por algunas instituciones gubernamentales de países acuicultores importantes del hemisferio norte, con el propósito de demostrar la libertad de una enfermedad y mantener su patrimonio sanitario, o en su defecto vigilar el progreso y/o control de una enfermedad (Garseth *et al.* 2013). Las investigaciones en las poblaciones silvestres han aumentado debido a las preocupaciones sobre el impacto de éstas enfermedades en dichas poblaciones y la posible influencia en la acuicultura y otras actividades antropogénicas; no obstante, se hace difícil cuantificar la incidencia de enfermedades en ejemplares



silvestres debido a que los individuos enfermos en el ecosistema marino pueden ser más difíciles de capturar o pasan desapercibidos en una pesca de investigación (por ejemplo, debido a la depredación o mortalidad anticipada). Por lo tanto, es difícil evaluar el real impacto de las enfermedades en poblaciones silvestres, ya que, normalmente sólo se capturan infectados recientemente o que sobrevivieron a la infección (portadores), pero no enfermos. Además, existe evidencia de la transmisión desde peces de cultivo hacia peces silvestres. Sin embargo, la frecuencia y la consecuencia de la transmisión de muchos agentes patógenos son en gran parte desconocidas (Garseth *et al.* 2013).

Múltiples estudios realizados en poblaciones silvestres dan cuenta de la interacción entre las especies, como el de Raynard *et al.* (2001) en Escocia, posterior al brote de anemia infecciosa del salmón en 1998, donde se realizaron muestreos para investigar la prevalencia del virus en los salmónidos de vida silvestre. Estudios sobre la myxosporidiosis renal en salmónidos silvestres en el Reino Unido (Peeler *et al.*, 2008) y Suiza (Wahli *et al.*, 2007), han demostrado el impacto potencial de la enfermedad renal tanto en Europa como en América del Norte y que ha sido una preocupación de larga data. Además, estudios sobre *Renibacterium salmoninarum*, agente causal de BKD, revelaron una baja prevalencia en las poblaciones de salmónidos silvestres (trucha marrón y salmón del Atlántico específicamente) en el Reino Unido (Chambers *et al.*, 2008). En cuanto a los métodos de diagnóstico utilizado en los estudios de vigilancia, un estudio realizado en Alaska, da cuenta que se encontraron prevalencias más altas en varias especies de salmónidos silvestres utilizando el método ELISA que con otro método diagnóstico (Meyers *et al.*, 1993).

En otros casos, existen mayores avances, como en Noruega, que cuenta con un programa nacional de vigilancia de *G. salaris* en los salmónidos silvestres, como parte de un sistema de alerta temprana para la detección de la propagación en especies de cultivo. Los resultados se publican en informes anuales del Instituto Veterinario de Noruega (Oidtmann *et al.*, 2013). Así también, en Noruega entre los años 1997 y 1998 se realizó el primer estudio de vigilancia para el virus de la Septicemia Hemorrágica viral (VHS) en especies acuáticas silvestres (King *et al.* 2001). De las seis campañas de muestreo realizadas en 18 meses, se capturaron 19.293 peces de 23 especies distintas, a partir de las cuales se analizó 2.081 pooled de órganos, dando 21 pooled de muestras positivas a VHS, siendo el bacalao y la faneca noruega las especies más afectadas por el agente patógeno. A partir de ello, el año 2007 se instaura oficialmente la vigilancia de los patógenos VHS, ISA y Herpes virus en dicho país.

Actualmente se encuentran descritas las técnicas de PCR para todos los patógenos presentes en la lista 1 de enfermedades de alto riesgo (EAR), definida por el Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura, como a su vez del virus de la Anemia Infecciosa del Salmón (ISAv), *Vibrio ordalii*, *Piscirickettsia salmonis* y *Aeromonas salmonicida* atípica. Las técnicas inclusive se encuentran adaptadas en algunos casos, para mejorar su sensibilidad de detección en peces silvestres, como es el caso del RT-PCR ISAv descrito por Snow (2006).

A nivel nacional, en el año 2010 el Instituto de Fomento Pesquero realizó el primer estudio de vigilancia y seguimiento de enfermedades de alto riesgo (EAR) en peces silvestres y ferales de agua dulce y



mar, para 8 patógenos virales y 3 patógenos bacterianos. Actualmente, éste estudio se encuentra finalizando su noveno año de monitoreo, y en el total de estos 8 años se han realizado 12 campañas de muestreo donde ha sido posible capturar un total de 31.848 peces, siendo éstos analizados en pooles de órganos individuales por pez. Del total de peces analizados, el 7,86% (2502/31848) de ellos han resultado positivos a patógenos, donde en el 81,25% (2033) se detectó *Piscirickettsia salmonis*, en el 9,23% (231) *Flavobacterium psychrophilum*, en el 6,99% (175) Virus de la Necrosis Pancreática Infecciosa, y finalmente en el 2,52% (63) *Piscine reovirus* (PRV), siendo las especies silvestres róbalo (*Eleginops maclovinus*), pejerrey de mar (*Odonthestes regia*), pejerrey de agua dulce (*Basilichthys australis*), además de salmónidos silvestres y escapados, las especies donde se han presentado las mayores positividads a estos agentes.

Adicional a lo mencionado previamente, *E. maclovinus* es la especie hospedadora mayormente estudiada en términos de detección de parásitos. Henríquez *et al* (2011b) determinaron que el 97,4% de los robalos muestreados se encontraron parasitados con al menos un taxón parasitario, siendo las especies *Hypoechinorhynchus magellanicus* (Acanthocephala), *Caligus rogercresseyi*, *Lepeophtheirus mugiloides*, *Clavella adunca* (Copepoda) y *Similascarophis sp.* (Nematoda) las más prevalentes. De este modo, la determinación de las especies parasitarias dentro de las comunidades de especies de peces silvestres es de gran relevancia, ya que estos últimos pueden constituir un potencial reservorio de larvas o estadios infestantes para las especies de peces en cultivo, y más importante aún presentar riesgo para la población humana, ya que algunas son zoonóticas, por lo que generar mayor conocimiento en dicha temática ayudará en el resguardo del patrimonio sanitario del país.

En lo referente a la especie trucha arcoíris, esta fue introducida a nuestro país desde principios de 1900 con la finalidad de desarrollar la pesca recreativa a través de una iniciativa de gobierno. Fue posteriormente reintroducida a fines del siglo XX con motivo del rápido desarrollo de su cultivo y de otros salmónidos en el sur de Chile (Basulto, 2003). El amplio desarrollo de su cultivo y los frecuentes escapes desde instalaciones de cultivo, especialmente en aguas continentales (Sepulveda *et al.* 2009, Sepulveda *et al.* 2013), ha permitido su expansión a casi todo el territorio nacional, convirtiéndola en una de las especies invasoras más abundantes (Soto *et al.*, 2006). Actualmente la TAI forma poblaciones autosustentables (asilvestradas o naturalizadas) en lagos y ríos de Chile. Las poblaciones asilvestradas presentan un grado de estructuración genética importante, probablemente como resultado de la introducción de diferentes poblaciones o variedades, sumado a los procesos de diferenciación tanto neutral como adaptativa (Benavente *et al.* 2015, Cárcamo *et al.* 2015).

Como antecedentes complementarios, a nivel nacional, Benavente *et al.* (2015) ha estudiado la diversidad y divergencia genética de ejemplares de trucha arcoíris naturalizadas del Lago Llanquihue usando un panel de 96 polimorfismos de único nucleótido (SNPs) que fueron originalmente desarrolladas para poblaciones nativas (Jones *et al.* 2015). Dicha aproximación ha permitido también identificar truchas arcoíris que podrían corresponder a individuos escapados desde centros de cultivo. Sin embargo, la identificación al examen anatomopatológico de salmónidos escapados no es una temática nueva y se ha abordado extensamente en el Hemisferio Norte dado los impactos negativos de los salmónidos criados en cautiverio sobre las poblaciones nativas (Glover 2010). En nuestro país, por el contrario, estas aplicaciones son completamente nuevas, pudiendo utilizarse para diversas



aplicaciones tales como la construcción de mapas genéticos de alta resolución, diagnósticos genéticos, análisis de estructura genética en poblaciones y análisis filogenéticos (Rafalski 2002). Una ventaja importante de los SNPs es su abundancia en el genoma, además de permitir la caracterización de loci afectados por selección neutral y estimar la divergencia adaptativa a una mayor escala (Everett *et al.* 2011).

Por su parte, se ha visto que el salmón Atlántico escapado, puede dispersarse por grandes distancias, mostrando una gama de interacciones ecológicas y genéticas (Crozier 1993; Clifford *et al.*, 1998; Skaala *et al.*, 2006 y Glover *et al.* 2012, 2013a) con especies congéneres silvestres. Las interacciones genéticas han recibido considerable atención científica en los últimos 2-3 decenios, y ahora se acepta que los peces escapados representan una amenaza para la integridad genética de las poblaciones nativas.

De forma adicional, y considerando el potencial rol epidemiológico que pudiesen tener las especies silvestres en la transmisión y diseminación de agentes patógenos causantes de enfermedades de alto riesgo sanitario, es que se hace necesario el poder identificar unidades poblacionales de especies silvestres, en especial de la especie *Eleginops maclovinus* (róbalo), que nos permitan en un futuro establecer en esta especie la existencia o no de múltiples unidades poblacionales, o en su defecto si correspondería a una gran población, y de esta forma establecer la existencia de patrones migratorios en esta especie. Existen estudios que indican que la química de los otolitos es una herramienta disponible que se utiliza para reconstruir el hábitat de peces adultos durante los primeros años de vida, facilitando así la identificación de éstos, a través de las características químicas que los otolitos van adquiriendo dependiendo el ambiente en que los peces se desarrollan, así, por ejemplo, Hobbs, J., *et al* (2010) utilizaron la ablación laser sobre otolitos de la especie estuarina amenazada *Spirinchus thaleichthys*, para establecer la relación empírica derivada de las proporciones de isótopos de estroncio ($^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$) de los cuerpos de agua a través de la gradiente de salinidad presentada en los estuarios, y de este modo reconstruir la historia de la salinidad a lo que estuvieron expuestos estos peces en su estado de vida larvaria.

De este modo, considerando la totalidad de la información abordada con anterioridad, se hace necesaria una aproximación a la evaluación del riesgo asociado a la transmisión de EAR entre poblaciones de peces silvestres/asilvestrados/cultivo por medio de técnicas moleculares que permitan la detección, cuantificación y caracterización de estos patógenos en las regiones donde existe cultivo intensivo de especies salmónidas, dirigiendo el estudio a sectores representativos de las regiones bajo monitoreo consideradas en el presente programa de investigación.

En consideración a lo planteado, el Instituto de Fomento Pesquero (IFOP) asumiendo su rol de garante técnico y unidad encargada de entregar las bases científicas para la elaboración de la normativa y regulación del sector acuicultor, aparece como la entidad con las competencias idóneas para asumir la presente iniciativa.



2. OBJETIVO GENERAL

Efectuar un seguimiento y evaluación del estatus sanitario de peces silvestres y ferales en cuerpos de agua dulce y agua de mar, con especial énfasis en las especies salmónidas.

3. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Continuar y perfeccionar la ejecución del programa de vigilancia y monitoreo desarrollado en etapas anteriores, que permita conocer la evolución del estatus sanitario de las especies silvestres y ferales, en relación con las enfermedades de alto riesgo (EAR).
2. Relacionar epidemiológicamente la presentación clínica de una EAR en peces de cultivo con el estatus sanitario de las especies silvestres muestreadas.
3. Identificar y evaluar la capacidad de que especies no salmonídeas puedan actuar como reservorio y/o transmisor de una EAR.
4. Realizar análisis genéticos respecto de las especies salmónidas capturadas para identificar si corresponden a ejemplares escapados o asilvestrados.
5. Realizar análisis respecto de los resultados obtenidos en los estudios previos, e identificar tendencias y brechas.



4. METODOLOGÍA

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

Objetivo 1: *Continuar y perfeccionar la ejecución del programa de vigilancia y monitoreo desarrollado en proyectos anteriores, que permita conocer la evolución del estatus sanitario de las especies silvestres y ferales, en relación con las enfermedades de alto riesgo (EAR).*

4.1. Revisión bibliográfica

Para la ejecución de esta actividad, se realizó una revisión bibliográfica profunda, tanto a nivel nacional como internacional, de normativas y/o sistemas oficiales de vigilancia de patógenos causantes de enfermedades de alto riesgo sanitario en especies de peces silvestres y ferales, principalmente en aquellos países que cuenten con un nivel avanzado de desarrollo y producción en el ámbito de la acuicultura, con la finalidad de aportar nuevos antecedentes a lo ya presentado en los informes finales de los estudios ASIPA 2017 y anteriores.

Para ello se consultaron sitios web de las entidades oficiales encargadas de sanidad animal y vigilancia de los organismos acuáticos de los países acuicultores de importancia, además de referencias científicas en las principales revistas de índole acuícola. Las principales bases de datos utilizadas para la búsqueda de información fueron: ISI Web of Knowledge, ISI web of Science, EBSCO, SciVerse-ScienceDirect, PubMed de la National Library of Medicine National Institutes of Health de Estados Unidos de América (EEUU).

4.2. Trámites y coordinación de Pesca de Investigación

En cuanto a los trámites para solicitar la pesca de investigación correspondiente, con fecha 27 de agosto del 2018, se envió a la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura oficio IFOP/2018/LC/N°023/DIR/0720 adjuntando la solicitud de pesca de investigación, necesaria para obtener la autorización de ejecución de las pescas. En el **Anexo 1** del actual documento, se presenta oficio conductor del requerimiento solicitado.

4.2.1 Especies objetivo

Respecto de las especies objetivo a capturar en las diferentes zonas geográficas propuestas, se definieron las especies objetivo de las pescas de investigación tanto para las capturas en agua de mar como en agua dulce. El detalle de las especies objetivo por cuerpo de agua se presenta en la **Tabla 1** y **Tabla 2** del presente documento.

**Tabla 1.**

Especies a capturar en muestreos en agua de mar según nombre común y científico.

Nombre común	Nombre Científico
Salmón del Atlántico	<i>Salmo salar</i>
Salmón Coho	<i>O. kisutch</i>
Trucha Arcoíris	<i>O. mykiss</i>
Salmón Chinook	<i>O. tshawytscha</i>
Trucha fario	<i>Salmo trutta fario</i>
Pejerrey de mar	<i>Odontheistes regia</i>
Róbalo	<i>Eleginops maclovinus</i>

Tabla 2.

Especies a capturar en muestreos de agua dulce según nombre común y científico.

Nombre común	Nombre Científico
Salmón del Atlántico	<i>Salmo salar</i>
Salmón Coho	<i>O. kisutch</i>
Salmón Chinook	<i>O. tshawytscha</i>
Trucha Arcoíris	<i>O. mykiss</i>
Trucha fario	<i>Salmo trutta fario</i>
Pejerrey de agua dulce	<i>Basilichthys australis</i>
Peladilla	<i>Aplochiton taeniatus</i>
Perca Trucha	<i>Percichthys trucha</i>
Puye Grande	<i>Galaxias maculatus</i>

4.2.2 Zonificación

Respecto a la zonificación de los puntos de muestreo, se definieron en total 29 zonas de muestreo en cuerpos de agua de mar y dulce distribuidos en la Región de La Araucanía, Región de Los Ríos, Región de Los Lagos, Región de Aysén y Región de Magallanes, las que se detallan en la **Tabla 3 y Tabla 4** respectivamente. Cada zona fue establecida de acuerdo a los resultados obtenidos en los estudios anteriores ejecutados por IFOP, en el marco de la Asesoría Integral en Pesca y Acuicultura desarrollada para la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura (ASIPA 2010, 2011, 2012, 2014, 2015, 2016 y 2017), retomando de esta forma, la totalidad de las zonas que se estudiaron previamente, y que por motivos presupuestarios habían sido modificadas en el proyecto ASIPA 2013. La finalidad de retomar estas zonas buscó que el monitoreo de los patógenos fuese constante, y así lograr un análisis más preciso que pueda ayudar a establecer tendencias respecto de la evolución de las EAR en el tiempo. Además, se mantuvo la zona de Caleta Tortel y río Cochrane como “zona blanco” sin historial de presencia de centros de cultivo de especies salmónidas.

Igualmente, la orientación de los muestreos contempló la zonificación establecida por SERNAPESCA, según la condición epidemiológica de las Agrupaciones de Concesiones Salmoneras (ACS), en función de su condición sanitaria para ISAv y Caligidosis. A su vez, estas ACS fueron agrupadas en las 8 Macrozonas, identificadas por SUBPESCA (**Tabla 5**). De manera adicional, para los muestreos realizados en la zona de



Magallanes, y en atención a los reportes que señalaron el primer hallazgo de *Caligus rogercresseyi* en centros de cultivo localizados en la zona de Punta Arenas (Capitán Aracena), y que fueron finalmente confirmados por el Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura, los muestreos se orientaron al área que congrega los centros de cultivo donde se reportaron los hallazgos de la presencia de este parásito.

Por otra parte, debido a que la condición epidemiológica de las Agrupaciones de Concesiones salmoneras es dinámica en el tiempo, si bien, se muestrearon las mismas macrozonas definidas de manera conjunta con la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura, se reorientaron algunos puntos de muestreo dentro de ellas, con la finalidad de muestrear en aquellas agrupaciones con el mayor porcentaje de mortalidad atribuible al patógeno *Piscirickettsia salmonis*. Esta actualización y reorientación constante de puntos permitió mantener en las campañas de pesca zonas que puedan ser consideradas prioritarias en el desarrollo de los muestreos. El detalle de estas zonas prioritarias se presenta en la **Tabla 6**.

La información epidemiológica de las respectivas zonas, se actualizó en forma mensual mediante la recepción de un informe consolidado entregado por una empresa subcontratada, que contempla más de un 90% de representatividad de la industria salmonicultora para las ACS, y que entregará la siguiente información:

- Agrupaciones de Concesiones de Salmonicultura, ACS

a) Programa Descansos

- Disponibilidad de Ovas

b) Disponibilidad Histórica

c) Origen Ovas Importadas

- Ingresos Smolt por ASC

d) Número de smolt Ingresados

e) Distribución de Ingresos smolt por ACS

f) Peso Ingreso smolt

g) Origen smolt

- Cosechas

h) Toneladas Cosechadas y Peso Promedio Cosecha por ACS.

i) Distribución Cosechas por Área Geográfica

- Biomosas:

j) Distribución biomasa viva por Área Geográfica

k) Biomasa por especie y por ACS.

- Mortalidades

l) Mortalidades Mensuales Generales, Región y ACS.

m) Mortalidades por Causa, Generales, Región y ACS.

n) Porcentaje de mortalidad por *P. salmonis* por barrio

- Uso Vacunas

o) Representatividad BD vacunas

p) Número smolt sembrados según vacuna.

q) Evolución Número Antígenos Utilizados

r) Pesos vacunación



Las zonas establecidas están integradas en las regiones antes mencionadas y caracterizan las ACS, considerando el supuesto de la distribución homogénea del riesgo en peces silvestres/escapados debido a su condición de desplazamiento dentro de áreas más extensas.

Tabla 3.

Propuesta de zonas a muestrear en mar según macrozonas por región.

Región	Zona de muestreo	Macrozona
Los Ríos	Estuario de Valdivia y Río Valdivia	-
Los Lagos	Estuario y Seno de Reloncaví	1
	Chiloé Norte	2
	Chiloé Central	3
	Chiloé Sur	4
	Hornopirén y Fiordo Comau	5
Aysén	Melinka y Guaitecas Norte	6
	Guaitecas Sur, Fiordo Cupquelán y Estero Quitralco	7
	Fiordo Puyuhuapi y Raúl Marín Balmaceda	8
	Fiordo Aysén	-
	Control Negativo (Caleta Tortel y Río Cochrane)	-
Magallanes	Puerto Natales	-
	Capitán Aracena	-

Tabla 4.

Propuesta de lagos a muestrear por región.

Región	Nº	Detalle
Araucanía	4	Caburga
		Calafquén
		Colico
		Villarrica
Los Ríos	3	Ranco
		Panguipulli
		Riñihue
Los Lagos	7	Chapo
		Yelcho
		Llanquihue
		Rupanco
		Puyehue
		Natri
		Huillinco
Aysén	1	Riesco
Magallanes	1	Sofía
TOTAL	16	



Tabla 5.
Macrozonas por región y Agrupación de Concesiones Salmoneras (ACS).

Región	Macrozonas	ACS
Los Lagos	1	1
		2
		3A
		3B
		4
	2	5
		6
	3	7
		8
		9A
		9B
		9C
		10A
		10B
	4	11
		12A
		12B
12C		
5	13	
	14	
	16	
	17A	
	17B	
Aysén	6	18A
		18B
		18C
		18D
		18E
		19A
		19B
		20
		21A
		21B
		7
	22A	
	22B	
	22C	
	22D	
	23A	
	23B	
	23C	
	24	
	25A	
	25B	
	26A	
	26B	
	27	
	28A	
	28C	
	29	
	8	30A
		30B
		31A
		31B
		32
		33
	34	
	35	



Tabla 6.
Propuesta de las ACS prioritarias a considerar en las campañas de muestreo.

Región	Macrozona	Barrio
Los Lagos	M1	1
		2
	M2	6
		6
		6
	M3	10a
		10 ^a
		10b
	M4	11
		12a
		12a
	M5	16
		17a
	Aysén	M6
21d		
21c		
M7		26a
		26b
		26b
FA		28b
		28b
		28b
M8		31a
		32
		32



4.3 Definición de puntos de muestreo

Respecto a la definición de los puntos de muestreo del presente estudio, se definió por consenso con representantes de la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura, mantener y dar continuidad con los puntos de muestreo considerados en las campañas de pesca de investigación desarrolladas por IFOP en los estudios ejecutados con anterioridad, con la finalidad de continuar el seguimiento de las mismas zonas que fueron evaluadas en el programa 2017, y que corresponden a las mismas 29 zonas distribuidas entre las regiones de La Araucanía, Los Ríos, Los Lagos, Aysén del General Carlos Ibáñez del Campo y región de Magallanes y de la Antártica Chilena, y de esta forma observar las tendencias en las capturas y resultados de muestras positivas a patógenos causantes de EAR en las especies de peces silvestres o ferales capturados.

4.3.1 Artes y aparejos de pesca a utilizar para extraer los recursos

Los recursos hidrobiológicos fueron capturados mediante el uso de artes y aparejos de pesca, según las características de cada especie y zona de interés. De esta forma, se utilizaron redes de enmalle, y en una menor proporción de trasmallo de monofilamento de distintas tramas considerando como mínimo una disponibilidad de 8 redes por zona de muestreo de al menos cinco tramas (1,5 - 2,5 - 4 - 5 y 6 pulgadas) con largo de relinga distribuido en un rango de 50 a 100 metros y una altura de red de 3 a 15 metros. Los lances se ejecutaron con caladas perpendiculares cercanas a la costa en base a la información descrita en estudios anteriores. Por otro lado, se consideró el uso de espineles verticales para la pesca en zonas de mayor profundidad los que deberán permanecer en agua al menos por 12 horas asegurando la captura de ejemplares de las especies objetivo. En la pesca en lagos, se consideró como alternativa, utilizar artes de pesca complementarios para el cumplimiento de los objetivos, tales como cañas de pescar mediante pesca de arrastre con señuelos tipo rapala y spinner en los puntos de muestreo donde por profundidad, topografía y condiciones de conductividad del agua permitan su utilización tales como cuencas de ríos, puntos próximos al desagüe de cada lago o zonas someras con transición de vegetación terrestre de cada lago.

Las operaciones de calado y virado de los artes y/o aparejos de pesca, estuvo a cargo de entidades subcontratadas para estos fines, las que fueron definidas mediante licitaciones privadas en las que se indicaron las exigencias impuestas por IFOP para la ejecución de la actividad y los montos involucrados. A su vez, cada una de las actividades de pesca fue supervisada por personal de IFOP.

La información de captura de los ejemplares se registrará en una bitácora de pesca que detalla:

- Ubicación
- Fecha
- Hora
- Captura total por especie
- Arte de Pesca utilizado



Los ejemplares capturados en cada punto de muestreo fueron dispuestos en bolsas plásticas etiquetadas y transportadas en cajas de material termoaislante, conteniendo hielo en escamas o gel pack para su conservación.

Al momento de ser ingresadas las muestras al laboratorio, se registró la temperatura de éstas, utilizando un termómetro digital, a su llegada al laboratorio.

Cada bolsa tendrá en su interior una etiqueta impermeable rotulada con el código de captura:

Fecha – Código Zona – N° ejemplares – Especie – Identificador coordenada de captura

4.4 Ejecución de campañas de muestreo y muestreo biológico de las capturas

4.4.1 Obtención de Muestras

Respecto de la información derivada de las etapas previas del programa de vigilancia de enfermedades de Alto Riesgo en Especies Silvestres desarrollado por IFOP, y la elaboración de la propuesta de zonificación, se consideraron 29 zonas de muestreo en centros de mar y lagos, de las regiones mencionadas en el punto 4.3; además de una zona blanco (control) sin historial de presencia de centros de cultivo de especies salmónidas.

Se realizaron dos campañas de muestreo para cada zona, las que se ejecutaron a contar del mes de diciembre del 2018 y hasta agosto del 2019, siendo autorizadas mediante Resolución Ex N° 3601 del 17 de octubre del 2018 de la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura. Cada campaña de muestreo, tanto en concesiones de mar, estuario y cuerpos de agua dulce (lagos) consideró la captura de un mínimo de 80 ejemplares por zona, considerando un 15% mínimo de ejemplares pertenecientes a especies salmónidas.

La obtención de las muestras se realizó en el perímetro de los centros de cultivo fuera del área de la concesión. El n muestral a obtener fue de mínimo 150 y máximo 180 peces en sumatoria en las dos campañas de muestreo contempladas. Cada zona geográfica consideró un total de 3 puntos de muestreo, cada uno de los cuales fue georreferenciado. Las embarcaciones que ejecutaron esta actividad, se rigieron bajo las medidas de bioseguridad y procedimientos de desinfección establecidos por el Sernapesca, mediante Res. Ex. N° 332 de 2011 o sus modificaciones.

Las muestras obtenidas se procesaron en instalaciones dispuestas en terreno en las dependencias de IFOP en la zona de Aysén, Magallanes y Chiloé y/o enviadas al laboratorio de IFOP Puerto Montt en el caso de las muestras provenientes de la Región de La Araucanía, Región de Los Ríos y Región de Los Lagos continental, manteniendo una temperatura inferior a los 10°C con hielo o gel pack, en



etanol absoluto para biología molecular, de la que se tomó registro al momento de ser ingresadas al laboratorio, con un termómetro digital.

4.4.2 Necropsia de los peces

Una vez que se efectuó la captura de los ejemplares, el muestreo biológico y el registro de las variables morfológicas, se realizó la necropsia de los ejemplares capturados con la finalidad de describir anomalías en base a la comparación de aquellos ejemplares que presentaron alteraciones y de aquellos considerados normales. De igual modo, se tomaron registros fotográficos de los ejemplares capturados y de sus principales hallazgos observados a la necropsia. Adicionalmente, se obtuvieron muestras de los parásitos observados a la necropsia, tanto internos como externos, los que fueron identificados taxonómicamente, al menos hasta nivel de género.

4.4.3 Análisis de datos morfológicos registrados en muestreos y elaboración de informes por campañas de pesca

Se registraron los datos morfológicos y biológicos de los ejemplares de peces silvestres y salmónidos asilvestrados que fueron capturados durante la ejecución de las campañas de muestreo del presente estudio.

a) Registro de variables morfológicas, biológicas y hallazgos de necropsia.

Los ejemplares capturados en cada una de las zonas y puntos de muestreo fueron clasificados según fecha de muestreo, coordenada y especie. A cada uno de ellos se les realizó un muestreo biológico y tal como se indicó anteriormente, se registró de forma individual el peso (gr) y longitud (cm), a partir de los cuales se calculó el factor de condición de Fulton, y la estructura de tallas presente, bajo la siguiente fórmula:

$$F_c \text{ Fulton} = \left[\text{Peso (g)} / \text{Long}^3 \text{ (cm)} \right] \times 100$$

De igual modo, se registró el contenido de grasa visceral, el contenido estomacal, el sexo y estado macroscópico de madurez gonadal, equivalente a la empleada por Niklitschek y Aedo (2002) con el objeto de establecer la etapa del ciclo de vida de los ejemplares capturados (**Tabla 7**).

Durante el proceso de rutina de necropsia de los peces, se registró el hallazgo o la presencia de parásitos en la totalidad de ejemplares capturados por especie y zona de muestreo. Es importante destacar que la identificación de hallazgos parasitarios no consideró la clasificación taxonómica parasitaria durante el proceso de necropsia, como tampoco la realización de un muestreo sistemático de los parásitos, debido a la complejidad del procedimiento. Adicionalmente, es relevante mencionar que la experiencia del observador en la detección de parásitos y por consiguiente su identificación, sin lugar a duda fue relevante en una mayor o menor detección de estos.

**Tabla 7.**

Estados de madurez gonadal de machos y hembras de salmónidos (Niklitschek & Aedo 2002).

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

La presencia de especies parasitarias se realizó mediante observación a ojo desnudo, considerando revisar el pez completo, es decir, cabeza, branquias, aletas, piel, cavidad, grasa, mesenterios, cavidad, músculos, y los órganos: bazo, hígado, intestino, ciegos pilóricos y riñón. Una vez observada una especie parasitaria, la obtención de este se realizó utilizando pinzas punta fina, siendo almacenados en tubos plásticos tapa rosca de 5 ml que contenían alcohol 70°, los cuales fueron mantenidos a temperatura ambiente hasta su revisión. Los hallazgos parasitarios se registraron en la planilla general de datos.

La identificación taxonómica de las especies parasitarias, se realizó bajo lupa, depositando el espécimen en placas Petri con alcohol de 70°. Para la limpieza de las muestras se utilizó agujas enmangadas, pinzas punta fina y bisturí. Para aquellos casos en que no fue posible aplicar dicho procedimiento, los parásitos fueron aclarados o diafanizados con lactofenol, mayormente aquellos correspondientes a parásitos tipo gusano. Las observaciones de ultraestructuras se realizaron mediante microscopía óptica. Los hallazgos durante las observaciones se respaldaron mediante registros fotográficos utilizando para ello una cámara Leica, y analizados mediante el programa Leica Application Suite (LAS EZ).

Para la clasificación taxonómica de los parásitos a nivel de género y/o especie, se consideraron las siguientes referencias las que incluyen aspectos descriptivos:



- Scholz y col. (2009) y Wikgren y Muroma (1956) para la identificación de *Diphyllobothrium sp.*
- González y Carvajal (2003), Boxshall y Bravo (2000), Villalba y Durán (1985) y Carvajal y col. (2001) para la identificación de *Caligus sp.* y *Lepeophtheirus sp.*, incluyendo la presencia de *Udonella sp.*
- Cressey y col. (1972) y Hoffman (1977) para la identificación de *Argulus sp.*
- Fernández y Villalba (1985) y Paschoal y col. (2014) para la identificación de *Dichelyne sp.*
- Reyes-Piriano (1982), Lakshmi (2005), Navone y col. (1998) y Torres y col. (1998) para la identificación de *Hysterothylacium sp.* y *Hysterothylacium geschei*
- Laskowski y Zdzitowiecki (2008) y Pichelin (1999) para la identificación de *Hypoechinorhynchus magellanicus*
- Shiino (1964a), Østergaard y Boxshall (2004), Cantatore y col. (2011) y Alarcos y Timi (2011) para la identificación de *Acanthochondria sp.*
- Muñoz y Olmos (2007), Moon (2012), Yuniar y col. (2007) y Maran y col. (2014) para la identificación de *Peniculus sp.*
- Pardo-Gandarillas y col. (2009) y Cattán y Carvajal (1980) para la identificación de *Anisakis sp.* y *Phocanema sp.*
- Bartlett (1996), Pardo y col. (2009) y Garbin y col. (2007) para la identificación de *Contracaecum sp.*
- São Clemente y Gomes (1992), Lee y col. (2016) y Palm (1999) para la identificación de *Nybelinia sp.*

Una vez identificados los parásitos, los datos fueron analizados mediante estadística descriptiva, considerando como variable solo la presencia de parasitosis, pero también mediante descripciones generales en base al aspecto de los parásitos.

4.4.4 Informe de campañas de pesca de investigación.

Con fecha 23 de agosto del 2019, se dio por finalizada la totalidad de las campañas de pesca de investigación en las 29 zonas comprometidas, para lo cual se confeccionó un informe de pesca de investigación para ser remitido a la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura, presentando información de la totalidad de las zonas muestreadas, número de ejemplares capturados por especie, cuerpo de agua y por región geográfica, entre otra información.



4.5 Análisis diagnóstico de muestras para la detección de material genético de agentes patógenos causantes de EAR en los ejemplares capturados.

Los análisis de las muestras se llevaron a cabo en las instalaciones de la División de Investigación en Acuicultura del Instituto de Fomento Pesquero. Las muestras se analizaron en forma individual, donde la metodología diagnóstica utilizada para desarrollar el monitoreo de los agentes patógenos en las muestras a analizar fue la técnica molecular de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), en tiempo real, para el caso de agentes patógenos bacterianos, y RT-PCR tiempo real para los agentes virales.

Esta técnica fue seleccionada debido a la rapidez, sensibilidad y especificidad de la misma, permitiendo entregar resultados más confiables y en un menor tiempo. Todo ello fue realizado de acuerdo a los protocolos montados en el Laboratorio de Biología Molecular de IFOP.

4.5.1 Obtención de las muestras para análisis de biología molecular.

Una vez efectuada la necropsia de los individuos, de cada ejemplar se procedió a extraer por separado una muestra y contramuestra de aproximadamente 0,5 cm³ de cada uno de los órganos seleccionados (riñón, bazo, corazón y branquia), los que fueron dispuestos en tubos Eppendorf conteniendo etanol para análisis al 70%, con los cuales finalmente se constituyó un pool de órganos el que fue sometido al análisis (**Anexo 4**)

Los patógenos de interés a analizar en este estudio, se señalan clasificados por tipo de ambiente, en la **Tabla 8** y según especie susceptible en la **Tabla 9**. Por su parte, la referencia bibliográfica de los protocolos y procedimientos relacionados con las técnicas de extracción y PCR para cada uno de los agentes patógenos monitoreados, se presentan en la **Tabla 10**.



Tabla 8.
Agentes patógenos a analizar en el presente estudio, por tipo de ambiente.

Patógenos	Muestras Agua Dulce	Muestreo Estuario	Muestreo Agua Mar	Órgano blanco
Virus de la Necrosis Pancreática Infecciosa (IPNV)	X	X	X	Riñón, bazo, corazón y branquias
Virus del Síndrome Cardiomiopático (PMCV)	X	X	X	Riñón, bazo, corazón y branquias
Virus de la Septicemia Hemorrágica Viral (VHS)	X	X	X	Riñón, bazo, corazón y branquias
Virus de la Necrosis Hematopoyética Infecciosa (IHNV)	X	X	X	Riñón, bazo, corazón y branquias
Virus de la Necrosis Hematopoyética Epizootica (EHNV)	X	X	X	Riñón, bazo, corazón y branquias
<i>Piscine reovirus</i> (PRV)	X	X	X	Riñón, bazo, corazón y branquias
Alphavirus de los salmonídeos (SAV)	X	X	X	Riñón, bazo, corazón y branquias
Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón (ISAV)	X	X	X	Riñón, bazo, corazón y branquias
<i>Piscirickettsia salmonis</i>	X*	X	X	Riñón, bazo, corazón y branquias
<i>Renibacterium salmoninarum</i>	X	X	X	Riñón, bazo, corazón y branquias
<i>Flavobacterium psychrophilum</i>	X	No aplica	No aplica	Riñón, bazo, corazón y branquias
<i>Aeromonas salmonicida</i> , <i>Vibrio ordalii</i> , <i>Yersinia ruckerii</i> , <i>Streptococcus phocae</i>	X**	X**	X**	Riñón, bazo, corazón y branquias

* Solo en caso de que se asocie a información de antecedentes de reproductores positivos en piscicultura u otro antecedente epidemiológico relevante otorgado por Sernapesca o Subpesca.

** Solo en caso de presentarse la enfermedad clínica.



Tabla 9.
Porcentaje de análisis a realizar en el presente estudio, por especie susceptible.

Tipo de Agente	Agua Dulce		Agua de Mar y estuario	
	Salmonídeos	No Salmonídeos	Salmonídeos	No Salmonídeos
Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón (ISAv)	100%	30%	100%	30%
Virus del Síndrome Cardiomiopático (PMCV)	100%	-	100%	-
Alphavirus de los salmonídeos (SAV)	100%	-	100%	-
Virus de la Septicemia Hemorrágica Viral (VHS)	100%	-	100%	-
Virus de la Necrosis Hematopoyética Epizoótica (EHNv)	100%	-	100%	-
Virus de la Necrosis Hematopoyética Infecciosa (IHNV)	100%	-	100%	-
Piscine reovirus (PRV)	100%	-	100%	-
Virus de la Necrosis Pancreática Infecciosa (IPNV)	100%	100%	100%	100%
<i>Piscirickettsia salmonis</i>	100%	100%	100%	100%
<i>Renibacterium salmoninarum</i>	100%	100%	100%	100%
<i>Flavobacterium psychrophilum</i>	100%	100%	-	-
<i>Aeromonas salmonicida</i> , <i>Vibrio ordalii</i> , <i>Yersinia ruckerii</i> , <i>Streptococcus phocae</i>	100%*	100%*	100%*	100%*

* Solo en caso de presentarse la enfermedad clínica



Tabla 10.
Referencias bibliográficas utilizadas en los protocolos de extracción y PCR de patógenos bajo monitoreo.

PATOGENO	REFERENCIA DE LA TÉCNICA
ISAV	Development, application and validation of a Taqman real-time RT-PCR assay for the detection of infectious salmon anaemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (<i>Salmo salar</i>). Snow M, McKay P, McBeath AJ, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham CO, Nylund A, Devold M. Dev Biol (Basel). 2006;126:133-45 discussion 325-6.
VHS	Development and validation of a novel Taqman-based real-time RT-PCR assay suitable for demonstrating freedom from viral haemorrhagic septicaemia virus .S P Jonstrup, S Kahns, H F Skall, T S Boutrup and N J Olesen. Journal of Fish Diseases 2013, 36, 9–23
EHN	Development of real-time PCR assays for the detection and differentiation of Australian and European ranaviruses. J Pallister, A Goul, D Harrison, A Hyatt, J Jancovich and H Heine. Journal of Fish Diseases 2007, 30, 427–438
IHN	Universal reverse-transcriptase real-time PCR for infectious hematopoietic necrosis virus (IHN). Maureen K. Purcell Rachel L. Thompson, Kyle A. Garver, Laura M. Hawley, William N. Batts, Laura Sprague, Corie Sampson, James R. Winton. DISEASES OF AQUATIC ORGANISMS. Vol. 106: 103–115, 2013
SAV	Sensitive and specific detection of Salmonid alphavirus using real-time PCR (TaqMan®). Kjartan Hodneland, Curt Endresen. Journal of Virological Methods 131 (2006) 184–192
IPNV	Reference genes evaluated for use in infectious pancreatic necrosis virus real-time RT-qPCR assay applied during different stages of an infection. K. Julin, L.-H. Johansen, A.-I. Sommer. Journal of Virological Methods 162 (2009) 30–39.
PRV	Cardiomyopathy syndrome of Atlantic salmon (<i>Salmo salar</i> L.) is caused by a dsRNA virus of the Totiviridae family. Øyvind Haugland, Aase B. Mikalsen, Pål Nilsen, Karine Lindmo, Beate J. Thu, Trygve M. Eliassen, Norbert Roos, Marit Rode, Øystein Evensen. (2011). J. Virol. doi:10.1128/JVI.02154-10
*PRV	Heart and Skeletal Muscle Inflammation of Farmed Salmon Is Associated with Infection with a Novel Reovirus. Palacios G, Lovoll M, Tengs T, Hornig M, Hutchison S, et al. (2010). PLoS ONE 5(7): e11487. doi:10.1371/journal.pone.0011487.
PMCV	Cardiomyopathy syndrome of Atlantic salmon (<i>Salmo salar</i> L.) is caused by a dsRNA virus of the Totiviridae family. Øyvind Haugland, Aase B. Mikalsen, Pål Nilsen, Karine Lindmo, Beate J. Thu, Trygve M. Eliassen, Norbert Roos, Marit Rode, Øystein Evensen. (2011). J. Virol. doi:10.1128/JVI.02154-10
<i>F. psychrophilum</i>	Detection and quantification of <i>Flavobacterium psychrophilum</i> in water and fish tissue samples by quantitative real time PCR. Nicole Strepparava, Thomas Wahli, Helmut Segner and Orlando Petri. BMC Microbiology 2014, 14:105.
<i>P. salmonis</i>	Development of a TaqMan quantitative PCR assay for the identification of <i>Piscirickettsia salmonis</i>. Serge Corbeil, Kenneth A. McColl and Mark St. J. Crane. Bull. Eur. Ass. Fish Pathol., 23(3) 2003, 95.
<i>R. salmoninarum</i>	Detection and Quantification of <i>Renibacterium salmoninarum</i> DNA in Salmonid Tissues by Real-Time Quantitative Polymerase Chain Reaction Analysis .Dorothy M. Chase, Diane G. Elliott and Ronald J. Pascho. J VET Diagn Invest 2006 18: 375.



En particular para el análisis del patógeno Piscine reovirus (PRV) se definió tomar de manera independiente, y para el caso particular de las especies salmonídeas, una muestra de corazón que incluya aurícula y ventrículo, y un trozo de musculo esquelético, extraído desde el punto situado entre línea media del pez y la aleta dorsal, los que fueron puestos en tubos Falcon de 50 ml y preservados en formalina tamponada al 10%. Si bien hasta el estudio 2016-2017, la contramuestra de órganos más el trozo de corazón y músculo esquelético de aquellas muestras que resultaron positivas al análisis de RT-PCR realizado por IFOP, fueron enviadas al Laboratorio de Referencia de acuerdo al D.S. (MINECOM) N° 319 de 2001 para análisis confirmatorio mediante RT-PCR e histología, no obstante, dado que el 100% de las muestras positivas a PRV enviadas por IFOP fueron igualmente confirmadas en su totalidad por el laboratorio de referencia, a partir del estudio 2017-2018, se definió por consenso con la contraparte técnica de la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura, no hacer más envío de las muestras para tal efecto; por lo que en la actualidad, ya no se están tomando éstas muestras para ser analizadas.



Objetivo 2: *Relacionar epidemiológicamente la presentación clínica de una EAR con el estatus sanitario de las especies silvestres muestreadas.*

4.6 Análisis epidemiológico de brotes de una Enfermedad de Alto Riesgo (EAR) en peces de cultivo con el estatus sanitario de las especies silvestres muestreadas.

El análisis epidemiológico para relacionar la presentación clínica de una Enfermedad de Alto Riesgo (EAR) en peces de cultivo con el estatus sanitario de las especies silvestres muestreadas fue realizado considerando sólo el patógeno *Piscirickettsia salmonis*, debido a la importancia sanitaria que este presenta en la actualidad en los centros de cultivo, y además porque ha presentado las prevalencias más altas en las especies silvestres y ferales. Con el propósito de determinar la posible relación entre la presentación clínica de la enfermedad producida por *P. salmonis* en peces de cultivo con respecto a los resultados positivos en las especies silvestres, se realizó un análisis descriptivo y un análisis espacial de la información obtenida desde ambas partes a través de los programas Microsoft Excel y el de los sistemas de información geográfica ArcGIS 10.6.

La información desde la industria fue obtenida por medio de los informes productivos y sanitarios mensuales entregados una consultora, la cual proporcionó la mortalidad específica por SRS (Síndrome Rickettsial del Salmón) en cada uno de los barrios (Agrupación de Concesiones de la Salmonicultura) de las regiones de los Lagos y Aysén, en forma de datos agrupados. En este análisis, se consideró únicamente la información de los últimos 10 meses (octubre 2018 - julio 2019), periodo que fue coincidente con las capturas realizadas en la pesca de investigación de especies silvestres y ferales.

En cuanto a la información generada por el programa de vigilancia de especies silvestres, se obtuvieron los resultados de PCR tiempo real para *P. salmonis*, con los cuales se estimaron las proporciones de las muestras positivas a este agente patógeno, con respecto al total de peces capturados en cada barrio (ACS) de las regiones de Los Lagos y Aysén.

Con los resultados de los análisis espaciales de ambas partes, se estimó la correlación entre las variables mediante el estimador de correlación de Spearman (ρ , rho), considerado como alta colinealidad $\rho > 0.7$, en casos que los resultados sean significativos ($p < 0.05$). Posteriormente, se aplicó un modelo lineal mixto utilizando la variable de positivos a *P. salmonis* en peces silvestres como variable de explicación y la tasa de mortalidad por *P. salmonis* en centros de cultivo como variable predictora (prueba de Wald $p \leq 0.05$).



Objetivo 3: *Identificar y evaluar la capacidad de que especies no salmonídeas pueden actuar como reservorios de patógenos causantes de alguna enfermedad de alto riesgo sanitario.*

4.7 Estudio de desafío bidireccional por cohabitación con *P. salmonis* para las especies *Eleginops maclovinus* y *Salmo salar*.

En relación a la ejecución del estudio de desafío bidireccional con el patógeno *P. salmonis* entre las especies róbalo y salmón Atlántico, se dio inicio a la actividad con fecha 28 de febrero del 2019, según lo programado, no obstante, en esta ocasión, se utilizaron ejemplares de salmón Atlántico que habían sido adquiridos el año 2018 y que se encontraban en el Centro de Maricultura Hueihue (IFOP), por lo que, al momento de iniciar el estudio, el peso promedio que presentaron fue superior al que estaba establecido por el protocolo del estudio, por lo que hubo que ajustar de igual modo el número de ejemplares por estanque a fin de obtener la densidad propuesta por protocolo. La talla de los ejemplares utilizados también se debió a que no había disponibilidad de peces para la venta en la industria, acorde a las tallas y pesos promedios que se requerían.

Previo al inicio del ensayo experimental, se obtuvieron ejemplares de Róbalo (*Eleginops maclovinus*) por medio de una pesca de investigación en el sector de Manao Norte, próximo al centro de Maricultura Hueihue, perteneciente a IFOP, para lo cual se utilizaron redes de enmalle, las que fueron viradas cada 30 minutos, lo que llevó a capturar un total de 250 ejemplares de róbalo. Estos fueron dispuestos en un estanque contenedor de fibra de vidrio con difusores de oxígeno, donde fueron trasladados al C. M. Hueihue. Una vez ingresados a la unidad experimental, fueron distribuidos en estanques de 1 m³, para ser aclimatados durante un período de 7 días, tiempo en el cual fueron alimentados con alimento natural (mitílicos). De manera adicional, y tal como estaba estipulado por protocolo, se realizó el respectivo chequeo sanitario de estos ejemplares para verificar que estuviesen libres de patógenos.

Por su parte, se obtuvieron 250 ejemplares de la especie salmón Atlántico (*Salmo salar*) no vacunados contra *P. salmonis* y de un peso promedio de 250 g adquiridos el año 2018 de la empresa Salmones Blumar S.A, desde instalaciones del centro de cultivo Chayahue S.A., localizada en sector de Chayahue s/n, Calbuco, los cuales contaban con el respectivo chequeo sanitario, previo al traslado, para ISAV, PCR *P. salmonis*, PCR IPNV e IFAT IPNV. En el caso de los ejemplares de salmón Atlántico, estos ya contaban con el período de aclimatación necesario previo al desafío, dado el período de tiempo transcurrido desde que fueron adquiridos hasta que se dio por iniciado el estudio. En cuanto a su alimentación, estos fueron alimentados con una dieta estándar comercial de pellet calibre 6-7.

Posteriormente, se conformaron los grupos experimentales, cada uno de ellos en triplicado, compuestos por individuos “troyanos” y “cohabitantes” según la especie que corresponda, además del respectivo control positivo tanto para la especie salmón del Atlántico y control negativo, tal como se detalla en la siguiente figura:

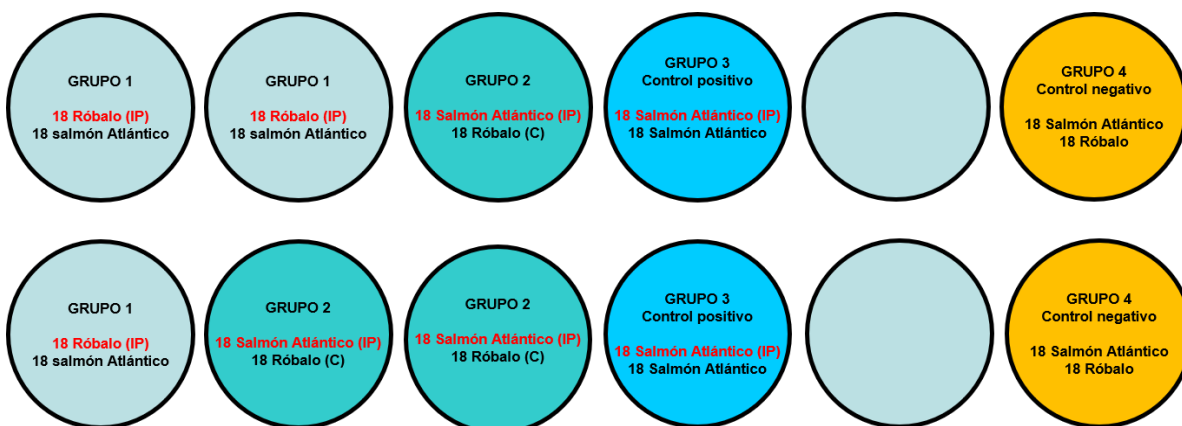


Figura 1. Diseño y disposición de grupos experimentales, por estanque, en estudio de cohabitación. Texto en rojo corresponde a peces "troyanos".

Respecto al inóculo de *P. salmonis* utilizado, éste correspondió a una cepa de *P. salmonis* del genogrupo EM90, aislada desde salmón del Atlántico, proveniente del cepario propio del Departamento de Salud hidrobiológica del IFOP.

Finalmente, mayores detalles del diseño experimental del desafío por cohabitación se presentan en el protocolo del estudio (**Anexo 3**).



Objetivo 4: *Realizar análisis genéticos respecto de las especies salmónidas capturadas para identificar si corresponden a ejemplares escapados o asilvestrados.*

4.8 Análisis genéticos de los ejemplares de trucha arcoíris capturados.

De forma adicional, y según está estipulado en los Términos Técnicos de Referencia del estudio, con fecha 25 de abril del 2019 se enviaron un total de 96 muestras de trucha arcoíris, para análisis mediante técnicas genéticas que den cuenta de si corresponden a ejemplares escapados o ejemplares asilvestrados, y de este modo caracterizar los ejemplares respecto de la zona de procedencia de las muestras. Para ello, se consideró la captura de ejemplares de trucha arcoíris de las zonas del lago Calafquén, lago Caburga, lago Colico y lago Villarrica en la Región de La Araucanía. Estas se remitieron al laboratorio de Genómica en Ecología, Evolución y Conservación del Departamento de Zoología de la Universidad de Concepción, con quienes se ha trabajado de forma conjunta en los resultados presentados en los estudios del 2015 al 2018. Los aspectos metodológicos fueron abordados según los siguientes pasos:

1) Extracción de DNA y tipificación de SNPs desde muestras de trucha arcoíris de vida libre.

Las muestras correspondieron a tejido branquial pertenecientes a 96 individuos de trucha arcoíris conservados en etanol 96%. Las muestras fueron obtenidas desde capturas realizadas en los lagos Calafquén, Caburga, Colico y Lago Villarrica, en la Región de la Araucanía. De cada muestra se le extrajo aproximadamente 25mg de tejido, para luego realizar la extracción de ADN genómico total utilizando un Kit NucleoSpin® Tissue (Qiagen) siguiendo el protocolo del fabricante. Luego se realizó una medición de cantidad y calidad de ADN utilizando un espectrofotómetro NanoDrop 2000 con la finalidad de asegurar el posterior proceso de tipificación. Las muestras de ADN se tipificaron para un panel de 96 SNPs utilizados por Benavente *et al.* (2015) mediante secuenciación de amplicones y PCR masiva en paralelo (Campbell *et al.* 2015).

2) Estructura genética de los grupos de referencia y muestra problema de trucha arcoíris de vida libre

Se construyó una base de datos a partir de genotipos de 1897 individuos provenientes de 40 localidades diferentes, distribuidas desde la Región de Arica y Parinacota a la Región de Los Lagos (**Tabla 11, Figura 2**). Esta base de datos contiene además ejemplares de trucha arcoíris de planteles de crianza en cautiverio obtenidas desde pisciculturas. Es importante señalar que las cepas de trucha arcoíris más cultivadas corresponden a las variedades Cofradex (Dinamarca), NLA (Noruega) y sus híbridos.

**Tabla 11**

Localidades y n3mero de muestra de TAI usadas para generar los grupos de referencia.

Localidad	Ubicaci3n	Grupo Gen3tico de Referencia	Tama1o muestral
Piscicultura1	Los Lagos	Piscicultura	14
Blanco	Los Lagos	Llanquihue	219
Blanco Arenales	Los Lagos	Llanquihue	182
Cachimba	Los Lagos	Todos Los Santos	188
Calcurrupe	Los R3os	Llanquihue	10
Caquena	Arica y Parinacota	Norte-Centro	5
Cayetue	Los Lagos	Todos Los Santos	18
Chirre	Los R3os	Llanquihue	5
Currine	Los R3os	Llanquihue	10
Escape	Los Lagos	Todos Los Santos	160
Estero de la Plata	Maule	Norte-Centro	36
Estero Venado	Los R3os	Piscicultura	10
Isla Maipo	Metropolitana	Piscicultura	11
Huahum	Los R3os	Llanquihue	10
Huichalafquen	Los R3os	Piscicultura	10
Ignao	Los R3os	Llanquihue	10
Laja	Biob3o	Norte-Centro	20
Le3n	Los Lagos	Todos Los Santos	186
Piscicultura2	Los Lagos	Piscicultura	13
Lluta	Arica y Parinacota	Norte-Centro	7
Loa	Antofagasta	Norte-Centro	9
Los Que1es	Maule	Norte-Centro	5
Ma1io	Los R3os	Piscicultura	10
1uble	Biob3o	Llanquihue	17
Piscicultura3	Los Lagos	Piscicultura	30
Pescado	Los Lagos	Llanquihue	121
Peulla	Los Lagos	Todos Los Santos	62
Piedras Negras	Los Lagos	Llanquihue	20
Piscicultura4	Los R3os	Piscicultura	50
Piscicultura5	Valpara3so	Piscicultura	9
Rio Cautin	Araucan3a	Norte-Centro	28
Rio U23	Los Lagos	Piscicultura	13
Carrillo	Metropolitana	Piscicultura	6
Temuleufu	Los R3os	Llanquihue	10
Tepu	Los Lagos	Llanquihue	239
Antivero	Maule	Llanquihue	4
Claro	Maule	Llanquihue	4
Topocalma	O'Higgins	Norte-Centro	3
Yerbas Buenas	Los Lagos	Llanquihue	123
Zahuil	Los R3os	Piscicultura	10

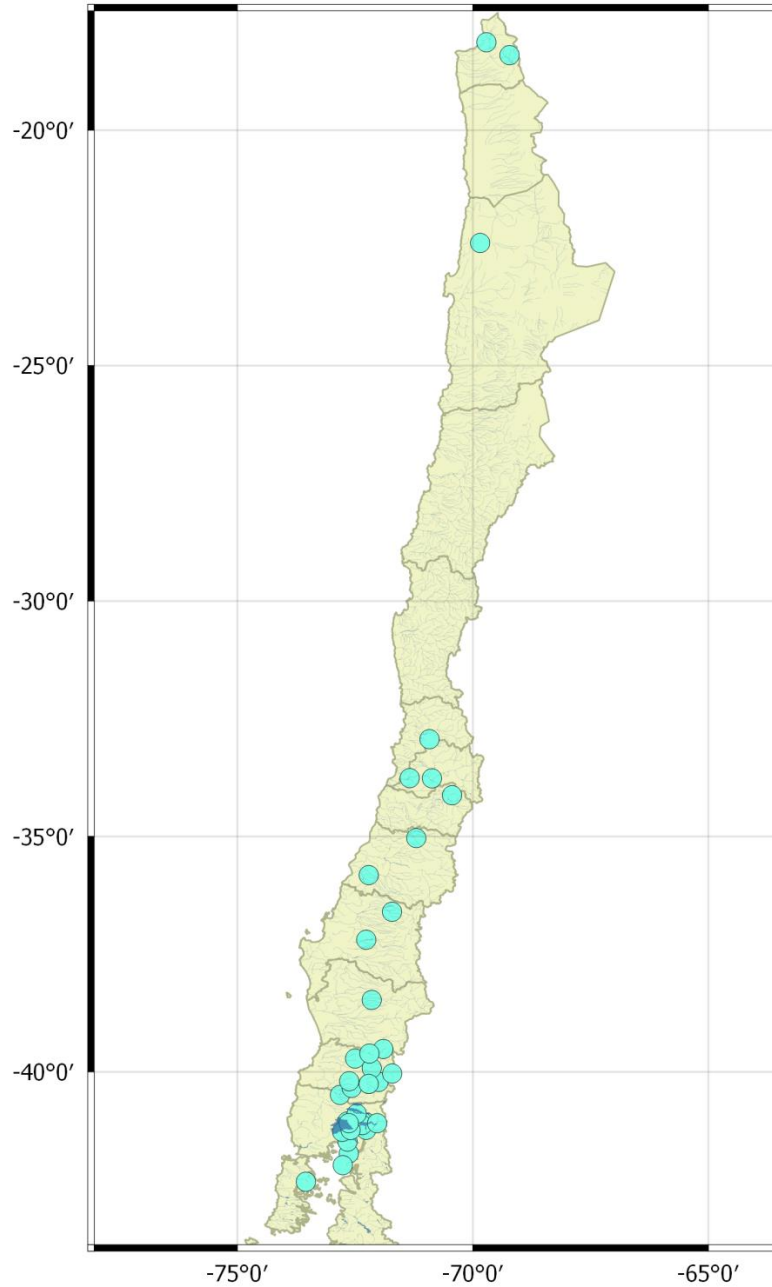


Figura 2. Localidades que componen los grupos de referencia de Trucha Arcoíris entre las Regiones de Arica y Parinacota y Los Lagos.



Inicialmente se procedió a clasificar los individuos contenidos en nuestra base de datos genética de trucha arcoíris, además de seleccionar y filtrar individuos de localidades con grandes tamaños poblacionales. Se ha demostrado que diferencias de tamaño muestral entre grupos de referencia puede generar problemas en los análisis de asignación individual de las muestras de origen desconocido (Kalinowski 2011).

Para la inferencia de la estructura poblacional y del número de grupos genéticos de referencia se usó una aproximación individual de análisis de componentes principales discriminante o ACPD (Jombart *et al.* 2010). Se estimó el número de grupos genéticos basada en la maximización de diferencias genéticas entre grupos y minimizándola dentro de los grupos (k-mean). Este método está implementado en el paquete adegenet (Jombart 2008, Jombart and Ahmed 2011) para R (R Core Team 2018). Alternativamente, se utilizó otro análisis de estructuración genética utilizando el programa STRUCTURE (Pritchard *et al.* 2000) para determinar el número más probable de grupos genéticos utilizando inferencia bayesiana y el supuesto de que las varias clases de genotipos dentro de grupos genéticos de referencia debieran ajustarse a proporciones esperadas bajo equilibrio de Hardy-Weinberg y de ligamiento.

Una vez identificados los grupos de referencia, los individuos pertenecientes a cada clúster fueron filtrados según su probabilidad de pertenencia al clúster donde fue asignado, utilizando individuos que tuviesen una probabilidad mayor a un 90% de pertenecer al grupo donde fue asignado. Se evaluó la consistencia de los grupos de referencia mediante simulación y bootstrap según el método de Rannala and Mountain (1997) también implementado en ONCOR.

3) Asignación de genotipos de las muestras problema a la línea de base genética de poblaciones de referencia

Los genotipos de las muestras analizadas fueron comparados estadísticamente con los grupos de referencia para así definir el origen más probable de las muestras. Se utilizó la información genética de las muestras de referencia y las muestras sometidas a análisis a partir del método de identificación de mezclas de stocks del software ONCOR (Kalinowski *et al.* 2008). ONCOR utiliza algoritmos para estimar la probabilidad de que una muestra pertenezca a un grupo genético de referencia determinado, iterando continuamente hasta que los cambios en las probabilidades de asignación sean menores a 10⁻⁶ (Anderson *et al.* 2008). En este programa se realizaron dos análisis de asignación: el primero corresponde a un análisis general de asignación individual de todos los individuos de IFOP a los grupos de referencia. El segundo análisis corresponde a un análisis de asignación para cada lago muestreado de manera independiente: Lago Colico, Lago Calafquén, Lago Villarrica y Lago Caburga. Aquí se usaron dos subgrupos de referencia, que poseen una mayor relación genética con las muestras. Estos grupos corresponden a una sub muestra del grupo de referencia de Norte-Centro, compuesto por muestras de poblaciones naturalizadas de trucha arcoíris de la Región de la Araucanía (n=28) y a una submuestra de individuos pertenecientes a centros de cultivo (n=50).



Objetivo 5: *Realizar análisis respecto de los resultados obtenidos en estudios previos, e identificar tendencias y brechas.*

4.9 Análisis de tendencias de las capturas y detección de material genético de agentes patógenos en las muestras analizadas y principales brechas de estudios previos.

En base a la información recopilada de los estudios anteriores (ASIPA 2010, 2011, 2012, 2013, 2014, 2015, 2016, 2017) y lo detallado en el presente documento (2018-2019), se analizaron los resultados obtenidos del monitoreo de enfermedades de alto riesgo en peces silvestres, con el fin de establecer la evolución que estas han tenido a través del tiempo, en términos de capturas y la presencia de agentes patógenos, a fin de evaluar, como han cambiado los resultados de muestras positivas a través de los años, y establecer tendencias y brechas, evaluando de qué forma toda esta información aportará al conocimiento y entendimiento de los agentes patógenos causantes de enfermedades de alto riesgo sanitario en peces silvestres.

Para el análisis de tendencias se consideraron las bases de datos de capturas de peces, como también, de los resultados del análisis a la detección a patógenos relevantes para la acuicultura, lo que abarcó las regiones de la Araucanía, Los Ríos, Los Lagos, Aysén del General Carlos Ibáñez del Campo, y de Magallanes y de la Antártica Chilena. El procedimiento lógico consideró realizar análisis a modo general, abarcando todo el conjunto de datos disponibles, seguido de análisis por zonas de muestreos. Sin embargo, se debe mencionar que del total de zonas presenten en cada región solo algunas han presentado registro de muestreos disponibles para los ocho años de estudio. Del mismo modo, se dio prioridad al análisis de los principales componentes de las tendencias (ejemplo: las capturas de las especies róbalo y pejerrey de mar que son las que presentan las mayores abundancias, en términos de captura).

El análisis de tendencias fue dividido en dos secciones. En primer lugar, se describirán los resultados de tendencias de capturas en forma general por tipo de especie (nativo o salmónido), seguido del análisis por especie (con las mayores abundancias en capturas) en cada zona seleccionada. En segundo lugar, se realizará una descripción de los resultados de muestras positivas a lo largo de la escala temporal otorgada por los años de estudios mencionados previamente. Se debe destacar que solo *P. salmonis* posee resultados positivos durante el transcurso de los ocho años de estudio, por este motivo se entregará mayor detalle para este patógeno. Considera un análisis general, seguido de resultados positivos por cada una de las zonas seleccionadas.

Para determinar el comportamiento de los datos y sus tendencias, se evaluaron los modelos lineal, exponencial, logarítmico, polinomial y potencial. Se utilizó el coeficiente de determinación (R^2) para determinar el mejor ajuste de los modelos a los datos. La obtención de un alto valor de este coeficiente significaría que la mayoría de la variación de la variable dependiente (en este caso la presencia de patógenos y/o capturas) es explicada por la variable independiente (en este caso el tiempo) en el modelo evaluado (Zuur *et al.*, 2010). De esta manera se escogieron aquellos modelos o ajustes que presentaron los mayores coeficientes de determinación.



5. RESULTADOS

Objetivo 1: *Continuar y perfeccionar la ejecución del programa de vigilancia y monitoreo desarrollado en proyectos anteriores, que permita conocer la evolución del estatus sanitario de las especies silvestres y ferales, en relación con las enfermedades de alto riesgo (EAR).*

Previo a dar cumplimiento al objetivo 1, y que dice relación con dar continuidad y perfeccionar la ejecución del programa de vigilancia y monitoreo que permita conocer la evolución del estatus sanitario de las especies silvestres y ferales en el marco de las enfermedades de alto riesgo (EAR), se procedió a efectuar una revisión bibliográfica centrada en la búsqueda de nuevos antecedentes en lo referente a sistemas de vigilancia que complementen lo presentado en el informe final del estudio ASIPA 2017-2018.

5.1. Revisión bibliográfica

Se efectuó una revisión profunda en sitios web internacionales de entidades oficiales encargadas de sanidad animal y vigilancia de los organismos acuáticos de los principales países acuicultores de importancia a nivel mundial; no obstante, pese a la revisión efectuada, no se encontraron antecedentes nuevos relacionados con programas oficiales de monitoreo y vigilancia de especies silvestres en otros países, respecto a los ya presentados en informes anteriores.

De igual modo, se consultaron referencias bibliográficas nacionales e internacionales de las principales bases de datos que fueron detalladas en la sección metodológica del presente documento, a fin de entregar otros antecedentes complementarios de estudios realizados que se relacionen con la detección y presencia de patógenos bacterianos y/o virales causantes de enfermedades de alto riesgo en peces silvestres.

A continuación, se detallan cuatro nuevas referencias que fueron material de consulta para actualizar las revisiones efectuadas en estudios anteriores. Parte de la información obtenida de la revisión, se presenta a modo de resumen bajo la sección de otros antecedentes internacionales:

- Gustafson LL, Creekmore LH, Snekvik KR, Ferguson JA, Warg JV, Blair M, Meyers TR, Stewart B, Warheit KI, Kerwin J, Goodwin AE, Rhodes LD, Whaley JE, Purcell MK, Bentz C, Shasa D., Bader J, Winton JR. A systematic surveillance programme for infectious salmon anaemia virus supports its absence in the Pacific Northwest of the United States. *J Fish Dis.* 2018; 41:337–346.
- Madhun AS, Isachsen CH, Omdal LM, Einen ACB, Maehle S, Wennevik V, Niemelâ, E, Svasand T. Prevalence of piscine orthoreovirus and salmonid Alphavirus in sea-caught returning adult Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) in northern Norway. *J Fish Dis.* 2018; 41:797–803.



- Purcell MK, Powers RL, Evered J, Kerwin J, Meyers TR, Stewart B, Winton JR. Molecular testing of adult Pacific salmon and trout (*Oncorhynchus* spp.) for several RNA viruses demonstrates widespread distribution of piscine orthoreovirus in Alaska and Washington. *J Fish Dis.* 2018; 41:347–355.
- Ruane NM, Swords D, Morrissey T, Geary M, Hickey C, Collins EM, Geoghegan F, Swords F. Isolation of salmonid alphavirus subtype 6 from wild-caught ballan wrasse, *Labrus bergylta* (Ascanius). *J Fish Dis.* 2018; 41:1643 -1651.

Otros antecedentes internacionales

Gustafson et al., 2018, describen en su trabajo que en respuesta a los hallazgos reportados del virus de la anemia infecciosa del salmón (ISAV) en la Columbia Británica, Canadá, en el 2011, profesionales y especialistas en salud de peces, y autoridades del gobierno estatal y federal de los Estados Unidos desarrollaron e implementaron un plan colaborativo de vigilancia de ISAV para la región del noroeste del Pacífico de los Estados Unidos. En consecuencia, durante un período de 3 años y medio, se tomaron muestras de 4.962 salmónidos y se analizaron con éxito mediante transcripción reversa (PCR) en tiempo real, utilizando los ensayos recomendados por la OIE (OIE, 2017a), y siguiendo las pruebas de competencia de todos los laboratorios participantes. Los protocolos de muestreo aseguraron la identificación de los peces y los lugares de muestreo y el manejo adecuado de las muestras. El conjunto de muestra incluyó múltiples tejidos de salmónidos del Pacífico criados en vida libre de las regiones costeras de Alaska y Washington, y ejemplares de salmón del Atlántico de cultivo (*Salmo salar* L.) de Washington, todos representando peces expuestos a ambientes marinos. La investigación apuntó a animales fisiológicamente comprometidos o moribundos más vulnerables a la infección, así como a especies consideradas susceptibles a ISAV.

Los algoritmos preestablecidos y los planes de contingencia aseguraron resultados confiables y estándares transparentes para la interpretación y respuesta. Las 4.962 muestras analizadas fueron negativas para el ARN de ISAV, con prácticas de vigilancia y bioseguridad para apoyar un estado de salud sólido. Resultados de este esfuerzo de vigilancia proporcionar evidencia sólida para apoyar la ausencia de ISAV en poblaciones representadas de salmónidos criados en vida libre y marinos en la costa noroeste de los Estados Unidos.

La inflamación cardíaca y del músculo esquelético (HSMI) causadas por el piscine orthoreovirus (PRV), y la enfermedad del páncreas (EP) causada por el alfavirus de salmónido (SAV) se encuentran entre las enfermedades virales más prevalentes en el salmón del Atlántico cultivado en Noruega. Al respecto, **Madhun et al., 2018** determinaron la prevalencia de piscine reovirus (PRV) y Alphavirus de los salmónidos (SAV) en ejemplares adultos de salmón de Atlántico retornantes desde el agua de mar en el norte de Noruega. Para tal efecto, determinaron la prevalencia de PRV y SAV en el salmón capturado de retorno en seis sitios marinos mediante análisis de RT-PCR en tiempo real. De un total de 419 salmónidos analizados, el 15.8% resultaron positivos para PRV, mientras que no se registraron positivos para SAV. Sin embargo, la lectura de la escala reveló que el 10% de los salmónidos habían escapado desde centros de cultivo. La prevalencia de PRV en el salmón silvestre (8%) fue



significativamente más baja que en los escapados desde centros de cultivo (86%), e incremento con la longitud del pez. Por su parte, la secuenciación del gen S1 de PRV de 39 peces infectados reveló una mezcla de genotipos. El aumento observado en la prevalencia de PRV con la edad de los peces, y la falta de estructura filogeográfica del virus, podría ser explicado por la transmisión del virus en las zonas de alimentación. Los resultados de este estudio resaltan la necesidad de estudios sobre la prevalencia de PRV y de otros patógenos, en salmón del Atlántico en su fase de agua de mar.

Purcell et al., 2018 condujeron una investigación basada en un esfuerzo conjunto de vigilancia sistemática multiagencia en los Estados Unidos, en respuesta a los hallazgos informados del virus de la anemia infecciosa del salmón (ISAV) en la Columbia Británica, Canadá. En el estudio de vigilancia sistemática, tejidos de varios salmónidos colectados de Washington y Alaska fueron analizados para ARN de ISAV utilizando el método de diagnóstico aprobado por los EE. UU, y se liberaron muestras para ser utilizadas en este estudio solo después de la obtención del resultado de la prueba negativa. Se probó un subconjunto de estas muestras para ISAV RNA con tres ensayos moleculares adicionales publicados, así como para RNA de Alfavirus de salmónidos (SAV), piscine miocarditis virus (PMCV) y piscine ortoreovirus (PRV). La totalidad de las muestras analizadas (n=2.252; 121 cohortes de valores) dieron negativo para ARN de ISAV, PMCV y SAV. En contraste, hubo 25 cohortes de valores provenientes de Washington y Alaska que tuvieron uno o más individuos con resultado positivo para el ARN de PRV; la prevalencia dentro de las poblaciones varió y osciló entre el 2% y el 73%. La prevalencia global de individuos ARN positivos para PRV a través de todo el estudio fue de 3.4% (77 de 2,252 peces evaluados). Los hallazgos de ARN de PRV fueron más comunes en el salmón coho (*Oncorhynchus kisutch* Walbaum) y salmón Chinook (*O. tshawytscha* Walbaum).

El estudio demostró diferentes patrones geográficos para PRV, sin embargo, no se logró identificar los impulsores de estos patrones. Una hipótesis podría ser que diferentes cepas virales pueden circular en diferentes regiones. Desafortunadamente, las secuencias generadas en el estudio se utilizaron simplemente para confirmar la presencia de PRV, y no fue lo suficiente amplias para investigar patrones genéticos epidemiológicos. Sin embargo, un estudio filogenético más extenso de los tipos de secuencia PRV, que incluía secuencias de dos peces individuales del presente estudio, demostró un alto nivel de homogeneidad genética (<1.1% de diversidad máxima de nucleótidos) en muestras que van desde Alaska hasta Washington de un número de especies hospedantes (Siah et al., 2015). Las secuencias parciales del segmento S1 de PRV de dos poblaciones de salmón Chinook del río Columbia, resultaron ser muy similar a las secuencias PRV derivadas de muestras de peces de British Columbia y Alaska (Kibenge et al., 2013; Siah et al., 2015).

Por su parte, **Ruane et al., 2018**, aislaron el subtipo 6 del Alphavirus de los salmónidos en la captura de la especie silvestre Ballan wrase, *Labrus bergylla* (Ascanius), más conocido como Durdo o Maragota, especie que es utilizada como controlador biológico del piojo de mar en la acuicultura del salmón atlántico. De este modo, la captura silvestre de esta especie está orientada comúnmente a su uso como pez limpiador en Europa. En Irlanda, muestras de wrase obtenidas desde áreas de pesca fueron chequeadas para detectar posibles patógenos previo a su incorporación en las jaulas marinas que contienen salmónidos. En los análisis efectuados, fue posible aislar el virus SAV (Alphavirus de los salmónidos) de una muestra combinada de Maragota, que no mostraba signos de la enfermedad,



capturado en el noroeste de Irlanda. La secuenciación parcial de los genes E2 y nsE3 mostró que estaba estrechamente relacionado con el subtipo 6 del virus SAV previamente reportado. Lo anterior, representa el segundo aislamiento de este subtipo, y el primero de una especie de pez silvestre denominado ballan wrase.

5.2. Trámites y coordinación de Pesca de Investigación

En cuanto a los trámites de solicitud de pesca de investigación correspondiente, en el mes de octubre del 2018 se recepcionó por parte de la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura, la Resolución de Pesca de Investigación, R. EX N° 3601, que autoriza, al Instituto de Fomento Pesquero, la ejecución de las actividades de pescas en las zonas de muestreo previamente definidas. En el **Anexo 2** del presente documento, se presenta la Resolución Exenta N° 3601 del 17 de octubre del 2018.

5.2.1 Especies Objetivo

El detalle de las especies que fueron objeto de captura en las pescas de investigación en cuerpos de agua mar, estuario y agua dulce, corresponden a las detalladas en la sección 4.2.1 de la sección metodológica.

5.2.2 Zonificación

Respecto al detalle de la zonificación, se mantuvieron las 29 zonas geográficas que fueron especificadas en la sección metodológica del presente documento. El detalle de las zonas donde se ejecutaron las actividades de muestreo se presenta en la **Tabla 12**.



Tabla 12.
Zonas de muestreo definidas y código asignado.

Zona de muestreo	Código
Estuario de Valdivia y Río Valdivia	EV
Macrozona 1 (Estuario y Seno de Reloncaví)	M1
Macrozona 5 (Hornopirén y Fiordo Comau)	M5
Macrozona 2 (Chiloé Norte)	M2
Macrozona 3 (Chiloé Central)	M3
Macrozona 4 (Chiloé Sur)	M4
Macrozona 6 (Melinka y Guaitecas norte)	M6
Macrozona 7 (Guaitecas Sur, Fiordo Cupquelan y Estero Quitralco)	M7
Macrozona 8 (Fiordo Puyuhuapi y Raúl Marín Balmaceda)	M8
Fiordo Aysén	FA
Control Negativo (Caleta Tortel y Río Cochrane)	CN
Puerto Natales	PN
Capitán Aracena	PA
Lago Llanquihue	L1
Lago Chapo	L2
Lago Riesco	L3
Lago Huillinco	L4
Lago Natri	L5
Lago Sofía	L6
Lago Caburga	L7
Lago Calafquén	L8
Lago Colico	L9
Lago Villarrica	L10
Lago Ranco	L11
Lago Panguipulli	L12
Lago Riñihue	L13
Lago Yelcho	L14
Lago Rupanco	L15
Lago Puyehue	L16

5.3 Defini3n de puntos de muestreo

Respecto a la definici3n de los puntos de muestreo, se mantuvieron los puntos por zona geogr3fica que fueron muestreados en per3odo 2017-2018 y anteriores, utilizando el modelo de Agrupaci3n de Concesi3n Salmonera (ACS) y las macrozonas identificadas por la SUBPESCA. El mantener los puntos se realiz3 con el prop3sito de establecer tendencias temporales de las capturas de peces silvestres y ferales y de la detecci3n de agentes pat3genos causantes de EAR en las muestras analizadas. La imagen digitalizada de las macrozonas y ACS se presenta a continuaci3n (*Google Earth, versi3n 7.1.7.2016*).

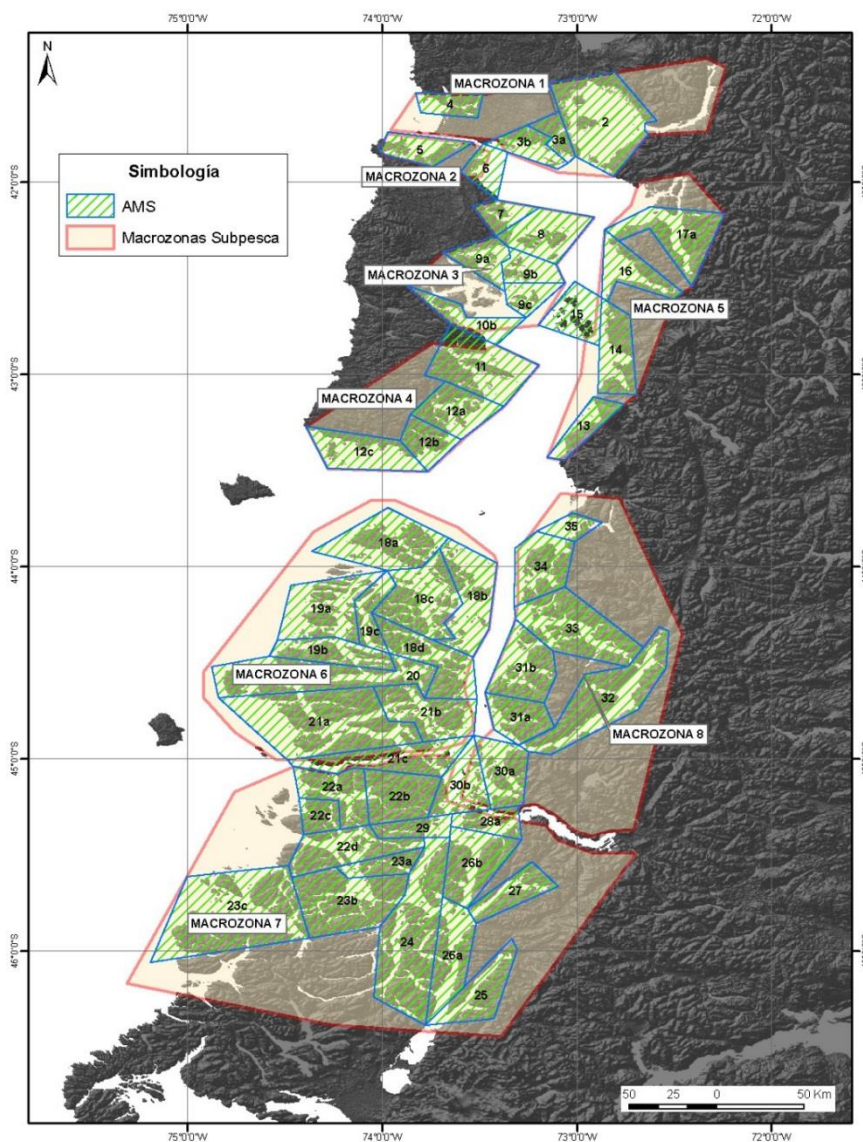


Figura 3. Macrozonas SUBPESCA para la Regi3n de Los Lagos y Regi3n de Ays3n.

Se consideraron 3 puntos geográficos dentro de cada zona de muestreo, desde donde fueron capturados los peces en las campañas de pesca respectivas, los cuales se asociaron con aquellos barrios (dentro de cada macrozona) donde se present3 el mayor porcentaje de mortalidad atribuible al pat3geno *P. salmonis*, lo cual es evaluado permanentemente durante el programa de monitoreo. Las estaciones de muestreo aparecen destacadas con una marca de coloraci3n roja, para cada uno de los puntos de muestreo (1, 2 y 3). Los puntos que se señalan con nombre en algunos de los mapas, corresponden a las caletas de pescadores del sector señaladas por las bases de datos del Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura. Los puntos de muestreo se detallan desde las **figuras 4 a la 33**.

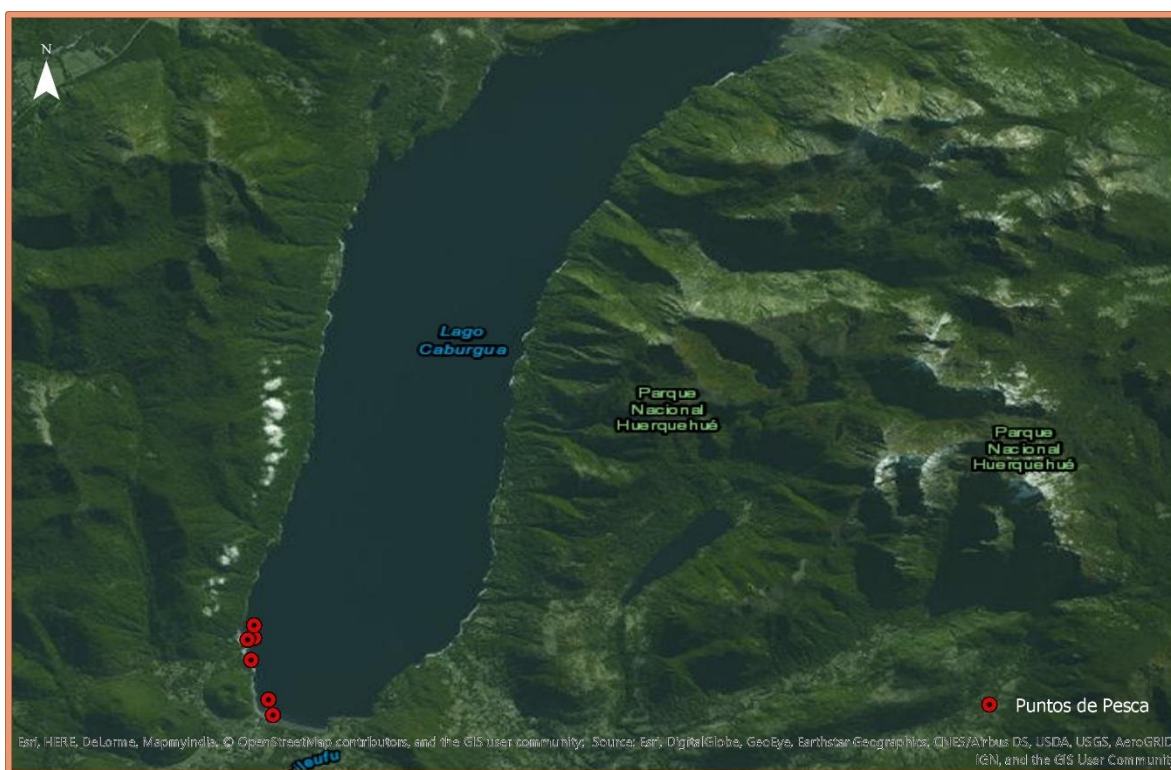


Figura 4. Estaciones de muestreo sector del Lago Caburga, Regi3n de la Araucanía

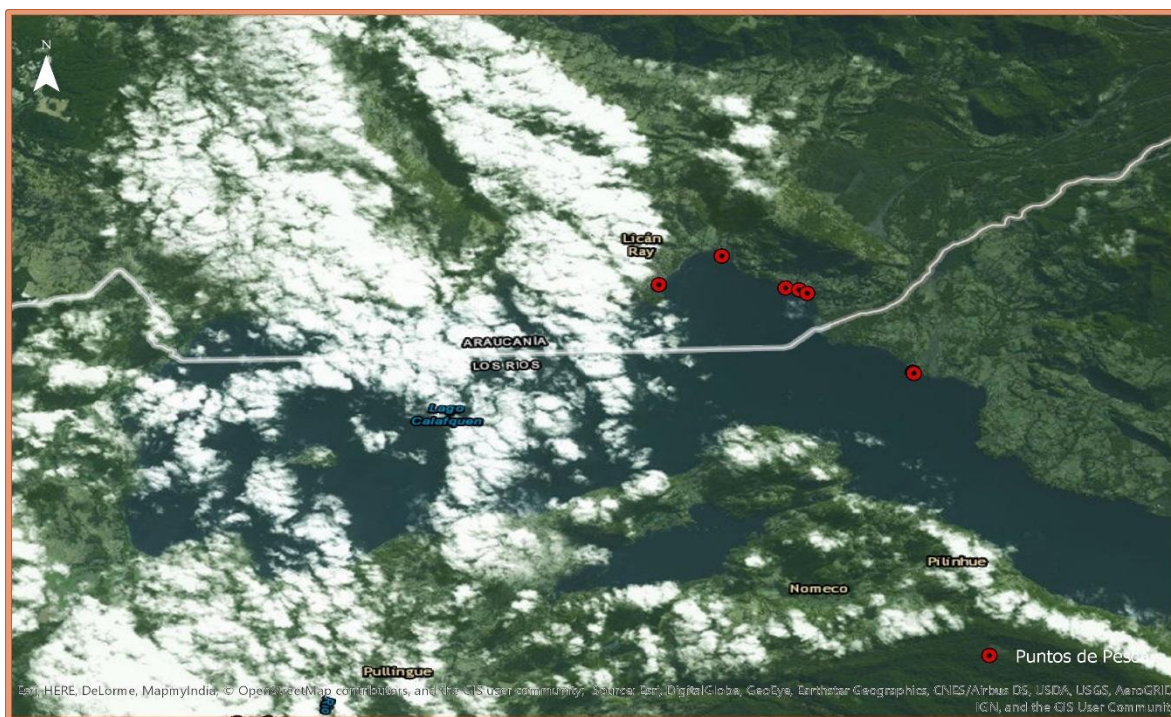


Figura 5. Estaciones de muestreo sector del Lago Calafqu3n, Regi3n de La Araucan3a.

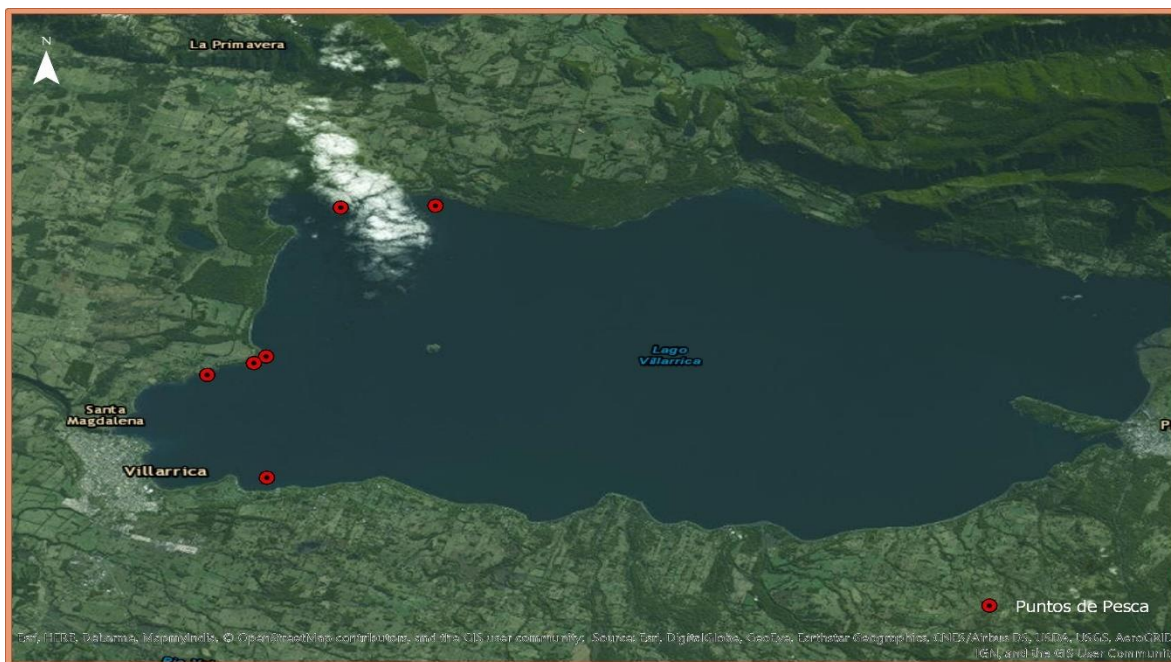


Figura 6. Estaciones de muestreo sector del Lago Villarica, Regi3n de La Araucan3a.

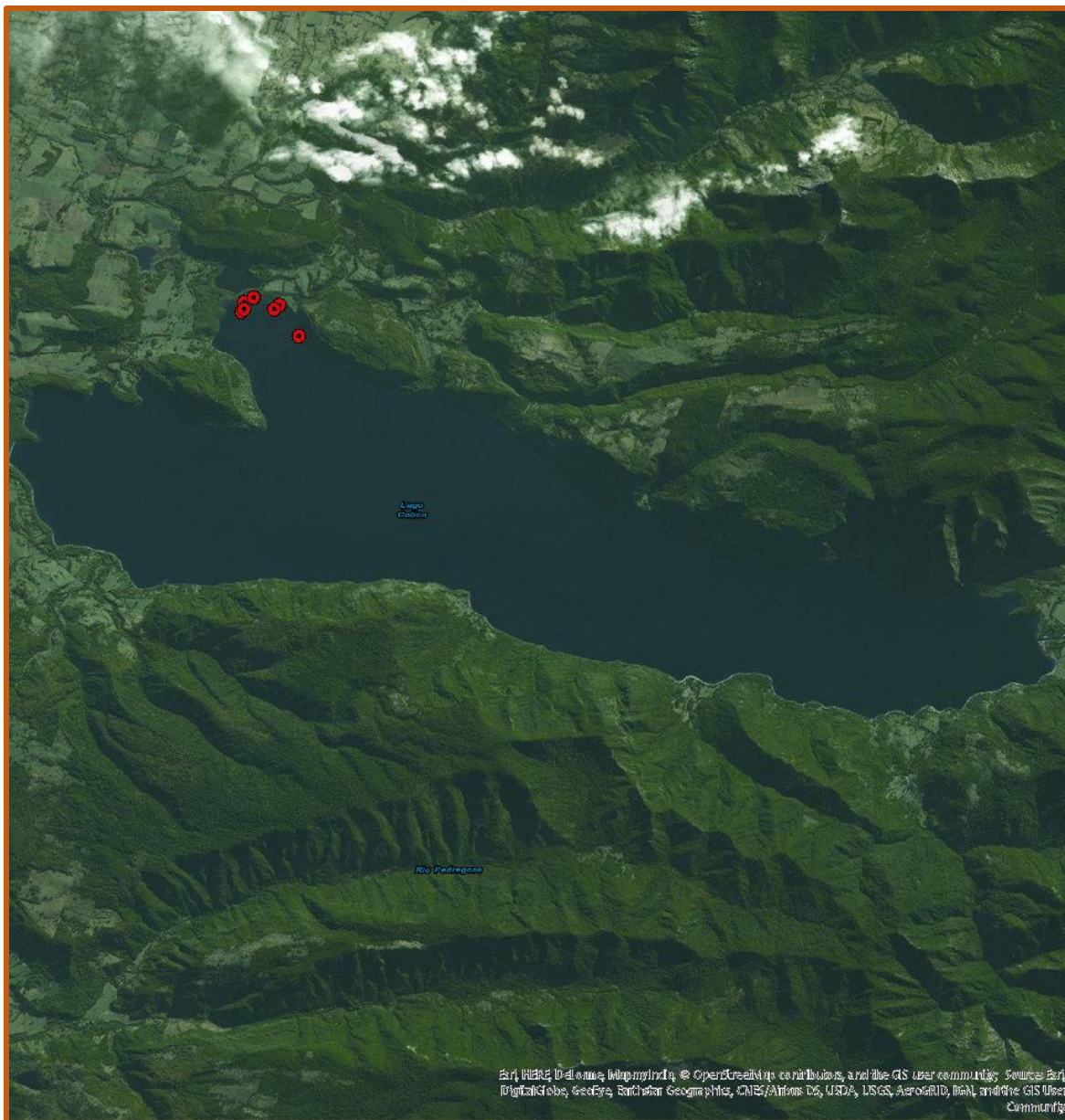


Figura 7. Estaciones de muestreo sector del Lago Colico, Región de La Araucanía.

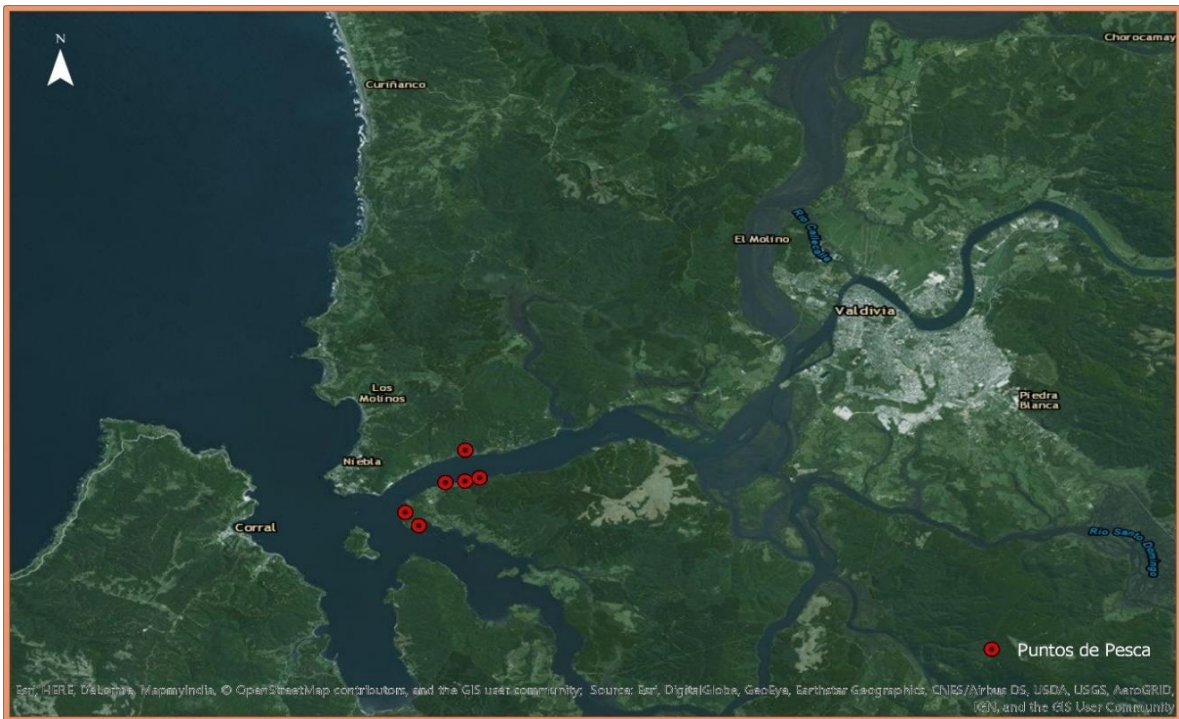


Figura 8. Estaciones de muestreo sector Estuario y R3o Valdivia, Regi3n de Los R3os.

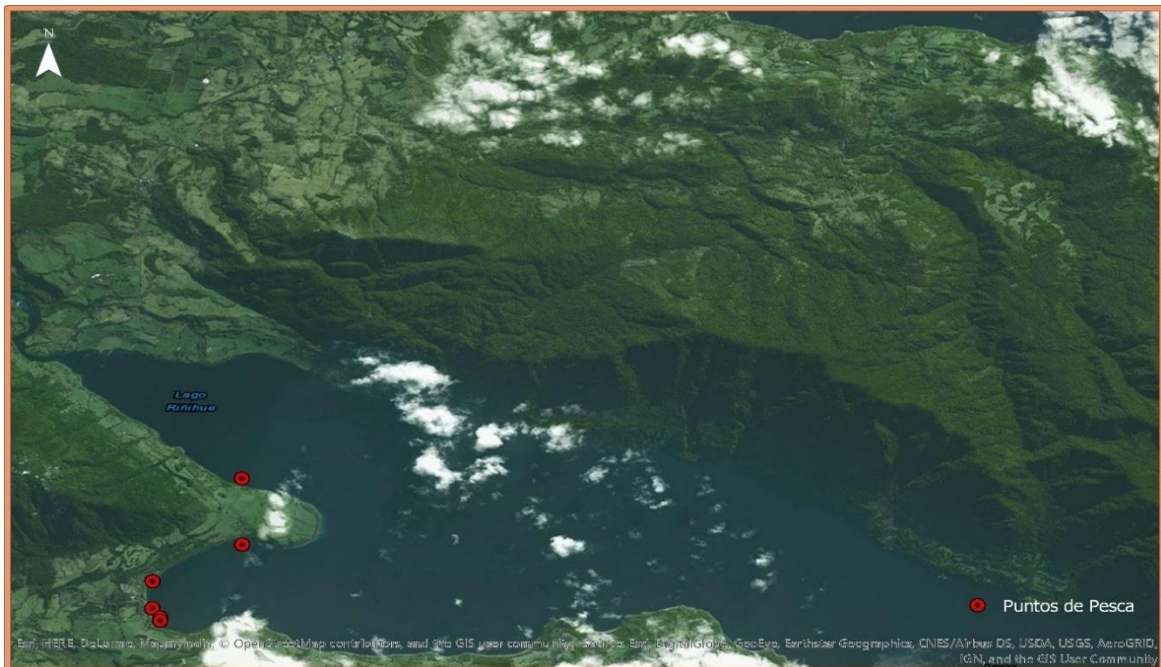


Figura 9. Estaciones de muestreo sector Lago Riñihue, Regi3n de Los R3os.

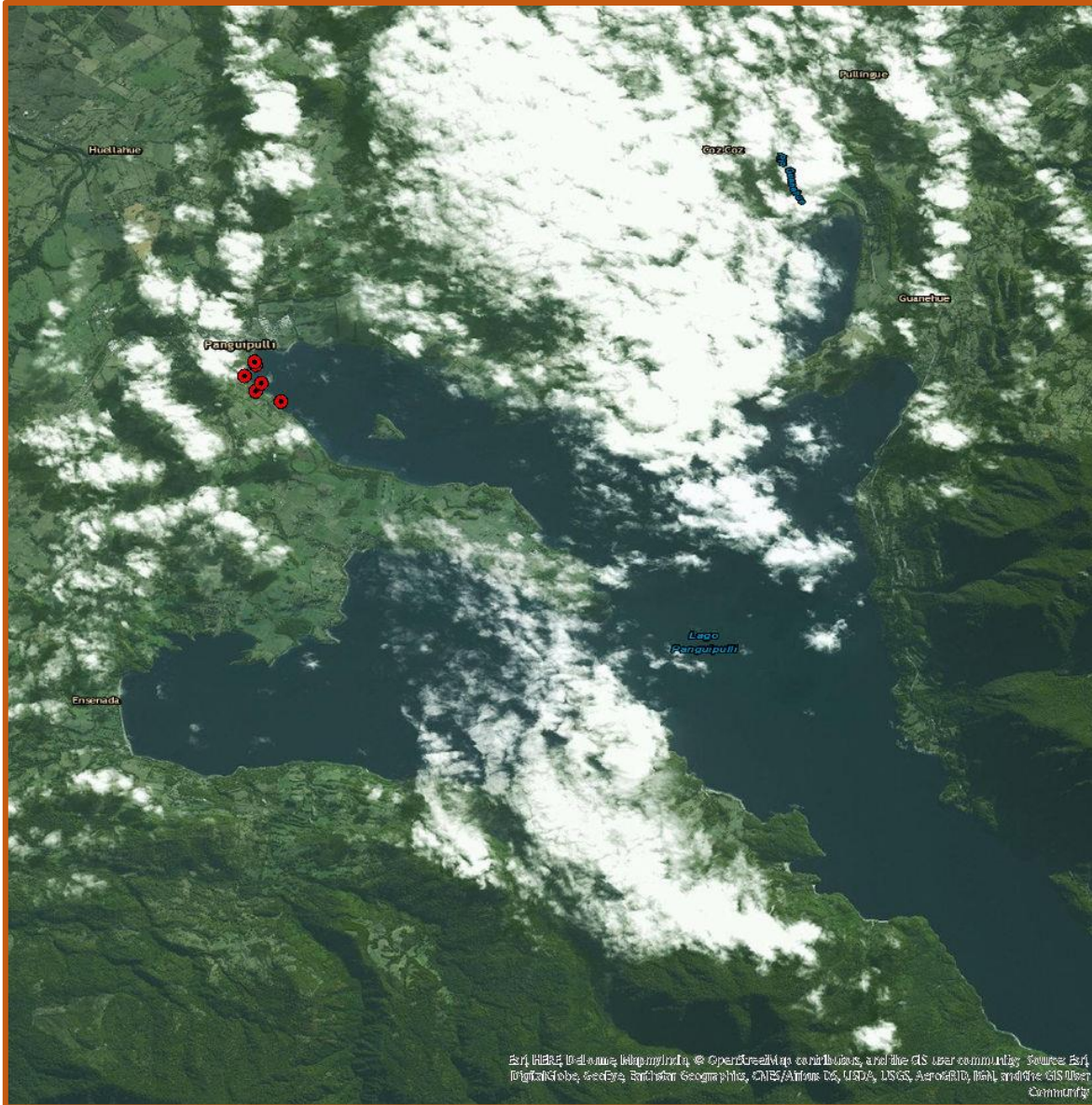


Figura 10. Estaciones de muestreo sector Lago Panguipulli, Región de Los Ríos.

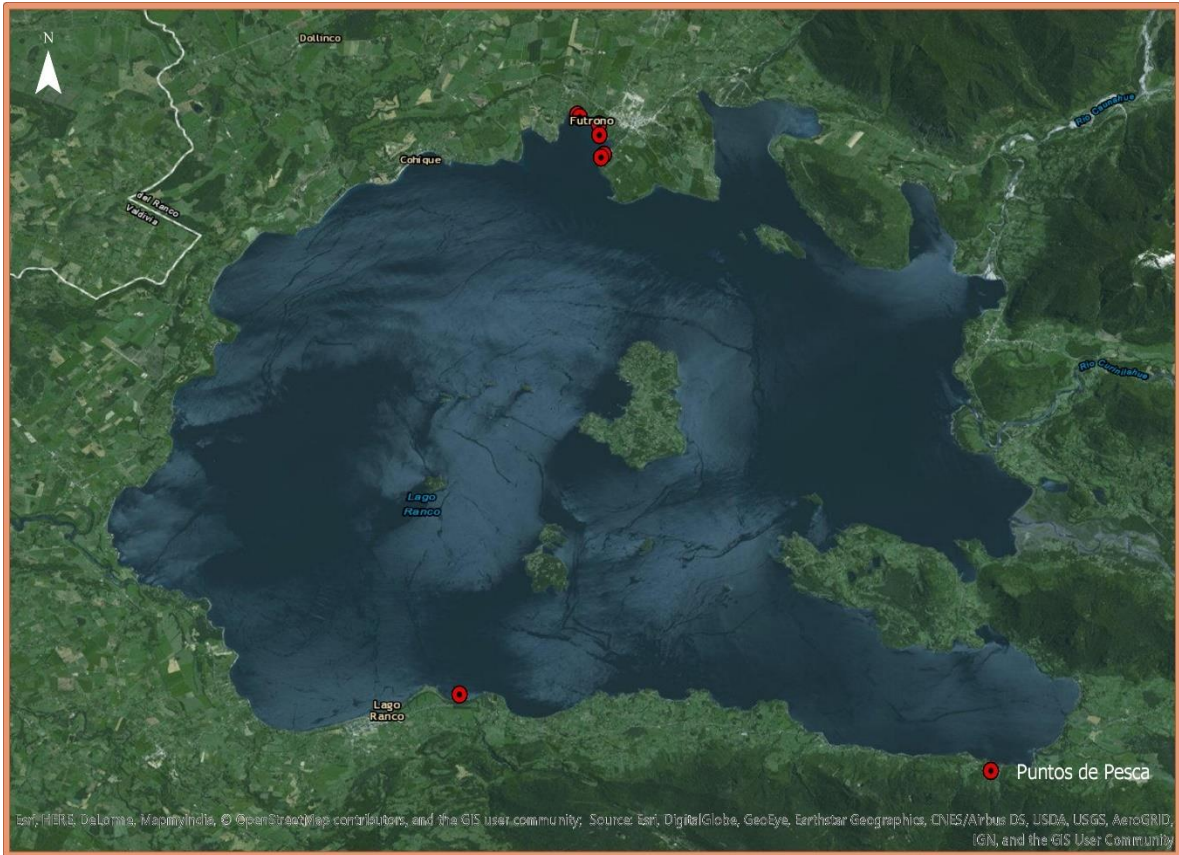


Figura 11. Estaciones de muestreo sector Lago Ranco, Región de Los Ríos.

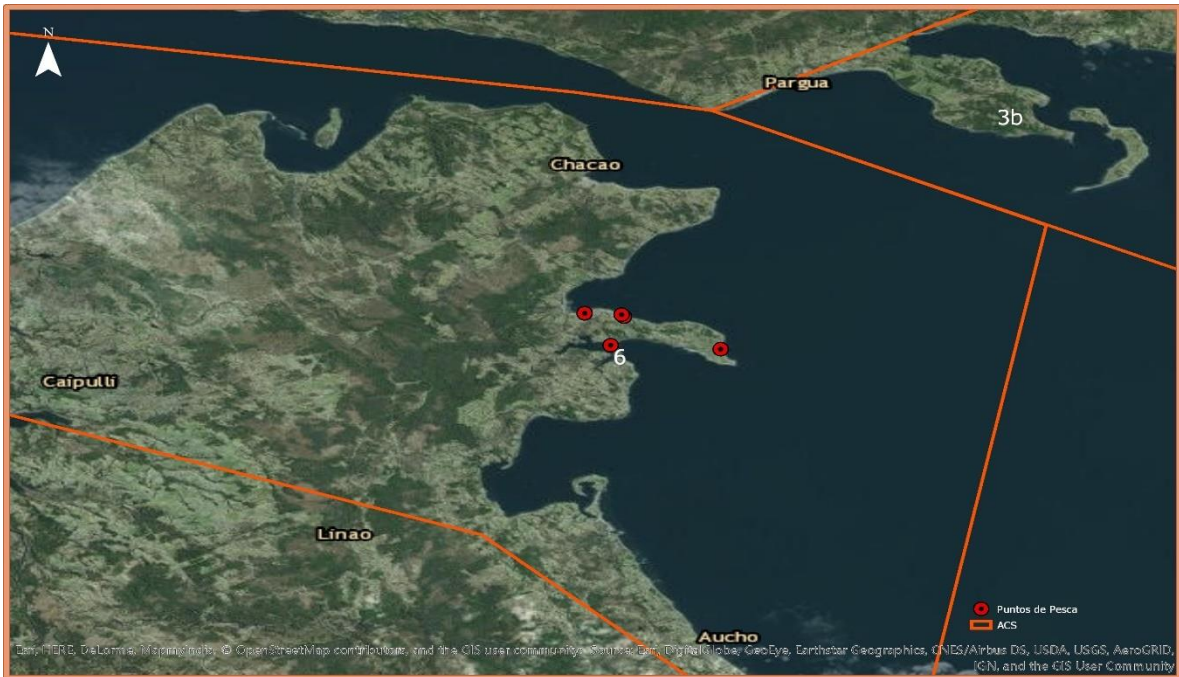


Figura 12. Estaciones de muestreo Macrozona 1, Regi3n de Los Lagos.

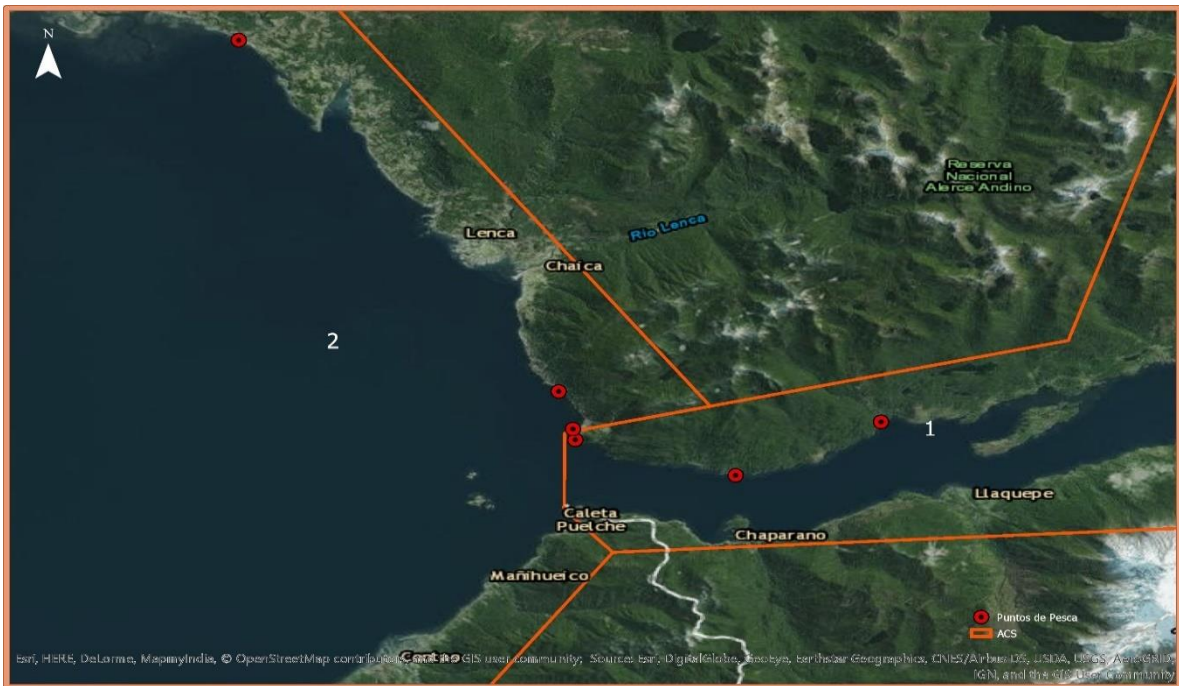


Figura 13. Estaciones de muestreo Macrozona 2, Regi3n de Los Lagos.

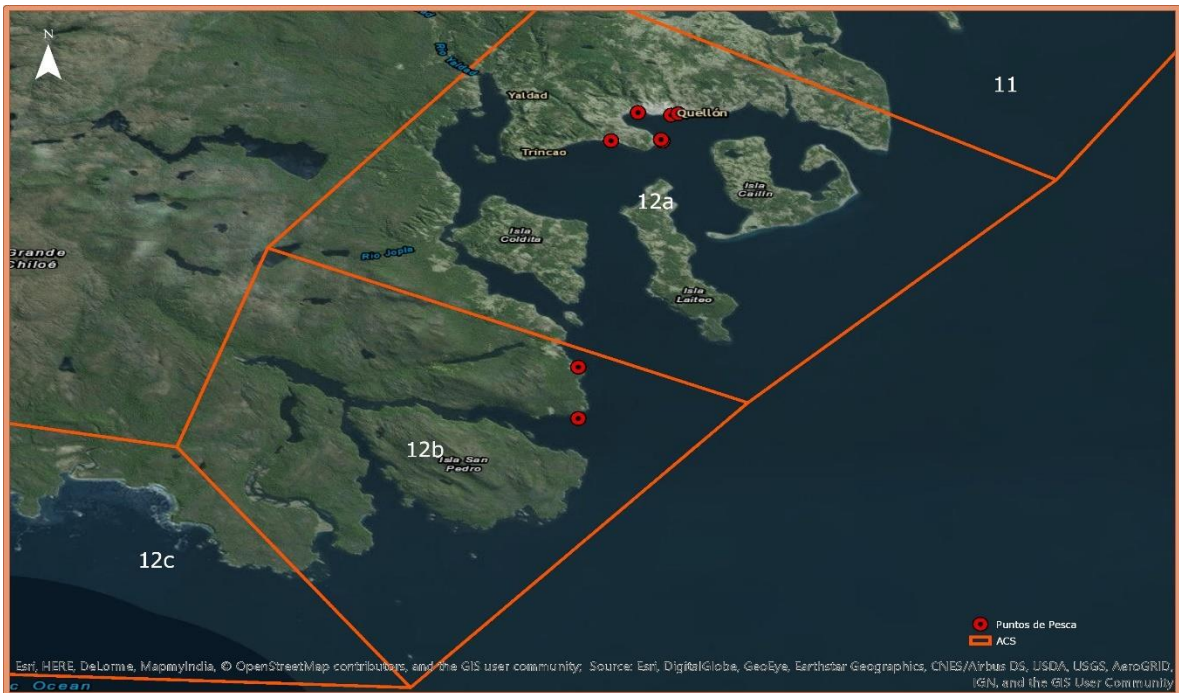


Figura 14. Estaciones de muestreo sector Macrozona 3, Región de Los Lagos.

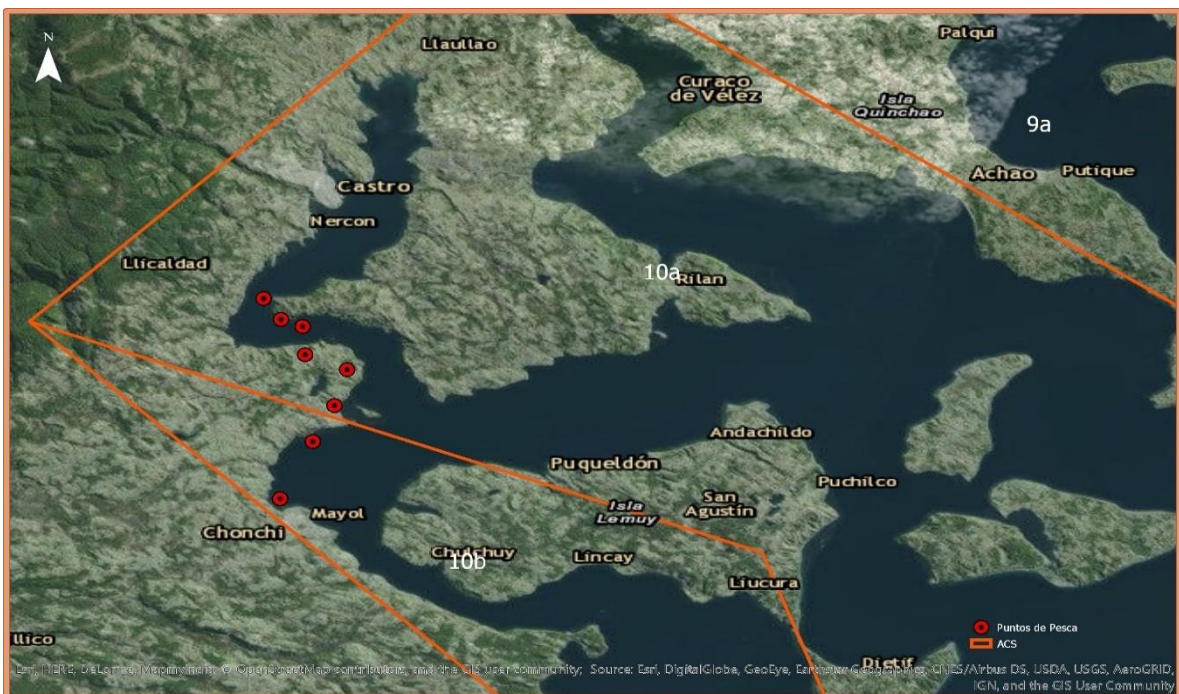


Figura 15. Estaciones de muestreo sector Macrozona 4, Región de Los Lagos.

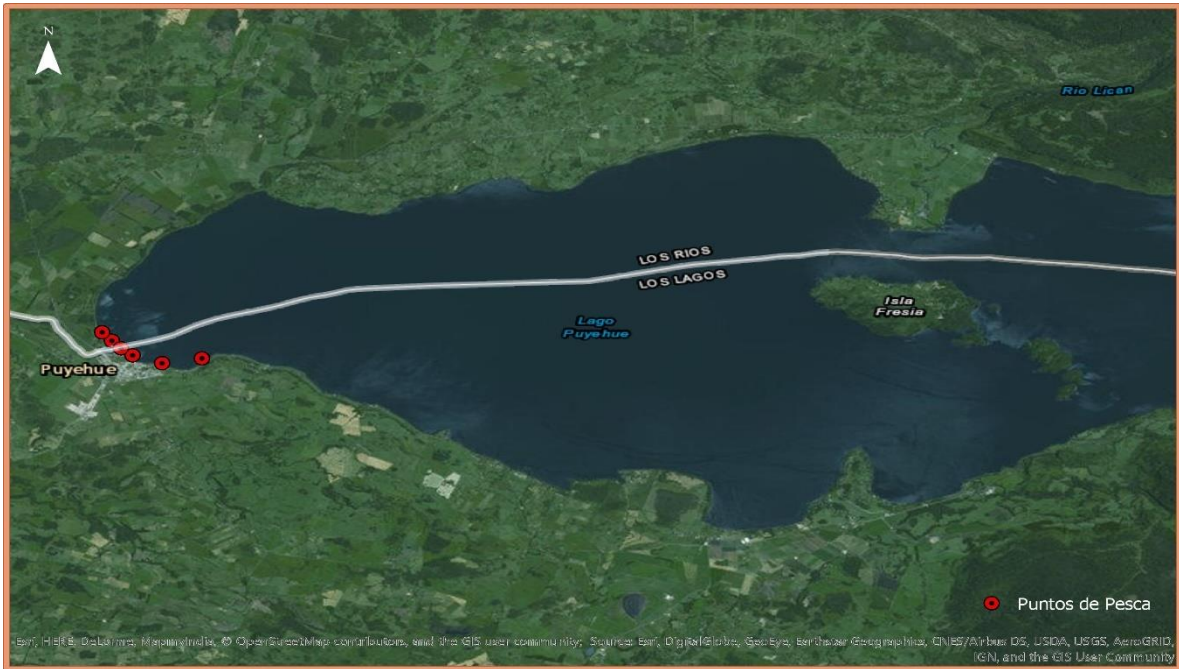


Figura 16. Estaciones de muestreo sector Macrozona 5, Región de Los Lagos.



Figura 17. Estaciones de muestreo sector Lago Puyehue, Región de Los Lagos.

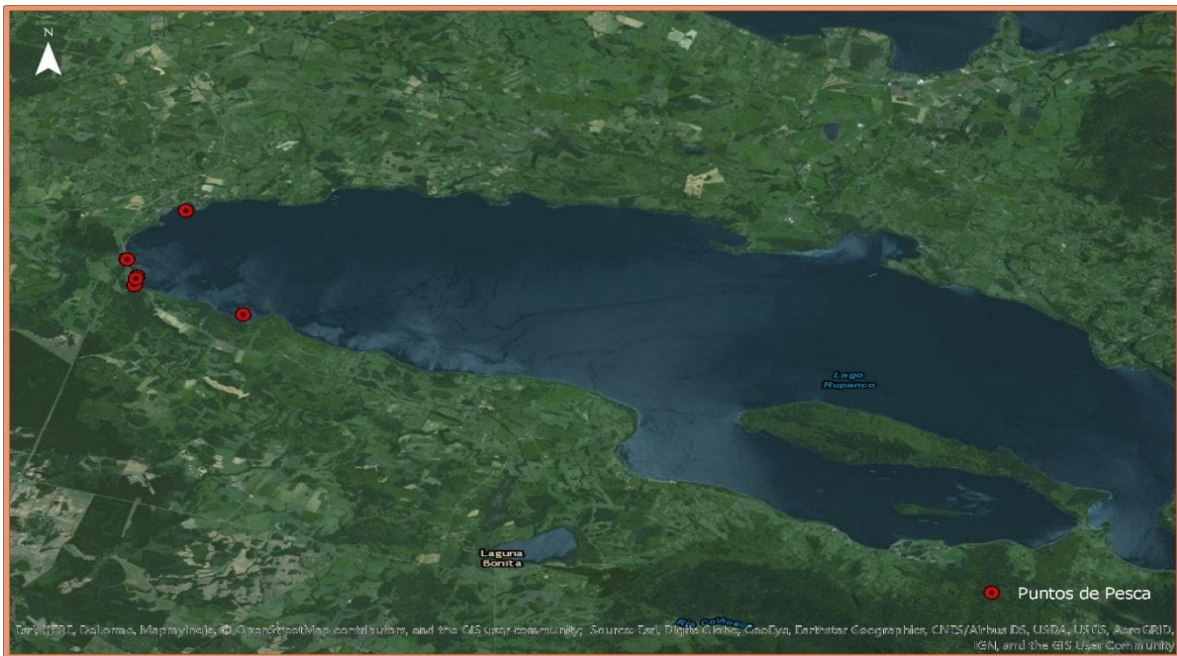


Figura 18. Estaciones de muestreo sector Lago Rupanco, Región de Los Lagos.

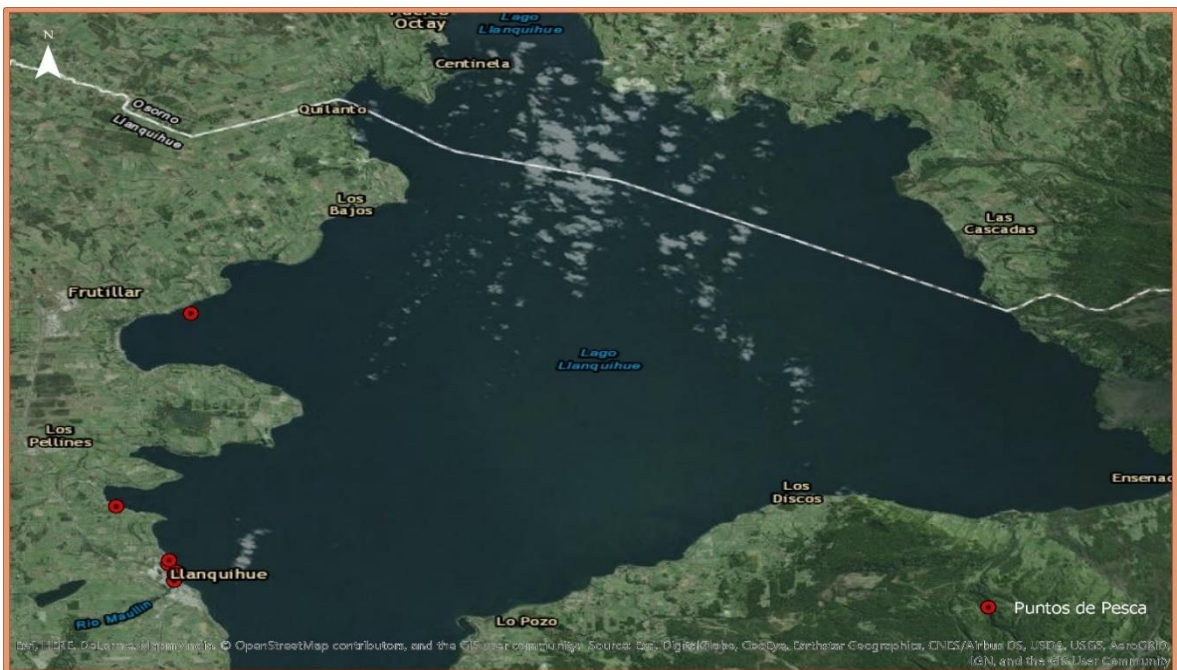


Figura 19. Estaciones de muestreo sector Lago Llanquihue, Región de Los Lagos.

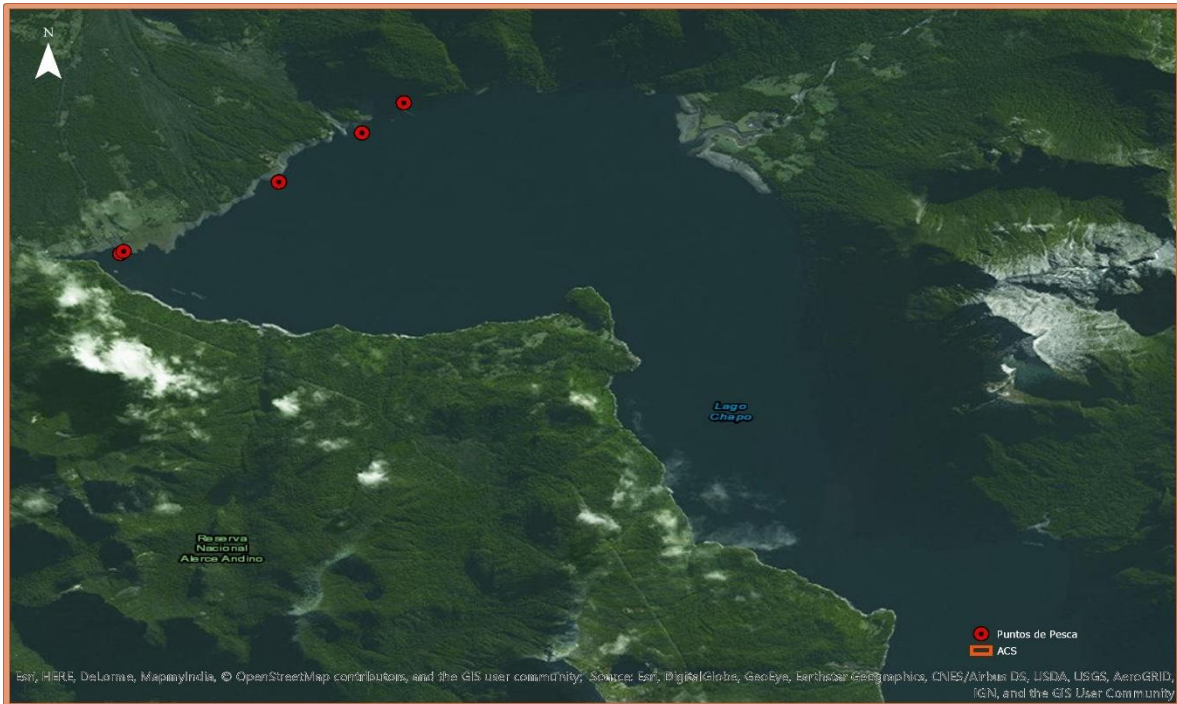


Figura 20. Estaciones de muestreo sector Lago Chapo, Regi3n de Los Lagos

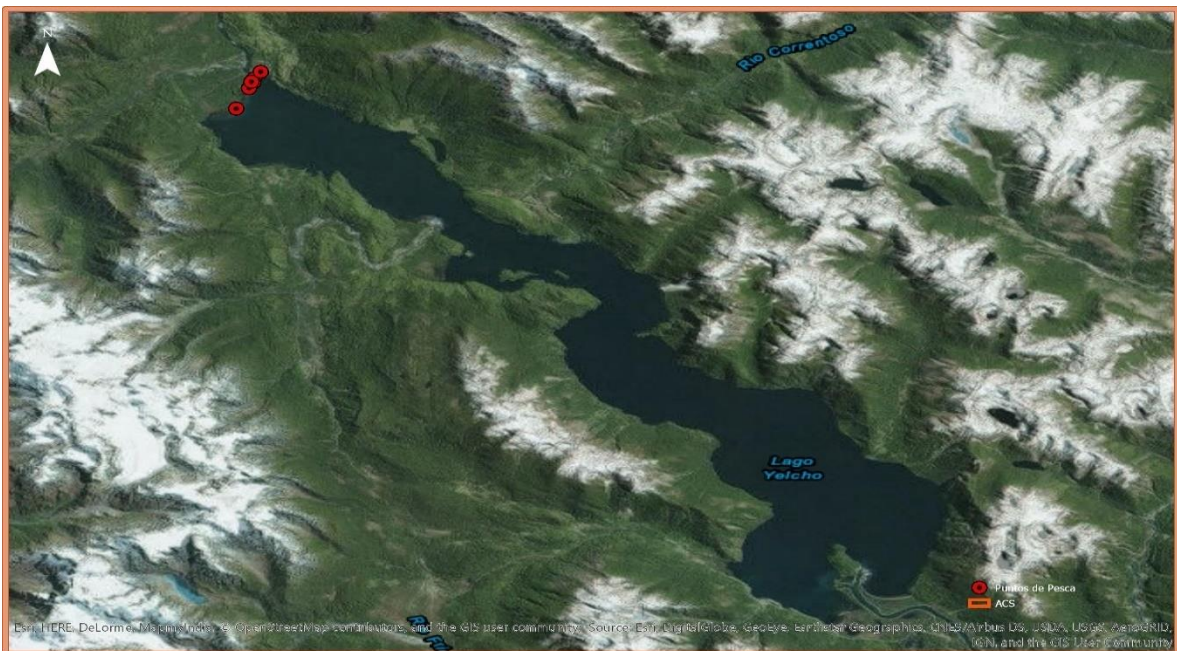
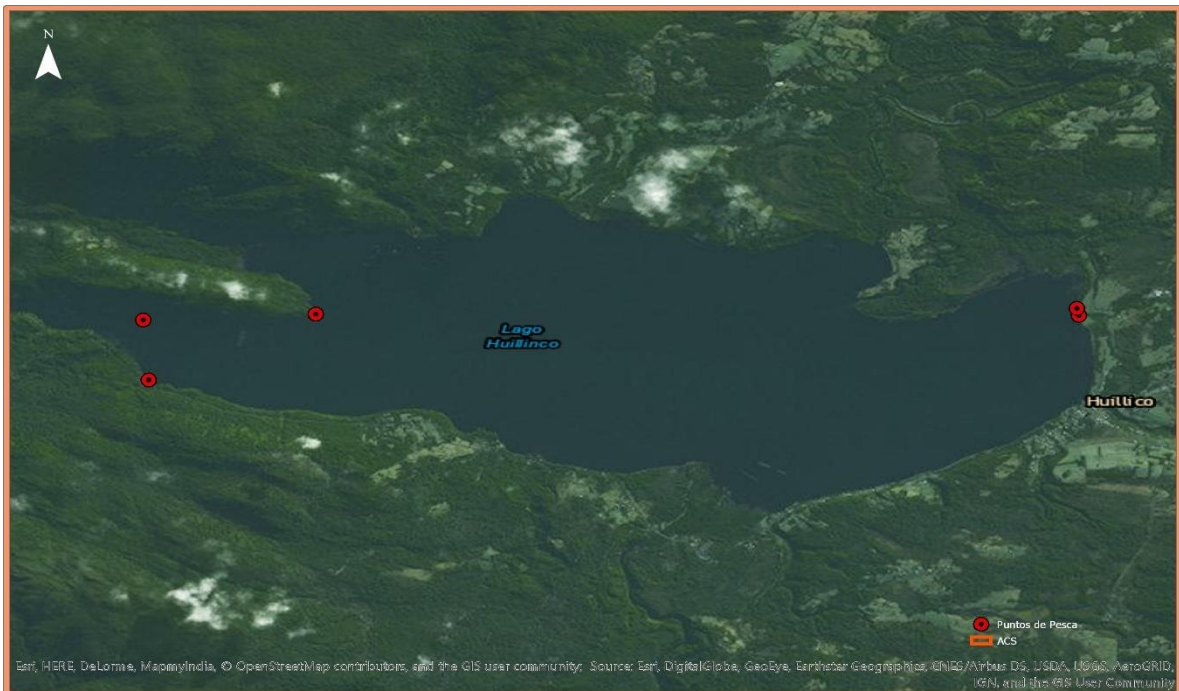


Figura 21. Estaciones de muestreo sector Lago Yelcho, Regi3n de Los Lagos.



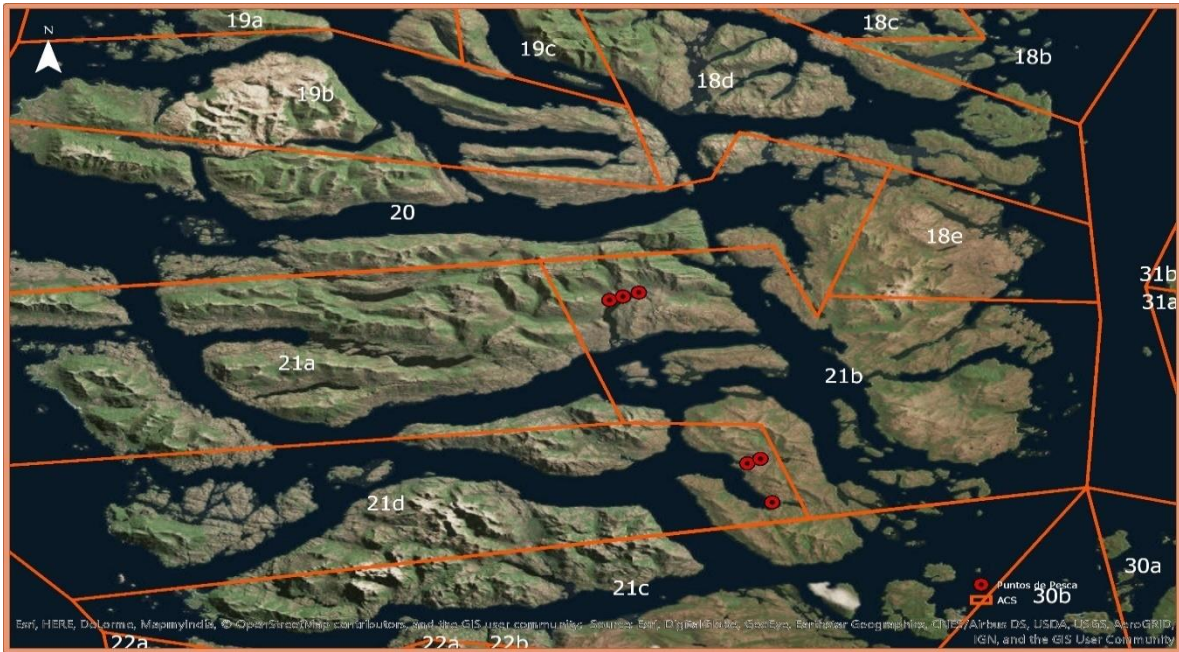


Figura 24. Estaciones de muestreo sector Macrozona 6, Regi3n de Ays3n.

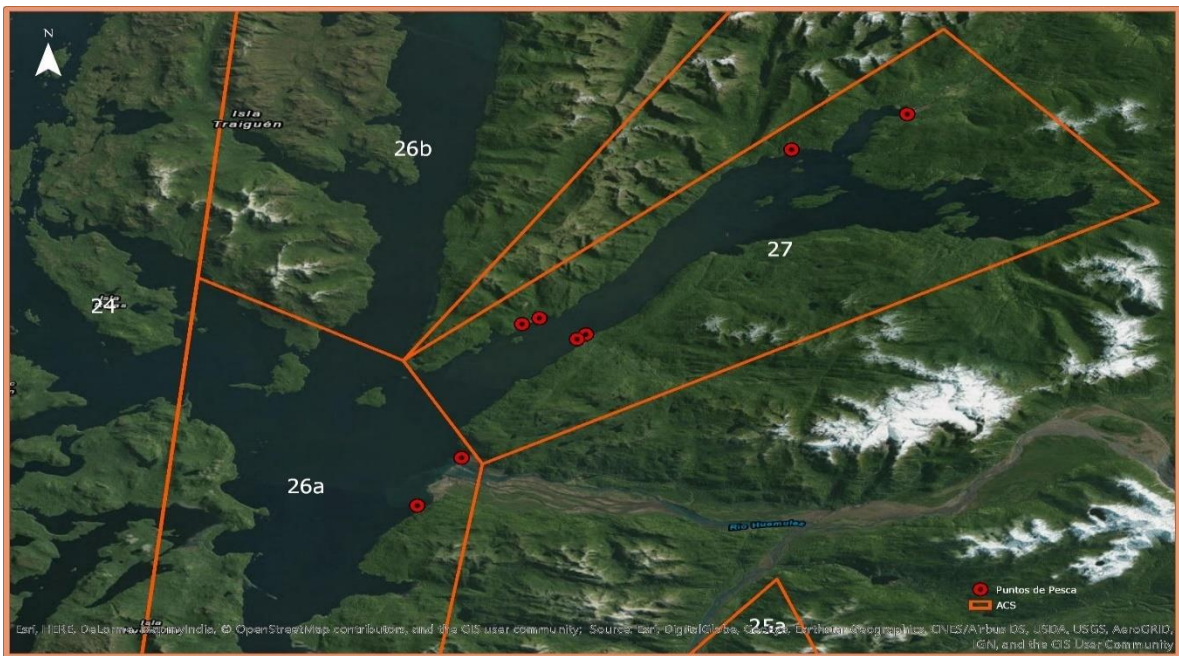


Figura 25. Estaciones de muestreo sector Macrozona 7, Regi3n de Ays3n.



Figura 26. Estaciones de muestreo sector Macrozona 8, Región de Aysén.



Figura 27. Estaciones de muestreo sector de Fiordo Aysén, Región de Aysén.



Figura 28. Estaciones de muestreo sector de Caleta Tortel, Regi3n de Ays3n.

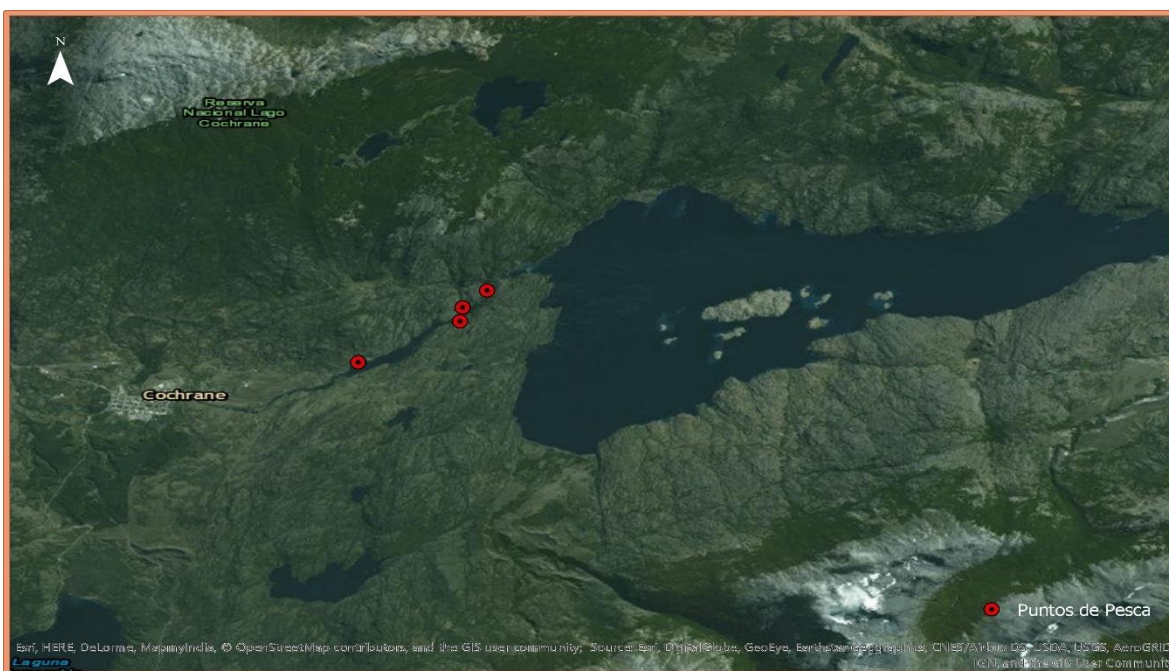


Figura 29. Estaciones de muestreo sector R3o Cochrane, Regi3n de Ays3n.



Figura 30. Estaciones de muestreo sector Lago Riesco, Regi3n de Aysén.



Figura 31. Estaciones de muestreo sector Puerto Natales, Regi3n de Magallanes.



Figura 32. Estaciones de muestreo sector Capitán Aracena, Punta Arenas, Región de Magallanes.



Figura 33. Estaciones de muestreo sector Lago Sofía, Región de Magallanes.



5.3.1 Artes y aparejos de pesca a utilizar para extraer los recursos.

El detalle de los artes y aparejos de pesca utilizados para la extracción de los peces durante la ejecución de las campañas de pesca de investigación, fueron especificados en el punto 4.3.1 de la sección metodológica del presente documento, no obstante, estos correspondieron a los mismos que han utilizado en las campañas efectuadas en las etapas previas.

5.4 Ejecución de campañas de pesca y muestreo biológico de las capturas

En cuanto a la autorización para la ejecución de las campañas de pesca, se recepcionó Resolución Exenta N° 3160 del 04 de octubre del 2017, autorizando la ejecución de las campañas de pesca de investigación por parte de la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura. En consecuencia, con fecha 20 de diciembre del 2018, se dio inicio a la ejecución de los muestreos.

5.4.1 Obtención de Muestras.

La actividad de obtención de muestras se realizó en el perímetro de los centros de cultivo, fuera del área de la concesión, considerando un n muestral de mínimo 150 y máximo 180 peces, como sumatoria de las dos campañas de muestreo programadas. Por cada zona geográfica se consideró un total de 3 puntos de muestreo, con su georreferenciación respectiva, según fue mencionado en la sección metodológica del presente documento.

En relación a los muestreos, se obtuvieron ejemplares de las 29 zonas previamente definidas, las que correspondieron a las zonas distribuidas en las regiones de La Araucanía, Los Ríos, Los Lagos, Aysén y Región de Magallanes. Si bien estaba comprometido la captura de un mínimo de 150 ejemplares en las 29 zonas de estudio consensuadas, no fue posible la obtención de este número en las zonas correspondiente al lago Natri, en Chiloé, Región de Los Lagos y Puerto Natales en la Región de Magallanes y de la Antártica Chilena, obteniéndose un total de 16 y 94 ejemplares; respectivamente; después de la ejecución de reiteradas faenas de pesca en cada una de las zonas mencionadas, con condiciones climáticas desfavorables. Situación similar se ha presentado en años anteriores para el lago Natri, lo cual ya estaba en conocimiento de la contraparte técnica del estudio. El número de peces capturados en la totalidad de las zonas geográficas definidas fue de 4192 individuos, especies que se enmarcaron según lo establecido en la Resolución Exenta de la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura N° 3160, del 04 de octubre del 2017.

Del total de peces capturados en las cinco regiones estipuladas dentro del marco de estudio, el 39,6% (1662) de ellos correspondió a los peces capturados en la Región de Los Lagos, seguido por la Región de Aysén del General Carlos Ibáñez del Campo con un 23,7% (992) del total, en tercer y cuarto lugar se ubicaron las regiones de La Araucanía (617) y de Los Ríos (542) con un 14,7% y 12,9% de las capturas, respectivamente. Finalmente, en la Región de Magallanes y de la Antártica Chilena se capturó sólo el 9% (379) del total de peces (**Figura 34**).

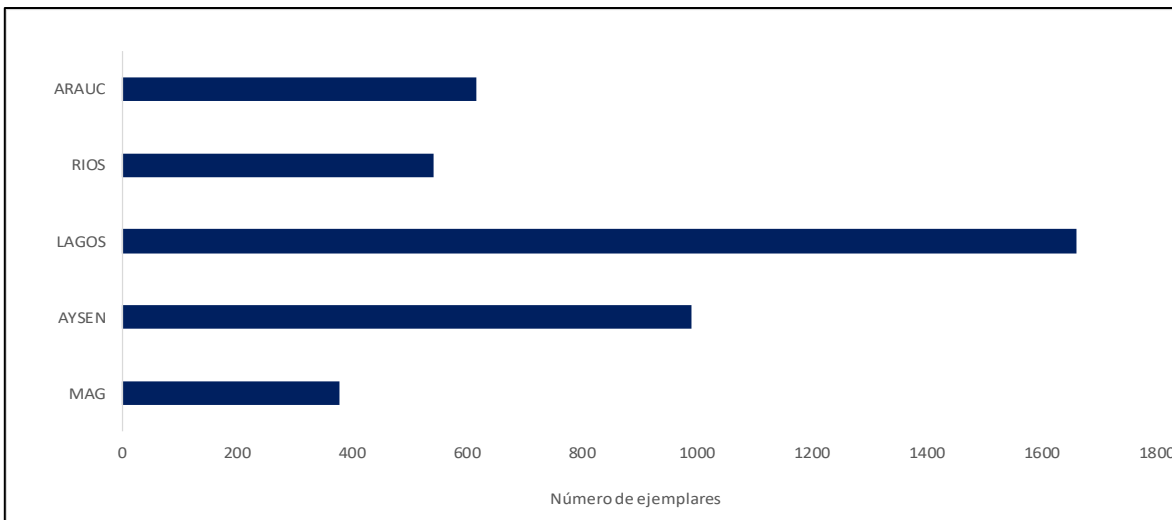


Figura 34. Total de peces capturados en las regiones sometidas bajo monitoreo.

A continuaci3n, se presenta la distribuci3n del n3mero de peces capturados por zona geogr3fica y la proporci3n que representan del total de individuos muestreados en las distintas regiones (**Figura 35, 36 y 37**).

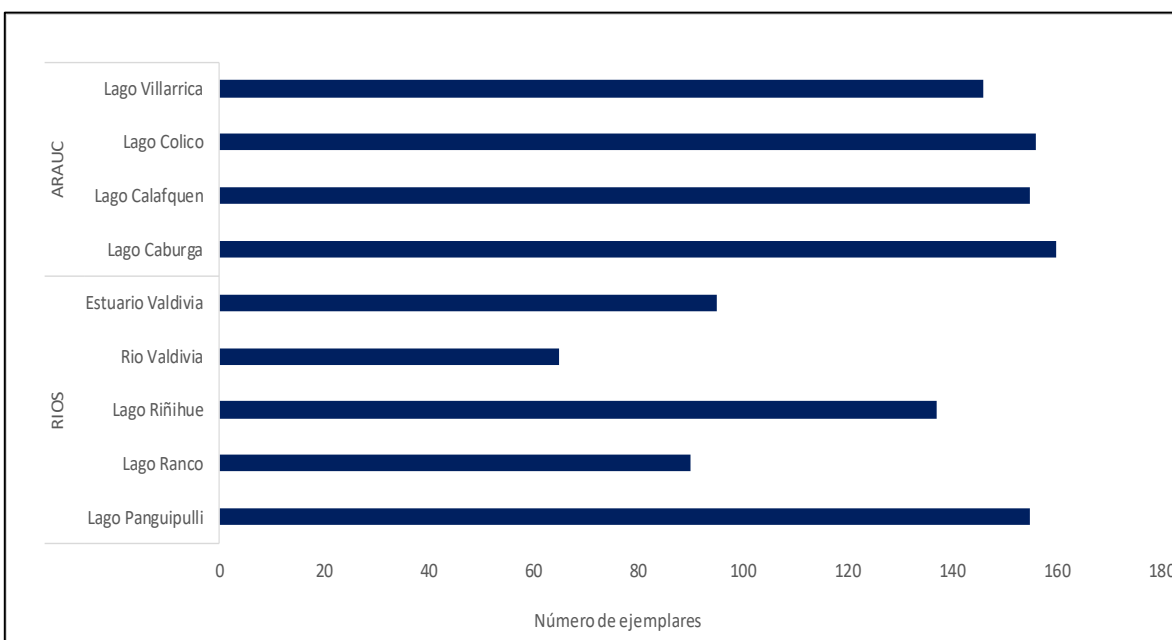


Figura 35. N3mero de peces capturados por zona geogr3fica de las regiones de La Araucan3a y de Los R3os.

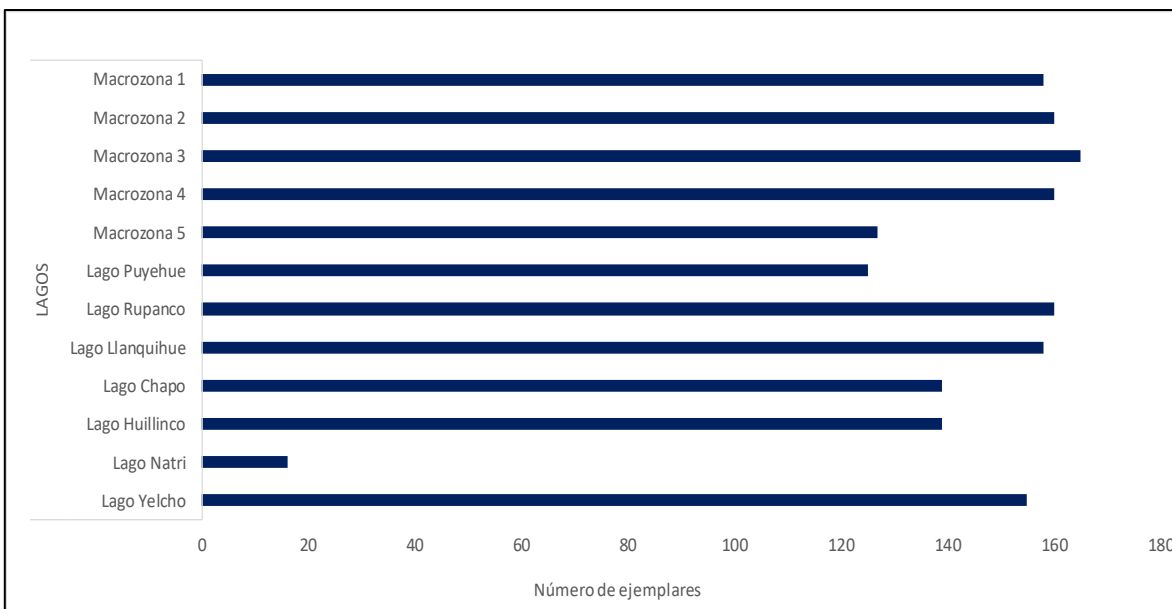


Figura 36. Número de peces capturados por zona geográfica de la Región de Los Lagos.

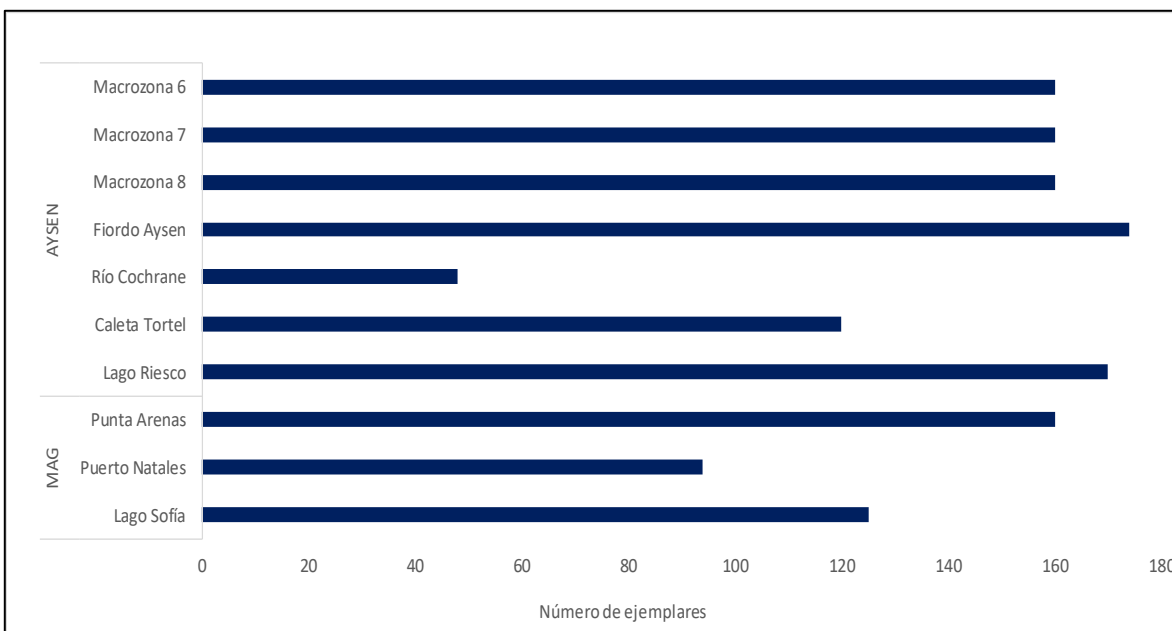


Figura 37. Número de peces capturados por zona geográfica de las regiones de Aysén del General Carlos Ibáñez del Campo y de Magallanes y la Antártica Chilena.

Con respecto a la distribución de peces capturados por cuerpo de agua, el 55% (2299) fue representado por las capturas en agua dulce, seguido por los individuos capturados en agua de mar con un 36% (1520) y finalmente los peces de aguas estuarinas con sólo el 9% (373) del total (**Figura 38**).

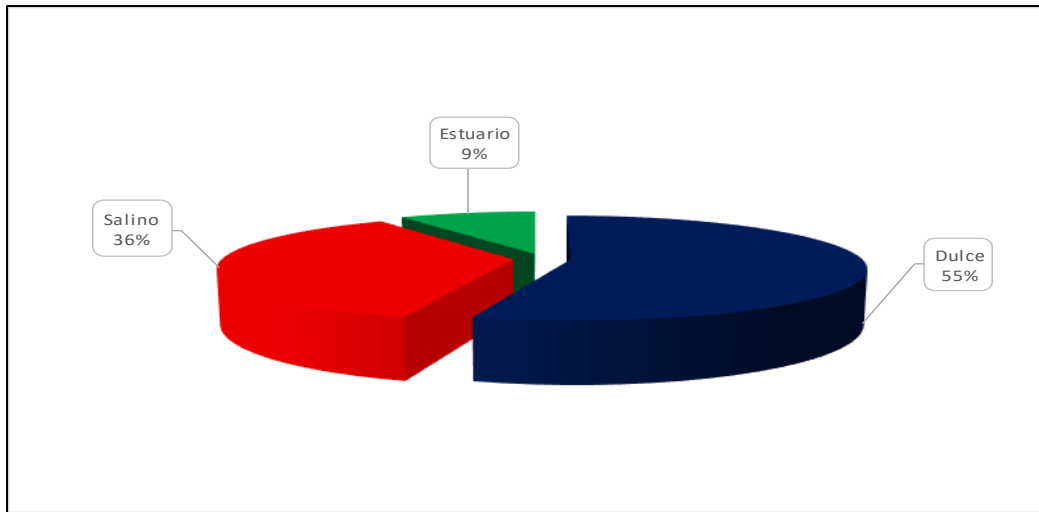


Figura 38. Porcentaje total de peces capturados por cuerpo de agua.

Se realizó la estratificación de especies capturadas dentro de las cinco regiones estipuladas, donde el 29,2% (1226) correspondió a la especie róbalo, seguido por pejerrey de agua dulce con un 16,1% (676) del total. En tercer lugar, con un 15,9% (665) se encontró trucha arcoiris, seguido por pejerrey de mar con un 11,3% (475) del total de las especies capturadas. En quinto, sexto y séptimo lugar, se encontraron las especies trucha fario, perca trucha y salmón coho con un 10,5% (440), 8,8% (369) y 7,6% (319) del total; respectivamente. Aquellas con número de capturas menor al 1% fueron peladilla y salmón del Atlántico, con un 0,3% y 0,2%; respectivamente (**Figura 39**).

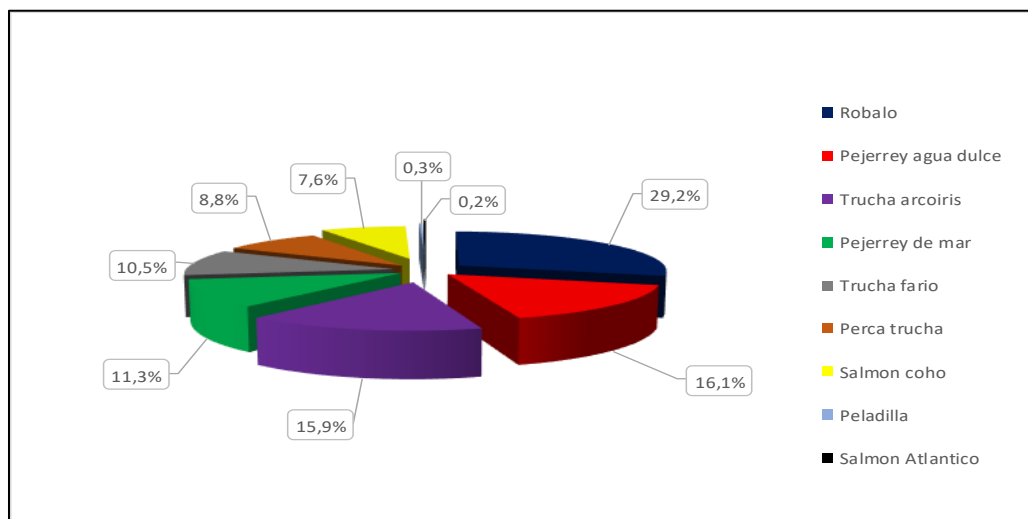


Figura 39. Distribución porcentual, según especie, de peces capturados en las regiones de La Araucanía, Los Ríos, Los Lagos, Aysén del General Carlos Ibáñez del Campo y de Magallanes y la Antártica Chilena.

Se realizó la estratificación del porcentaje de especies capturadas por cuerpos de agua en las regiones antes mencionadas (**Figura 40**). El cuerpo de agua dulce se capturaron 2299 individuos, siendo trucha arcoíris y pejerrey de agua dulce las especies con los porcentajes más altos con un 28,7% y 27,3%; respectivamente, seguido de trucha fario con un 17,1%, perca trucha con un 16,1%, y salmón coho con 7%. En el cuerpo de agua salino, se capturaron 1520 individuos, siendo el róbalo con 58,9%, pejerrey de mar con un 27,8% y salmón coho con un 9,5%, los que aportaron con más del 96% de la totalidad de las especies extraídas. Finalmente, sólo 373 individuos fueron capturados en estuarios, siendo róbalo con un 70,5%, pejerrey de agua dulce con un 13,1% y pejerrey de mar con 9,9%, los que aportaron casi la totalidad de las especies extraídas desde este cuerpo de agua.

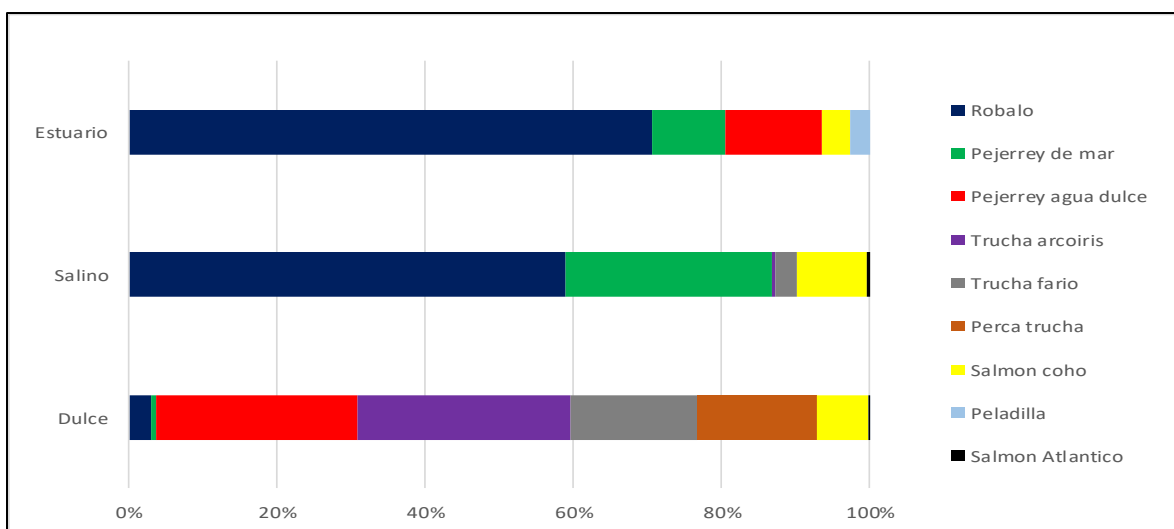


Figura 40. Estratificación del porcentaje de peces capturados por cuerpo de agua.

Se realizó la estratificación de los peces capturados por región y el porcentaje que presentó cada especie (**Figura 41**). La Región de Los Lagos con un 39,6% (1662) del total, siendo róbalo con un 31,3%, perca trucha con un 17,7%, pejerrey de mar con un 16,9% y trucha arcoíris con un 14,9%, las especies con mayor captura. Le sigue la Región de Aysén del General Carlos Ibañez del Campo con un 23,7% (992) del total, predominando el róbalo con 55,8%, trucha fario con un 14,4%, salmon coho con un 12,8% y pejerrey de mar con un 9,9%. La Región de La Araucanía presentó un 14,7% (617) del total las capturas, predominando las especies pejerrey de agua dulce con un 61,1%, trucha arcoíris con un 25,3%, y perca trucha con un 9,7% del total de especies capturadas para la región. La Región de Los Ríos presentó un 12,9% (542) de las capturas, siendo trucha arcoíris con un 37,1%, pejerrey de agua dulce con 33,8%, trucha fario y pejerrey de mar, ambas con un 9% cada una, las principales especies capturadas. Finalmente, la Región de Magallanes y la Antártica Chilena presentó un 9% (379) de las especies capturadas, predominando el róbalo con un 31,7%, seguido de salmón coho y trucha fario, con un 27,4% y 26,1%; respectivamente, pejerrey de mar con un 12,4% y finalmente trucha arcoíris con un 2,4% del total de las especies capturadas.

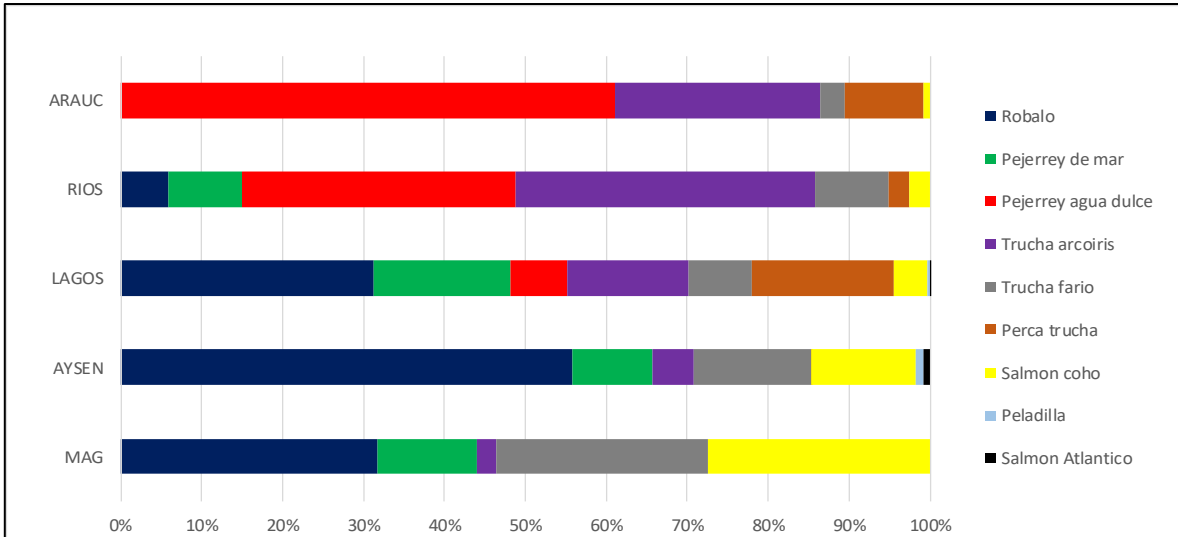


Figura 41. Estratificación del porcentaje de peces capturados por Región.

La especie pejerrey de agua dulce fue la más capturada en la Región de la Araucanía, con un 61,1% (377), seguido por trucha arcoiris 25,3% (156), en tercer lugar, perca trucha con un 9,7% (60), y en cuarto lugar trucha fario con un 3,1% (19) (**Figura 42**). Finalmente, con un valor inferior al 1% (5) se encontró la especie salmón coho.

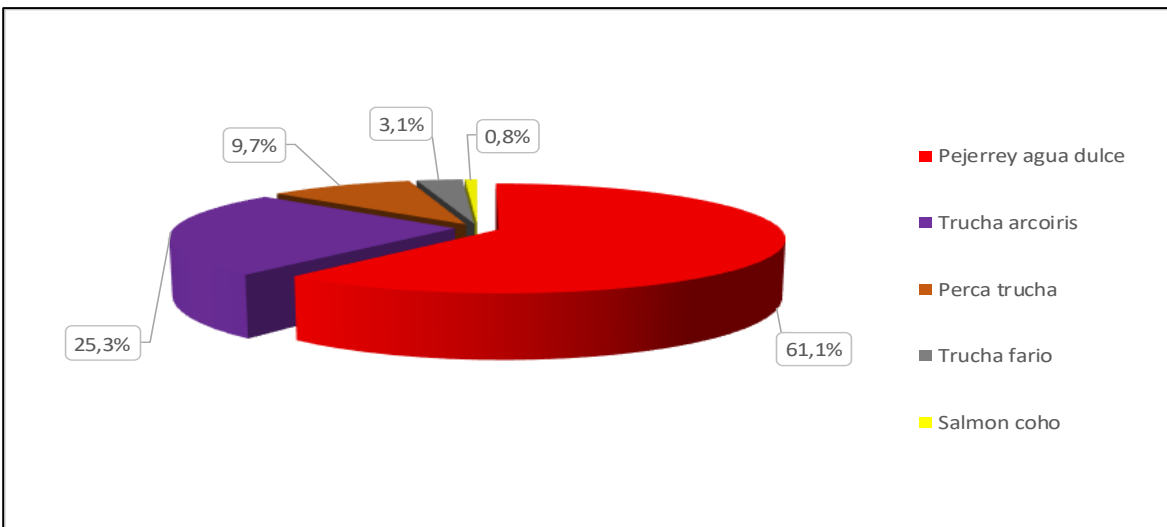


Figura 42. Porcentaje de peces capturados en la Región de La Araucanía, según especie.

En lo referente al lago Calafquén, se puede apreciar que, del total de especies capturadas para dicha zona, la representatividad únicamente estuvo dada por las especies pejerrey de agua dulce y trucha arcoíris, con valores del 91% y 9%. Para el Lago Villarrica, las principales especies capturadas fueron igualmente pejerrey de agua dulce y trucha arcoíris, con valores que alcanzaron el 69,9% y 26,7%; respectivamente. En el caso del lago Caburga, el 50% de los ejemplares capturados correspondió a pejerrey de agua dulce, seguido de perca trucha con un 35%, y trucha arcoíris y trucha fario, con un 8,8% y 6,3%; respectivamente. Finalmente, para la zona del Lago Colico, la mayor representatividad de especies capturadas estuvo dada por trucha arcoíris, con un 57,1%, seguido de pejerrey de agua dulce con un 34,6%, en tanto que la proporción restante estuvo repartida entre las especies perca trucha, salmón coho, y trucha fario (**Figura 43**).

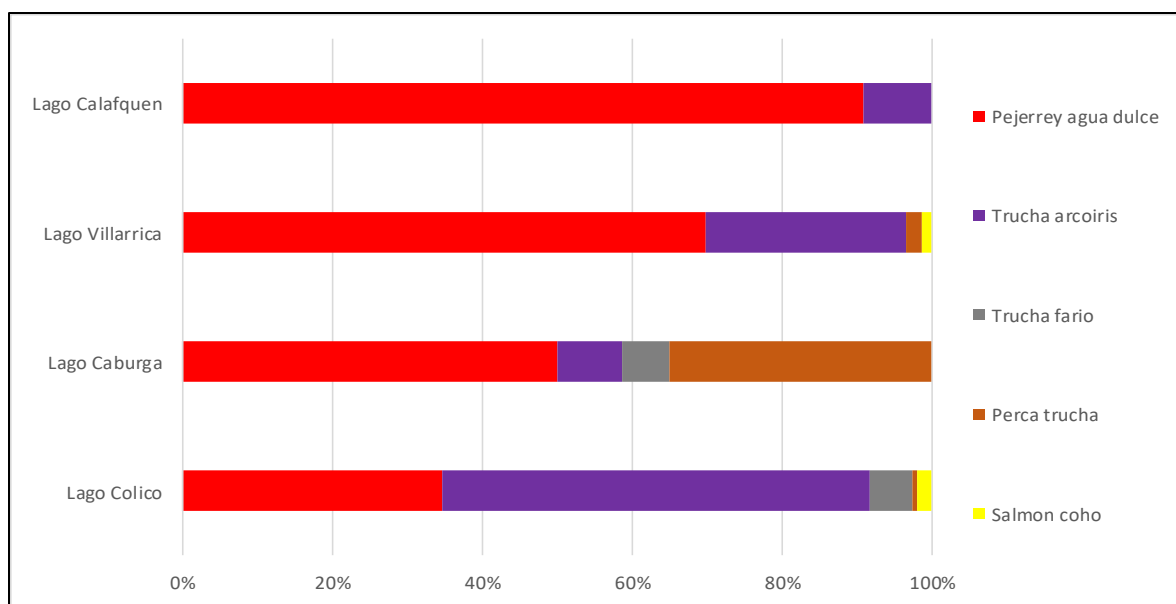


Figura 43. Proporción de peces capturados, zona geográfica, en la Región de la Araucanía.

En lo referente a la Región de Los Ríos, la especie trucha arcoíris correspondió a la especie más capturada, con un 37,1% (201), seguido de pejerrey de agua dulce con 33,8% (183), en tercer lugar las especies pejerrey de mar y trucha fario, ambas con un 9% (49) cada una, en cuarto lugar, róbalo con un 5,9% (32), y finalmente en quinto lugar se presentaron las especies perca trucha y salmón coho, cada una de las cuales presentó un 2,6% (14) del total de peces capturados para la región (**Figura 44**).

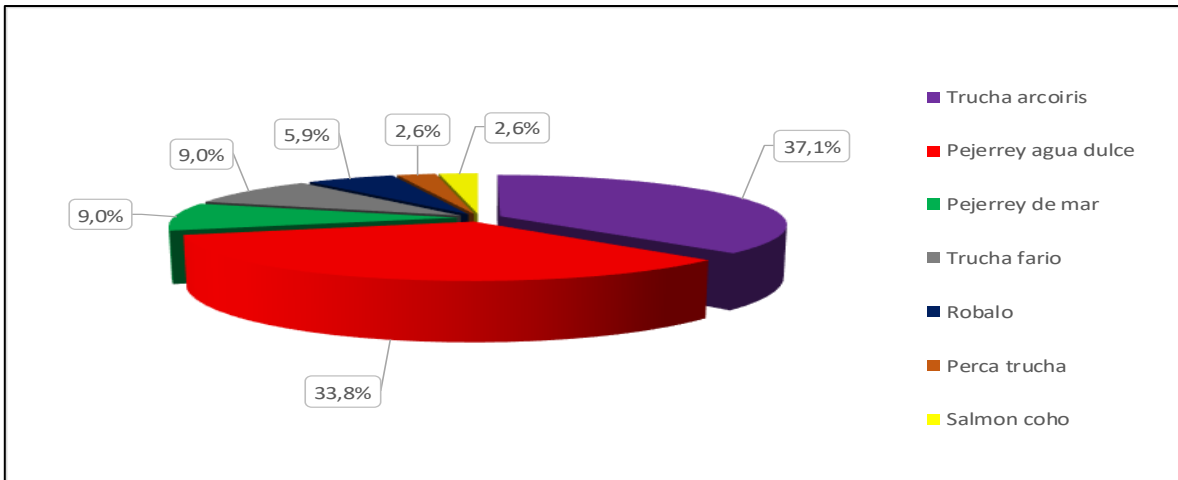


Figura 44. Porcentaje de peces capturados en la Regi3n de Los Ríos, segun especie.

En lo que respecta a la Regi3n de Los Ríos, en la zona del Estuario Valdivia, la principal especie capturada fue pejerrey de agua dulce, con valores que alcanzaron el 51,6%, seguido de la especie pejerrey de mar y r3balo, con valores del 34,7% y 13,7%; respectivamente. En el caso del r3o Valdivia, la principal especie capturada fue r3balo con un 29,2%, seguido de pejerrey de mar y pejerrey de agua dulce con un 24,6% cada uno, y finalmente trucha arcoiris con un 20% del total de capturas para dicha zona. Para el caso de los lagos Panguipulli, Riñihue y Ranco, la principal especie capturada fue trucha arcoiris con un 55,5%, 48,2% y 40%; respectivamente, seguido de pejerrey de agua dulce, con un 32,2%, 43,3% y 21,2%; respectivamente. Finalmente, la especie trucha fario present3 las mayores capturas en el lago Riñihue con un 25,5% del total de las especies capturadas para dicha zona. (Figura 45).

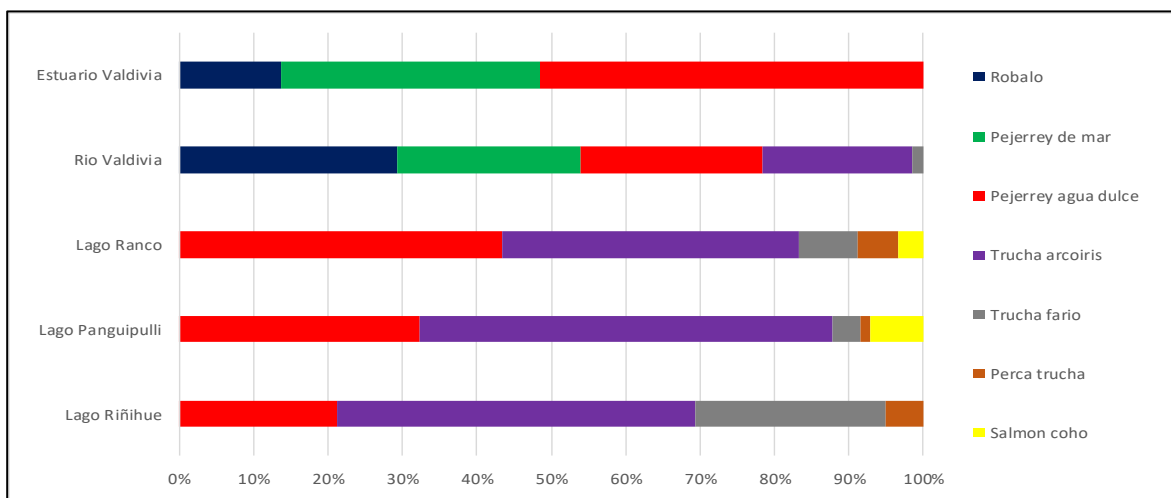


Figura 45. Proporci3n de peces capturados por zona geogr3fica en la Regi3n de Los Ríos, segun especie.

En relación a la Región de Los Lagos, la especie más capturada fue róbalo con un aporte del 31,3% (520), seguido de perca trucha con 17,7% (294), en tercer lugar, pejerrey de mar con un 16,9% (281) del total, en cuarto lugar, con un 14,9% (248) se encontró trucha arcoiris. Con un 7,8% (130) del total de las especies se encontró trucha fario. En sexto lugar, con un 7% (116) del total de las capturas se encontró pejerrey de agua dulce, seguido de la especie salmón coho que presentó un 4,2% (69) del total de capturas. Finalmente, con el 0,2% y 0,1% de las especies capturadas se encontraron peladilla (3) y salmón del Atlántico (1); respectivamente (**Figura 46**).

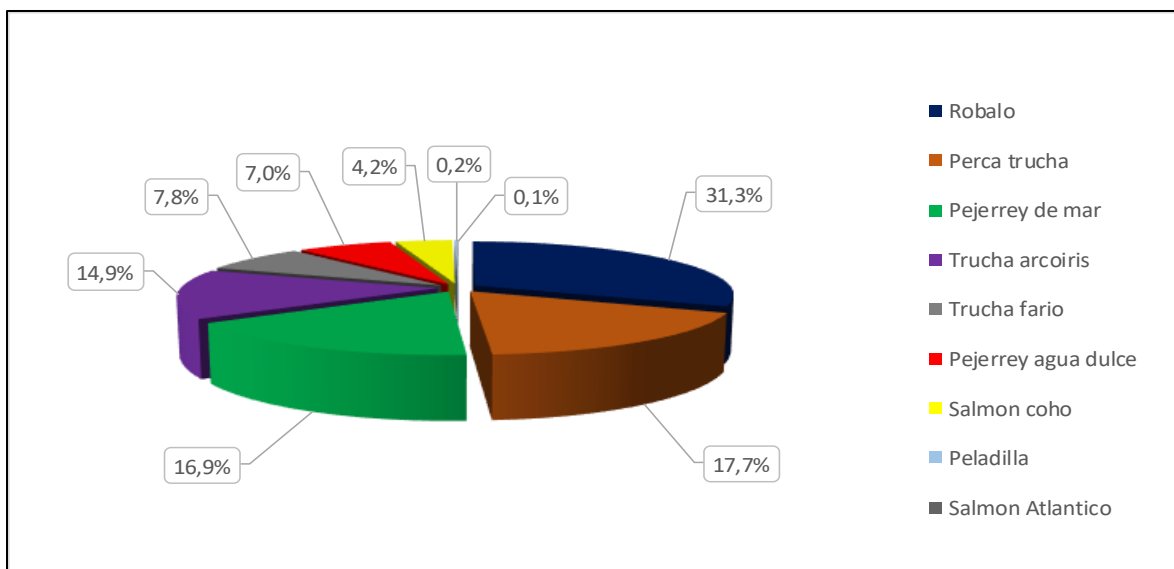


Figura 46. Porcentaje de peces capturados en la Región de Los Lagos, según especie.

En relación a las especies capturadas en las zonas correspondientes a cuerpos estuarinos y de agua de mar en la Región de Los lagos, para la mayoría de las zonas muestreadas, la principal especie capturada correspondió a róbalo, con valores que alcanzaron el 91,1%, 64,4%, 59,4%, 49,6% y 40,6%, para la Macrozona 1, Macrozona 4, Macrozona 2, Macrozona 5 y Macrozona 3, respectivamente. La segunda especie en importancia de captura correspondió a pejerrey de mar, la que presentó valores de 59,4%, 48,8%, 40,6% y 35% para la Macrozona 3, Macrozona 5, Macrozona 2 y Macrozona 4; respectivamente. En términos generales, la proporción de salmónidos capturados fue baja, solo en la Macrozona 1, se presentó un 8,9% de ejemplares de salmón coho respecto del total para dicha zona, no obstante, para el resto de los ejemplares salmónidos, el porcentaje de representatividad por zona no superó el 0,1% (**Figura 47**).

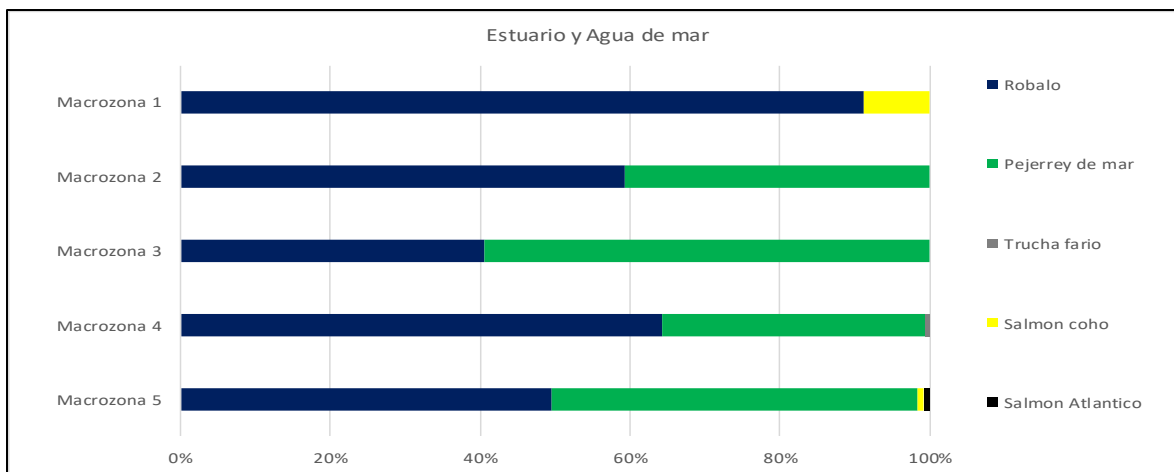


Figura 47. Proporción de peces capturados, por zona geográfica, para cuerpos de agua estuarinos y de mar en la Región de Los Lagos, según especie.

En relación a las especies capturadas en las zonas correspondientes a cuerpos de agua dulce para la Región de Los Lagos, se puede observar que la distribución de capturas de especies en las diversas zonas fue relativamente heterogénea, sin observarse un patrón establecido de predominancia en las capturas, sin embargo, a modo general se destaca que las principales especies que fueron capturadas correspondieron a trucha arcoíris, principalmente en lago Yelcho y lago Puyehue con un 72,3% y 32,8% de las capturas por zona, respectivamente, seguida de la especie perca trucha, con un 60,8%, 56,1%, 52,5% y 35,4% para las zonas de lago Puyehue, lago Chapo, lago Rupanco y Lago Llanquihue, respectivamente. Por su parte, destaca la captura de ejemplares de la especie róbalo en el lago Huillinco, con un 34,5% del total de capturas para dicha zona, y de trucha fario en el lago Natri, con un 75% del total de los ejemplares capturados. (Figura 48).

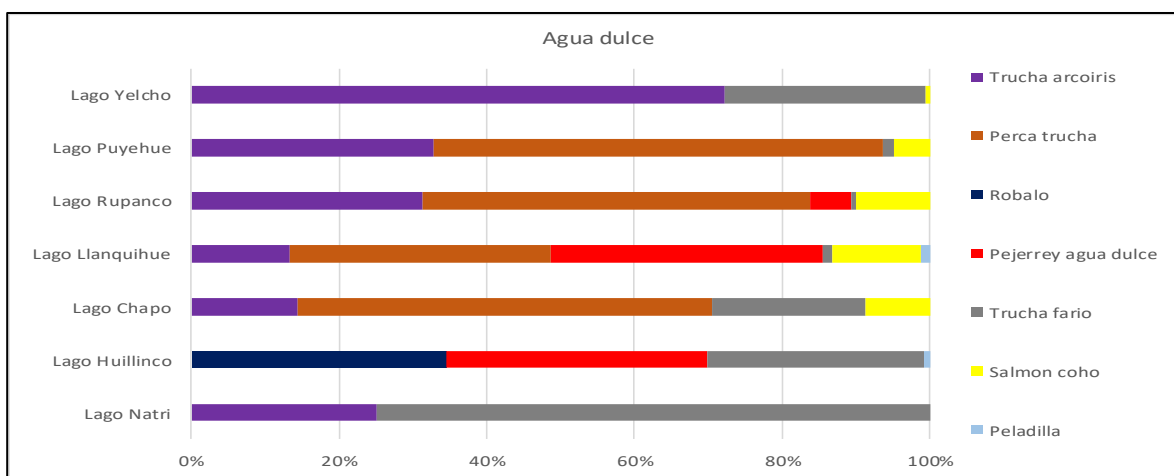


Figura 48. Proporción de peces capturados, por zona geográfica, para cuerpos de agua dulce en la Región de Los Lagos, según especie.

La especie róbalo fue la más capturada en la Región de Aysén del General Carlos Ibáñez del Campo, con un aporte del 55,8% (554), seguido por trucha fario con 14,4% (143), en tercer lugar, salmón coho con un 12,8% (127) del total, en cuarto lugar, pejerrey de mar con un 9,9% (98), y en quinto lugar con un 5,1% (51) la especie trucha arcoíris. Finalmente, con una representatividad igual o menor al 1%, se encontraron las especies peladilla (10), salmón del Atlántico (8) y perca trucha (1) (**Figura 49**).

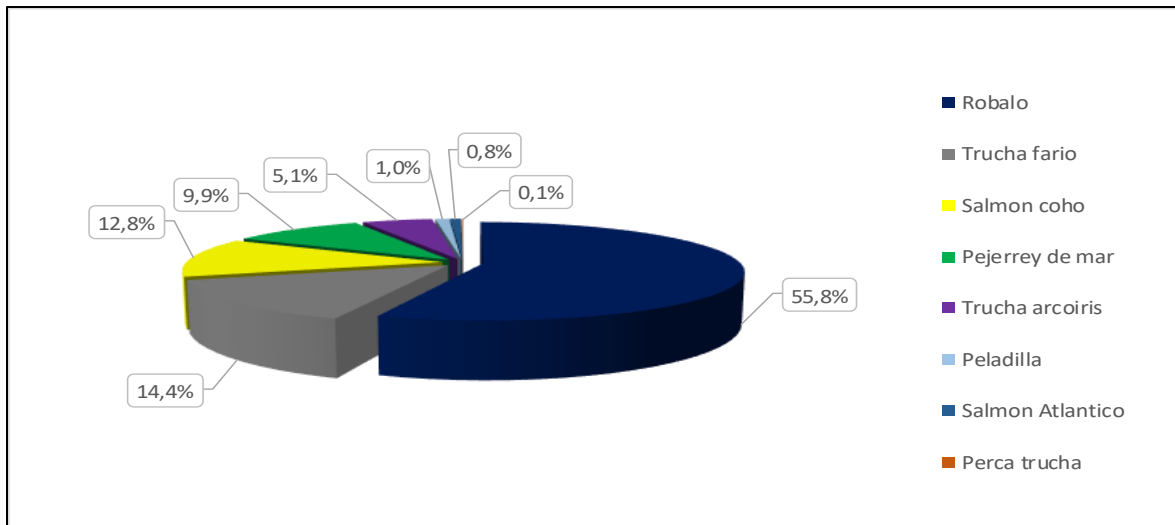


Figura 49. Porcentaje de peces capturados en la región de Aysén del General Carlos Ibáñez del Campo, según especie.

Respecto de las especies capturadas en las zonas correspondientes a la Región de Aysén del General Carlos Ibáñez del Campo, se puede observar que las capturas predominantes estuvieron dadas por la especie róbalo la que alcanzó valores del 91,9% para la Macrozona 6, 88,3% para Caleta Tortel, 77,5% para Macrozona 7, 75,6% para Macrozona 8, y el 32,2% para Fiordo Aysén. La segunda especie con mayor importancia de captura fue trucha fario, la que registró capturas del 60,4% y 48,8% para las zonas de río Cochrane y lago Riesco; respectivamente. Por su parte, trucha arcoíris registró un 37,5% de capturas igualmente en la zona de río Cochrane y de un 15,9% en lago Riesgo. La especie salmón coho fue capturada principalmente en Fiordo Aysén y Lago Riesco, registrando porcentajes de captura por zona de un 37,4% y 32,9%; respectivamente. Finalmente, en Macrozona 8 y Macrozona 7 fueron aquellas áreas donde se registraron los mayores porcentajes de captura de la especie róbalo, los que correspondieron a un 21,9% y 21,3% del total de individuos capturados por cada zona (**Figura 50**).

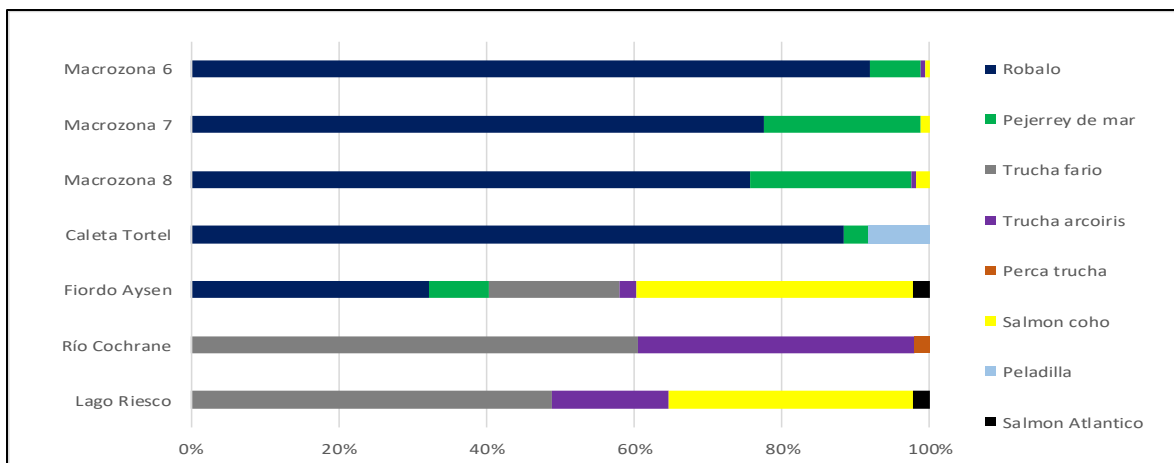


Figura 50. Proporción de peces capturados, por zona geográfica, en la Región de Aysén del General Carlos Ibáñez del Campo, según especie.

La especie róbalo fue la más capturada en la Región de Magallanes y de la Antártica Chilena con un 31,7% (120), seguido por salmón coho con 27,4% (104), en tercer lugar, con un 26,1% (99) trucha fario, en cuarto lugar, pejerrey de mar con un 12,4% (47), y finalmente, la especie trucha arcoiris representó solo un 2,4%, con 9 ejemplares capturados. (Figura 51).

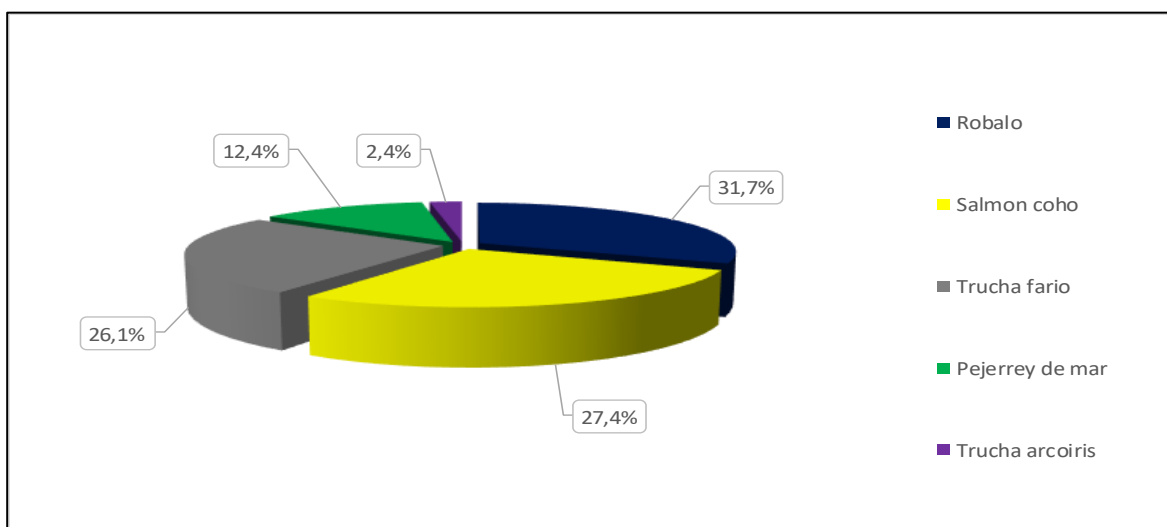


Figura 51. Porcentaje de peces capturados en la Región de Magallanes y de la Antártica Chilena, según especie.

Respecto de las especies capturadas en las zonas correspondientes a la Región de Magallanes y de la Antártica Chilena, se puede observar que, en la zona correspondiente a Punta Arenas, la principal captura estuvo dada por las especies róbalo y salmón coho, alcanzando valores de 61,3% y 24,8%; respectivamente, en tanto que, en la zona de Puerto Natales, las principales capturas estuvieron dadas por las especies pejerrey de mar, róbalo y salmón coho, con valores del 47,9%, 23,4% y 16%; respectivamente. Para la zona del lago Sofía, las especies capturadas fueron trucha fario, salmón coho y trucha arcoíris, las que presentaron valores del 68%, 24,8% y 7,2%, respectivamente. (Figura 52).

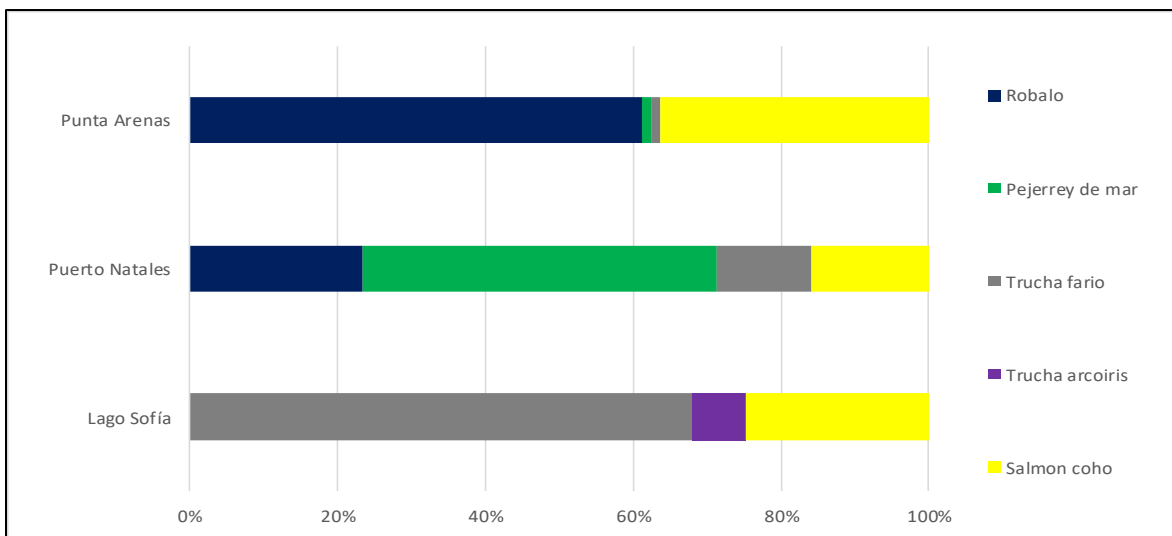


Figura 52. Proporción de peces capturados por zona geográfica en la Región de Magallanes y de la Antártica Chilena, según especie.

5.4.2 Estadística descriptiva de variables biológicas y morfométricas de las capturas.

La distribución por género fue clasificada como hembras (H), machos (M) e indeterminados/inmaduros (I). Se observa que el principal grupo capturado fue de hembras (2198), que predominó específicamente en róbalo (28,9%), pejerrey de agua dulce (16,9%), pejerrey de mar (15,2%), trucha fario (12,4%), trucha arcoíris (12,3%) y perca trucha (8,4%). Para el caso de los individuos indeterminados (1165), que fue el segundo grupo más capturado, predominó en las especies trucha arcoíris (25,8%), róbalo (21,8%), pejerrey de agua dulce (18,2%), salmón coho (13%), perca trucha (9,1%) y trucha fario (8,8%). En conclusión, el grupo menos capturado fue el de machos (829), donde solo existió predominio de la especie róbalo (40,7%), seguido de pejerrey de mar (12,9%), trucha arcoíris (11,5%) y pejerrey de agua dulce (11,1%) en el total de las especies capturadas. Con valores inferiores al 10% se presentaron las especies perca trucha, trucha fario, salmón coho, peladilla y salmón Atlántico, con 9,4%, 7,8%, 5,2%, 1% y 0,5%; respectivamente (Figura 53).

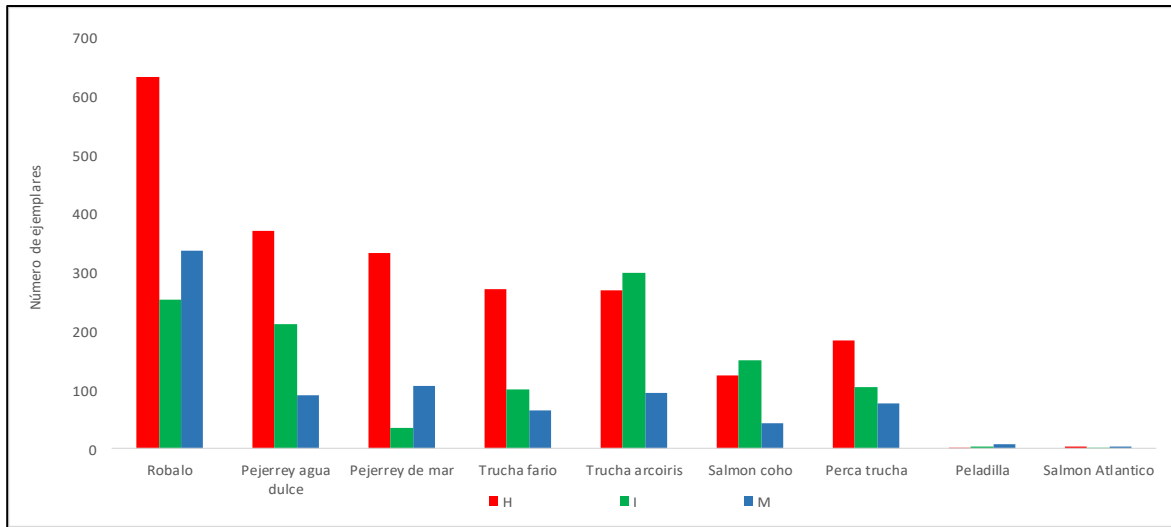


Figura 53. Distribuci3n por sexo de especies capturadas.

En relaci3n a la estratificaci3n por sexo para los peces capturados en la Regi3n de la Araucanía, el 56,2% (347) del total de los peces capturados en dicha regi3n, correspondieron a individuos hembra (H), seguido del 34,5% (213) que correspondieron a individuos en estado indiferenciado (I), y finalmente el 9,2% (57) correspondió a ejemplares macho (M) (**Figura 54**).

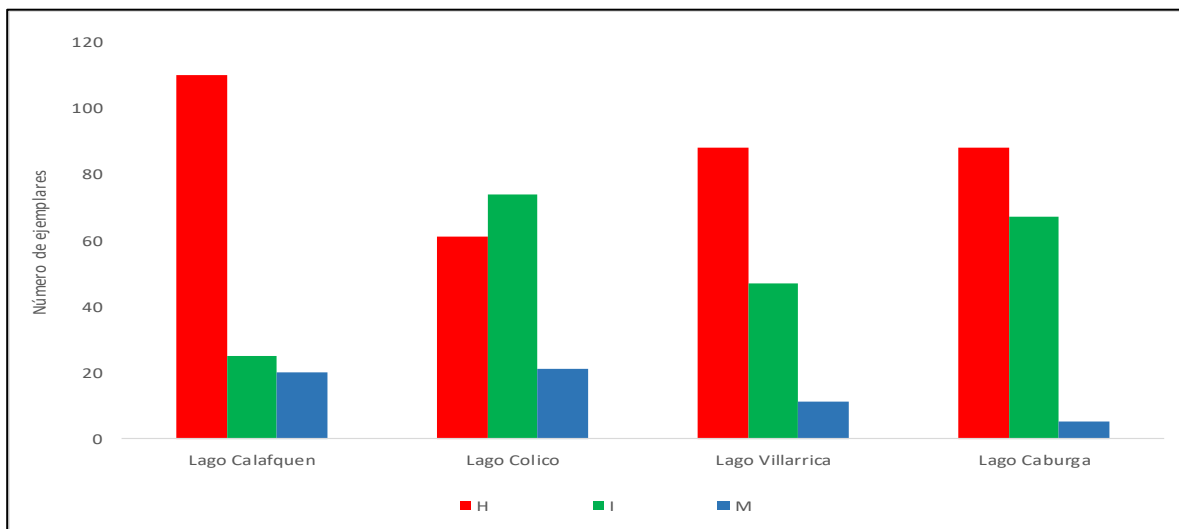


Figura 54. Estratificaci3n por sexo y zonas, para la Regi3n de la Araucanía.

En relación a la estratificación por género para los peces capturados en la Región de Los Ríos, el 43,9% (238) del total de los peces capturados en dicha región, correspondieron a individuos hembra (H), seguido del 43,2% (234) que correspondieron a individuos indiferenciados (I), y finalmente el 12,9% restante (70) correspondió a ejemplares machos (M) (**Figura 55**).

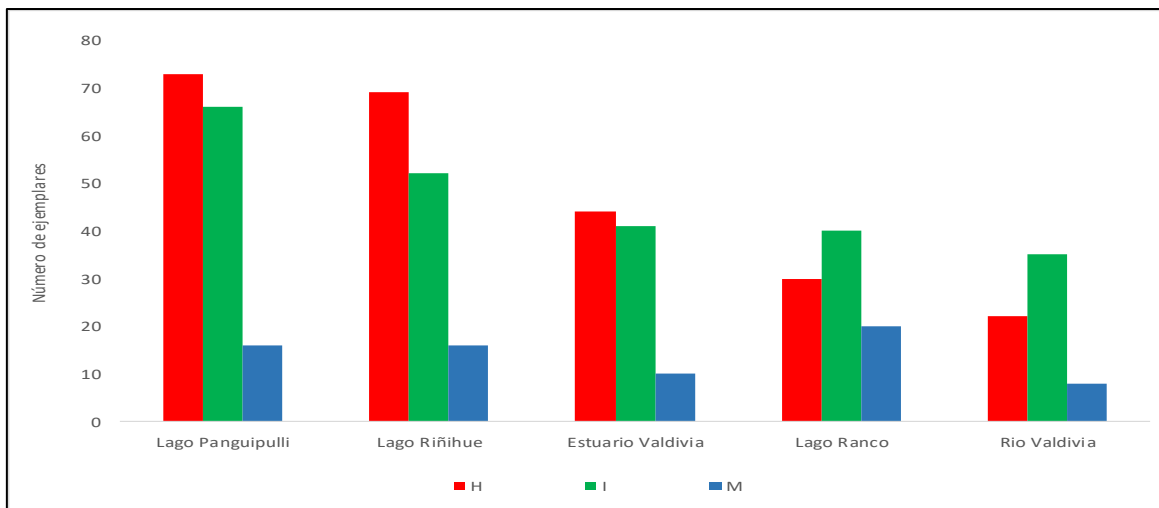


Figura 55. Estratificación por sexo y zonas, para la Región de Los Ríos.

Respecto de la estratificación por género para los peces capturados en la Región de Los Lagos, el 46,1% (766) del total de los peces capturados en dicha región, correspondieron a individuos hembra (H), seguido del 31,2% (518) que correspondieron a individuos en estado indiferenciado (I), y finalmente el 22,7% (378) correspondió a ejemplares macho (M) (**Figura 56**).

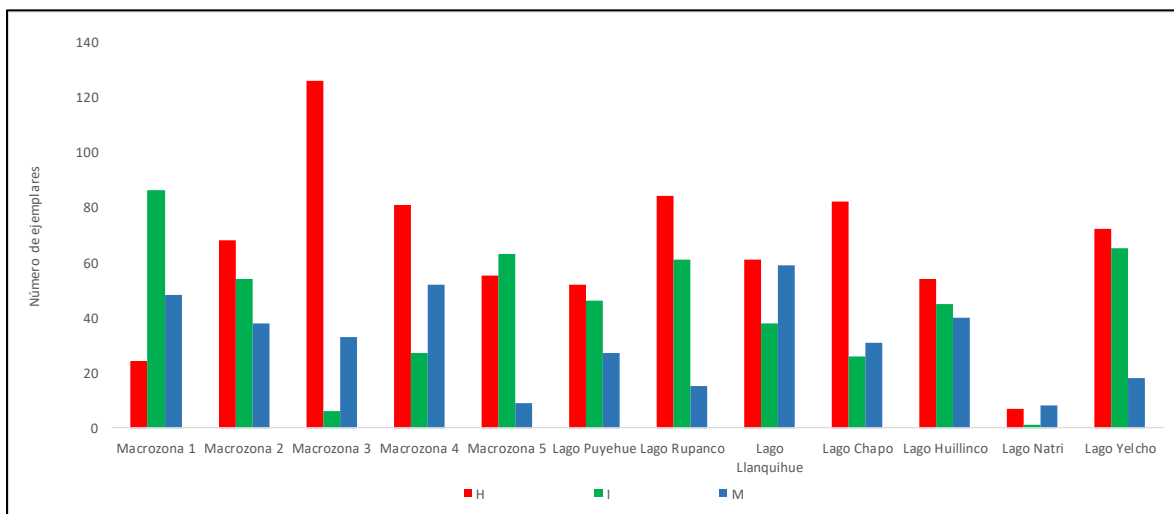


Figura 56. Estratificación por sexo y zonas, para la Región de Los Lagos.



La estratificación por género para los peces capturados en la Región de Aysén del General Carlos Ibáñez del Campo, el 63,1% (626) del total de los peces capturados en dicha región, correspondieron a individuos hembra (H), seguido del 20,5% (203) que correspondieron a individuos macho (M), y finalmente el 16,4% (163) correspondió a ejemplares en estado indiferenciado (I) (**Figura 57**).

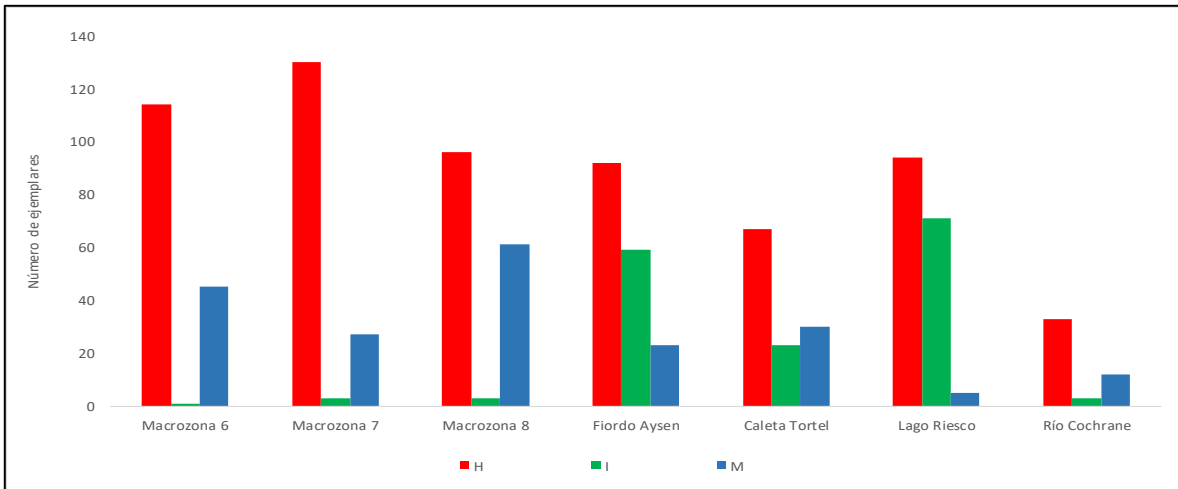


Figura 57. Estratificación por sexo y zonas, para la Región de Aysén del General Carlos Ibáñez del Campo.

En lo referente a la estratificación por género para los peces capturados en la Región de Magallanes y de la Antártica Chilena, el 58,3% (221) del total de los peces capturados en dicha región, correspondieron a individuos hembra, seguido del 31,9% (121) que correspondieron a individuos macho, y finalmente el 9,8% (37) correspondió a ejemplares en estado indiferenciado (**Figura 58**).

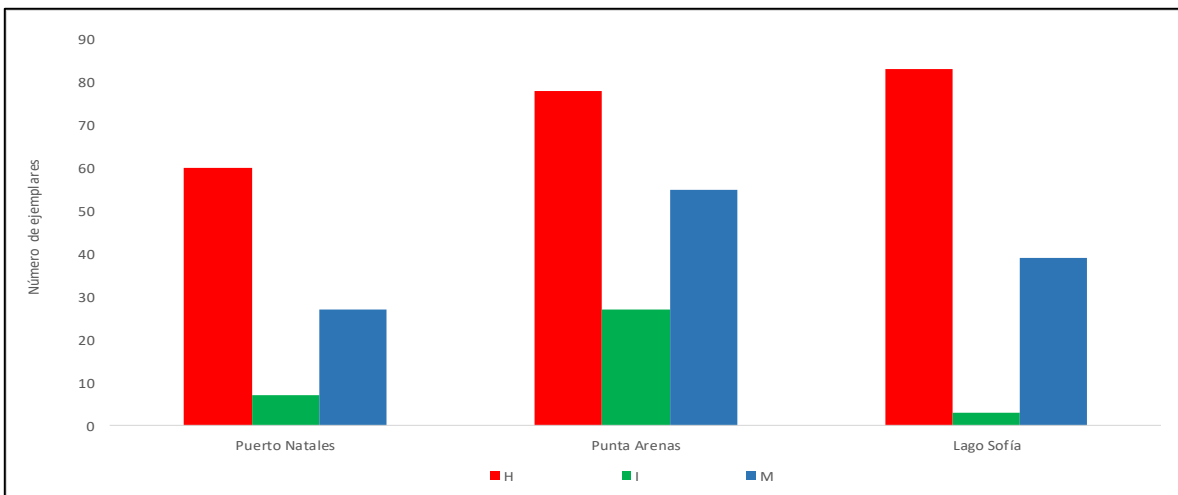


Figura 58. Estratificación por género, para la Región de Magallanes y de la Antártica Chilena.

En relación al estado de madurez gonadal para los ejemplares capturados en la Región de la Araucanía, el 34,5% (213) de los individuos capturados se encontraron en estado virginal (1), seguido del 26,7% (165) que se encontraron en maduración (3), el 24,1% (149) se encontraron inmaduros (2), en tanto que el 12,6% (78) de los individuos capturados se encontraron en estado de premaduros (4). El 1,3% (8) de los ejemplares se encontraron maduros (5), el 0,5% (3) en estado desovantes (6) y solo se registró 1 ejemplar (0,2%) en estado de regresión (7) (**Figura 59**).

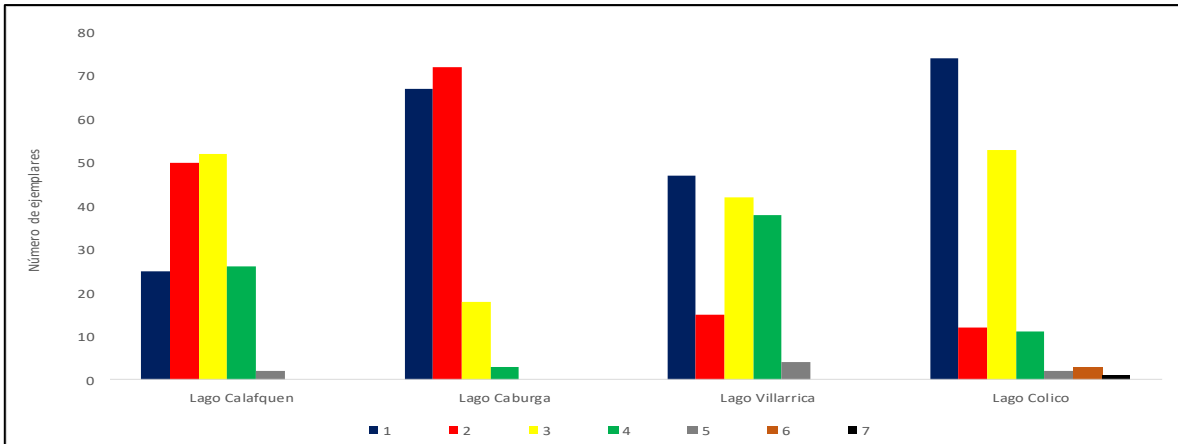


Figura 59. Distribución de ejemplares según estado de madurez gonadal, para la Región de la Araucanía (estados de maduración del 1 al 7).

En relación a la madurez gonadal para los ejemplares capturados en la Región de Los Ríos, el 43,2% (234) de los individuos capturados se encontraron en estado virginal (1), seguido del 28% (152) en estado de inmadurez (2), el 15,9% (86) en maduración (3), el 7,2% (39) de los individuos capturados se encontraron en estado de premaduros, en tanto que el 4,1% (22), 1,1% (6) y 0,6% (3) se encontraron en estado maduros, en regresión y desovantes; respectivamente (**Figura 60**).

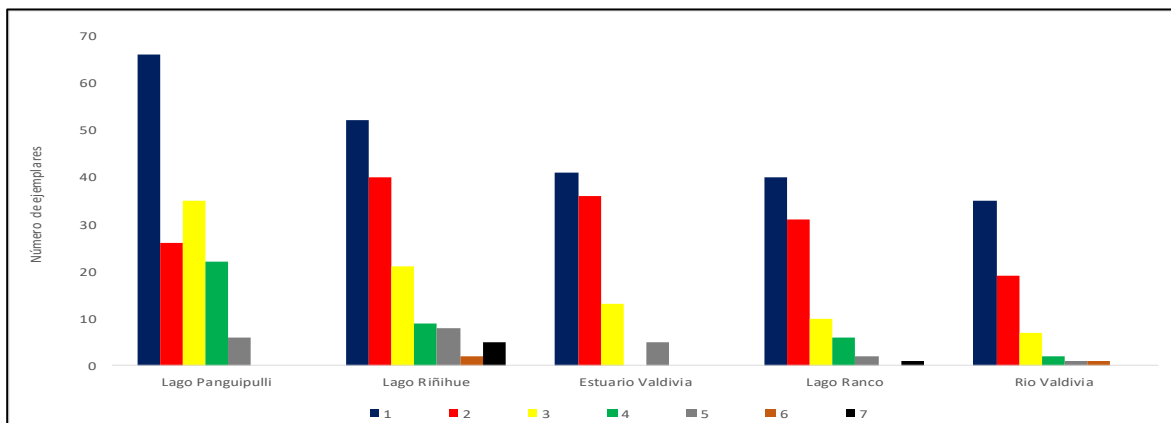


Figura 60. Distribución de ejemplares según estado de madurez gonadal, para la Región de Los Ríos (estados de maduración del 1 al 7).



En relación a la madurez gonadal para los ejemplares capturados en la Región de Los Lagos, el 31,8% (528) de los individuos capturados se encontraron en estado virginal (1), seguido del 30,4% (506) que se encontraron en estado de inmadurez (2), el 22,3% (371) se encontró en maduración (3), un 10,6% (177) de los individuos capturados se encontraron en estado de premaduros (4), en tanto que el 4,8% restante se encontraron maduros (5), desovantes (6) y en regresión (7), con 66, 2 y 12 ejemplares respectivamente (**Figura 61**).

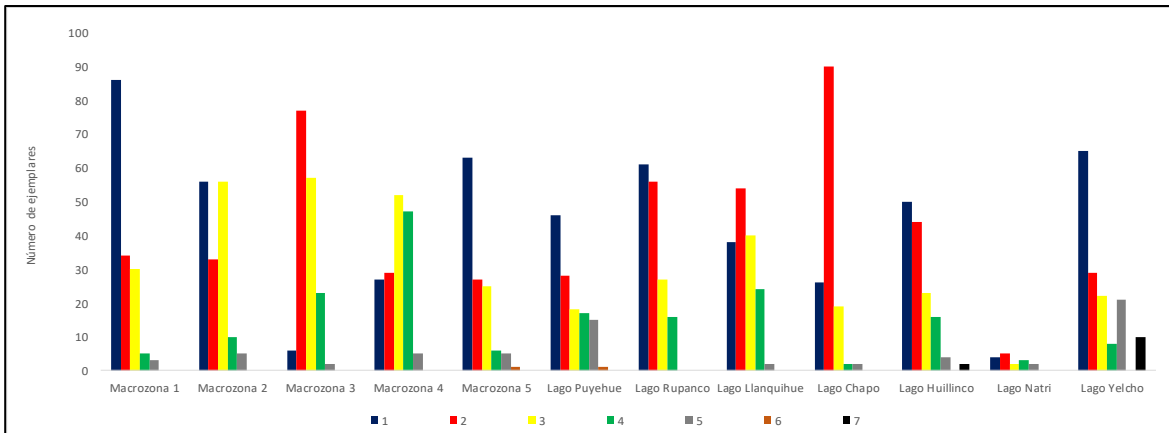


Figura 61. Distribución de ejemplares según estado de madurez gonadal, para la Región de Los Lagos (estados de maduración del 1 al 7).

En relación a la madurez gonadal para los ejemplares capturados en la Región de Aysén del General Carlos Ibáñez del Campo, el 27,4% (272) de los individuos se encontraron en maduración (3), seguido del 25,9% (257) que se encontraron inmaduros (2), el 16,4% (163) se presentaron tanto en estado virginal (1) como maduros (5), un 13,7% (136) se encontraron en estado premaduros (4), un solo un 0,1% (1) se presentó en regresión (7) (**Figura 62**).

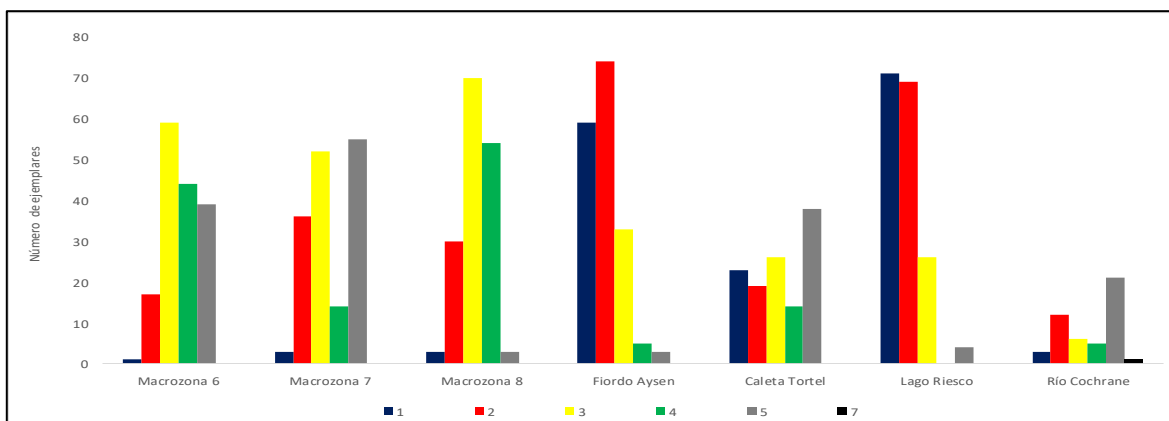


Figura 62. Distribución de ejemplares según estado de madurez gonadal, para la Región de Aysén del General Carlos Ibáñez del Campo (estados de maduración del 1 al 7).



En relación a la madurez gonadal para los ejemplares capturados en la Región de Magallanes y de la Antártica Chilena, el 25,9% (98) de los individuos capturados se encontraron en estado de madurez (5), seguido del 20,3% (77) que se encontraron en estado de inmaduros (2), el 19,5% (74) en estado de en maduración (3), un 14,8% (56) de los individuos capturados se encontraron premaduros (4), un 9,8% (37) de los ejemplares se presentaron en estado virginal (1), un 9,5% (36) se encontraron en estado desovante, y finalmente solo un 0,3% (1) se presentó en estado de regresión (7). (**Figura 63**).

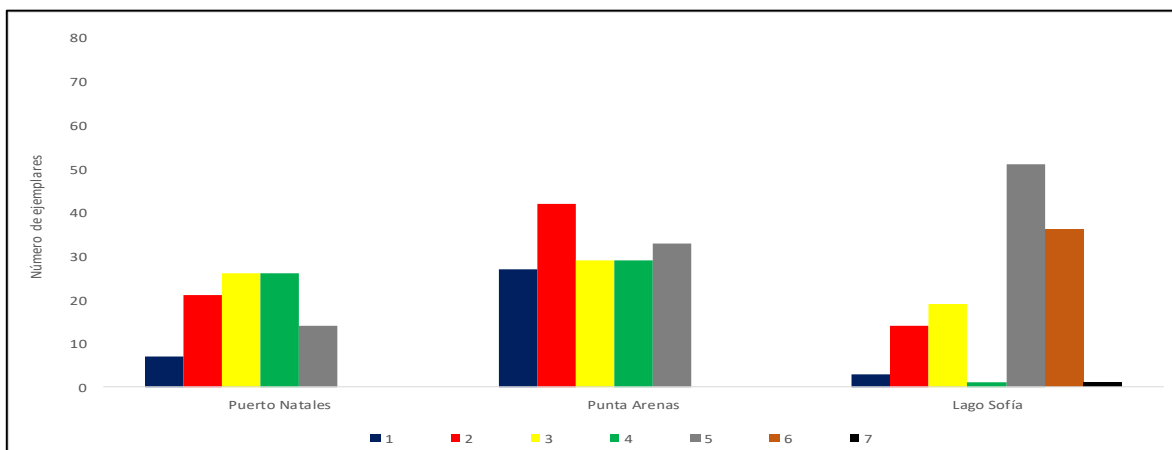


Figura 63 Distribución de ejemplares según estado de madurez gonadal, para la Región de Magallanes y de la Antártica Chilena (estados de maduración del 1 al 7).

La especie que registró el mayor peso promedio fue salmón del Atlántico, que además presentó la mayor longitud promedio. El promedio más alto del factor de condición de Fulton lo presentó la especie perca trucha, similar a lo presentado en etapas anteriores del programa. En contraste, pejerrey de mar fue la especie que registró el menor peso y longitud, en tanto que el menor factor de condición de Fulton promedio lo presentó la especie peladilla (**Tabla 13**).

Tabla 13.

Valores promedio de peso, longitud y factor de condición de Fulton de las especies.

Especie	Peso (g) promedio	Longitud (cm) promedio	FC de Fulton
Pejerrey de agua dulce	256,37	29,07	0,95
Pejerrey de mar	118,54	23,07	0,93
Peladilla	163,15	27,15	0,82
Perca trucha	400,99	30,07	1,30
Róbalo	356,95	30,58	1,09
Salmón del Atlántico	4123,66	71,38	1,02
Salmón coho	864,01	37,81	1,14
Trucha arcoiris	703,62	37,63	1,12
Trucha fario	1092,25	42,98	1,19



La categoría mayormente encontrada en las especies capturadas fue el de materia orgánica (39,5%), seguido por sin alimento (28%) y en tercer lugar el contenido líquido seromucoso (12,7%) (Tabla 14). Para el contenido estomacal con pellet, sólo se encontró en un 0,5% del total, principalmente en salmón coho, seguido de trucha arcoíris, róbalo y trucha fario. El 63% de estas muestras fueron encontradas entre las regiones de Los Lagos y Aysén. La importancia de la presencia de pellet en los individuos capturados, radica en que los ejemplares se mantienen y alimentan en las cercanías a pisciculturas o centros de cultivo.

Tabla 14.
Distribución del contenido estomacal por especie capturada.

Especie	Crustáceos	Moluscos	Peces	Pellet	Poliquetos	MO	SA	SM	SS
Robalo	145	10	21	4	38	664	259	85	-
Pejerrey agua dulce	20	128	2	1	-	315	160	50	-
Pejerrey de mar	4	-	-	-	12	145	137	177	-
Trucha fario	8	8	96	1	-	153	122	51	1
Trucha arcoiris	26	29	65	5	-	210	277	53	-
Salmon coho	15	-	48	8	2	72	76	98	-
Perca trucha	120	1	12	-	-	95	131	10	-
Peladilla	-	-	2	-	-	-	4	7	-
Salmon Atlantico	-	-	-	-	-	1	6	2	-
Total general	338	176	246	19	52	1655	1172	533	1

MO: Materia orgánica, SA: Sin alimento; SM: Contenido líquido seromucoso; SS: Sero sanguinolento

La categoría que predominó en el nivel de grasa visceral fue: escasa grasa (44,7%), seguido por la categoría sin grasa visceral (31,9%), en menor proporción moderada grasa (15,2%) y abundante grasa sólo con el 8,1% del total de las especies capturadas (Tabla 15).

Tabla 15.
Distribución del nivel de grasa visceral por especie capturada.

Especie	Sin grasa	Escasa	Moderada	Abundante
Robalo	465	749	-	12
Pejerrey agua dulce	92	198	182	204
Pejerrey de mar	37	240	38	160
Trucha fario	134	211	11	84
Trucha arcoiris	366	236	16	47
Salmon coho	159	121	25	14
Perca trucha	84	116	52	117
Peladilla	-	1	11	1
Salmon Atlantico	3	1	5	-
Total general	1340	1873	340	639

5.4.3 Hallazgos de parásitos en muestras analizadas.

En relación al hallazgo de parásitos detectados al examen anatomopatológico de los peces, respecto del total de los individuos que fueron capturados en las zonas comprometidas (n=4192), un 11,1% (n=467) de los peces presentaron hallazgos representados como presencia de parásitos, caracterizados por distintas especies parasitarias (**Figura 64**). Del conjunto de parásitos encontrados, un 67,6% (n=471) de los individuos correspondió a endoparásitos, mientras que un 32,4% (n=226) correspondió a ectoparásitos (**Figura 65**).

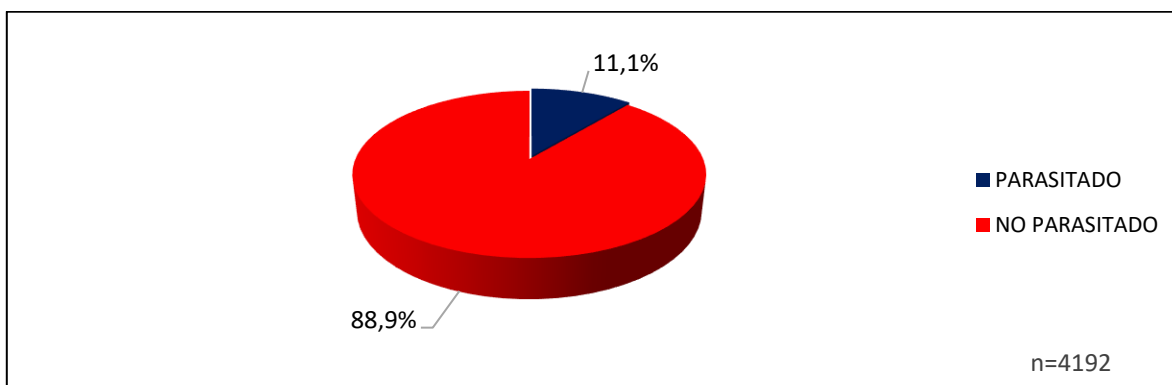


Figura 64. Distribución de ejemplares con presencia de parásitos respecto del total de peces capturados en las zonas geográficas.

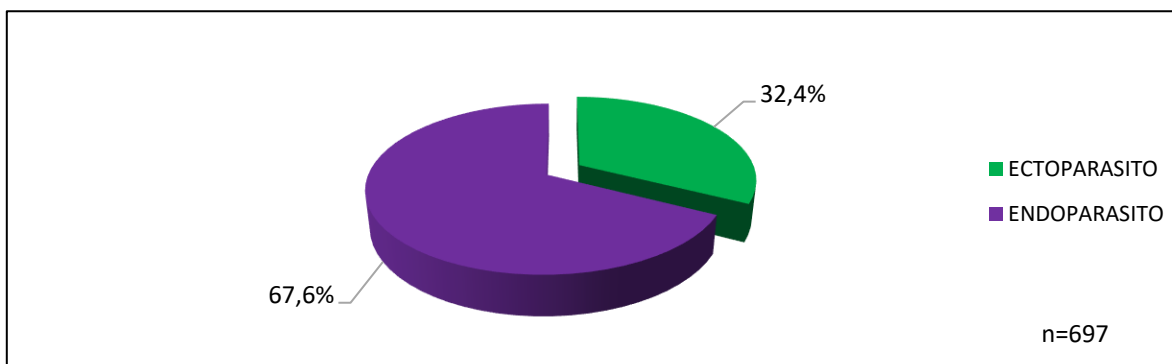


Figura 65. Clasificación de parásitos detectados de acuerdo a su ubicación en el pez.

Respecto de la distribución de los peces parasitados de acuerdo al tipo de cuerpo de agua en el cual fueron capturados, se observó que el 57,7% (n=402) de los peces parasitados se obtuvieron desde cuerpos marino, el 38,9% (n=271) desde cuerpos de agua dulce, y un 3,4% (n=24) desde cuerpos de agua estuarina (**Figura 66**).

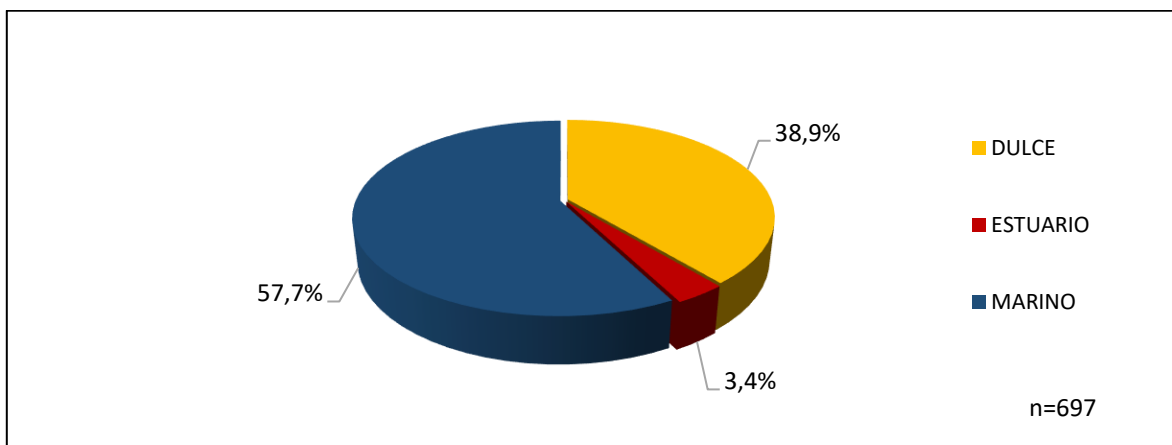


Figura 66. Distribución de peces parasitados de acuerdo al tipo de cuerpo de agua.

En relación a los hallazgos de parasitosis observados en la necropsia de los ejemplares obtenidos en el total de capturas realizadas (n=4192), se debe destacar que fue posible encontrar hallazgos parasitarios en 25 de 29 zonas muestreadas. Se detalla que las 6 zonas con mayor porcentaje de individuos parasitados sobre el total de capturas corresponden a: Lago Panguipulli (L12) (1,9%, 68/4192), Chiloé central (M3) (1,6%, 58/4192), Lago Huillinco (L4) (1,4%, 51/4192), Chiloé norte (M2) (1,4%, 50/4192), Lago Colico (L9) (1,3%, 49/4192) y Lago Riñihue (L13) (1,0%, 36/4192). El resto de las zonas igualó o no superó el 0,7% de individuos parasitados del total de capturas. Mayor detalle del número de peces parasitados y porcentaje de individuos parasitados se presenta en la **Tabla 16**.

Tabla 16.

Número de peces parasitados y capturas de peces por zona, junto al porcentaje de ejemplares parasitados por zona y total de capturas.

Zonas de muestreo	N° peces parasitados	N° capturas por zona	% Parasitados por zona	% Parasitados sobre el total capturas
Lago Panguipulli (L12)	68	155	43,9%	1,9%
Chiloé Central (M3)	58	165	35,2%	1,6%
Lago Huillinco (L4)	51	139	36,7%	1,4%
Chiloé Norte (M2)	50	160	31,3%	1,4%
Lago Colico (L9)	49	156	31,4%	1,3%
Lago Riñihue (L13)	36	137	26,3%	1,0%
Lago Villarrica (L10)	25	146	17,1%	0,7%
Chiloé Sur (M4)	24	160	15,0%	0,7%
Melinka y Guaitecas norte (M6)	19	160	11,9%	0,5%
Estuario de Valdivia (EV)	14	160	8,8%	0,4%
Lago Calafquén (L8)	13	155	8,4%	0,4%



Lago Llanquihue (L1)	10	158	6,3%	0,3%
Estuario y Seno del Reloncaví (M1)	9	158	5,7%	0,2%
Hornopirén y Fiordo Comau (M5)	7	127	5,5%	0,2%
Lago Ranco (L11)	6	90	6,7%	0,2%
Fiordo Puyuhuapi y Raúl Marín Balmaceda (M8)	6	160	3,8%	0,2%
Lago Rupanco (L15)	5	160	3,1%	0,1%
Lago Puyehue (L16)	4	125	3,2%	0,1%
Lago Chapo (L2)	3	139	2,2%	0,1%
Lago Natri (L5)	2	16	12,5%	0,1%
Guaitecas sur, Fiordo Cupquelan y E. Quitr Alco (M7)	2	160	1,3%	0,1%
Punta Arenas (PA)	2	160	1,3%	0,1%
Lago Caburga (L7)	2	160	1,3%	0,1%
Lago Yelcho (L14)	1	155	0,6%	0,0%
Fiordo Aysén (FA)	1	174	0,6%	0,0%

Respecto a la composición de especies parasitadas, el róbalo corresponde a la especie que ha presentado mayor porcentaje de parasitismo (45,6%, n=213), seguido de la especie trucha arcoiris (31,9%, n=149), trucha fario (13,3%, n=62), pejerrey de agua dulce (3,9%, n=18), salmón coho (3,0%, n=14), perca trucha (2,1%, n=10), pejerrey de mar (0,2%, n=1) (**Figura 67**).

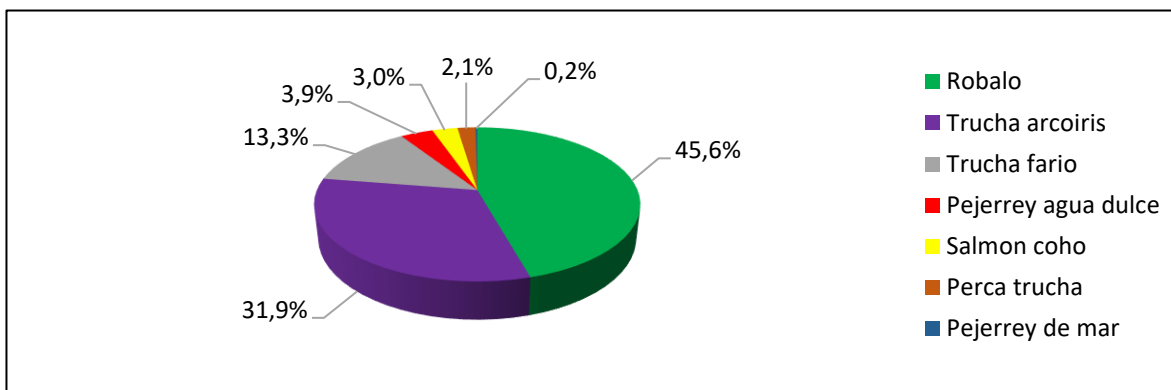


Figura 67. Composición de especies parasitadas por diversos tipos de parásitos.

Se debe destacar que no se realizó un muestreo sistemático taxonómico de los parásitos, ya que se priorizó determinar la presencia/ausencia de parásitos en los peces a modo general. De todas formas, se rescataron un total de 697 hallazgos que representaron a aquellos parásitos fácilmente reconocibles a ojo desnudo o simple vista y/u observables. Se debe destacar que el número de parásitos no coincide con el número de individuos parasitados (n=467), ya que en algunos casos los peces presentaron más de un parásito. La recolección de ejemplares parásitos desde las capturas ha



permitido la identificación de éstos a nivel de género y/o especie. Las familias parasitarias registradas corresponden a: *Chondracanthidae*, *Anisakidae*, *Argulidae*, *Caligidae*, *Cymothoidae*, *Diphyllbothriidae*, *Hypoechinorhynchidae*, *Ichthyophonida*, *Lernaeopodidae*, *Pennellidae* y *Tentaculariidae*. En la **Tabla 17**, se observa la composición de especie o género parasitario, hospedador, órgano y zona en la cual fue obtenido.

Tabla 17.
Especie o género parasitario, hospedador, órgano parasitado y zona con ejemplares parasitados.

Especie o género parasitario	Hospedador	Órgano	Zona
<i>Acanthochondria sp.</i>	Róbalo	Branquia	Chiloé Norte-central; Hornopirén y Fiordo Comau; Melinka, Guaitecas, Fiordo Puyuhuapi; Punta Arenas
<i>Anisakis sp.</i>	Róbalo	Cavidad Estomago	Chiloé norte, Estuario y Seno del Reloncaví, Fiordo Aysén; Hornoporén y Fiordo Comau
<i>Argulus sp.</i>	Róbalo	Piel	Lago Huillinco, Estuario Valdivia
<i>Caligus rogercresseyi</i>	Róbalo	Piel Aletas	Chiloé norte, central y sur; Melinka, Guaitecas y Fiordo Puyuhuapi
<i>Ceratothoa sp.</i>	Róbalo	Boca Branquias	Chiloé Central
<i>Corynosoma sp.</i>	Róbalo	Cavidad	Lago Huillinco
<i>Diphyllbothrium dendriticum</i>	Salmon coho	Cavidad Hígado Bazo Gónada	Lago Panguipulli
	Robalo		Chiloé Sur
	Pejerrey de agua dulce		Lagos Ranco, Panguipulli, Calafquén
	Perca trucha		Lago Llanquihue
	Trucha arcoiris		Lagos Villarrica, Panguipulli, Riñihue, Colico
	Trucha fario		Lagos Panguipulli, Chapo, Huillinco, Colico
<i>Diphyllbothrium latum</i>	Pejerrey de agua dulce	Cavidad Hígado Bazo Gónada	Lagos Panguipulli, Villarrica, Colico, Calafquén
	Perca trucha		Lagos Llanquihue, Rupanco y Chapo
	Róbalo		Lago Huillinco y Estuario y Seno de Reloncaví
	Salmón coho		Lagos Llanquihue, Panguipulli, Colico
	Trucha arcoiris		Lagos Llanquihue, Villarrica, Ranco, Panguipulli, Riñihue, Yelcho, Rupanco, Colico, Puyehue, Yelcho, Calafquén
	Trucha fario		Lagos Ranco, Panguipulli, Riñihue, Huillinco, Colico, Caburga
<i>Hypoechinorhynchus magellanicus</i>	Róbalo	Intestino	Chiloé norte-central-sur, Huillinco, Estuario Valdivia
	Salmón coho		Lago Villarrica
	Robalo		Lago Huillinco
<i>Hysterothylacium sp.</i>	Pejerrey de agua dulce	Cavidad Branquia	Lago Villarrica
	Perca trucha		Lagos Llanquihue, Rupanco y Chapo
	Trucha arcoiris		Lago Villarrica
<i>Ichthyophonus sp.</i>	Róbalo	Cavidad	Estuario y Seno del Reloncaví, Hornopirén y Fiordo Comau



<i>Lepeophtheirus sp.</i>	Róbalo	Piel	Chiloé norte-central-sur, Melinka y Guaitecas norte
<i>Nybelinia sp.</i>	Róbalo	Cavidad	Estuario y Seno del Reloncaví, Lago Huillinco
	Pejerrey de agua dulce		Lago Huillinco
<i>Peniculus sp.</i>	Pejerrey de mar	Aletas posteriores	Hornopirén y Fiordo Comau

Respecto a la composición de especies de parásitos encontrados, *Diphyllbothrium latum* (n=207, 29,7%), *Caligus rogercresseyi* (n=96, 13,8%), *Diphyllbothrium dendriticum* (n=80, 11,5%), *Hypoechinorhynchus magellanicus* (n=77, 11%), *Lepeophtheirus mugiloides* (n=72, 10,3%), *Acanthochondria sp.* (n=43, 6,2%), y *Lepeophtheirus confusum* (n=38, 5,5%). El resto de las especies parasitas no superaron el 5% (**Figura 68**). Se destaca que se logró la identificación anatómica del parásito *Ichthyophonus sp.*, (n=11, 1,6%), sin embargo, esta identificación debe ser confirmada mediante análisis genético e histología. Esta especie fue observada en los Estuario y Seno del Reloncaví, Hornopirén y Fiordo Comau.

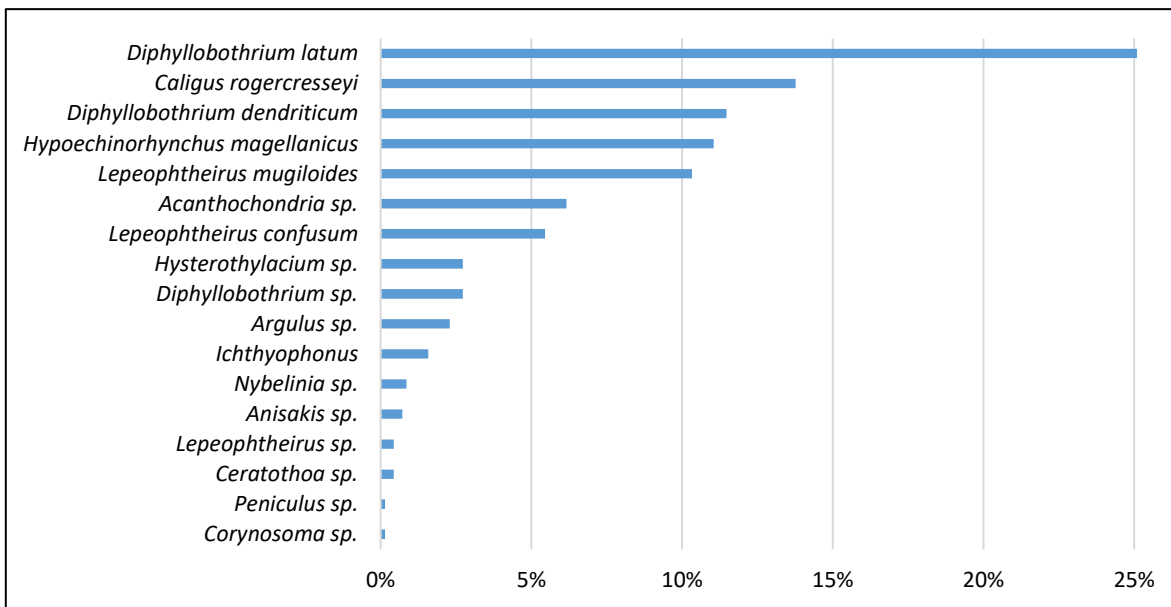


Figura 68 Géneros y especies de parásitos detectados en los peces parasitados.

A continuación, se presentan imágenes in situ (**Figura 69 a 78**) a de algunos hallazgos de ecto y endoparásitos observados en los peces capturados, así como también otros hallazgos observados a la necropsia en los individuos analizados. En relación a los hallazgos parasitarios observados, estos fueron confirmados al examen bajo la lupa estereoscópica, tal como fue señalado anteriormente.



Figura 69. Cuadro de melanosis localizado a nivel del h3gado (flecha roja) en individuo de la especie pejerrey de mar.

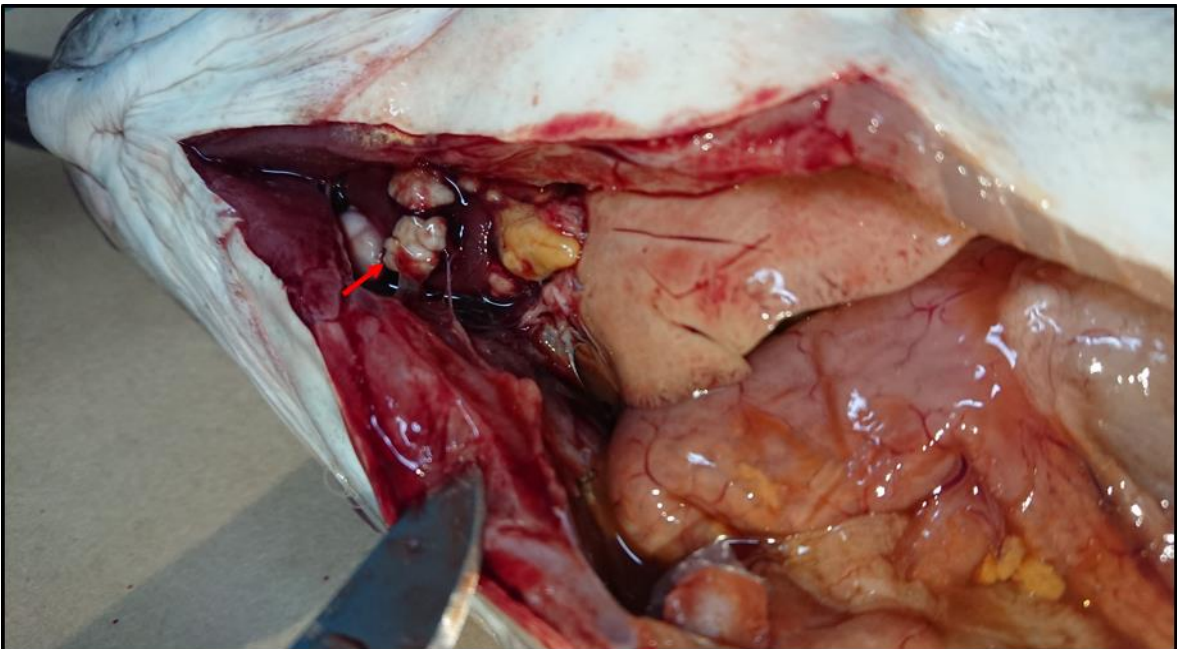


Figura 70. Presencia de granulomas a nivel de cavidad card3aca (flecha roja) en individuo de la especie r3balo.



Figura 71. Presencia de estructuras quísticas (flecha roja) en individuo de la especie perca trucha.

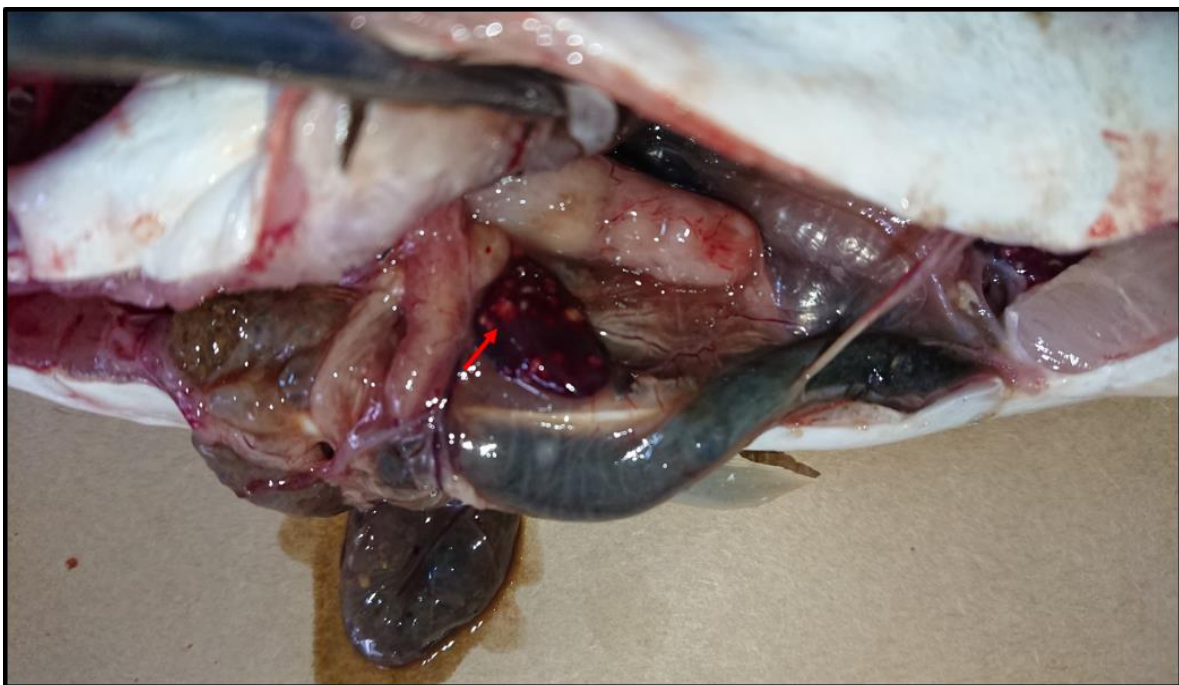


Figura 72. Presencia de granulomas ubicados a nivel del bazo (flecha roja) en individuo de la especie róbaló.

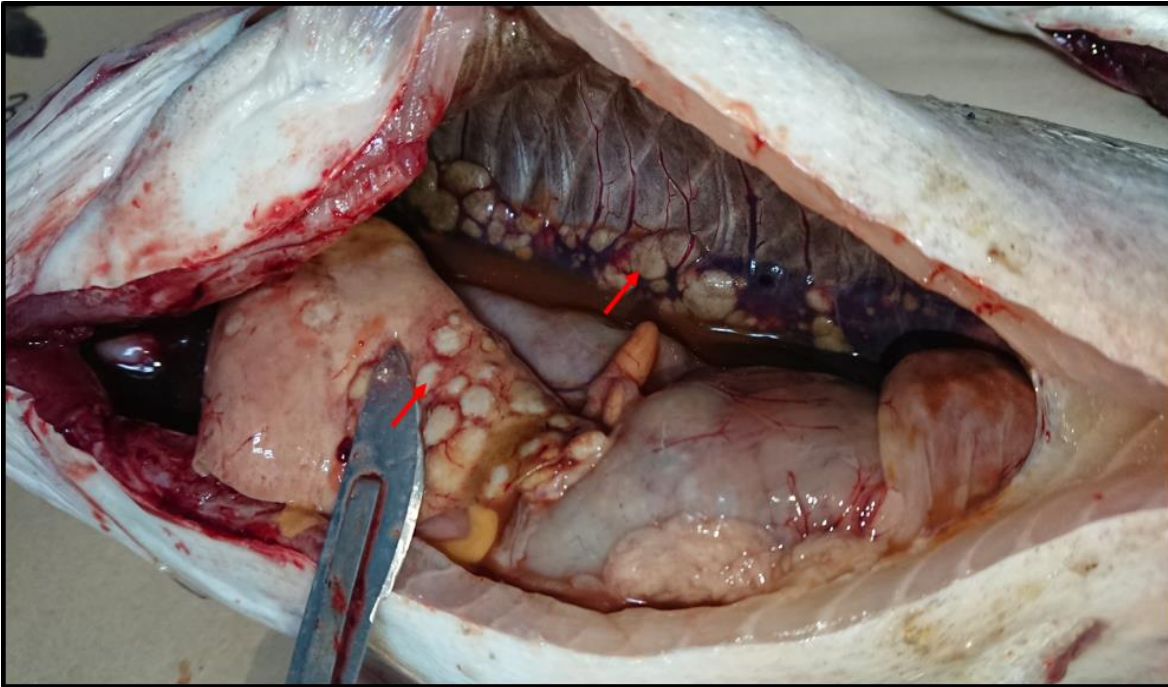


Figura 73. Presencia de granulomas ubicados a nivel del hígado y riñón (flechas rojas) en individuo de la especie róbalo.

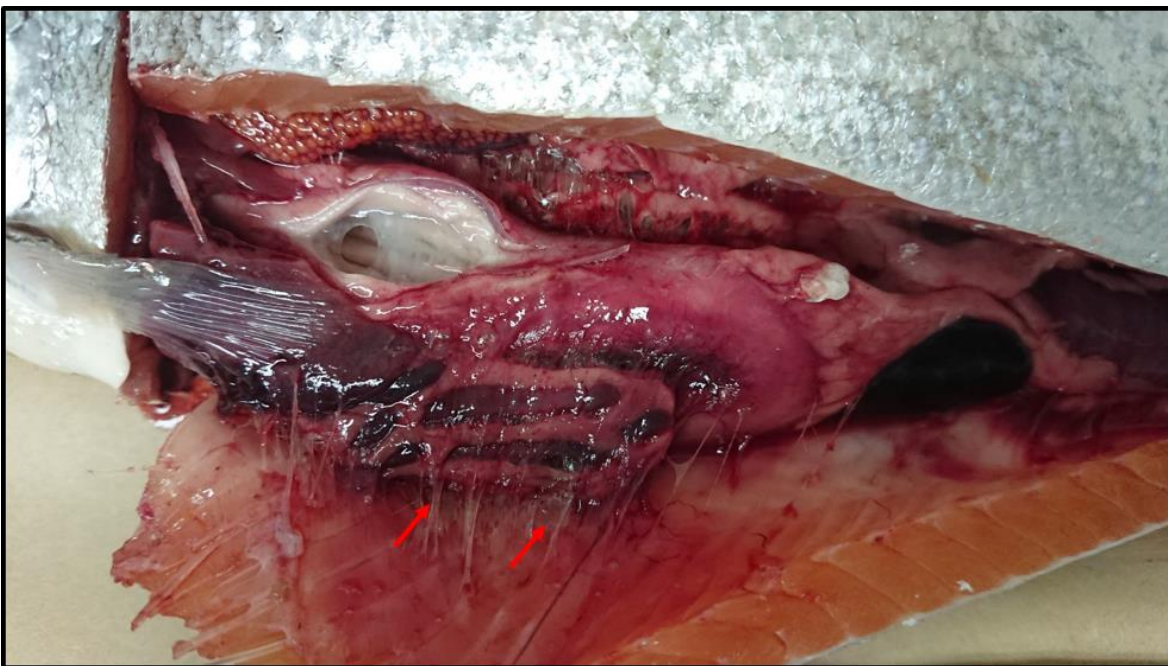


Figura 74. Presencia de adherencias (flecha roja) en ejemplar de la especie trucha arcoíris.

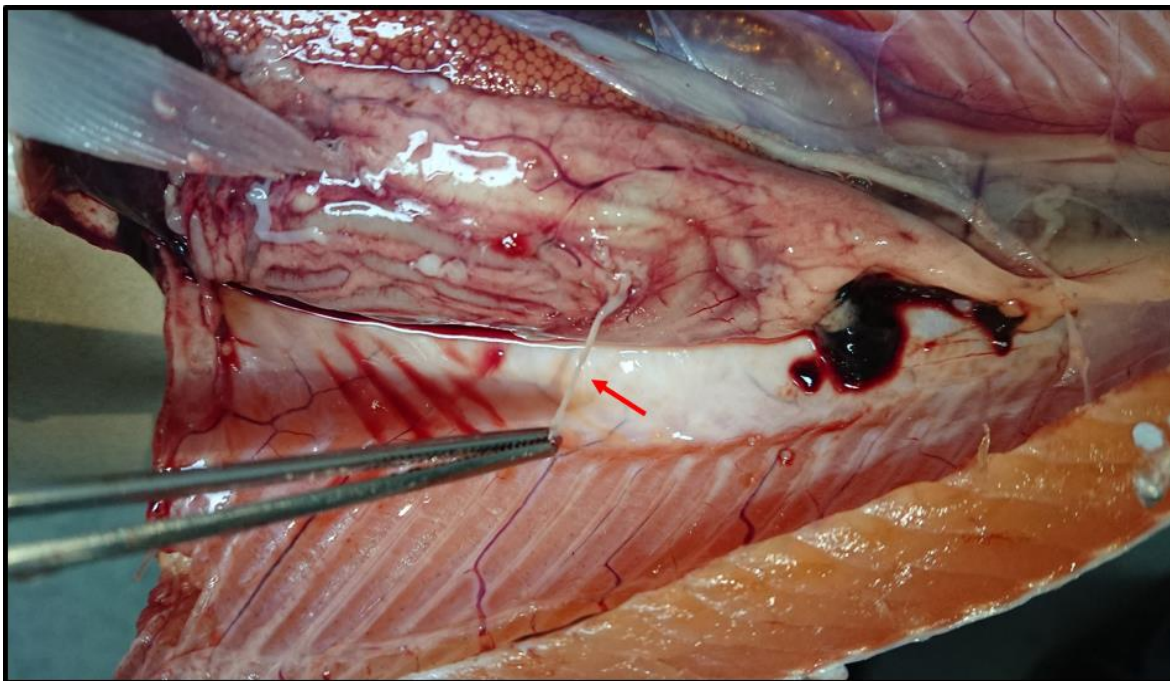


Figura 75. Presencia de larva plerocercoides de *Diphylobothrium* sp presente en cavidad abdominal (flecha roja) de ejemplar de la especie trucha arcoiris.



Figura 76. Leve cuadro de renomegalia (flecha roja) a nivel de riñ3n posterior en ejemplar de la especie trucha arcoiris.



Figura 77. Infestaci3n masiva de larvas plerocercoides de *Diphyllbothrium sp* presentes en cavidad abdominal (flechas rojas) de ejemplar de la especie trucha arcoiris.



Figura 78. Ejemplar adulto de *Argulus sp* localizado a nivel de piel (flecha roja) en individuo de la especie r3balo.



5.4.4 Informe de campañas de pesca de investigación.

Se elaboró Informe de Pesca de Investigación, para ser enviado a la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura, lo que por una parte formaliza la finalización de las campañas de pesca del actual estudio, y por otra, da cumplimiento al requisito necesario para efectuar una nueva solicitud de pesca de investigación en el marco del estudio del Convenio de desempeño 2019-2020. De igual modo, junto al informe se adjuntó la base de datos de la pesca de investigación correspondiente.



5.5 Análisis diagnóstico de la detección de material genético de agentes patógenos causantes de Enfermedades de Alto Riesgo (EAR) en los ejemplares capturados.

De la forma como se indicó en la sección metodológica del presente documento, los análisis de las muestras se llevaron a cabo en las instalaciones de la División de Investigación en Acuicultura del Instituto de Fomento Pesquero. La totalidad de las muestras obtenidas fueron analizadas en forma individual por medio de la metodología de PCR tiempo real, de acuerdo a los protocolos montados en el Laboratorio de Biología Molecular de IFOP.

Los análisis realizados corresponden a las mismas técnicas que ya fueron implementadas en los estudios previos, por lo que el montaje y estandarización de técnicas ya se encuentra finalizado para la totalidad de los patógenos que se desea detectar a través del programa de vigilancia de las EAR en peces silvestres y ferales.

En lo que respecta a los patógenos ISAV, PD, PMVC, VHS, IHN, EHN y BKD, la totalidad de las muestras analizadas arrojaron resultados negativos. Del total de ejemplares que fueron capturados en las 29 zonas comprometidas (n= 4192), 2 muestras de este total no ingresaron para análisis, debido a que los tubos presentaron un error en el etiquetado.

5.5.1 Obtención de muestras para biología molecular.

En la **Tabla 18**, se observa la distribución de los patógenos en vigilancia con resultados positivos de PCR y su porcentaje de ocurrencia, respecto del total de muestras que han sido analizadas (4190). La Región de Aysén del General Carlos Ibañez del Campo ha mostrado la mayor ocurrencia de detección de patógenos causantes de EAR con un 3,02% (30), seguido de la Región de Los Lagos con un 1,68% (28), en tercer lugar, se encuentra la Región de Los Ríos con un 1,10% (6) y en cuarto lugar la Región de Magallanes y de la Antártica Chilena, con un 1,05% (7). En esta etapa, no se registró detección de agentes patógenos para la región de La Araucanía. El agente patógeno más prevalente fue *P. salmonis* (38), seguido de PRV (15), *F. psychrophilum* (13), *R. salmoninarum* (3) y finalmente IPNV (2).

Tabla 18.

Distribución de patógenos bajo monitoreo con resultados PCR positivos y su ocurrencia por región.

Región	IPNV	PRV	<i>P. salmonis</i>	<i>F. psychrophilum</i>	<i>R. salmoninarum</i>	(+)/Total	Ocurrencia (%)
ARAUC	0	0	0	0	0	0/616	0%
RÍOS	0	0	3	3	0	6/542	1,10%
LAGOS	1	6	15	6	0	28/1661	1,68%
AYSEN	1	8	18	3	0	30/992	3,02%
MAG	0	1	2	1	3	7/379	1,05%
Total	2	15	38	13	3	71/4190	1,69%



En la **Figura 79**, se aprecia la distribución de las muestras positivas en las distintas regiones, donde *P. salmonis* fue el patógeno de mayor ocurrencia en la Región de Aysén del General Carlos Ibañez del Campo, con 47,4% (18/38), seguido por la Región de Los Lagos con 39,5% (15/38), la Región de Los Ríos con 7,9% (3/38) y la Región de Magallanes y la Antártica Chilena con 5,2% (2/38).

En el caso de PRV, solo se encontraron muestras positivas en tres regiones, siendo las más prevalentes la Región de Aysén del General Carlos Ibañez del Campo con 53,3% (8/15), la Región de Los Lagos con 40% (6/15) y finalmente la Región de Magallanes y de la Antártica Chilena con una sola muestra positiva (6,7%). Para el caso del patógeno *F. psychrophilum*, la Región de Los Lagos fue la más prevalente con un 46,2% (6/13), seguida de las regiones de Los Ríos y de Aysén del General Carlos Ibañez del Campo, con un 23% (3/13) cada una, y con un solo caso la Región de Magallanes y de la Antártica Chilena (7,7%) Por su parte, para IPNv, se presentaron únicamente 2 muestras, una de las cuales se presentó en la Región de Los Lagos y la otra en la Región de Aysén del General Carlos Ibañez del Campo. Finalmente, destaca por primera vez dentro del programa de monitoreo, la detección de 3 muestras positivas del patógeno *R. salmoninarum*, el 100% de las cuales se presentaron en la Región de Magallanes y de la Antártica Chilena.

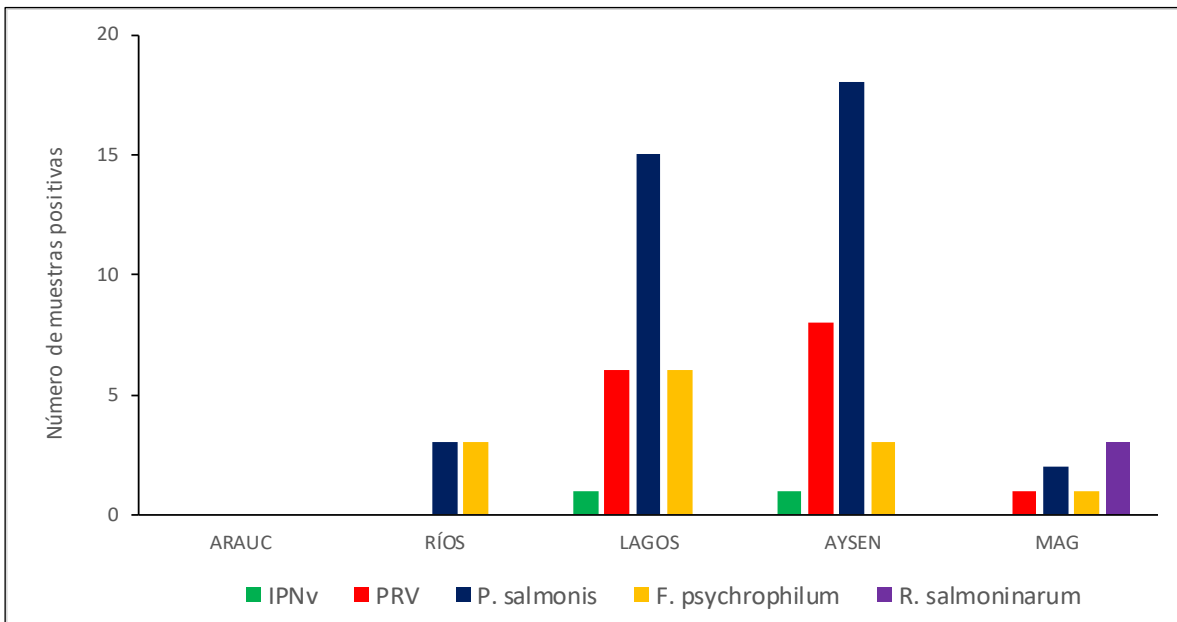


Figura 79. Distribución de patógenos PCR positivos por región de estudio.

En la **Tabla 19**, se puede observar la distribución de las frecuencias para el patógeno *P. salmonis* por especie capturadas de muestras analizadas mediante PCR. Las ocurrencias más altas fueron en la especie pejerrey de mar con un 5,2% (28/537), seguido por la especie róbalo con 5,1% (74/1442), salmón coho con un 3,4% (4/118) y trucha fario (3) y trucha arcoíris (1) ambos con un 3,4% del total.



Tabla 19.
Ocurrencia de positividad al análisis de *P. salmonis* por especie capturada.

Especie	N° muestras analizadas	Positivas a <i>P. salmonis</i>	Negativas a <i>P. salmonis</i>	Ocurrencia de <i>P. salmonis</i>
Pejerrey agua dulce	114	3	111	2,6%
Pejerrey de mar	475	9	466	1,9%
Peladilla	11	0	11	0%
Perca trucha	1	0	1	0%
Robalo	1225	22	1203	1,8%
Salmon Atlántico	5	0	5	0%
Salmon coho	159	1	158	0,6%
Trucha arcoíris	41	1	40	2,4%
Trucha fario	129	2	127	1,6%
TOTAL	2160	38	2122	1,8%

En la **Figura 80**, se puede apreciar que el mayor número de muestras positivas a *P. salmonis* las presentó la especie róbalo, con 58% del total, seguido por pejerrey de mar con un 24%, y pejerrey de agua dulce con un 8%. En el caso de los salmónidos, el 10% de las muestras resultaron positivas al patógeno, distribuidas en las especies trucha fario (5%), trucha arcoíris (3%) y salmón coho (2%).

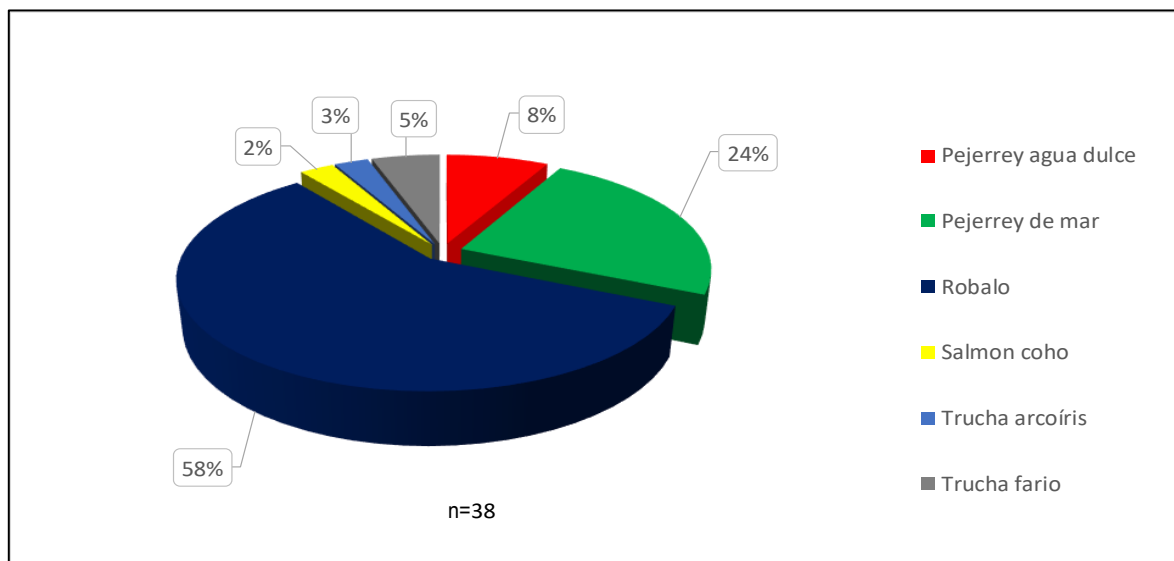


Figura 80. Distribución de muestras positivas a *P. salmonis* por especie capturada (n=38).

Con respecto a la distribución de la totalidad de muestras positivas a *P. salmonis* por región, la Región de los Ríos, presentó solo tres muestras positivas, dos de ellas se obtuvieron de ejemplares de pejerrey de agua dulce obtenidos en la zona del Estuario de Valdivia, y la otra en la especie róbalo capturada en el río Valdivia.

En relación a la distribución de muestras positivas de peces capturados en la Región de Los Lagos, estas se presentaron principalmente en la especie róbalo (9) en las diferentes macrozonas sanitarias, seguido de la especie pejerrey de mar (4), las que se obtuvieron desde ejemplares capturados en Macrozona 3 y Macrozona 5, en tanto que las especies trucha fario y pejerrey de agua dulce presentaron una muestra positiva cada una, obtenida de ejemplares capturados en las zonas de lago Natri y lago Huillinco; respectivamente (**Figura 81**).

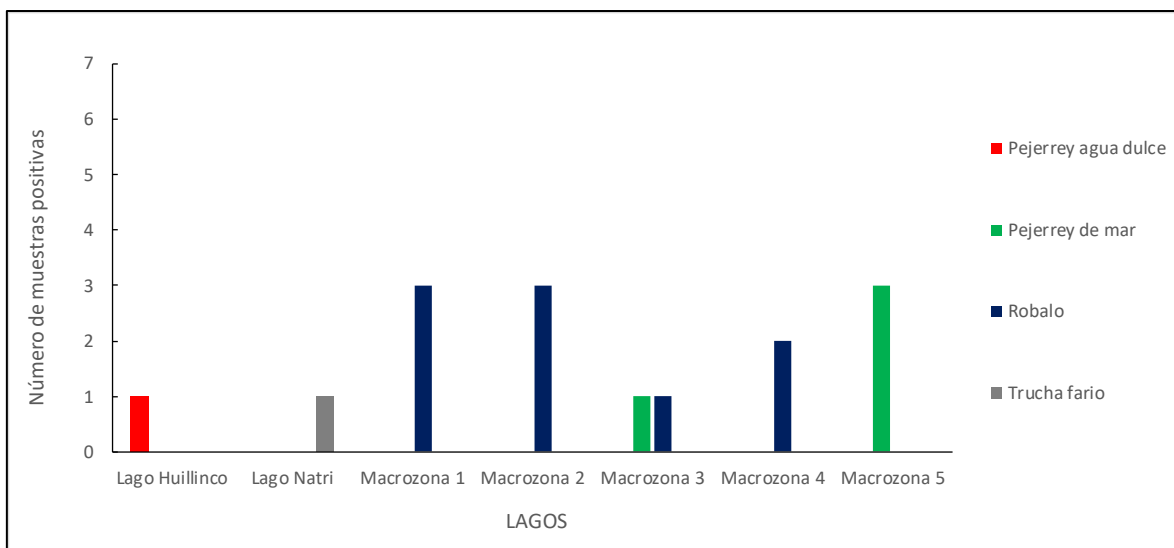


Figura 81. Distribución de especies positivas a *P. salmonis* por zona en la Región de Los Lagos.

En la Región de Aysén del General Carlos Ibáñez del Campo, se observó un predominio de muestras positivas a *P. salmonis* en la especie róbalo (11) donde cerca del 54% se muestras positivas correspondió a ejemplares capturados en la zona de Fiordo Aysén. Le siguió la especie pejerrey de mar, donde del 100% de muestras positivas, el 75% correspondió a ejemplares obtenidos en la Macrozona 8. Finalmente, para el caso de los salmónidos, solo se obtuvieron 3 ejemplares positivos, uno de los cuales correspondió a trucha arcoíris, otro a salmón coho y el último a trucha fario; los que fueron capturados en la Macrozona 8, y en el caso de los dos últimos en la zona del Fiordo Aysén; respectivamente (**Figura 82**).

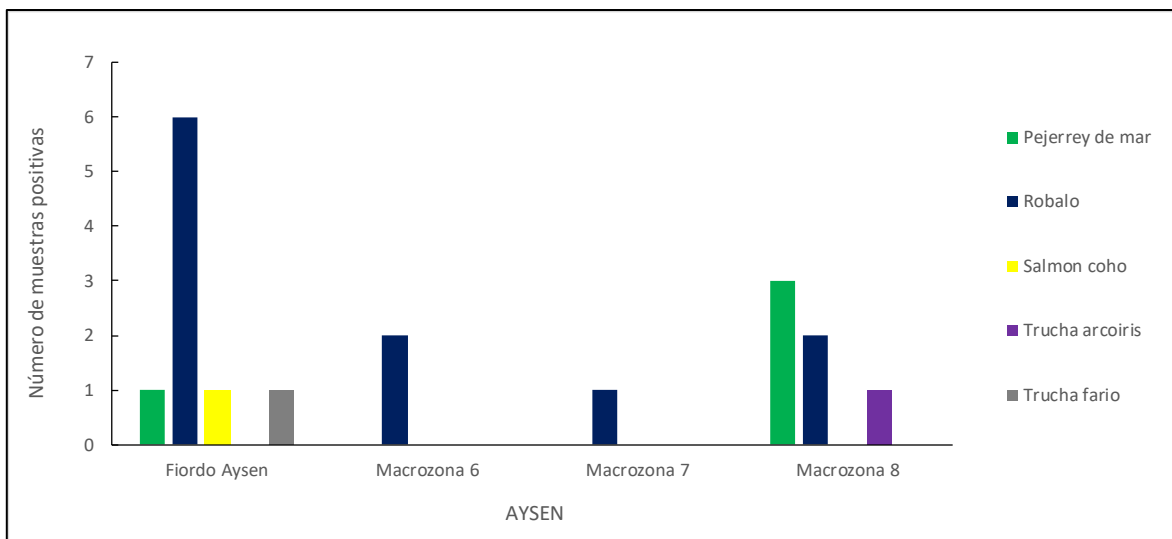


Figura 82. Distribución de especies positivas a *P. salmonis* por zona en la Región de Aysén del General Carlos Ibáñez del Campo.

Por su parte, respecto de la distribución de muestras en la Región de Magallanes y de la Antártica Chilena, solo se presentó dos muestras positivas a *P. salmonis*, el 100% de las cuales se obtuvieron de ejemplares de pejerrey de mar capturados en la zona de Puerto Natales.

En la **Tabla 20**, se puede observar la distribución de las muestras positivas a PRV por especie analizadas mediante PCR. Se presentaron un total de 15 muestras positivas que representó un 1,05% (15/1432) del total, encontrándose mayormente en salmón coho con una ocurrencia de un 2,8% (9/310) y en trucha arcoiris con un 0,8% (5/660). Solo se registró una muestra positiva en la especie salmón Atlántico de los nueve ejemplares que fueron capturados y sometidos a análisis.

Tabla 20.
Ocurrencia de positividad a PRV por especie capturada.

Especie	N° muestras analizadas	Positivas a PRV	Negativas a PRV	Ocurrencia de PRV
Salmon Atlántico	9	1	8	11,1%
Salmon coho	319	9	310	2,8%
Trucha arcoiris	665	5	660	0,8%
Trucha fario	439	0	439	0%
TOTAL	1432	15	1417	1,05%

En la **Figura 83**, se observ3 la distribuci3n porcentual de las muestras positivas a PRV por especie capturada, donde salm3n coho represent3 un 60%, trucha arco3ris un 33%, y finalmente salm3n del Atl3ntico un 7% del total de muestras con resultado positivo al agente.

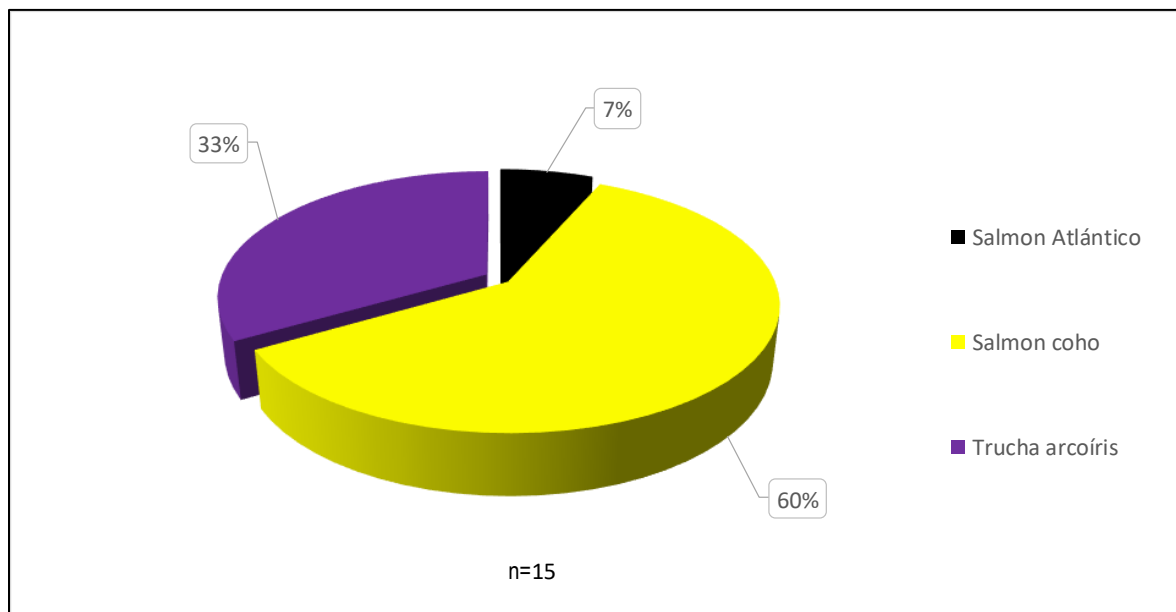


Figura 83. Distribuci3n de muestras positivas a PRV por especie capturada (n= 15).

En relaci3n con la distribuci3n de especies positivas a PRV por regi3n y zona geogr3fica (**Figura 84**), la Regi3n de Ays3n del General Carlos Iba3ez del Campo present3 ocho muestras positivas, siete en la especie salm3n coho y una en salm3n del Atl3ntico capturados en la zona de Fiordo Ays3n. Por su parte, la Regi3n de Los Lagos present3 seis muestras positivas, una obtenida en salm3n coho y cinco en trucha arco3ris capturados en la zona del lago Rupanco. Finalmente, en la Regi3n de Magallanes y de la Ant3rtica Chilena, solo se present3 una muestra positiva a PRV en la especie salm3n coho capturado en la zona de Punta Arenas.

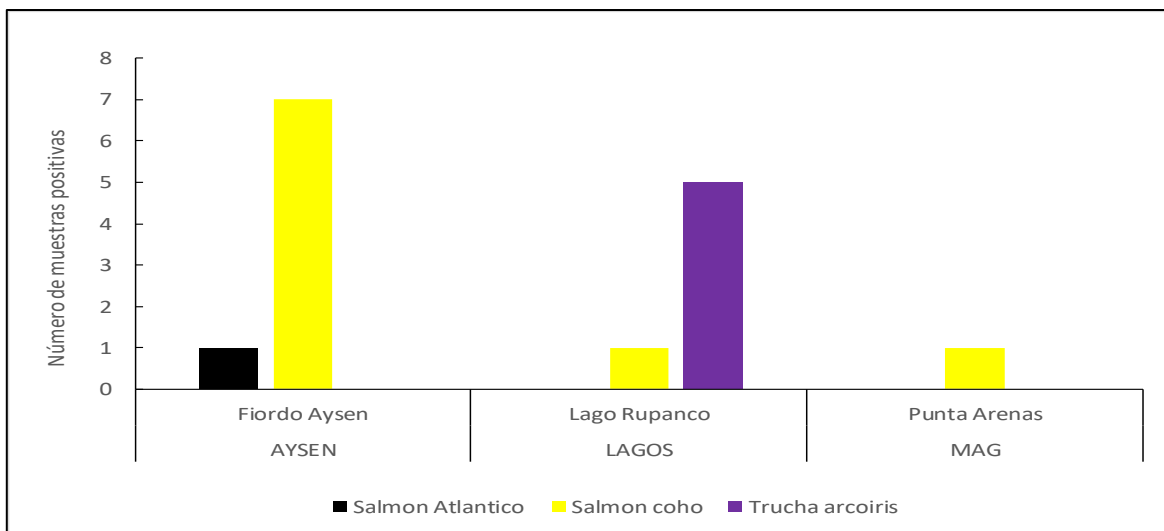


Figura 84. Distribución de especies positivas a PRV por zona en las regiones de Aysén del General Carlos Ibañez del Campo, Los Lagos y Magallanes y de la Antártica Chilena.

En la **Tabla 21**, se puede observar la distribución de muestras positivas a *F. psychrophilum* por especie en el total de zonas analizadas. Se presentó un total de 13 muestras positivas, que representó un 0,55% (13/2352) del total, encontrándose mayormente en trucha fario 1,53% (6/392), en trucha arcoiris con un 0,92% (6/646) y salmón del Atlántico con un 25% (1/4). En caso último caso, la alta ocurrencia se debió al bajo número de ejemplares capturados, y la proporción de resultados positivos obtenidos al análisis de PCR.

Tabla 21.
Ocurrencia de positividad a *F. psychrophilum* por especie capturada

Especie	Nº muestras analizadas	Positivas a <i>F. psychrophilum</i>	Negativas a <i>F. psychrophilum</i>	Ocurrencia de <i>F. psychrophilum</i>
Pejerrey agua dulce	611	0	611	0%
Pejerrey de mar	4	0	4	0%
Peladilla	13	0	13	0%
Perca trucha	369	0	369	0%
Robalo	153	0	153	0%
Salmon Atlántico	4	1	3	25%
Salmon coho	160	0	160	0%
Trucha arcoiris	646	6	640	0,92%
Trucha fario	392	6	386	1,53%
TOTAL	2352	13	2339	0,55%

En la **Figura 85**, se observ3 la distribuci3n porcentual de las muestras positivas a *F. psychrophilum* por especie capturada, donde tanto trucha fario y trucha arcoiris fueron las especies m3s prevalentes, cada una con un 46% del total de las muestras, seguida finalmente por salm3n del Atl3ntico con un 8% de muestras positivas.

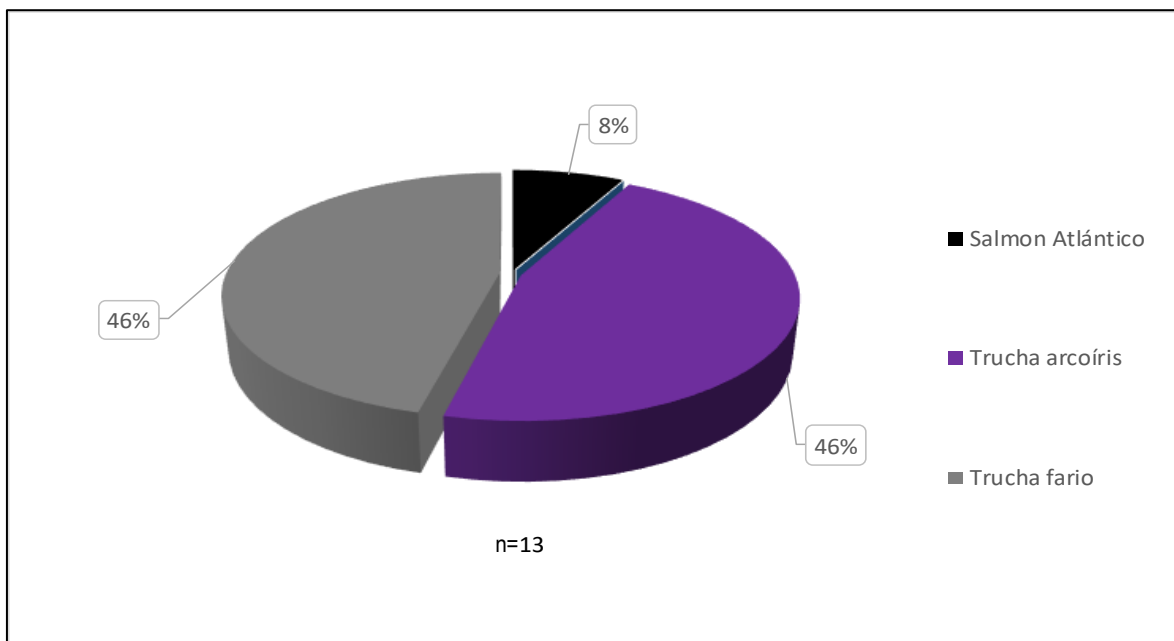


Figura 85. Distribuci3n de muestras positivas a *F. psychrophilum* por especie capturada (n= 13).

Con respecto a la distribuci3n de especies positivas a *F. psychrophilum* por regi3n y zona geogr3fica (**Figura 86**), la Regi3n de Los Lagos fue la que present3 el mayor n3mero de muestras positivas (6), cuatro de las cuales se registraron en trucha arcoiris y dos en trucha fario capturados desde la zona del lago Yelcho. Por su parte, la Regi3n de Los R3os present3 tres muestras positivas al pat3geno, las que fueron detectadas en la especie trucha arcoiris (1) y trucha fario (2), provenientes del lago Panguipulli y lago Riñihue; respectivamente. Por su parte, la Regi3n de Ays3n del General Carlos Ib3ñez del Campo present3 tambi3n tres muestras positivas, dos de las cuales se presentaron en la especie trucha fario y una en salm3n del Atl3ntico, capturados en la zona del lago Riesco. Finalmente, en la Regi3n de Magallanes y de la Ant3rtica Chilena, se present3 solo una muestra positiva al pat3geno, obtenida desde un ejemplar de la especie trucha arcoiris capturada en la zona del lago Sofia.

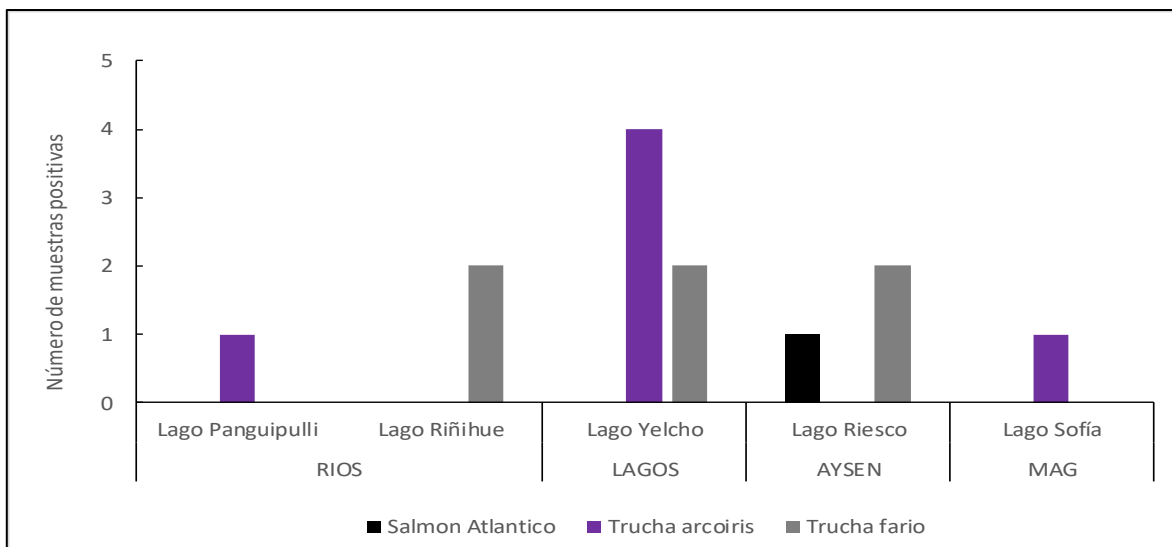


Figura 86. Distribución de especies positivas a *F. psychrophilum* por zona en las regiones de La Araucanía, Los Ríos, Los Lagos, Aysén del General Carlos Ibáñez del campo y de Magallanes y de la Antártica Chilena.

En la **Tabla 22** se puede observar la distribución de muestras positivas a IPNv por especie mediante para el total de zonas monitoreadas. Únicamente se presentaron dos muestras positivas, que representó un 0,05% (2/4190) del total general de muestras analizadas, encontrándose sólo en la especie trucha fario con un 0,46% (2/439), una obtenida de la zona de Fiordo Aysén (Región de Aysén del General Carlos Ibáñez del Campo) y la otra desde el lago Yelcho (Región de Los Lagos).

Tabla 22.
Ocurrencia de positividad a IPNv por especie capturada.

Especie	N° muestras analizadas	Positivas a IPNv	Negativas a IPNv	Ocurrencia de IPNv
Pejerrey agua dulce	676	0	676	0%
Pejerrey de mar	475	0	475	0%
Peladilla	13	0	13	0%
Perca trucha	369	0	369	0%
Robalo	1225	0	1225	0%
Salmon Atlántico	9	0	9	0%
Salmon coho	319	0	319	0%
Trucha arcoiris	665	0	665	0%
Trucha fario	439	2	437	0,46%
TOTAL	4190	2	4188	0,05%



En la **Tabla 23**, se puede observar la distribución de muestras positivas a *R. salmoninarum* por especie mediante para el total de zonas monitoreadas. Únicamente se presentaron tres muestras positivas al patógeno, lo que representó un 0,94% (3/4190) del total general de muestras analizadas. Las muestras positivas fueron detectadas en ejemplares de la especie salmón coho, con una ocurrencia 0,94% (3/319), que fueron obtenidos desde la zona de Punta Arenas, en la Región de Magallanes y de La Antártica Chilena.

Tabla 23.
Ocurrencia de positividad a *R. salmoninarum* por especie capturada.

Especie	N° muestras analizadas	Positivas a <i>R. salmoninarum</i>	Negativas a <i>R. salmoninarum</i>	Ocurrencia de IPNv
Pejerrey agua dulce	676	0	676	0%
Pejerrey de mar	475	0	475	0%
Peladilla	13	0	13	0%
Perca trucha	369	0	369	0%
Robalo	1225	0	1225	0%
Salmon Atlántico	9	0	9	0%
Salmon coho	319	3	316	0,94%
Trucha arcoíris	665	0	665	0%
Trucha fario	439	0	439	0%
TOTAL	4190	3	4187	0,07%

En cuanto a la clasificación por especie de salmónido capturados (**Figura 87**), en la categoría de escapados se encontraron las especies trucha arcoíris (546 individuos), salmón coho (256 individuos) y salmón del Atlántico (9 individuos). Para la categoría asilvestrados, esta estuvo representado por trucha arcoíris (119 individuos) y salmón coho (63 individuos). Finalmente, para la categoría de Silvestres, esta se encontró representada únicamente por ejemplares de trucha fario (440 individuos).

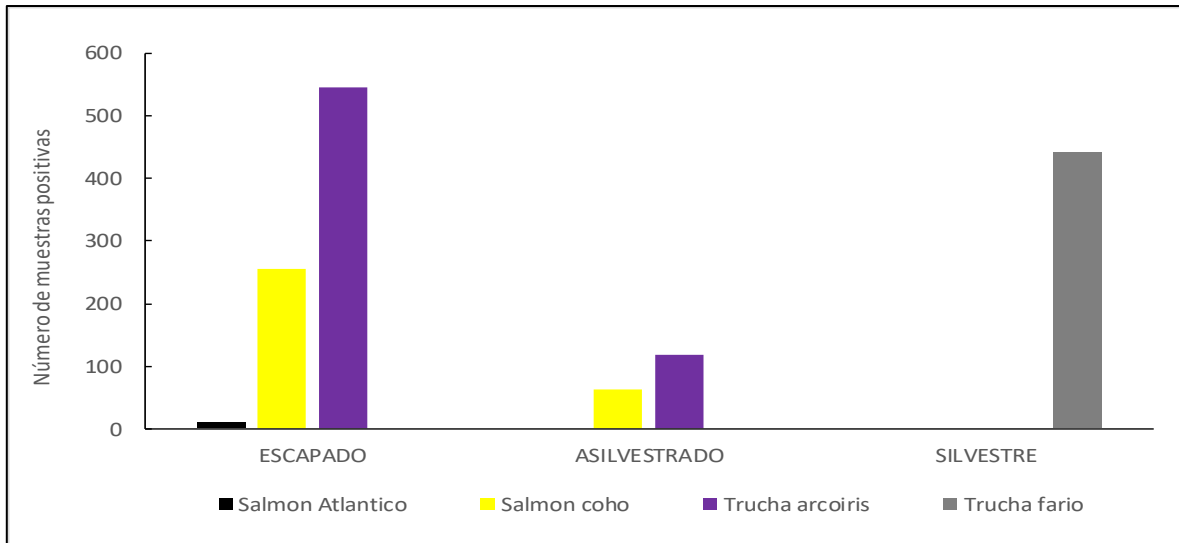


Figura 87. Distribución según especie salmónida capturada.

En la **Tabla 24**, se presentan los salmónidos positivos a los patógenos en monitoreo, por zona de captura y su respectiva clasificación. Mediante análisis anatomopatológico y de hallazgos realizados a la necropsia, se logró determinar si estos correspondían a ejemplares escapados desde centros de cultivo de salmónidos, asilvestrados y/o silvestres. El patógeno que presentó mayor número de casos fue PRV con 15 individuos, las zonas más afectadas fueron lago Rupanco (6), Fiordo Aysén (8) y Punta Arenas (1). Las especies positivas correspondieron a trucha arcoiris (5), salmon coho (9) y salmon Atlántico (1). Para el caso de *F. psychrophilum*, se encontraron 13 salmónidos positivos al patógeno. Las especies positivas correspondieron a trucha arcoiris (6), trucha fario (6) y salmon Atlántico (1). La zona con mayor número de casos fue lago Yelcho (6), Lago Riesgo (3), lago Riñihue (2), y finalmente lago Panguipulli y lago Sofía, cada uno con un caso positivo. Respecto de *P. salmonis*, en la presente etapa se presentaron únicamente 4 casos positivos, dos en la zona de Fiordo Aysén, uno en Macrozona 8 y otro en Lago Natri. Los casos positivos se presentaron en las especies trucha fario (2), trucha arcoiris (1) y salmon coho (1). Para el patógeno *R. salmoninarum*, el 100% (3) de los casos se presentaron en ejemplares de salmón coho capturados en la zona de Punta Arenas. Finalmente, para IPNV, se presentaron solo dos casos en ejemplares de la especie trucha fario, capturados en las zonas de Lago Yelcho y Fiordo Aysén.



Tabla 24.
Muestras positivas en especies salmónidas, según patógeno y clasificación.

Zona	Especie	Nº de muestra	Patógeno	Clasificación Salmónidos
Lago Rupanco	Salmon coho	99	PRV	ESCAPADO
Lago Rupanco	Trucha arcoíris	81	PRV	ESCAPADO
Lago Rupanco	Trucha arcoíris	85	PRV	ESCAPADO
Lago Rupanco	Trucha arcoíris	107	PRV	ESCAPADO
Lago Rupanco	Trucha arcoíris	110	PRV	ESCAPADO
Lago Rupanco	Trucha arcoíris	128	PRV	ESCAPADO
Fiordo Aysén	Salmon del Atlántico	23	PRV	ESCAPADO
Fiordo Aysén	Salmon coho	92	PRV	ESCAPADO
Fiordo Aysén	Salmon coho	108	PRV	ESCAPADO
Fiordo Aysén	Salmon coho	118	PRV	ESCAPADO
Fiordo Aysén	Salmon coho	121	PRV	ESCAPADO
Fiordo Aysén	Salmon coho	126	PRV	ESCAPADO
Fiordo Aysén	Salmon coho	152	PRV	ESCAPADO
Fiordo Aysén	Salmon coho	165	PRV	ESCAPADO
Punta Arenas	Salmon coho	16	PRV	ESCAPADO
Lago Panguipulli	Trucha arcoíris	19	<i>F. psychrophilum</i>	ESCAPADO
Lago Riñihue	Trucha fario	102	<i>F. psychrophilum</i>	SILVESTRE
Lago Riñihue	Trucha fario	112	<i>F. psychrophilum</i>	SILVESTRE
Lago Yelcho	Trucha arcoíris	11	<i>F. psychrophilum</i>	ESCAPADO
Lago Yelcho	Trucha arcoíris	43	<i>F. psychrophilum</i>	ESCAPADO
Lago Yelcho	Trucha arcoíris	8	<i>F. psychrophilum</i>	ASILVESTRADO
Lago Yelcho	Trucha arcoíris	14	<i>F. psychrophilum</i>	ASILVESTRADO
Lago Yelcho	Trucha fario	60	<i>F. psychrophilum</i>	SILVESTRE
Lago Yelcho	Trucha fario	137	<i>F. psychrophilum</i>	SILVESTRE
Lago Riesco	Salmón del Atlántico	151	<i>F. psychrophilum</i>	ESCAPADO
Lago Riesco	Trucha fario	39	<i>F. psychrophilum</i>	SILVESTRE
Lago Riesco	Trucha fario	156	<i>F. psychrophilum</i>	SILVESTRE
Lago Sofía	Trucha arcoíris	111	<i>F. psychrophilum</i>	ASILVESTRADO
Fiordo Aysén	Salmon coho	152	<i>P. salmonis</i>	ESCAPADO
Fiordo Aysén	Trucha fario	1	<i>P. salmonis</i>	SILVESTRE
Macrozona 8	Trucha arcoíris	40	<i>P. salmonis</i>	ESCAPADO
Lago Natri	Trucha fario	3	<i>P. salmonis</i>	SILVESTRE
Punta Arenas	Salmon coho	19	<i>R. salmoninarum</i>	ESCAPADO
Punta Arenas	Salmon coho	21	<i>R. salmoninarum</i>	ESCAPADO
Punta Arenas	Salmon coho	23	<i>R. salmoninarum</i>	ESCAPADO
Lago Yelcho	Trucha fario	85	IPNv	SILVESTRE
Fiordo Aysén	Trucha fario	45	IPNv	SILVESTRE



En la **Figura 88**, se puede apreciar que del total de especies salm3nidas positivas a alguno de los agentes pat3genos acusantes de enfermedades de alto riesgo, (n=37), el 65% correspondi3 a escapados (24/37), el 27% fueron salm3nidos silvestres (10/37) y el 8% restante a ejemplares asilvestrados (3/37).

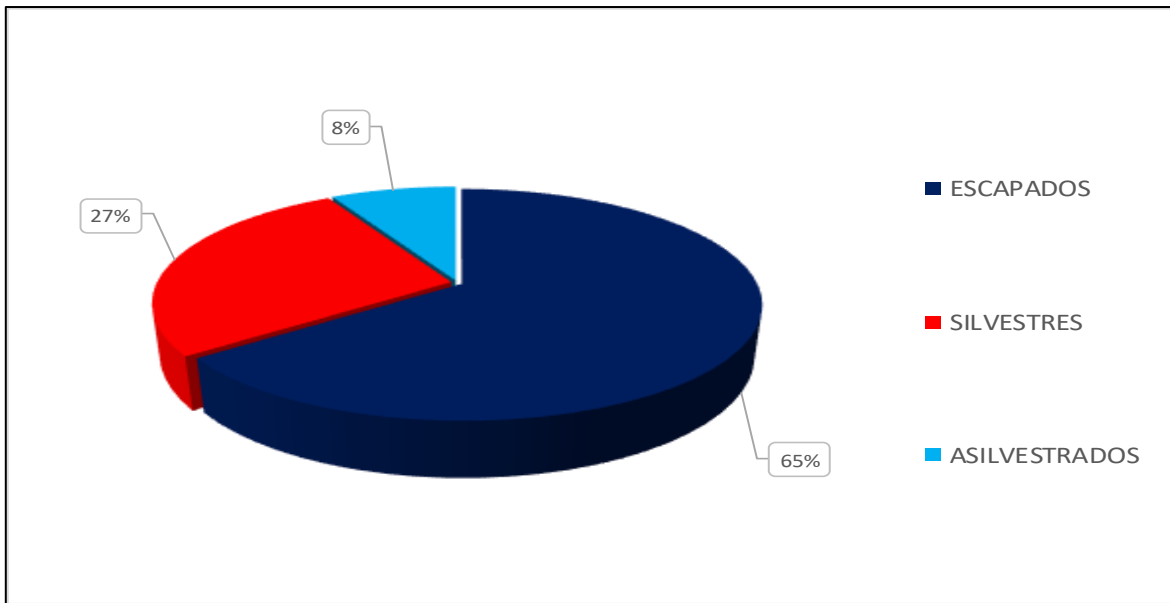


Figura 88. Distribuci3n de las especies salm3nidas, seg3n su clasificaci3n en escapadas, asilvestradas y silvestres.



Objetivo 2: Relacionar epidemiológicamente la presentación clínica de una EAR con el estatus sanitario de las especies silvestres muestreadas.

5.6 Análisis epidemiológico de brotes de una Enfermedad de Alto Riesgo (EAR) en peces de cultivo con el estatus sanitario de las especies silvestres muestreadas.

Se realizó el análisis de la información, específicamente para el patógeno *Piscirickettsia salmonis*, debido a la importancia sanitaria que representa en la salmonicultura chilena actualmente. Además, teniendo en cuenta que es la principal causa de mortalidad por agentes infecciosos y responsable del mayor uso de antimicrobianos. A partir de estos antecedentes, se vinculó la información de la mortalidad mensual específica por *P. salmonis* a nivel de barrio, con la información obtenida del estado sanitario de las especies silvestres y ferales.

Como primera aproximación, se analizó la información del porcentaje de mortalidad mensual por *Piscirickettsia salmonis* en los barrios (Agrupación de Concesiones de la Salmonicultura) de las macrozonas sanitarias de las regiones de Los Lagos y Aysén en los últimos 10 meses (desde octubre 2018 a julio 2019). Con ello, se estimó una tasa de mortalidad mensual específica a *P. salmonis* y se obtuvo un promedio por cada barrio (**Figura 89**). Además, se incluyó la Región de Magallanes, en la cual, la información obtenida desde la industria no presentó mortalidad asociada al patógeno *P. salmonis* durante este período (no se incluyó en la gráfica).

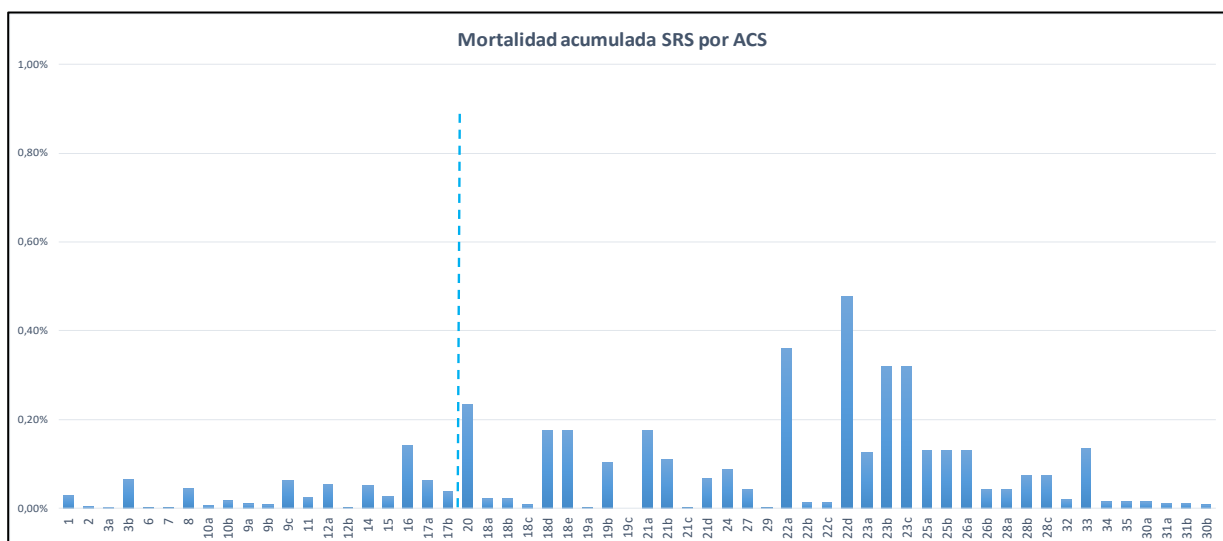


Figura 89. Gráfico de tasa de mortalidad específica por *P. salmonis* por cada barrio (ACS).

En los resultados se incorporó la información de 20 ACS correspondientes a la Región de Los Lagos y 37 ACS de la Región de Aysén del General Carlos Ibáñez del Campo. La media general de las 57 ACS evaluadas fue de 0,08% de mortalidad específica por *P. salmonis*. Por consiguiente, la media para la Región de Los Lagos fue de 0,03% y un 0,10% para la Región de Aysén del General Carlos

Ibáñez del Campo. Los barrios (ACS) que presentaron la tasa de mortalidad más alta fueron el 16 (0,14%), y los barrios 3b, 9c y 17a, cada uno de los cuales presentó un 0,06% de mortalidad, correspondientes a la Región de Los Lagos y los barrios 22d (0,48%), 22a (0,36%), 23b y 23c, cada uno con un 0,32%, y el barrio 20 (0,23%) de la Región de Aysén del General Carlos Ibáñez del campo. La tasa de mortalidad por *P. salmonis* por cada barrio, se asignó espacialmente en un mapa coropleto (Figura 90 y 91).

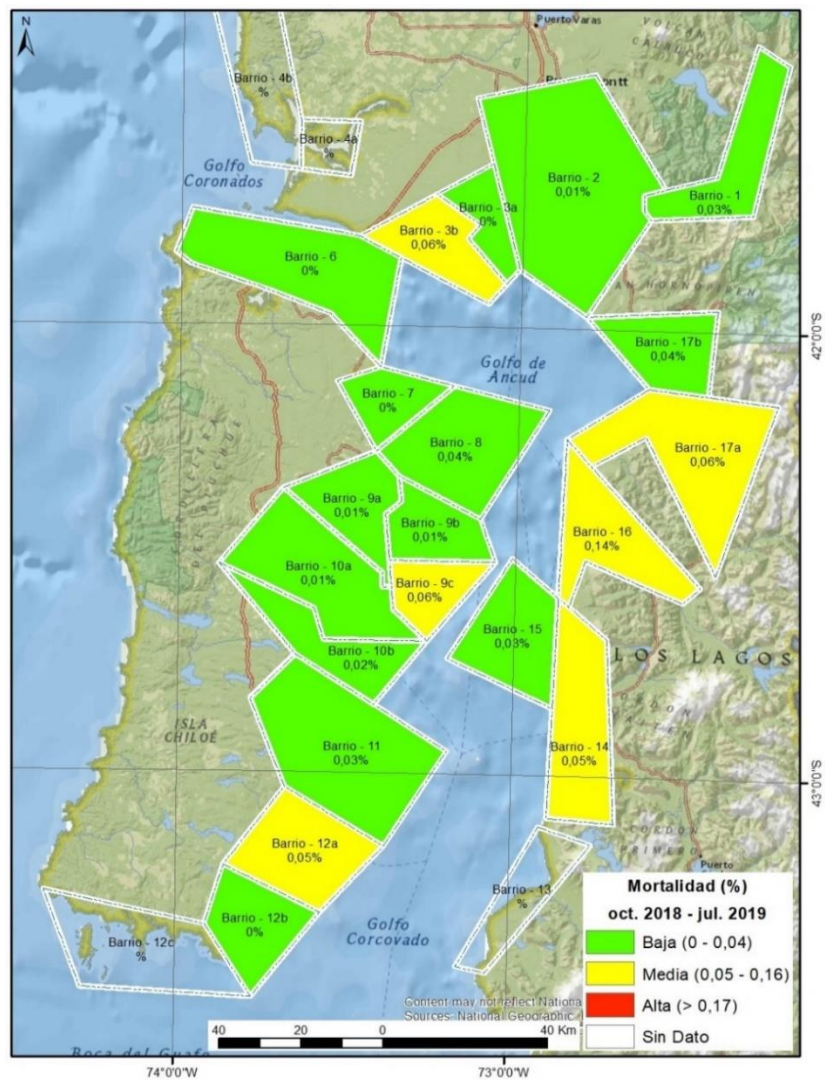


Figura 90. Mapa coropleto de los valores estimados por el promedio anual de la tasa de mortalidad mensual por barrio en la Región de Los Lagos.

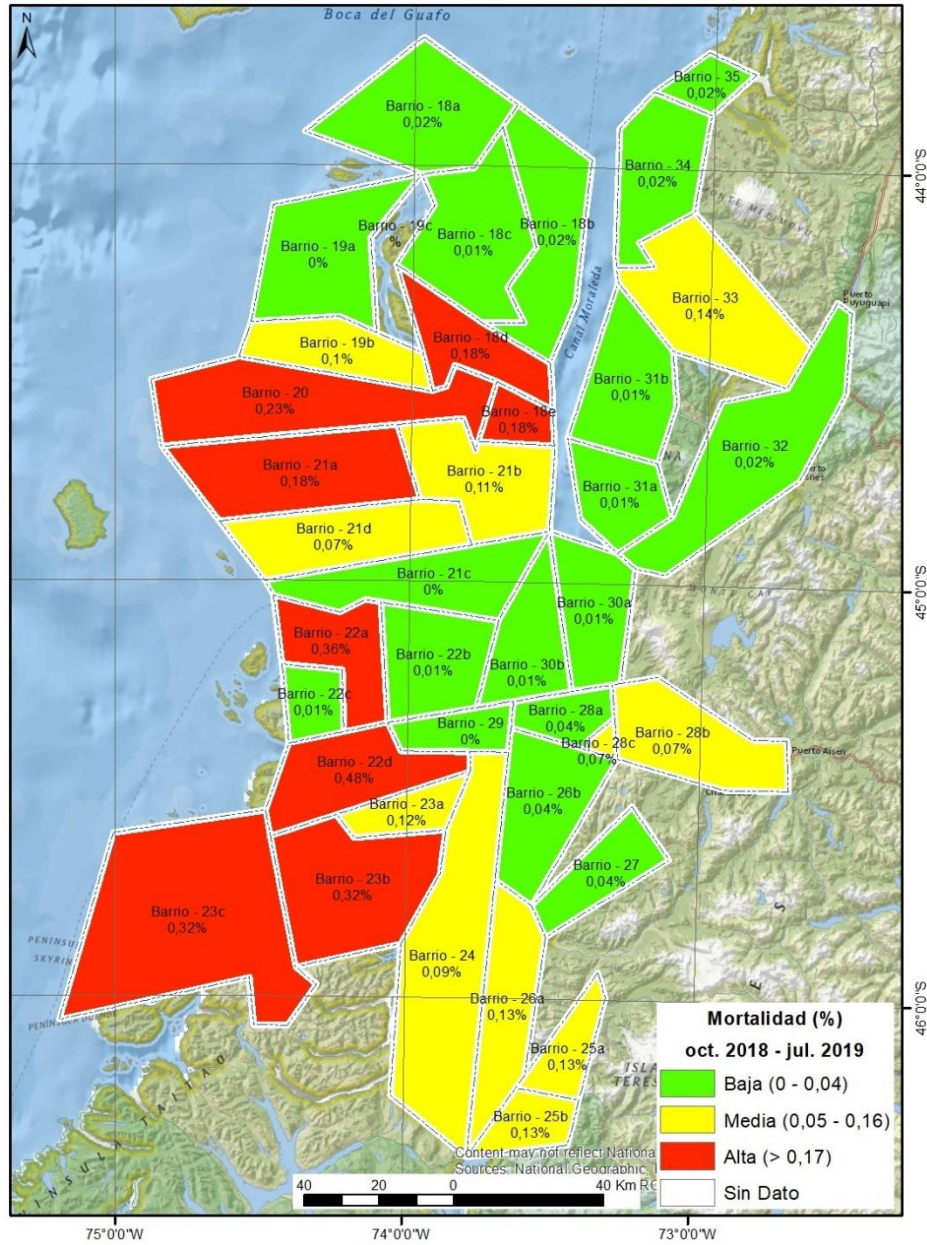


Figura 91. Mapa coropleto de los valores estimados por el promedio anual de la tasa de mortalidad mensual por barrio en la Región de Aysén del General Carlos Ibañez del Campo.



Con respecto al análisis de la información obtenida desde el programa de vigilancia de especies silvestres y ferales, se realizó una estimación de la proporción de peces positivos a *P. salmonis* respecto al total de peces capturados para cada barrio (ACS) de las regiones de Los Lagos, Aysén y Magallanes, durante el período 2018-2019.

La información analizada del programa de vigilancia consideró: Georreferencia de los puntos de pesca, número de peces capturados por coordenada, fecha de captura, especies capturadas, características morfológicas, muestras de órganos y análisis de PCR para las EAR en estudio (*P. salmonis*). Los datos fueron analizados mediante el programa Microsoft Excel 2017, con el propósito de estimar el porcentaje de ocurrencia de *P. salmonis* para cada barrio (ACS) y que finalmente, fueron representados espacialmente con el programa ArcGIS v10.6. Además, Las georreferencias de cada punto de pesca fueron analizadas espacialmente con el programa ArcGIS v10.6. con los porcentajes de la ocurrencia de *P. salmonis* en cada barrio para elaborar un mapa coropleto.

Del total 1678 peces silvestres y ferales analizados en las regiones de Los Lagos, Aysén y Magallanes, 33 muestras resultaron positivas a *Piscirickettsia salmonis*, representando un 1,96% del total de los individuos, durante el período 2018-2019.

Respecto de la distribución por región de las muestras positivas a *P. salmonis* en los barrios (ACS), el 55% correspondió a muestras positivas capturadas en la Región de Aysén del General Carlos Ibáñez del Campo, el 39% a la Región de Los Lagos y un 6% a la Región de Magallanes y de La Antártica Chilena (**Figura 92**).

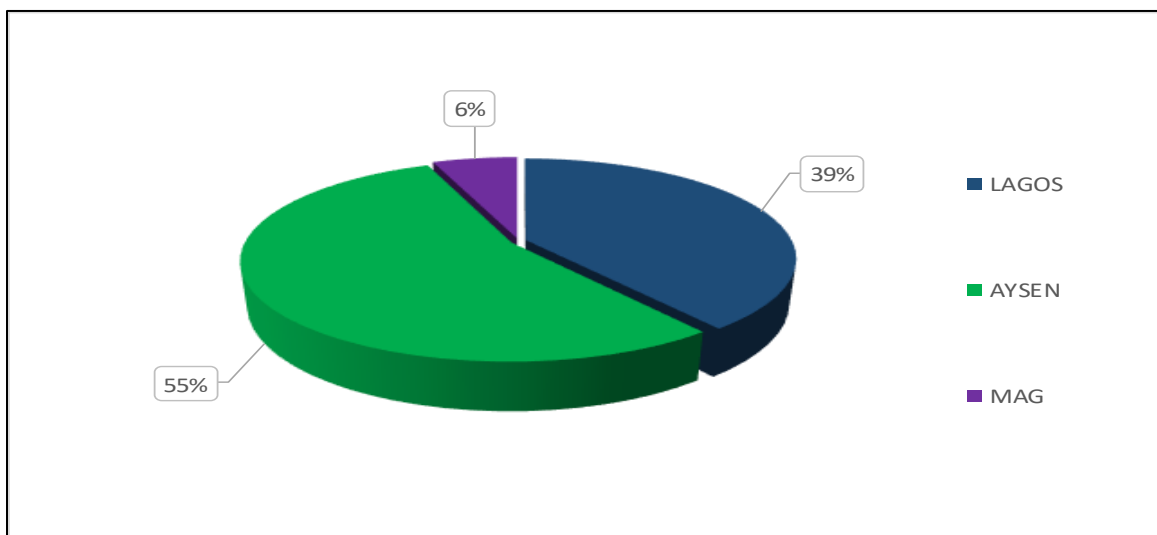


Figura 92. Distribución de especies positivas capturadas por región de los barrios (ACS).

La distribución por especie de las muestras positivas a *P. salmonis* en los barrios se dividió en róbalo con 64% (21), pejerrey de mar con 27% (9), seguido por las especies salmón coho, trucha arcoiris y trucha fario, cada una de las cuales presentó un 3% (1) de las muestras positivas en los barrios analizados. No presentaron muestras positivas en la especie salmón del Atlántico (**Figura 93**).

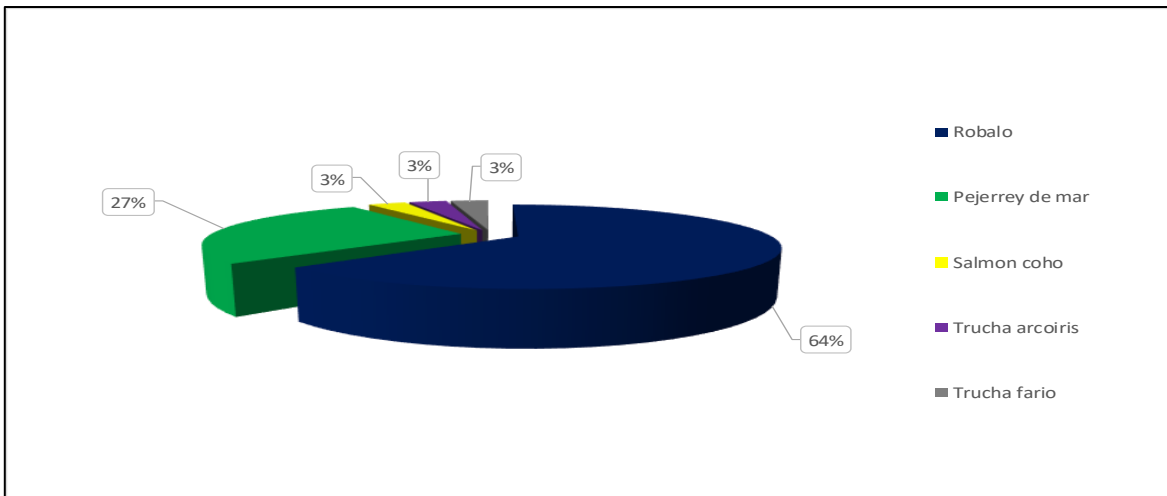


Figura 93. Distribución de muestras positivas por especie capturada en los barrios (ACS).

La distribución espacial de las muestras positivas en los barrios se dividió en barrio 28b (AYSEN) con un 28% del total, seguido por el barrio 32 (AYSEN) con 18%, barrios 2, 6 y 17b (LAGOS) con un 9% cada uno, barrios 10a, 12a (LAGOS) y 21d (AYSEN) con un 6% de muestras positivas cada uno de ellos. Finalmente, los barrios que tuvieron un porcentaje menor al 5%, fueron el 27 (AYSEN) y el 44 y 46 (MAG), con un 3% de muestras positivas cada uno (**Figura 94**).

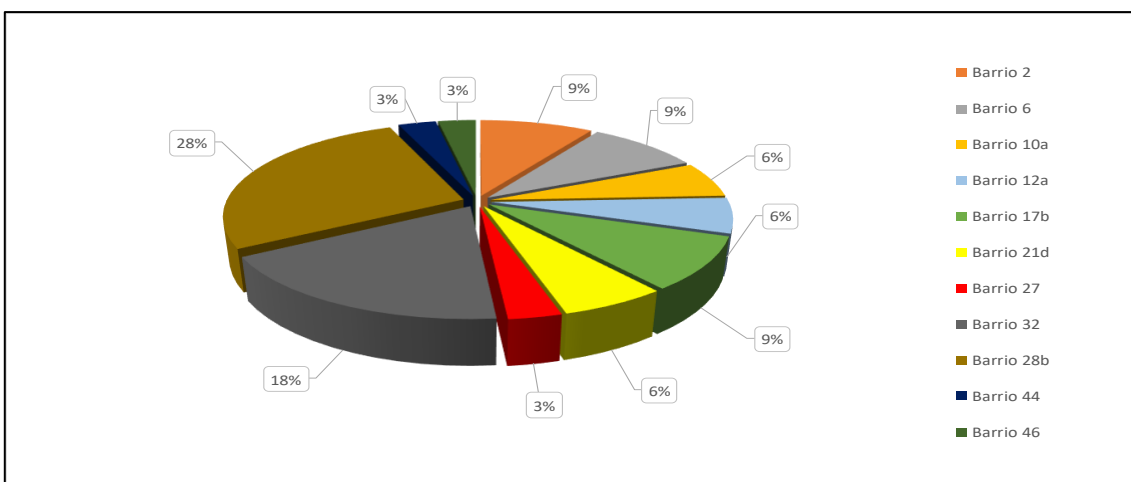


Figura 94. Distribución de muestras positivas por especie capturada en los barrios (ACS).



En la siguiente tabla (**Tabla 25**), se describe la distribución porcentual de las muestras positivas a *P. salmonis* por cada barrio muestreado en las pescas de investigación, realizadas durante el período 2018-2019. Las zonas con mayor prevalencia fueron el barrio 28b ubicado en el Fiordo Aysén, en la Región de Aysén del General Carlos Ibañez del Campo, con un 5,17% de muestras positivas, seguido por el barrio 2 ubicado la Macrozona 1 (LAGOS) con un 4,41%, y el barrio 32 ubicado en la Macrozona 8 (AYSEN) con un 3,75% de sus muestras. Además, se encontraron muestras positivas en la Región de Magallanes y de la Antártica Chilena, donde los barrios 46 y 44 ubicados en Puerto Natales alcanzaron una prevalencia del 2,33% y 1,96%; respectivamente. En esta etapa, no se registraron muestras positivas para la zona de Punta Arenas, en la Región de Magallanes y de la Antártica Chilena.

Tabla 25.

Distribución de muestras positivas por barrio muestreado durante el período 2018-2019.

Macrozona	Barrio	Positivos	N total	Prevalencia Barrio
M1	Barrio 1	0	90	0,00%
	Barrio 2	3	68	4,41%
M2	Barrio 6	3	160	1,88%
M3	Barrio 10a	2	165	1,21%
M4	Barrio 12a	2	160	1,25%
M5	Barrio 17b	3	127	2,36%
M6	Barrio 21b	0	23	0%
	Barrio 21d	2	137	1,46%
M7	Barrio 27	1	160	0,63%
M8	Barrio 32	6	160	3,75%
FA	Barrio 28b	9	174	5,17%
PN	Barrio 44	1	51	1,96%
	Barrio 46	1	43	2,33%
PA	Barrio 54a	0	21	0%
	Barrio 54b	0	49	0%
	Barrio 55	0	20	0%
	Barrio 56	0	70	0%

Una vez estimadas las prevalencias de los barrios de las distintas regiones, se asignaron espacialmente en un mapa coropleto (Figura 95 a 97).

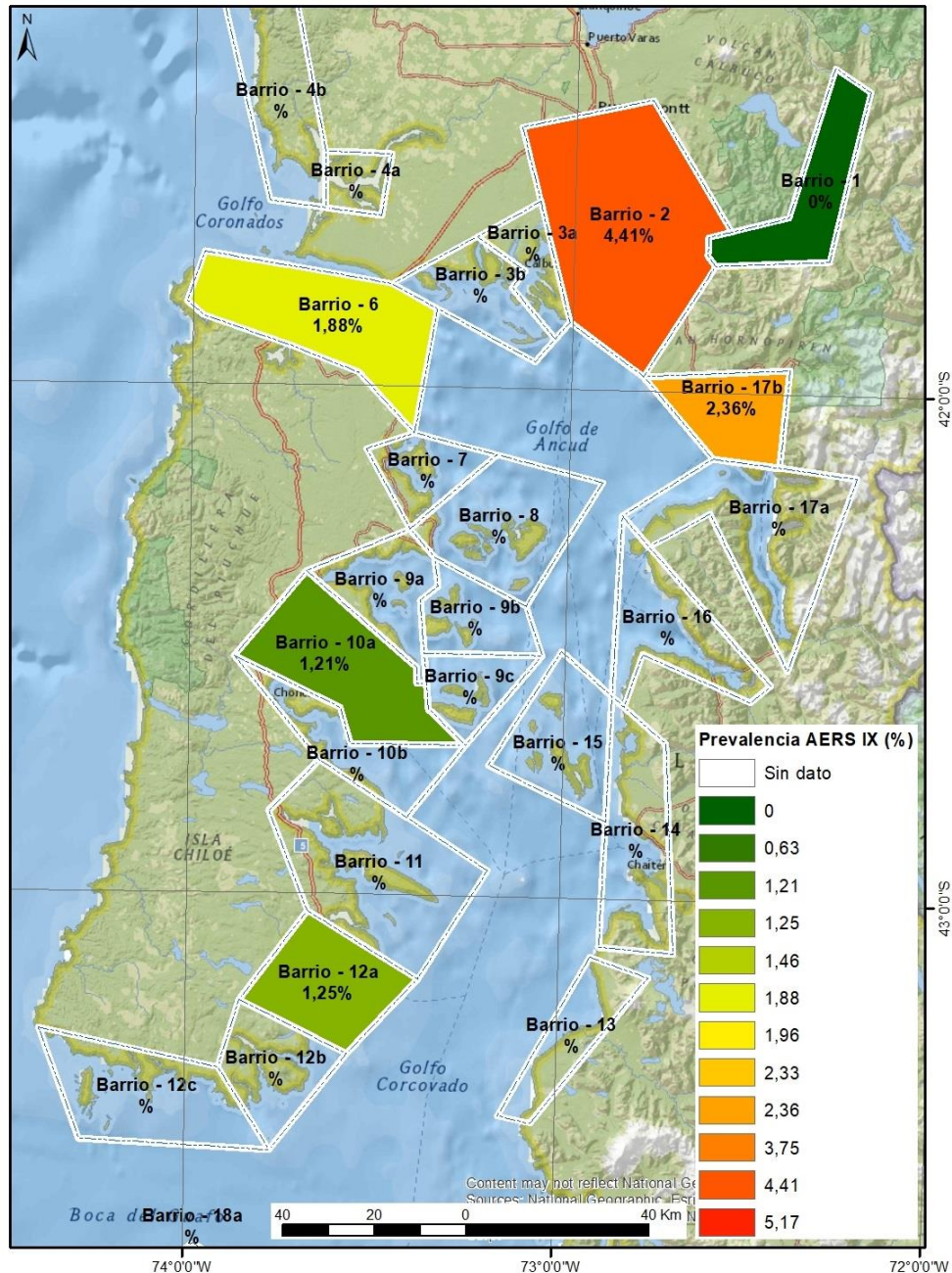


Figura 95. Mapa coropleto de la ocurrencia de *P. salmonis* en las especies silvestres y ferales capturadas entre 2018-2019, en la Regi3n de Los Lagos.

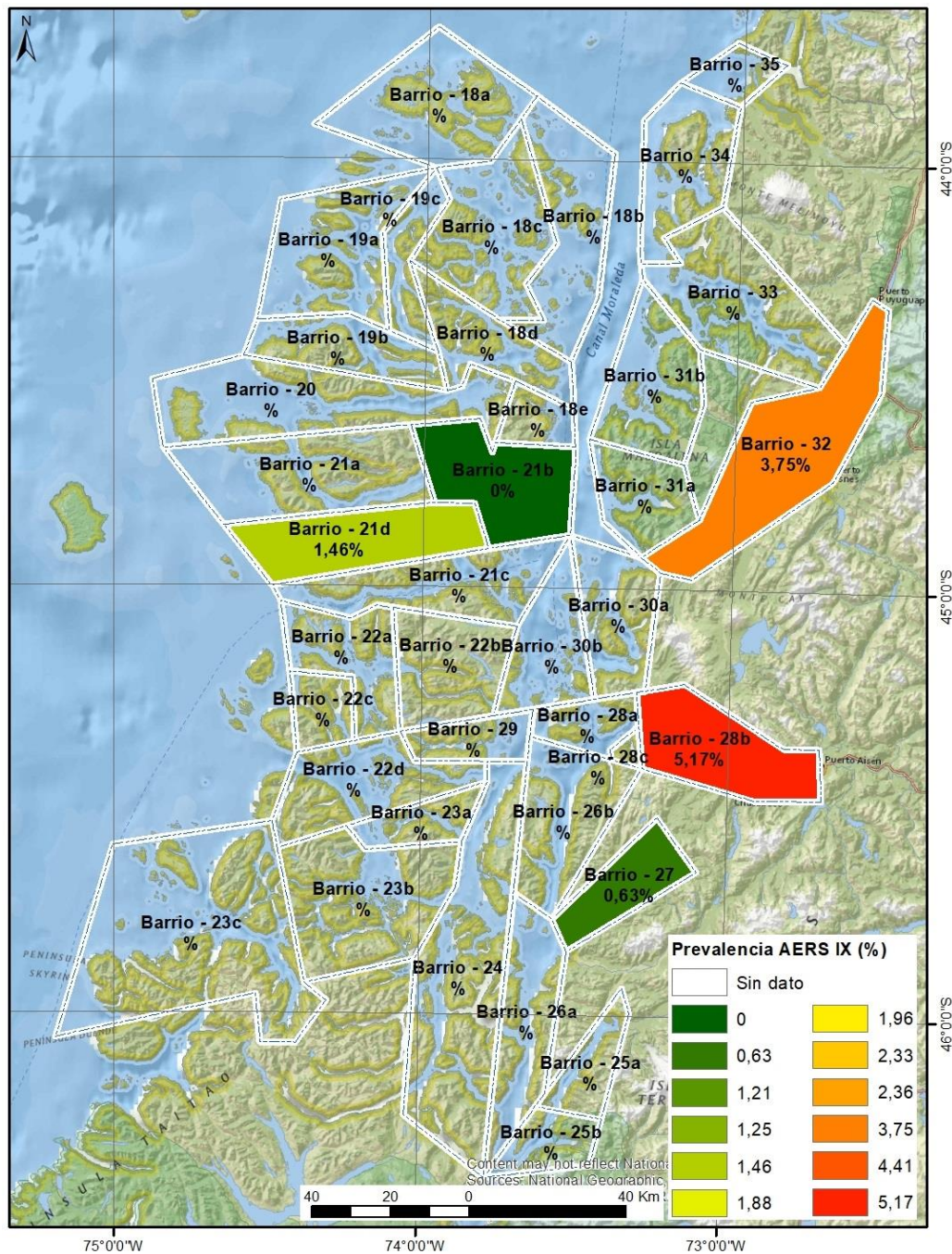


Figura 96. Mapa coropleto de la ocurrencia de *P. salmonis* en las especies silvestres y ferales capturadas entre 2018-2019, en la Regi3n de Ays3n del General Carlos Ib3ñez del Campo.

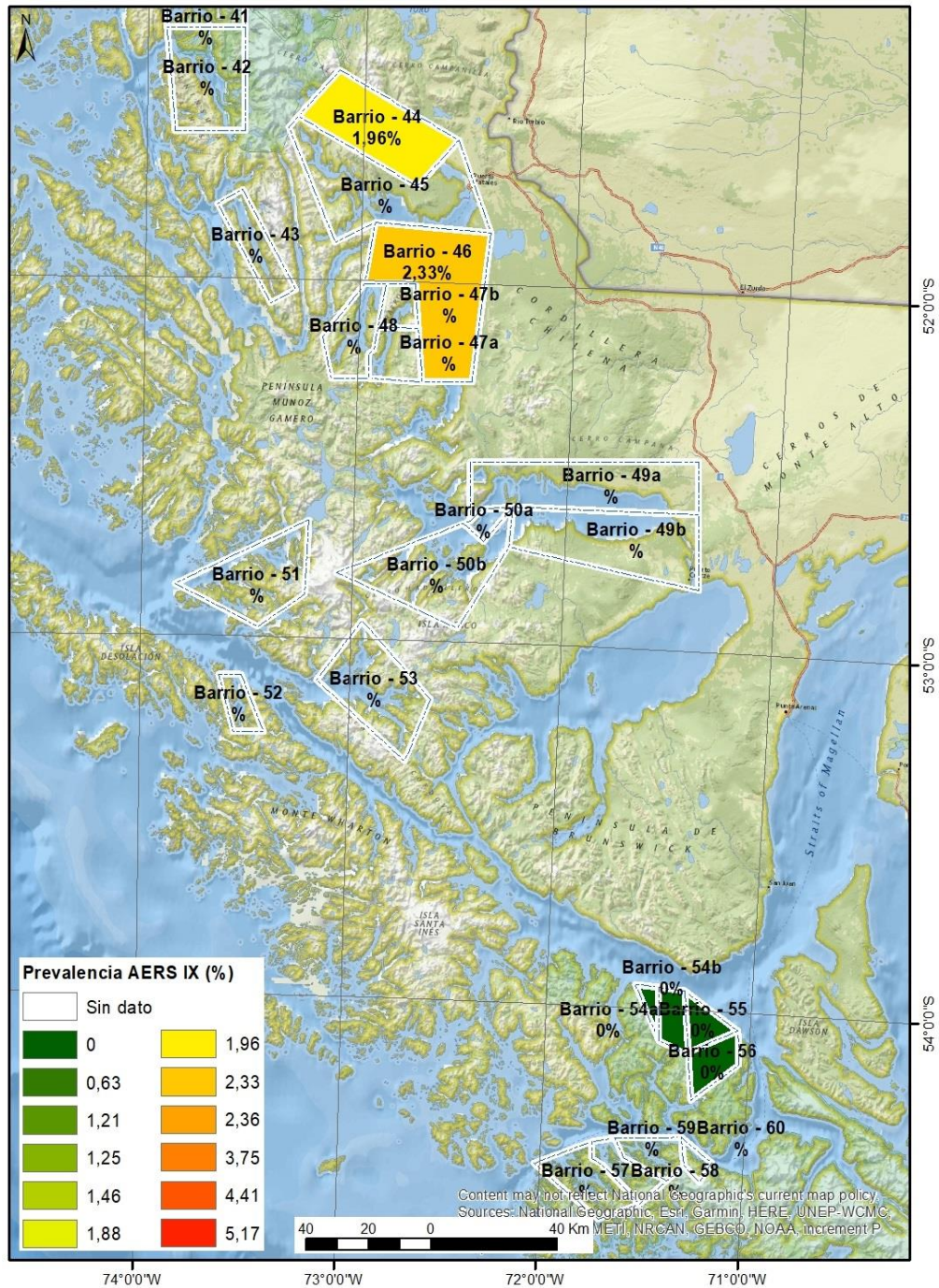


Figura 97. Mapa coropleto de la ocurrencia de *P. salmonis* en las especies silvestres y ferales capturadas entre 2018-2019, en la Región de Magallanes y de la Antártica Chilena.



Con el objetivo de detectar una relaci3n entre los resultados obtenidos en los barrios muestreados en el programa de monitoreo de especies silvestres 2018-2019 y la informaci3n de la tasa mortalidad por *P. salmonis* a nivel de barrio (**Tabla 26**), se realiz3 un an3lisis de correlaci3n no param3trica s3lo entre los barrios muestreados durante el programa de monitoreo.

Tabla 26.

Vinculaci3n de bases de datos de la proporci3n de muestras positivas en los barrios muestreados en el programa y la informaci3n de la tasa de mortalidad por *P. salmonis* a nivel de barrio.

Zona	Barrio	Silvestres Positivos (%)	Tasa mortalidad por <i>P. salmonis</i> a nivel de barrio
M1	1	0,00%	0,03%
M1	2	4,41%	0,01%
M2	6	1,88%	0,00%
M3	10a	1,21%	0,01%
M4	12A	1,25%	0,05%
M5	17B	2,36%	0,04%
M6	21B	0,00%	0,11%
M6	21d	1,46%	0,07%
M7	27	0,63%	0,04%
M8	32	3,75%	0,02%
FA	28B	5,17%	0,07%
PN	44	1,96%	0,00%
PN	46	2,33%	0,00%
PA	54a	0,00%	0,00%
PA	54b	0,00%	0,00%
PA	55	0,00%	0,00%
PA	56	0,00%	0,00%

Estadísticos descriptivos y an3lisis de correlaci3n

Se estimaron los estadísticos descriptivos (**Tabla 27**) desde ambas bases de datos, las que se presentan en las siguientes tablas.

Tabla 27.

Estadísticos descriptivos

Variables en correlaci3n	N	Media	Desviaci3n est3ndar
Prevalencia en especies silvestres	17	0,015532	0,016426
Tasa mortalidad barrios	17	0,000263	0,000331

El an3lisis de correlaci3n entre las variables arroj3 como resultado un valor de correlaci3n de Spearman de $Rho = 0,234$, denotando una relaci3n de tipo positiva entre las variables. Sin embargo, los resultados tambi3n indican que esta relaci3n no es significativa ($p > 0.05$), por lo que se concluye que no existe relaci3n entre las prevalencias observadas en peces silvestres y la tasa de mortalidad ocurrida en los barrios, ambas producidas por *P. salmonis*. Por otra parte, se realiz3 un an3lisis de regresi3n lineal generalizada, la cual sugiere que la tasa de mortalidad producida por *P. salmonis* a nivel de los barrios, no tiene influencia o impacto sobre los resultados positivos a este pat3geno en los peces silvestres (estadístico de Wald = 0,08; $p = 0,77$). Este an3lisis confirma los resultados de la correlaci3n (**Figura 98**).

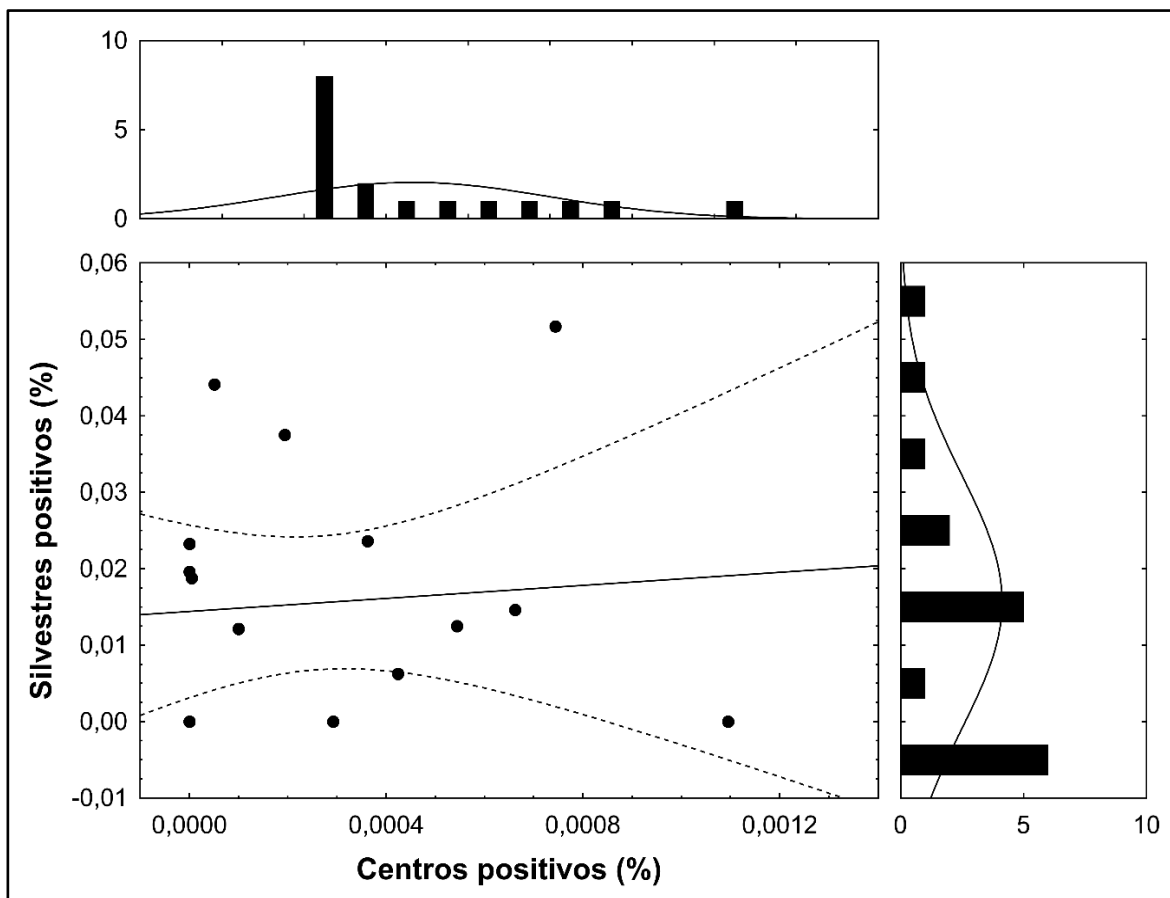


Figura 98. Gr3fico de dispersi3n de datos y su lnea de ajuste y correlaci3n.



Debido a que la zona de Punta Arenas solo present3 valores de 0%, se procedi3 a extraerla del an3lisis para identificar si la relaci3n entre las variables estaba influenciada por estos datos. El an3lisis de correlaci3n entre las variables arroj3 como resultado un valor de correlaci3n de Spearman de $Rho = -0,26$, denotando una relaci3n de tipo negativa entre las variables. Sin embargo, los resultados tambi3n indican que esta relaci3n no es significativa ($p > 0,05$), por lo que se concluye que no existe relaci3n entre las prevalencias observadas, a pesar de haber extraido la zona de Punta Arenas. Del an3lisis de regi3n lineal generalizada, se sugiere que la tasa de mortalidad producida por *P. salmonis* a nivel de los barrios, no tiene influencia o impacto sobre los resultados positivos a este pat3geno en los peces silvestres (estadístico de Wald= 0,48; $p = 0,49$), aunque se extraiga la zona de Punta Arenas. Este an3lisis confirma los resultados de la correlaci3n (**Figura 99**).

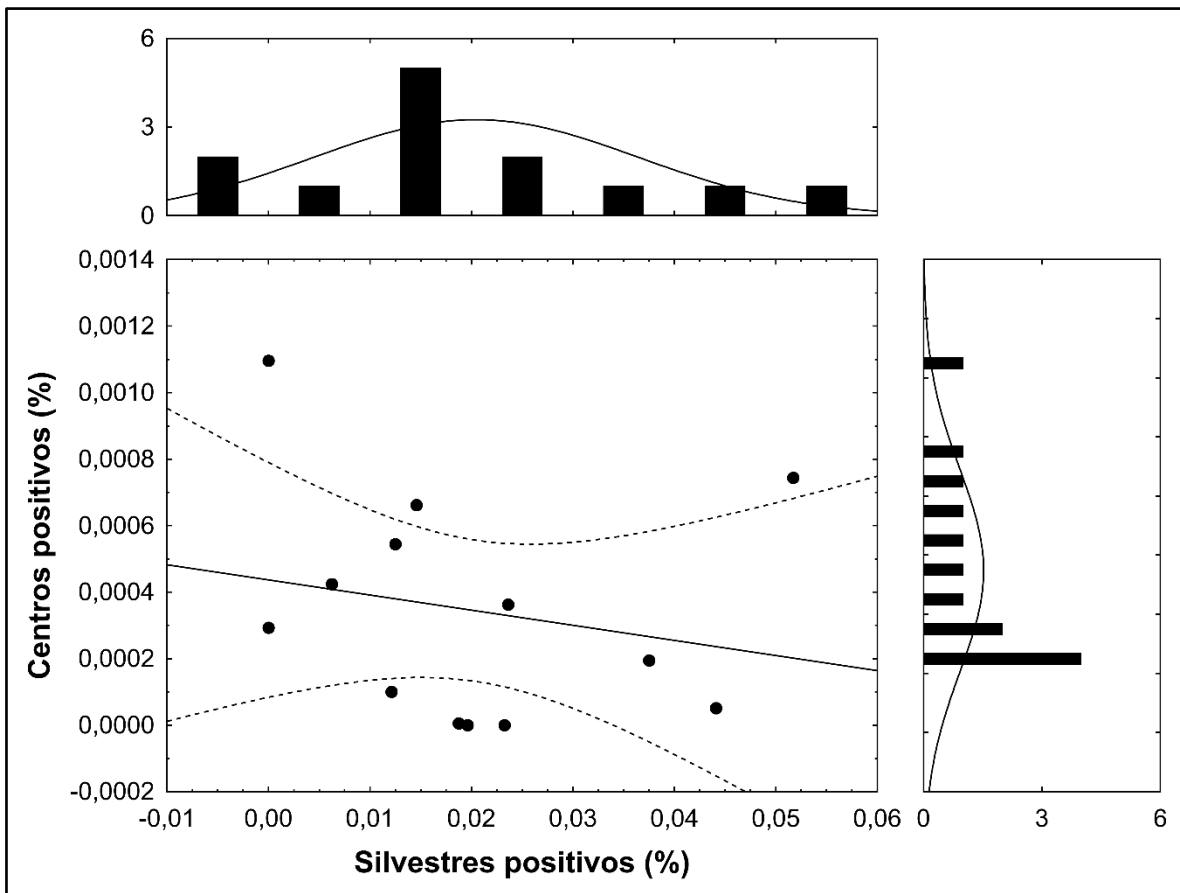


Figura 99. Gr3fico de dispersi3n de datos y su lnea de ajuste y correlaci3n, sin incluir la zona de Punta Arenas.



La situación planteada con anterioridad se asemeja al escenario presentado en el análisis de la información de los estudios precedentes, en los cuales los resultados indicaron valores de correlación de -0,23 en el 2015, -0,198 en el 2016, y -0,307 en el 2017, siendo estos no significativos en todos los casos. Por lo tanto, estos resultados sugieren que, al no existir un patrón claro en los barrios muestreados en los últimos cuatro programas de monitoreo, los resultados sugieren que no existe una relación clara entre las muestras halladas positivas en peces silvestres y la tasa de mortalidad en centros de cultivo (**Figura 98 y 99**). En el futuro, se espera explorar nuevas variables de predicción o asociación asociadas a nivel de barrio y/o centro de cultivo que pudieran tener alguna relación con la presencia de patógenos en especies de peces silvestres.

Objetivo 3: *Identificar y evaluar la capacidad de que especies no salmonídeas pueden actuar como reservorios de patógenos causantes de alguna enfermedad de alto riesgo sanitario.*

5.7 Estudio de desafío bidireccional por cohabitación con *P. salmonis* para las especies *Eleginops maclovinus* y *Salmo salar*.

Respecto al estudio de desafío por cohabitación de la especie *E. maclovinus* con ejemplares de salmón del Atlántico, se ingresaron al Centro de Maricultura Hueihue el número de ejemplares requeridos de ambas especies para la realización del estudio, con sus correspondientes chequeos sanitarios, los que fueron distribuidos en estanques de 1m³ para definir los grupos experimentales. De este modo, con fecha 28 de febrero del 2019, se dio inicio al ensayo experimental según lo programado, siguiendo lo estipulado en el protocolo del estudio. Se mantuvieron los ajustes metodológicos que fueron realizados y consensuados con la contraparte de la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura para el estudio ASIPA 2017-2018, y que se presentan en el Anexo 1 y 2 (Protocolo del estudio y de necropsia) del actual documento, solo con la salvedad que en el caso de los ejemplares de salmón de Atlántico se utilizaron individuos de 800 g de peso promedio aproximadamente, en relación a los 150 g de peso promedio estipulado por protocolo. Ello obedeció exclusivamente a la disponibilidad de peces con que se contó, no obstante, ello, tal determinación no afectó en absoluto la ejecución del estudio.

A continuación, se presentan registros fotográficos (**Figura 100**) de las instalaciones del Centro de Maricultura Hueihue del IFOP, donde se ejecutó el estudio.



Figura 100. Distribución de los estanques donde se llevó a cabo el ensayo experimental del estudio y disposición final de los ejemplares en los estanques.



5.7.1 Estudio de Cohabitación

Respecto del estudio de cohabitación, a partir del día 5 post inoculación (pi), comenzó a presentarse mortalidad en salares troyanos (Grupo 2), la que comenzó a incrementarse a partir del día 7 pi, hasta aproximarse el día 17 pi, alcanzando en 2 estanques el 100% de mortalidad, en tanto que en el tercer estanque el 90% de mortalidad. En relación a róbalos de este grupo, solo se registró mortalidad en 6 róbalos, sin presentarse hallazgos clínicos de la enfermedad de la forma como se manifiesta en salmónidos. En lo referente al grupo 1, de los tres estanques existentes uno se dejó fuera del estudio, ya que se generó una mortalidad no esperada por condiciones de manejo. No se registró mortalidad en róbalos troyanos desde el inicio del estudio hasta la finalización de este (día 49 pi). Por su parte, en lo que respecta a los salares cohabitantes, se presentó una mortalidad total de 3 y 6 individuos, respectivamente la que no evidenció a la necropsia sinología clínica a *P. salmonis*.

En los estanques del grupo control positivo (grupo 3), compuesto por salares troyanos y salares cohabitantes, se puede observar que los salares troyanos, registraron mortalidad a contar del día 4 pi, la que se incrementó hasta llegar al 100% de mortalidad al día 12 pi en uno de los estanques, y 83% de mortalidad al día 27 pi en su estanque replica. En lo que respecta a los salares cohabitantes del mismo grupo, no se registró mortalidad de los ejemplares en ambos estanques durante la totalidad del tiempo que duró el desafío.

Mortalidad de peces troyanos

Del total de peces troyanos sometidos a estudio, únicamente se obtuvo mortalidad en los ejemplares salmónidos tanto en aquellos pertenecientes al grupo 2 (salaros troyanos/róbalos cohabitantes) como en los pertenecientes al grupo control positivo (salaros troyanos/salaros cohabitantes), tal como se indicó en los párrafos anteriores. A la totalidad de ellos, se le realizó análisis anatomopatológico a fin de observar y registrar hallazgos de lesiones tanto externas como internas concordantes con la sinología clínica del cuadro de Piscirickettsiosis.

El análisis anatomopatológico y toma de muestras (bazo, riñón), fue realizado en la sala de necropsia del Laboratorio de IFOP en el Centro de Maricultura Hueihue, Chiloé. En la mayoría de los ejemplares de salares troyanos, se registraron hallazgos típicos de infección por *P. salmonis*, observándose internamente esplenomegalia, intestinos congestivos, hemorragias petequiales en ciegos pilóricos y grasa visceral, hígado congestivo y focos necróticos en hígado. Los principales hallazgos observados en la necropsia de los salmónidos se presentan en la **figura 101**.

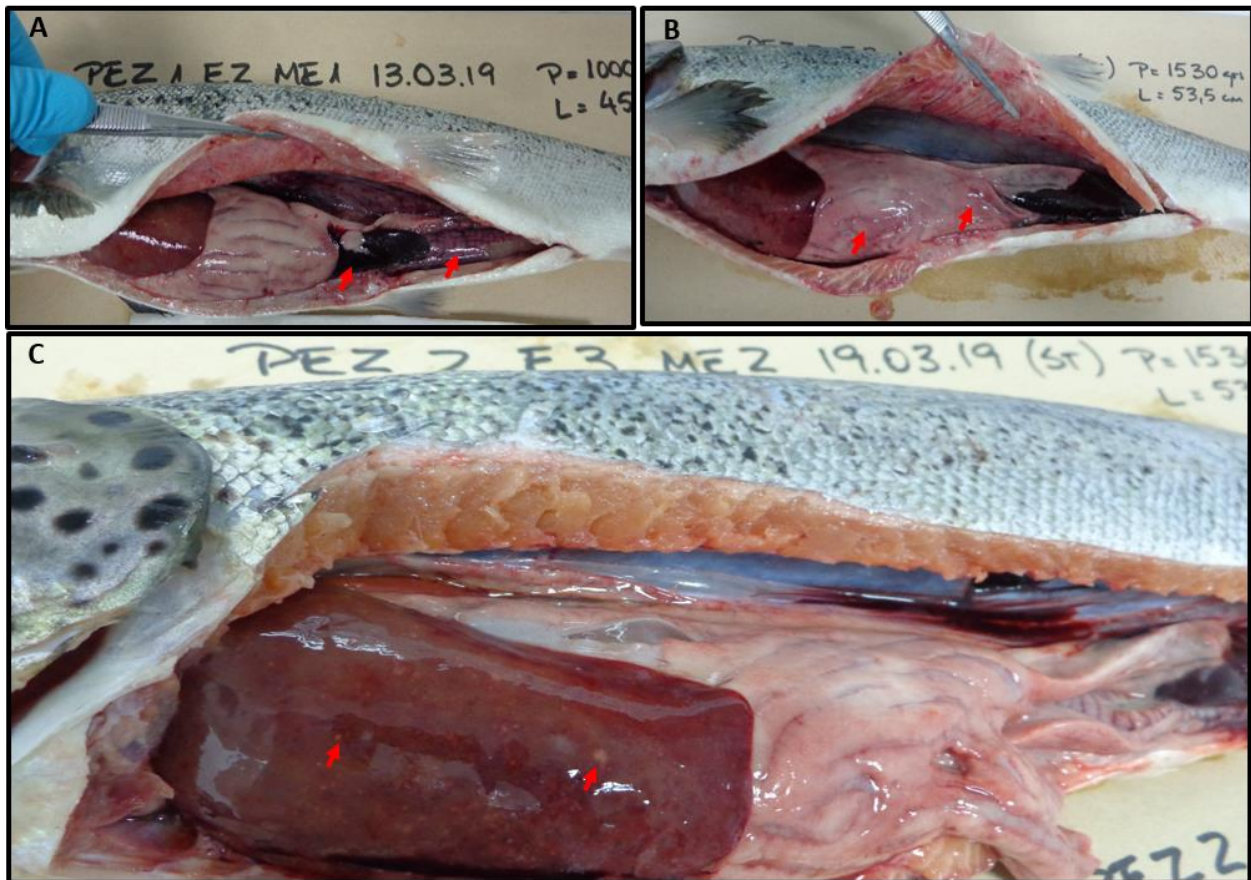


Figura 101. Principales hallazgos observados a la necropsia de salares troyanos (flecha roja). a) esplenomegalia e intestino congestivo, b) hemorragias petequiales en ciegos pilóricos y grasa visceral, c) hígado congestivo y focos necróticos en hígado (puntos blancos).

De igual modo, se realizó siembra en placa con agar para crecimiento de *P. salmonis* a partir de órganos internos con signología clínica de Piscirickettsiosis desde salares troyanos muertos durante el desafío, a partir de los cuales se obtuvo crecimiento de la bacteria en la placa, siendo posible el aislamiento de *P. salmonis* desde las lesiones identificadas.

Mortalidad de peces cohabitantes

Se presentó mortalidad en peces cohabitantes, tanto del grupo 1 (róbalos troyanos/salares cohabitantes) como del grupo 2 (salares troyanos/róbalos cohabitantes) durante el tiempo de duración del desafío, no obstante, los salmónidos muertos no evidenciaron a la necropsia sinología clínica concordante con Piscirickettsiosis, y en el caso de los róbalos, tampoco presentaron sinología acorde a la presentada clásicamente en salmónidos.



Respecto al grupo control positivo (salar troyano/salar cohabitante), no se presentó mortalidad en salares cohabitantes durante la ejecución del desafío, lo que no permitió verificar la transmisión del agente patógeno en la especie susceptible.

Adicionalmente, no fue posible el aislamiento de la bacteria a partir de órganos internos de los ejemplares cohabitantes (salar y róbalo) muertos durante el desafío.

Respecto del total de muestras de tejido provenientes de ejemplares cohabitantes que murieron durante la ejecución del ensayo, y que fueron analizadas mediante PCR, el 65% de ellas arrojaron resultados negativos a PCR, en tanto el 35% restante fueron positivas. El total de las muestras con resultado positivo se presentó en ejemplares de la especie salmón del Atlántico del grupo 1, con un valor de Ct promedio de 30,09, lo que indicaría que *P. salmonis* fue capaz de transmitirse por medio de cohabitación desde róbalo troyano a salares cohabitantes. Por su parte, la totalidad de los róbalo, pertenecientes al grupo 2, que murieron durante la ejecución del ensayo, arrojaron resultados negativos al análisis de PCR, lo que indicaría que la bacteria no fue capaz de transmitirse con éxito desde salares troyanos a róbalo cohabitantes.

No obstante, a pesar de los resultados del análisis anterior, y dado a que no se presentó mortalidad en salares cohabitantes del grupo control positivo, que verificaría la transmisión del agente, se procedió a invalidar el estudio, según lo estipulado en el protocolo del estudio.

Las curvas de mortalidad acumuladas registradas durante la ejecución del ensayo de cohabitación se presentan en las **figuras 102 a 104**.

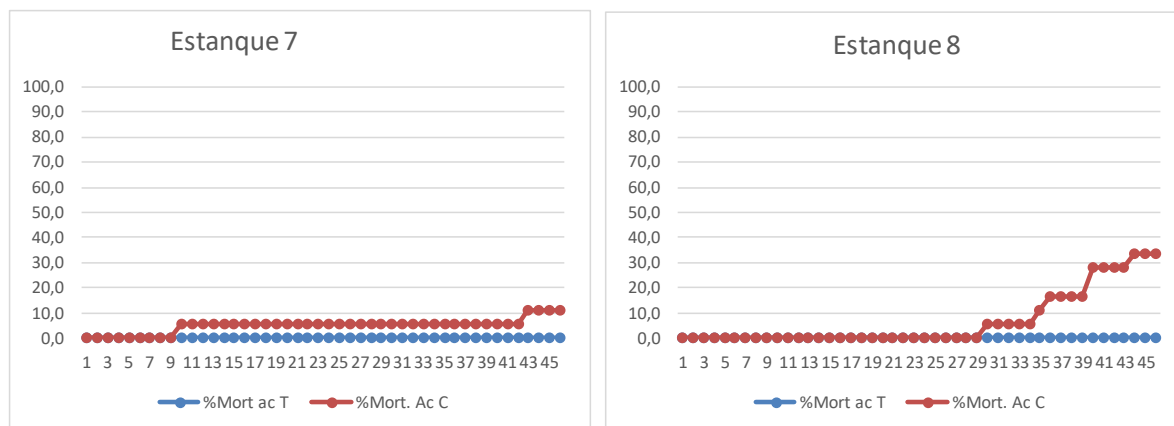


Figura 102. Curvas de mortalidad acumulada del Grupo 1 (estanques N° 7 y 8) (Azul = róbalo troyano, Rojo = salares cohabitantes).

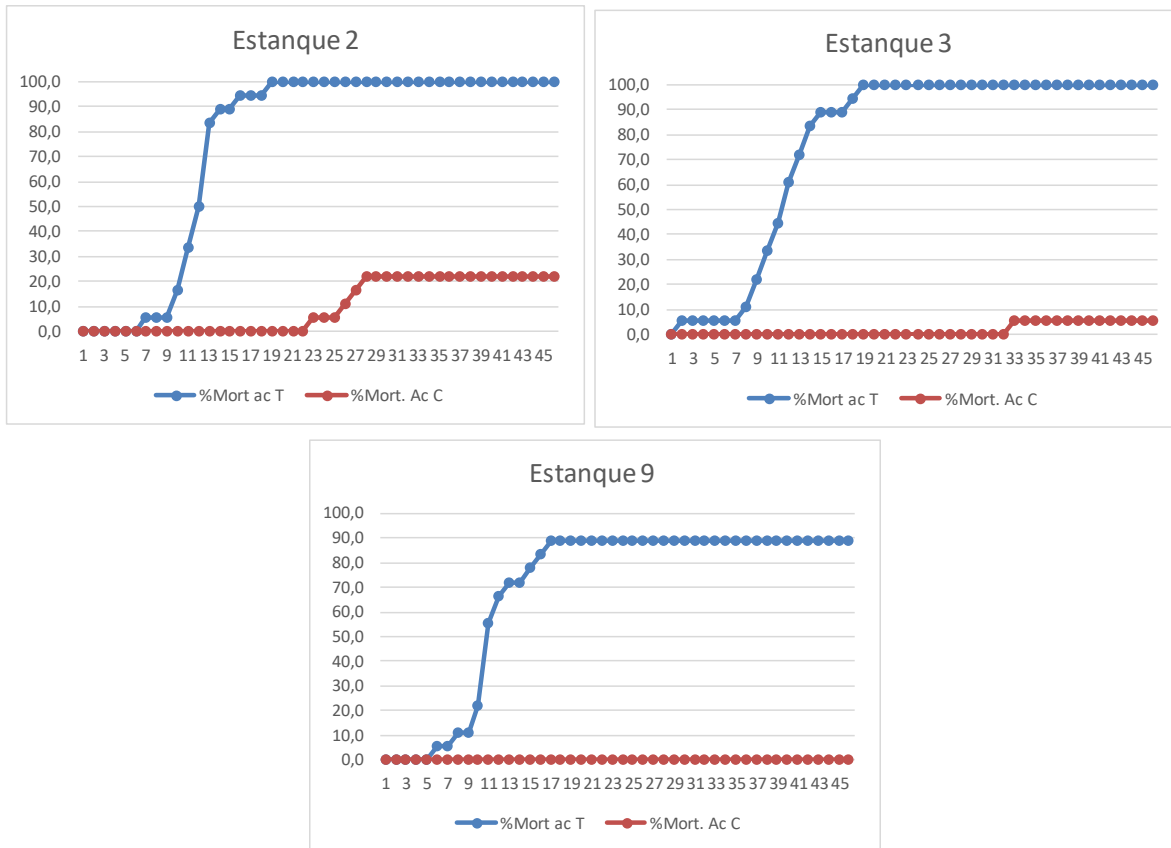


Figura 103. Curvas de mortalidad acumulada del Grupo 2 (estanques N° 2, 3 y 9) (Azul = salares troyanos, Rojo = r3balos cohabitantes).

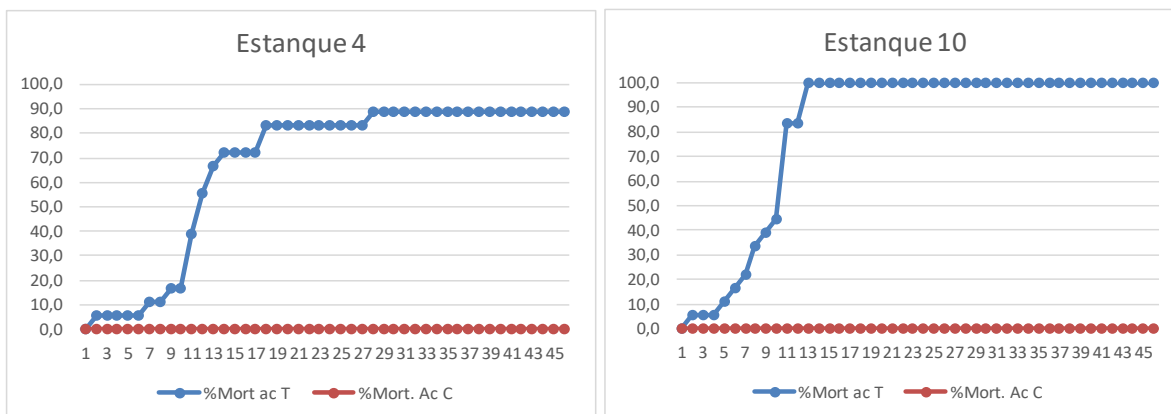


Figura 104. Curvas de mortalidad acumulada del Grupo control positivo (estanques 4 y 10) (Azul = salares troyanos y rojo = salares cohabitantes).



Objetivo 4: *Realizar análisis genéticos respecto de las especies salmónidas capturadas para identificar si corresponden a ejemplares escapados o asilvestrados.*

5.8 Análisis genéticos de los ejemplares de trucha arcoíris capturados.

Tal como se indicó en la sección metodológica del presente informe, con fecha 25 de abril del 2019, se hizo envío de un total de 96 muestras de trucha arcoíris, al equipo de investigadores del Laboratorio de Genómica en Ecología, Evolución y Conservación del Departamento de Zoología de la Universidad de Concepción, para realizar la tipificación de las muestras para 500 análisis de SNP (Single Nucleotide Polymorphism: Polimorfismo de un solo nucleótido).

El detalle de los resultados se presenta a continuación:

1) Extracción de DNA y tipificación de SNPs

Se corroboró que el 100% de las muestras de tejido branquial correspondieron a trucha arcoíris y se obtuvo información para el panel utilizado de 96 SNPs para todos los individuos estudiados.

2) Estructura genética de las poblaciones y grupos de referencia

A partir de la base de datos que incluyen 1897 individuos, se filtraron los genotipos con menos del 80% de información. Para evitar que el tamaño muestral de cada localidad genere problemas en los análisis de asignación individual, se redujo el número de individuos de las localidades a un tamaño de 50 ejemplares por localidad. Finalmente, la base de datos incluyó un total a 879 individuos provenientes de 40 localidades.

El Análisis de Componentes Principales Discriminantes (ACPD) distinguió cuatro grupos genéticos identificables (**Figura 105**). Esto es coincidente con los resultados presentados durante el 2016 y 2018 del mismo programa. Lo anterior sugiere que al parecer el número de muestra por localidad no influyó ostensiblemente en los resultados. Los cuatro grupos de referencia corresponden a (i) Lago Todos los Santos (rojo); (ii) Lago Llanquihue (verde); (iii) Norte-Centro (negro); y (iv) Pisciculturas (azul).

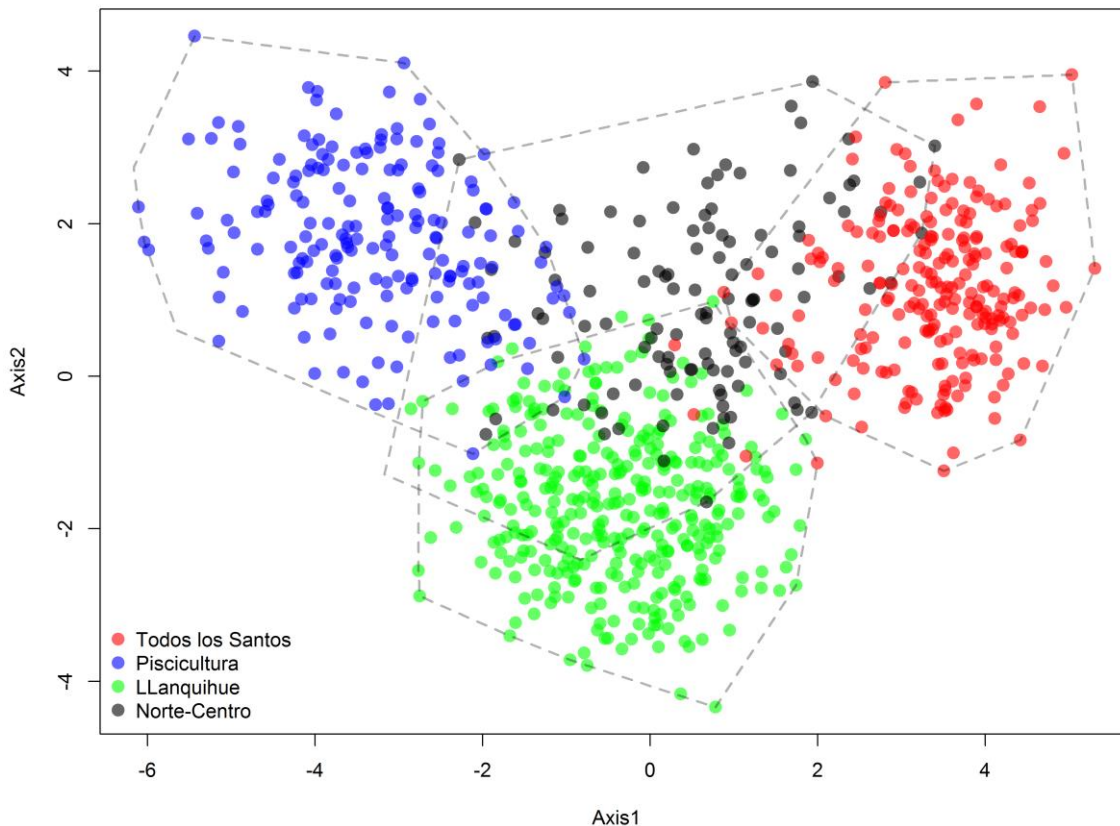


Figura 105: ACPD muestra evidencia para $K = 4$ grupos de poblaciones de trucha arcoíris.

El Software STRUCTURE muestra un resultado congruente a los del ACPD, distinguiendo cuatro grupos genéticos (**Figura 106**). Ambos análisis demuestran que la agrupación genética de las localidades no presenta un patrón geográfico, sino que está ligado a la compleja historia de introducción que presenta esta especie en Chile.

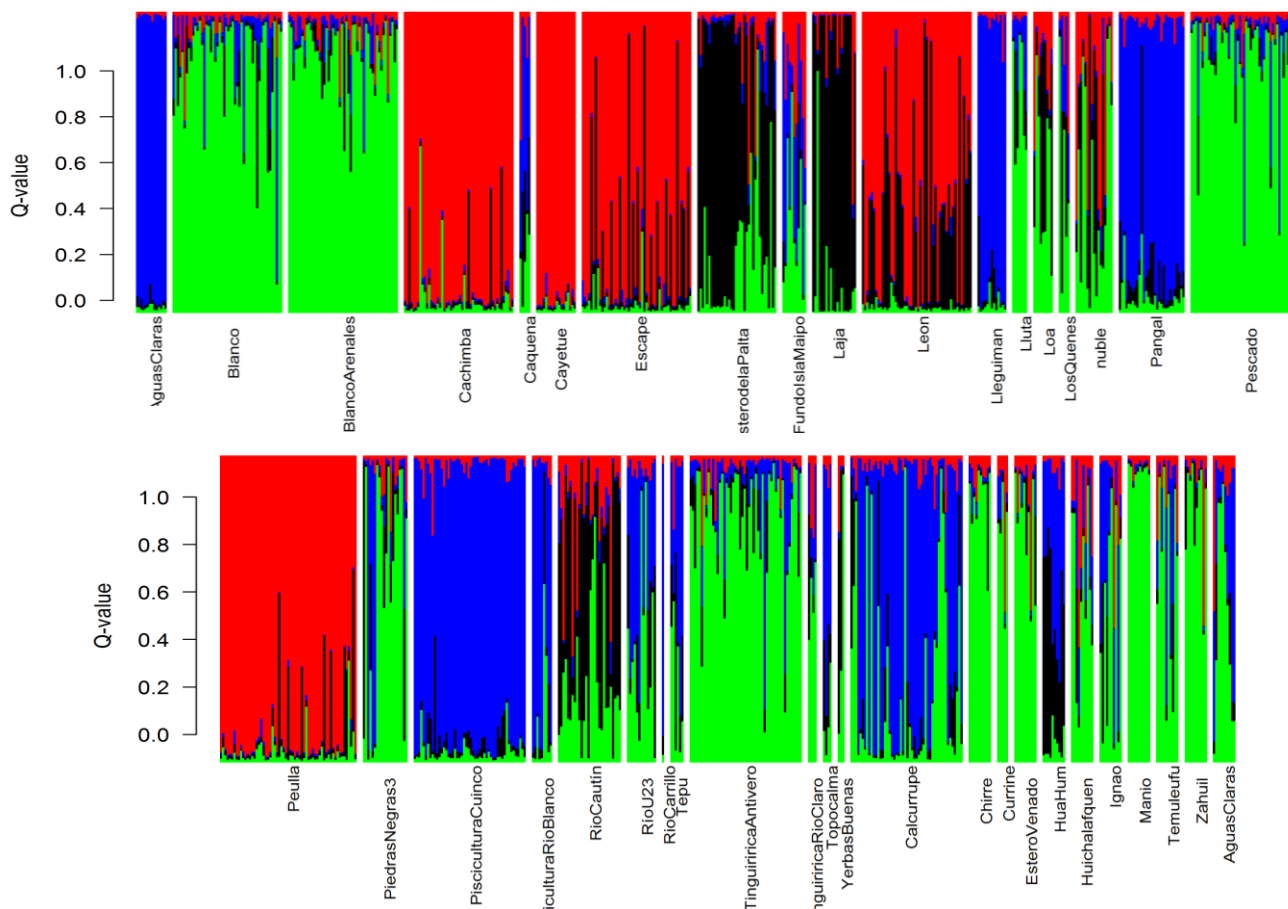


Figura 106. Resultado de STRUCTURE, los colores corresponden a los cuatro grupos genéticos de referencia (Rojo: Todos los Santos, Verde: Llanquihue, Rojo: Piscicultura, Negro: Norte-Centro).

3) Asignación de genotipos de la muestra problema de IFOP a la línea de base genética de poblaciones de referencia.

Los análisis posteriores en el programa ONCOR para evaluar la consistencia de los cuatro grupos genéticos definidos previamente mostraron un alto nivel de autoasignación. Son por lo tanto informativos como grupos genéticos de referencia (**Tabla 28**). Los resultados de autoasignación sugieren que de 100 veces que se asigna una muestra conocida a uno de estos grupos, sólo en un 4% serán asignados al grupo de origen equivocado.

**Tabla 28.**

Análisis de autoasignación de los 4 grupos genéticos de referencia

Grupo genético	N	% Autoasignación
Norte-Centro	114	94,9%
Lago Todos Los Santos	224	98,4%
Lago Llanquihue	337	0,98
Piscicultura	180	1

El análisis de asignación de mezclas de stocks implementado en ONCOR mostró que el 67,11 % de las muestras analizadas fueron asignados al grupo genético de muestras del Lago Llanquihue, mientras que el resto de los individuos fueron asignados al grupo genético de pisciculturas y Norte-Centro, con un 22,96% y un 9,93 % respectivamente. Es importante mencionar que si bien el grupo de referencia del Lago Llanquihue es genéticamente diferenciable del grupo de Piscicultura, las poblaciones establecidas en Lago Llanquihue se caracterizan por estar influenciadas por la presencia de numerosos centros de cultivos en el lago y por altos niveles de heterocigosidad (Benavente et al. 2015, Canales-Aguirre et al. 2018). Esto podría explicar que varios individuos de las muestras analizadas fueran asignados al grupo Lago Llanquihue.

El segundo análisis de asignación muestra resultados diferentes (**Figura 107**). En el Lago Villarrica el 92,32% de los individuos analizados fue asignado al grupo de cultivo, mientras un 7,68% fue asignado al grupo naturalizado de la Araucanía. El Lago Colico mostró resultados similares con un 75,77% de asignación a centros de cultivo, y un 24,28% al grupo Araucanía. Los individuos del Lago Caburga presentan un 63,95% de asignación a centros de cultivo y un 36,05% al grupo de Araucanía. Algo similar se observa en el Lago Calafquén donde un 89,57% de los individuos se asigna al grupo genético de cultivo, mientras un 12,41% fue asignado al grupo de Araucanía. En relación a los dos subgrupos de referencia, ambos presentaron un valor de autoasignación de 100%, lo cual indica que son grupos genéticos altamente diferenciables.

En la Figura 4 se observan los valores de asignación independiente para cada lago analizado, además de la ubicación de centros de cultivo en agua dulce o pisciculturas, lo cual permite observar si el porcentaje de asignación a centros de cultivo está ligado con la ubicación geográfica de estos. En esta imagen se observa que el Lago Villarrica es el que posee mayor número de centros de cultivo cercanos y además presenta un mayor porcentaje de asignación a los centros de cultivo.

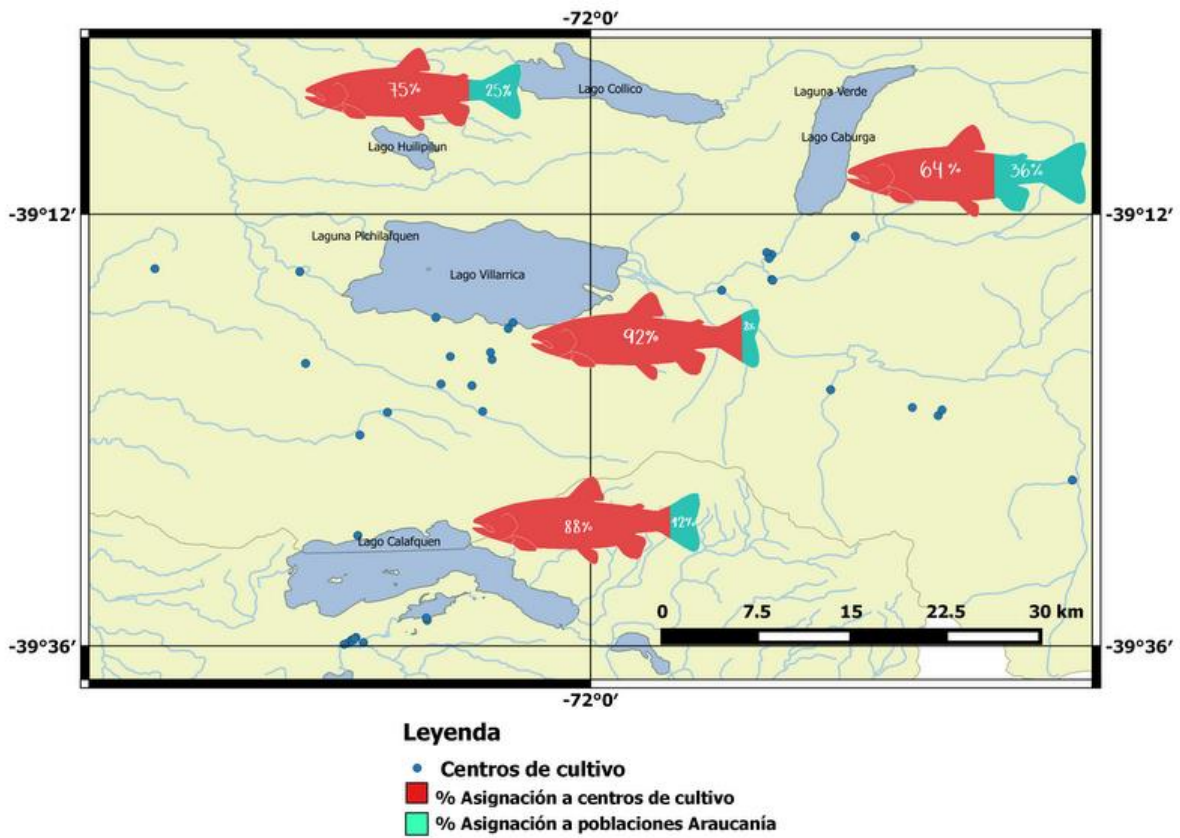


Figura 107: Resultados de asignaci3n individual de las muestras de tejido branquial analizadas (agrupadas por sitio de muestreo), adem3s de la ubicaci3n de los centros de cultivo.



Objetivo 5: Realizar análisis respecto de los resultados obtenidos en estudios previos, e identificar tendencias y brechas.

5.9. Tendencias de las capturas y detección de material genético de agentes patógenos en las muestras analizadas y principales brechas de estudios previos

5.9.1. Resumen de resultados positivos a patógenos totales durante el período de estudio 2010 – 2019.

Para el período comprendido entre los años 2010 y 2019, se han analizado un total de 36.040 peces que constituyen el 100% de los datos, englobando todas las zonas estudiadas y especies. Se realizaron análisis en la búsqueda de la presencia de los patógenos para cada período según el siguiente detalle: años 2010 - 2011 (EHNv, IHNv, VHSv, OMv, *Vibrio ordalii*, *Aeromona salmonicida*, *P. salmonis*), para los años 2011-2012 (agregándose a los anteriores, ISAv, IPNv, *Alphavirus*, *F. psychrophilum*, *R. salmoninarum*, *S. phocae* y *R. ruckeri*), para los años 2012-2013 (agregándose a los anteriores PRV), para los años 2013-2014 (manteniendo los anteriores), para los años 2014-2015 (manteniendo todos los anteriores e incorporando PMCV), y para los años 2015-2018 (manteniendo todos los anteriores). Se obtuvo que 33.465 individuos (92,86%) se encontraron negativos a los patógenos mencionados y 2.573 individuos (7,14%) se encontraron positivos a alguno de los patógenos mencionados previamente (**Tabla 36**).

Del total de peces positivos, se destaca que 2.071 individuos (80,5%) resultaron positivos a *P. salmonis*, 244 individuos (9,48%) resultaron positivos a *F. psychrophilum*, 177 individuos (6,88%) resultaron positivos al virus de la necrosis pancreática infecciosa (IPNv), 78 individuos (3,03%) a *Piscine reovirus* (PRV), y finalmente 3 (0,12%) individuos resultaron positivos a *R. salmoninarum* (**Tabla 29**).

Tabla 29.

Resumen de resultados positivos totales en peces silvestres, por patógeno durante los años 2010 y 2019.

Total general	n	%
Peces analizados	36.038	100
Peces negativos	33.465	92,86
Peces positivos	2.573	7,14
Peces positivos por patógeno		
<i>Piscirickettsia salmonis</i>	2.071	80,5
<i>Flavobacterium psychrophilum</i>	244	9,48
Virus de la necrosis pancreática infecciosa (IPNv)	177	6,88
<i>Piscine reovirus</i> (PR)	78	3,03
<i>Renibacterium salmoninarum</i>	3	0,12



5.9.2. Resumen de resultados positivos totales por patógeno durante el período de estudio 2010 – 2019.

Para el período comprendido entre los años 2010 y 2019, se detectaron resultados positivos a *P. salmonis* en un 58,66% (n=1215) en róbalo, en un 32,21% (n=667) en pejerrey de mar, en un 2,27% (n=47) para en Salmón del Atlántico, un 2,36% (n=49) para trucha fario, un 1,69% (n=35) en trucha arcoíris y salmón coho; y en un 1.12% (n=23) para pejerrey de agua dulce (Tabla 30).

Tabla 30.
Resumen de resultados positivos totales a *Piscirickettsia salmonis* por especie durante el período comprendido entre los años 2010 y 2019.

POSITIVOS <i>Piscirickettsia salmonis</i>			
Nombre común	Nombre Científico	n	%
Róbalo	<i>Eleginops maclovinus</i>	1215	58,66
Pejerrey de mar	<i>Odontesthes regia</i>	667	32,21
Salmón del Atlántico	<i>Salmo salar</i>	47	2,27
Trucha fario	<i>Salmo trutta fario</i>	49	2,36
Salmón coho	<i>Oncorhynchus kisutch</i>	35	1,69
Trucha arcoíris	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	35	1,69
Pejerrey de agua dulce	<i>Basilichthys australis</i>	23	1,12

De la misma manera, se detectaron resultados positivos a *Flavobacterium psychrophilum* en un 52,5% (n=128) en individuos de trucha arcoíris, en un 25,8% (n=63) en individuos de pejerrey de agua dulce, en un 13,9% (n=34) en individuos de trucha fario, en un 3,3 % (n=8) en individuos de salmón coho, en un 1,2 % (n=3) en individuos de perca trucha y salmón del Atlántico, en un 0,8% (n=2) en individuos de salmón Chinook y peladilla, y finalmente en un 0,4% (n=1) en róbalo. (Tabla 31).

**Tabla 31.**

Resumen de resultados positivos totales a *Flavobacterium psychrophilum* por especie durante el período comprendido entre los años 2010 y 2019.

POSITIVOS <i>Flavobacterium psychrophilum</i>			
Nombre común	Nombre Científico	n	%
Trucha arcoiris	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	128	52,5
Pejerrey de agua dulce	<i>Basilichthys australis</i>	63	25,8
Trucha fario	<i>Salmo trutta fario</i>	34	13,9
Salmón coho	<i>Oncorhynchus kisutch</i>	8	3,3
Perca trucha	<i>Percichthys trucha</i>	3	1,2
Salmón del Atlántico	<i>Salmo salar</i>	3	1,2
Peladilla	<i>Aplochiton taeniatus</i>	2	0,8
Salmón chinook	<i>Oncorhynchus tshawytscha</i>	2	0,8
Róbalo	<i>Eleginops maclovinus</i>	1	0,4

El patógeno *Piscine reovirus* presentó resultados positivos en un 43,6% (n=34) en individuos de salmón coho, en un 28,2% (n=22) en individuos de salmón Atlántico, en un 26,9% (n=21) en individuos de trucha arcoiris y en un 1,3% (n=1) en individuos de trucha fario (**Tabla 32**).

Tabla 32.

Resumen de resultados positivos totales a *Piscine reovirus* por especie durante el período comprendido entre los años 2010 y 2019.

POSITIVOS <i>Piscine reovirus</i>			
Nombre común	Nombre Científico	n	%
Salmón coho	<i>Oncorhynchus kisutch</i>	34	43,6
Salmón del Atlántico	<i>Salmo salar</i>	22	28,2
Trucha arcoiris	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	21	26,9
Trucha fario	<i>Salmo trutta trutta</i>	1	1,3

El patógeno Virus de la necrosis pancreática infecciosa (IPNV) presentó resultados positivos en un 23,7% (n=42) en individuos de trucha arcoiris, en un 18,1% (n=32) tanto en individuos de robalo como en individuos de pejerrey de agua dulce, en un 15,8% (n=28) en individuos de pejerrey de mar, en un 10,7% (n=19) en individuos de trucha fario, en un 5,6% (n=10) en individuos de perca trucha, en un 5,1% (n=9) en individuos de salmón coho, en un 2,3% (n=4) en individuos de salmón del Atlántico, y en un 0,6% (n=1) en individuos de peladilla (**Tabla 33**).

**Tabla 33.**

Resumen de resultados positivos totales a virus de la necrosis pancreática infecciosa (IPNV) por especie durante el período comprendido entre los años 2010 y 2019.

POSITIVOS Virus de la necrosis pancreática infecciosa (IPNV)			
Nombre común	Nombre Científico	n	%
Trucha arcoíris	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	42	23,7
Pejerrey de agua dulce	<i>Basilichthys australis</i>	32	18,1
Róbalo	<i>Eleginops maclovinus</i>	32	18,1
Pejerrey de mar	<i>Odontesthes regia</i>	28	15,8
Trucha fario	<i>Salmo trutta fario</i>	19	10,7
Perca trucha	<i>Percichthys trucha</i>	10	5,6
Salmón coho	<i>Oncorhynchus kisutch</i>	9	5,1
Salmón del Atlántico	<i>Salmo salar</i>	4	2,3
Peladilla	<i>Aplochiton taeniatus</i>	1	0,6

Para el caso del *Renibacterium salmoninarum*, es primera vez que en el monitoreo y vigilancia realizado en el marco del presente programa, se reportan muestras positivas al patógeno, el 100% de las cuales (n=3) se presentaron en la especie salmón coho (Tabla 34).

Tabla 34.

Resumen de resultados positivos totales a *R. salmoninarum* por especie durante el período comprendido entre los años 2010 y 2019.

POSITIVOS <i>Renibacterium salmoninarum</i> (BKD)			
Nombre común	Nombre Científico	n	%
Salmón coho	<i>Oncorhynchus kisutch</i>	3	100,0

5.9.3 Análisis de capturas por especie durante el período de estudio 2010 - 2018.

En cuanto a las tendencias para las capturas, se observó que las capturas de salmónidos son inferiores a las capturas de peces nativos. Por este motivo el análisis fue dividido en dos grandes grupos: peces nativos y peces salmónidos.

Las capturas de ambos grupos de peces (nativos y salmónidos) presentaron tendencias de tipo polinómica de sexto orden, sugiriendo que las tendencias de estas capturas son aparentemente cíclicas, registrando disminuciones y aumentos a lo largo del periodo de estudio. La ecuación que explica la tendencia de los datos de peces nativos es: $y = 1,9739 - 1,4392x + 0,4959x^2 - 0,0466x^3 - 0,0065x^4 + 0,0015x^5 - 7E-05x^6$, $R^2 = 79,5\%$, y la tendencia de los datos de los peces salmónidos es $y = 0,9739 + 1,4392x - 0,4959x^2 + 0,0466x^3 + 0,0065x^4 - 0,0015x^5 + 7E-05x^6$, $R^2 = 79,5\%$ (**Figura 108**). Al observar el último periodo (2014-2019), se denota que la capturas se estabilizaron manteniendo porcentajes similares en torno al 60% para los peces nativos y en torno al 30% para los peces salmónidos. Al considerar el promedio de todos los años (nativos con un 69,63% y salmónidos con un 30,37%), estos datos sugieren que la proporción correspondiente a peces nativos en el ambiente es aproximadamente el doble que de peces salmonídeos.

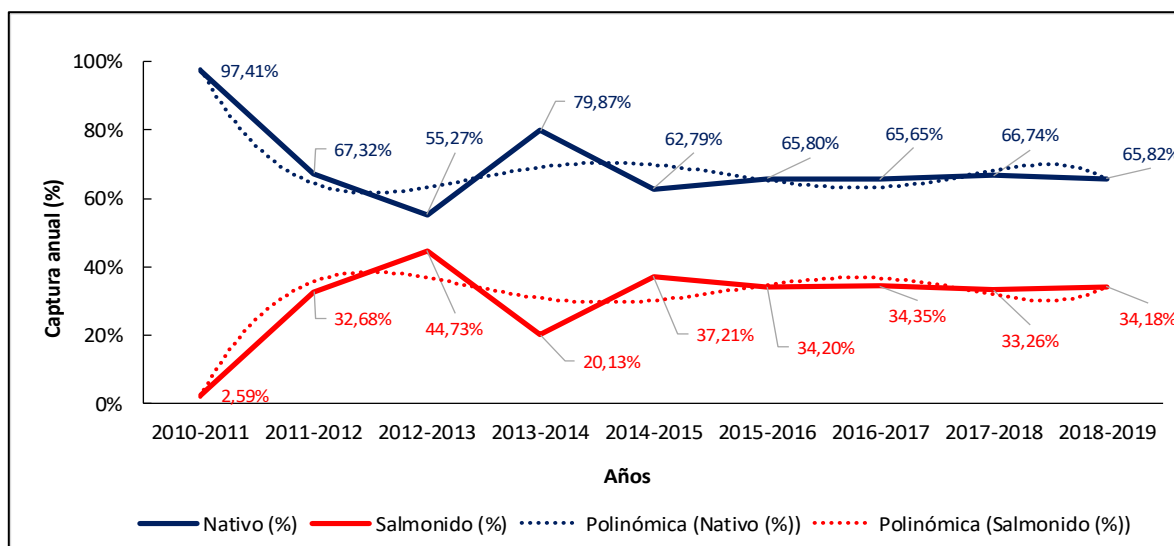


Figura 108. Tendencia de capturas de peces nativos y salmónidos totales durante el periodo de estudio que comprende desde el año 2010 hasta el año 2019.

Para mayor detalle y en cuanto a las capturas de peces nativos, las capturas estuvieron compuestas principalmente por róbalo y pejerrey de mar, por lo cual, solo se analizaron las tendencias de estas especies. En la **Figura 109**, se observa que ambas especies róbalo y pejerrey de mar presentan tendencias cíclicas que siguen un modelo de tipo polinomial de sexto orden, lo que indica que las capturas de esta especie han aumentado y disminuido en el tiempo, manteniéndose estable hacia el periodo 2016-2019. Las ecuaciones que explican estas tendencias para el róbalo son $y = 1,7222 - 1,9792x + 0,9719x^2 - 0,2127x^3 + 0,021x^4 - 0,0007x^5 - 4E-06x^6$, $R^2 = 76,36\%$; y para el pejerrey de mar es $y = -0,0454 + 0,5002x - 0,3885x^2 + 0,1445x^3 - 0,0272x^4 + 0,0025x^5 - 9E-05x^6$, $R^2 = 57,24\%$. Este patrón sugiere que las capturas de ambas especies se mantienen en el tiempo. La especie pejerrey de mar mantiene capturas en torno al 15%, y róbalo en torno al 30% hacia el final del periodo.

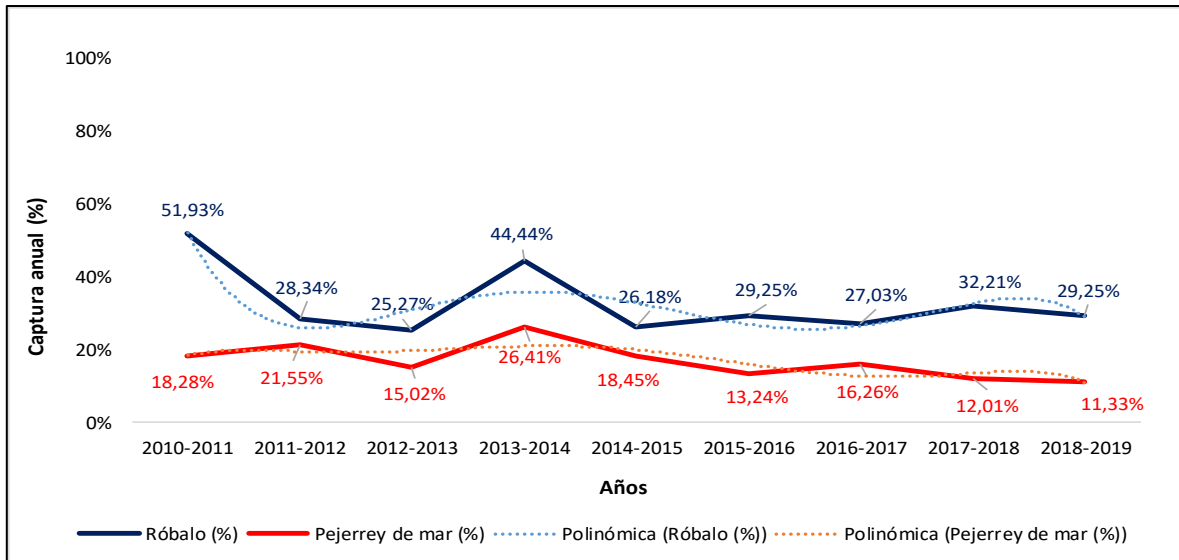


Figura 109. Tendencia de capturas de peces nativos (róbalo y pejerrey de mar) totales durante el periodo de estudio que comprende desde el año 2010 hasta el año 2019.

Las capturas de especies salmónidas estuvieron principalmente compuestas por la especie *O. mykiss* (trucha arcoíris) (**Figura 110**). Trucha arcoíris muestra una tendencia de tipo polinomial de sexto orden, en el cual se observa un aumento en su captura en el periodo comprendido entre 2010 y 2012, para después registrar una disminución desde 2012 hacia el 2014, la cual se mantiene en torno al 16,2% aproximadamente entre el 2014 y el 2019. Este comportamiento es explicado por la ecuación: $y = -0,8293 + 1,2657x - 0,52x^2 - 0,0943x^3 - 0,0076x^4 + 0,0002x^5 + 5E-06x^6$, $R^2 = 86,2\%$.

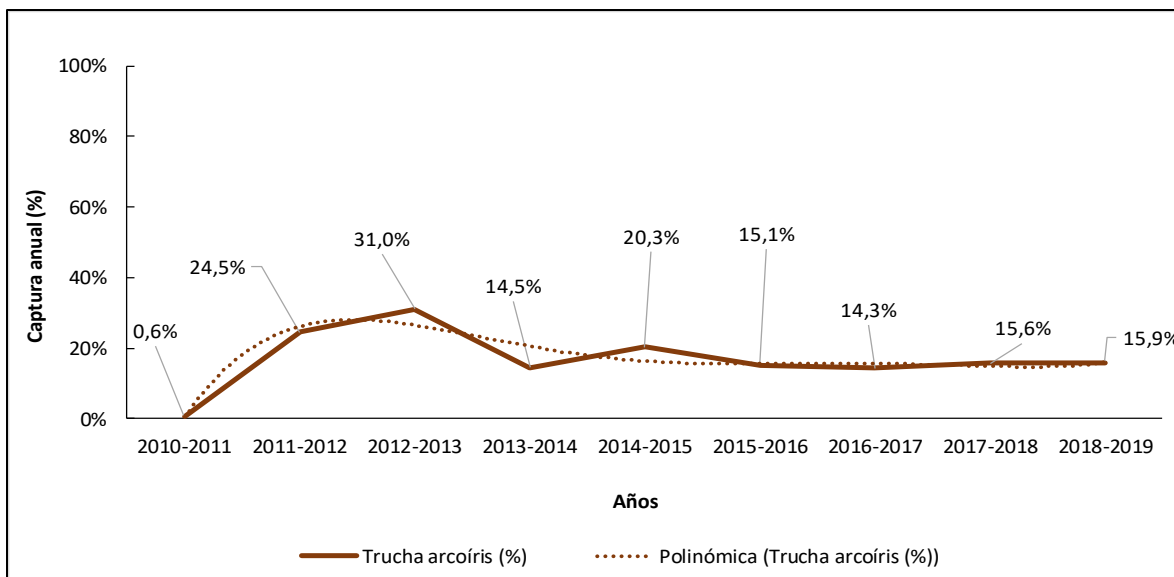


Figura 110. Tendencia de capturas de peces salmónidos (trucha arcoíris) totales durante el periodo de estudio que comprende desde el año 2010 hasta el año 2019.

5.9.4 Análisis de capturas por especie y zona durante el período de estudio 2010 - 2019.

Para el análisis de tendencias de las capturas se detalla que se considerarán aquellas zonas que posean al menos 8 años de registro de capturas, de modo de asegurar una clara observación de las tendencias.

Zonas con 8 años de registro.

Para la zona del Estuario Valdivia (**Figura 111**), las capturas estuvieron compuestas principalmente por róbalo y pejerrey de mar. Ambas especies mostraron tendencias de tipo polinómica de sexto orden. La tendencia de capturas de róbalo, sugiere que esta especie ha aumentado en forma cíclica con el transcurso de los años, explicado en el modelo: $y = - 5,1717 + 11,001x - 7,9489x^2 + 2,7792x^3 - 0,5014x^4 + 0,0448x^5 - 0,0016x^6$, con una explicación del $R^2 = 99,9\%$, registrando un leve aumento para el último período. Por el contrario, pejerrey de mar muestra una tendencia a la disminución, también cíclica ya que aumenta hacia los últimos períodos, lo que se observa en el modelo $y = 5,8072 - 10,169x + 7,1626x^2 - 2,4047x^3 + 0,4099x^4 - 0,0342x^5 + 0,0011x^6$, con una explicación de $R^2 = 99,9\%$. Se debe destacar que las capturas de ambas especies se turnan en importancia en el tiempo.

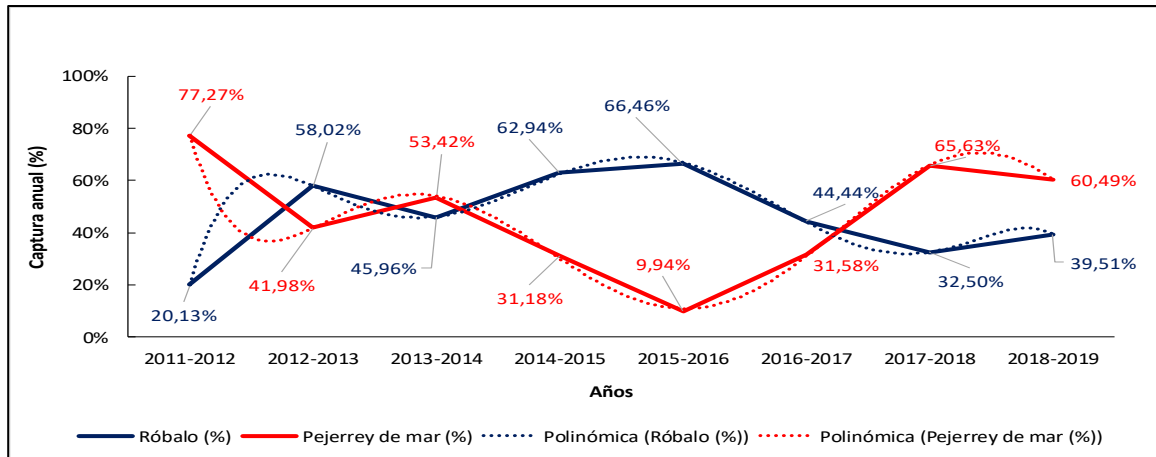


Figura 111. Tendencia de especies capturadas (pejerrey de mar y r3balo) para la zona de Estuario de Valdivia, Regi3n de Los R3os durante el periodo 2011 hasta el a3o 2019.

Para la zona de Hornopir3n y Fiordo Comau (**Figura 112**), las capturas tambi3n estuvieron compuestas principalmente por pejerrey de mar y r3balo, destacando que ambos presentan tendencias c3clicas de tipo polinomial de sexto grado. Para r3balo se observa un aumento abrupto hacia el periodo 2017-2018, alcanzando un 100% de las capturas, experimentando luego un descenso brusco hacia el 3ltimo periodo. Se explica a trav3s de la ecuaci3n: $y = -4,1656 + 9,9851x - 8,3725x^2 + 3,3804x^3 - 0,6977x^4 + 0,0708x^5 - 0,0028x^6$, con una explicaci3n de $R^2 = 81,6\%$. Por el contrario, las capturas de pejerrey de mar disminuyeron a 0% en el 2017-2018, incrementando en casi un 50% hacia el periodo 2018-2019, explicado mediante la ecuaci3n $y = 3,6006 - 8,1126x + 7,4828x^2 - 3,1687x^3 + 0,6712x^4 - 0,0691x^5 + 0,0027x^6$, con una explicaci3n del modelo de $R^2 = 76,9\%$.

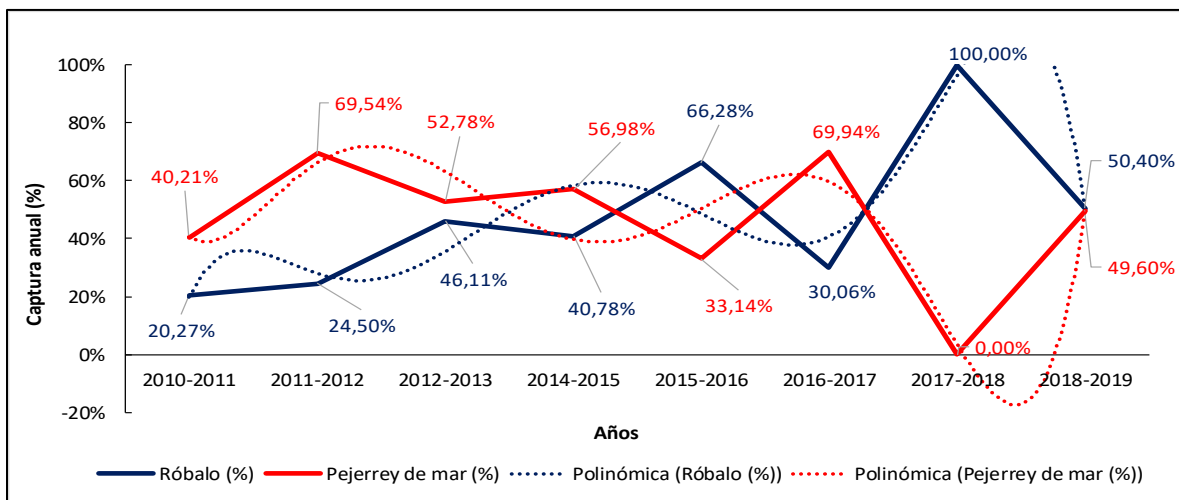


Figura 112. Tendencia de especies capturadas (pejerrey de mar y r3balo) para la zona de Hornopir3n y Fiordo Comau, Regi3n de Los Lagos, durante el periodo 2010 hasta el a3o 2019.

Para zona de Puerto Natales (**Figura 113**), las capturas estuvieron principalmente compuestas por róbalo, pejerrey de mar y salmón Atlántico, por lo que el análisis será en base a estas especies. Las tendencias para las especies nativas fueron de tipo polinomial de quinto orden, siendo de sexto orden para salmón del Atlántico. Róbalo muestra una tendencia cíclica en el tiempo, lo cual se explica a través de la ecuación $y = 0,6382 + 0,2239x - 0,0426x^2 - 0,0382x^3 + 0,0111x^4 + 0,0008x^5$, con una explicación de $R^2 = 91,7\%$. Para el pejerrey de mar se observa una tendencia mantenerse en el tiempo; no obstante, se incrementó su captura en el último período sobrepasando el 50%, explicado en la ecuación $y = 0,5995 - 1,1994x + 0,7726x^2 - 0,1962x^3 + 0,021x^4 - 0,0008x^5$, con una explicación $R^2 = 97,8\%$. Para el salmón Atlántico, se observa que aumenta hacia el período 2014-2015, pero disminuye a 0% en el período 2017-2018 (no se registran capturas), manteniéndose de igual forma en el período 2018-2019, explicado a través de la ecuación $y = -2,5582 + 6,09x - 4,962x^2 + 1,9243x^3 - 0,3807x^4 + 0,037x^5 - 0,0014x^6$, con una explicación de $R^2 = 61,9\%$.

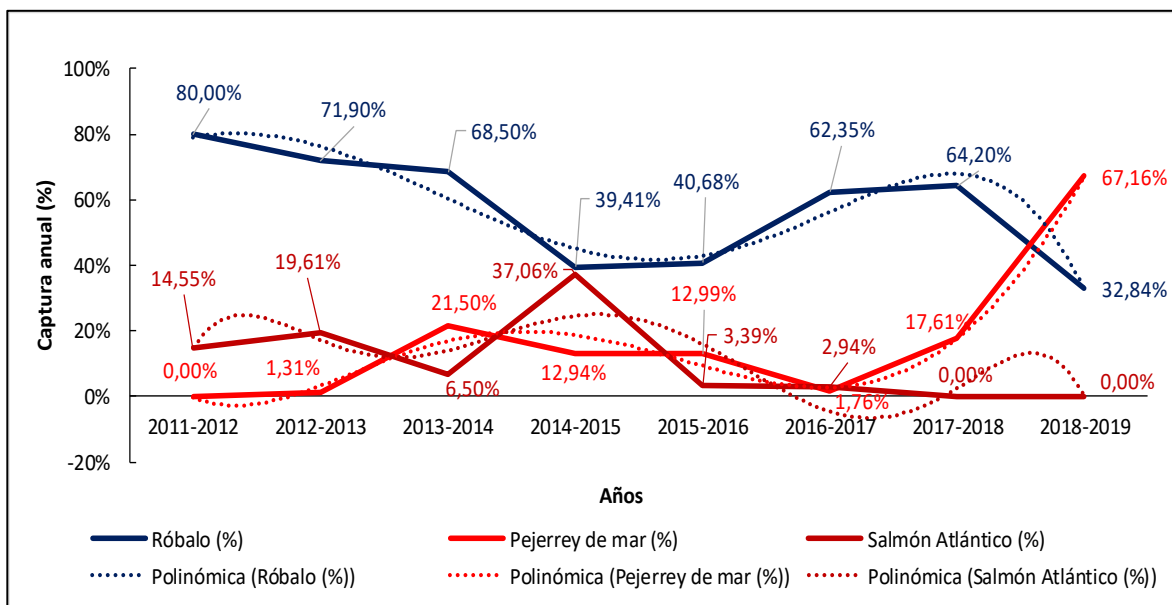


Figura 113. Tendencia de especies capturadas (pejerrey de mar, róbalo y salmón Atlántico) para la zona Puerto Natales, Región de Magallanes y de la Antártica Chilena, durante el período 2011 hasta el año 2019.



Las capturas del Lago Chapo estuvieron compuestas principalmente por trucha arcoíris y perca trucha (**Figura 114**). Ambas especies presentan tendencias cíclicas de tipo lineal. Perca trucha mostró capturas con una tendencia al aumento hacia el periodo 2015-2019, explicado a través de la ecuación $y = 0,0001 + 0,0902x$, con una explicación de $R^2 = 74,9\%$. Las capturas de trucha arcoíris por su parte, mostraron una tendencia a la disminución hacia el periodo 2016-2018, incrementándose hacia el último período explicado mediante la ecuación $y = 0,9809 - 0,1172x$, con una explicación del $R^2 = 85,4\%$. Esto sugiere un intercambio en la prioridad de presencia entre estas especies en el Lago Chapo.

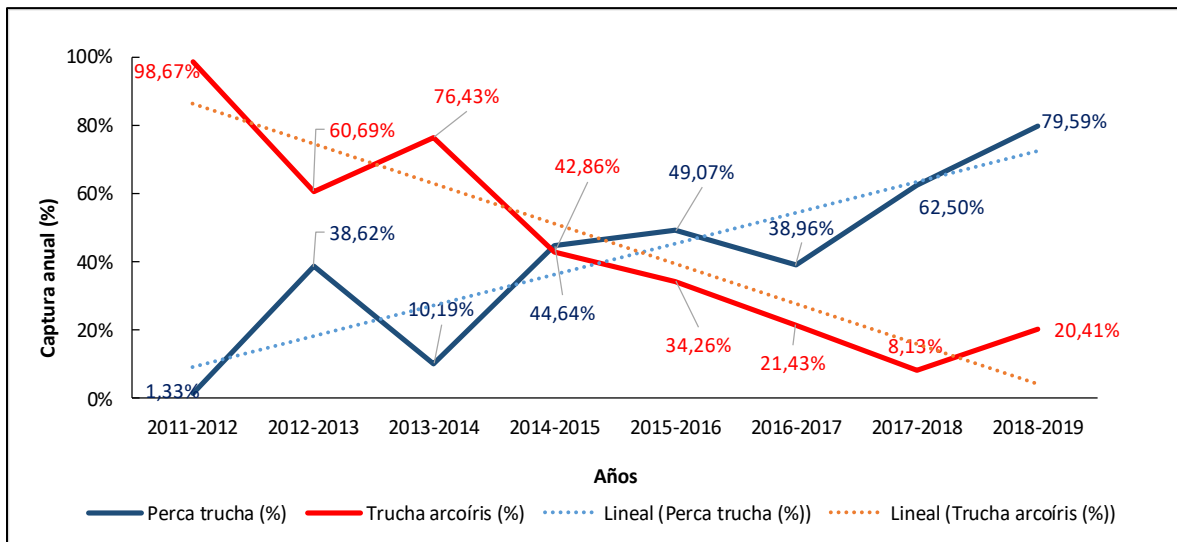


Figura 114. Tendencia de especies capturadas (perca trucha y trucha arcoíris) para la zona de Lago Chapo, Región de Los Lagos durante el periodo 2011 hasta el año 2019.

Para el Lago Llanquihue, las capturas estuvieron compuestas principalmente por perca trucha, trucha arcoíris y salmón coho (**Figura 115**). Las especies mencionadas presentan tendencias cíclicas con aumentos y disminuciones en el tiempo, siendo de tipo polinomial de quinto orden para salmón Coho, y de sexto orden para perca trucha y trucha arcoíris. Perca trucha y trucha arcoíris tienden a disminuir hacia 2014 – 2017, incrementando a partir del 2018, y por el contrario salmón coho aumentó desde 2015 hacia el 2017, experimentando un descenso hacia el 2018-2019. Las ecuaciones que explican estas tendencias son: $y = 2,8891 - 5,4234x + 3,7267x^2 - 1,1163x^3 + 0,1581x^4 - 0,01x^5 + 0,0002x^6$, $R^2 = 69,1\%$ para perca trucha, $y = 0,5686 + 1,3228x - 2,3257x^2 + 1,2154x^3 - 0,2815x^4 + 0,0301x^5 - 0,0012x^6$, $R^2 = 96,5\%$ para trucha arcoíris; y por último $y = -1,2089 + 2,7265x - 1,9214x^2 + 0,5683x^3 - 0,0725x^4 - 0,0033x^5$, $R^2 = 96,4\%$ para salmón coho.

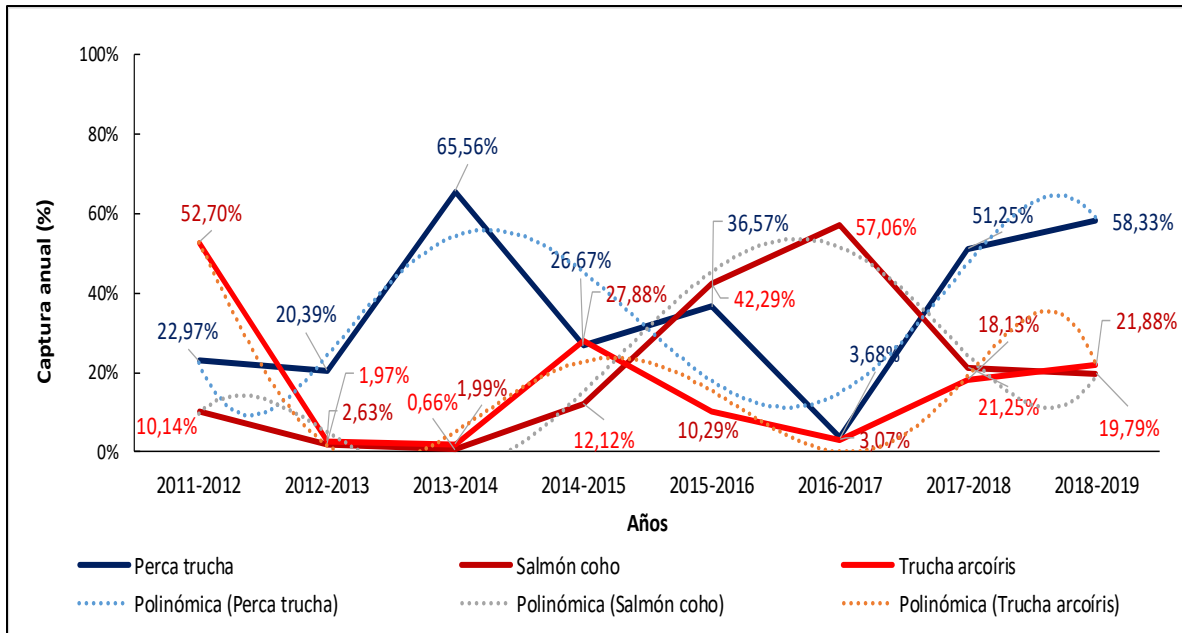


Figura 115. Tendencia de especies capturadas (perca trucha, trucha arcoiris y salm3n coho) para la zona de Lago Llanquihue, Regi3n de Los Lagos durante el periodo 2011 hasta el a3o 2019.

Para el lago Rupanco, las capturas estuvieron compuestas principalmente por trucha arcoiris (**Figura 116**). Esta especie mostr3 una tendencia c3clica de tipo polin3mica de sexto orden, que muestra que sus capturas disminuyen hacia el periodo 2017-2018 hacia un 17,18%, para volver a incrementar a un 31,25% en el 3ltimo periodo (2018-2019). Esto es explicado por la ecuaci3n $y = 13,719 - 28,664x + 23,083x^2 - 8,8278x^3 + 1,7207x^4 - 0,165x^5 + 0,0062x^6$ con una explicaci3n de $R^2 = 1$. A su vez, en la **Figura 116** se se3alan las tendencias de las especies salm3n coho y pejerrey de agua dulce, siendo ambas de tipo c3clicas, aunque sus capturas no superan el 40%. Ambas especies aumentaron hacia el periodo 2016-2018, y descendieron hacia el 3ltimo periodo de programa, con valores del 10% y 5,63%; respectivamente.

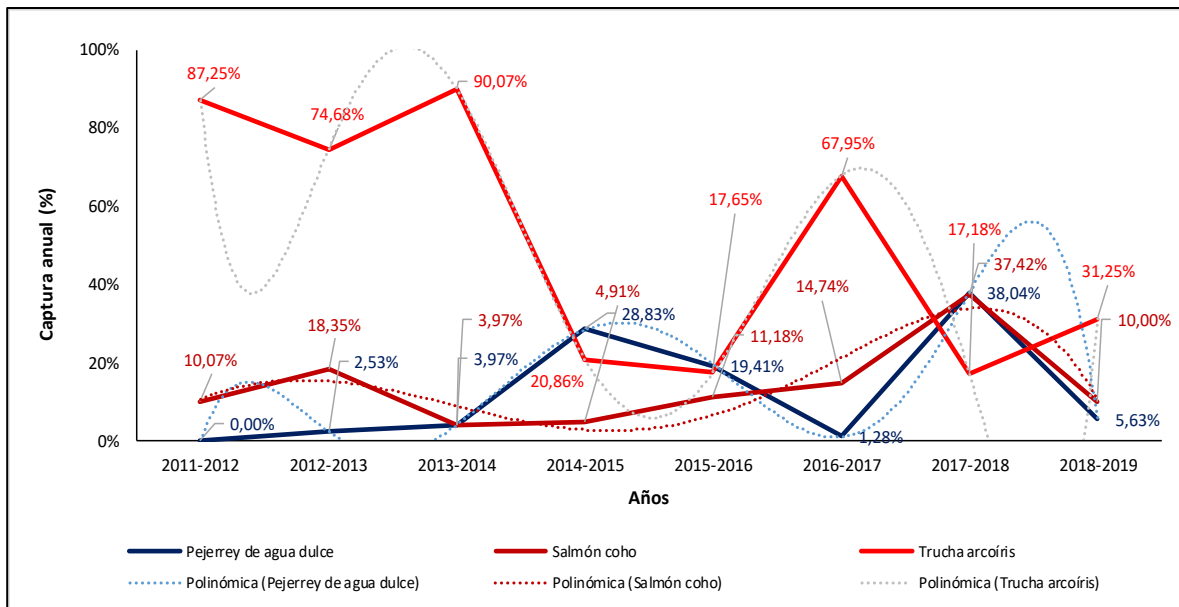


Figura 116. Tendencia de especies capturadas (pejerrey de agua dulce, salm3n coho, trucha arcoiris) para la zona de Lago Rupanco, Regi3n de Los Lagos durante el periodo de programa 2011 hasta el a3o 2019.

En la zona de Chilo3 sur, las capturas estuvieron principalmente compuestas por las especies r3balo y pejerrey de mar (**Figura 117**). Ambas especies presentaron tendencias c3clicas de tipo polin3mica de sexto orden. Para r3balo se observan disminuciones para el periodo 2014 – 2016, aumenta a 71,52% en el periodo 2017-2018, para volver a disminuir levemente el 2018-2019. Para pejerrey de mar se observ3 una tendencia contraria a r3balo, ya que presenta un aumento hacia el periodo 2014-2016, pero disminuyendo hacia el periodo 2017-2018 con un 27,88%, en incrementando levemente el 2018-2019. Las ecuaciones que explican estas tendencias son: $y = 6,7079 - 13,773x + 10,937x^2 - 4,0449x^3 + 0,7555x^4 - 0,0691x^5 + 0,0025x^6$ $R^2 = 95,2\%$ para r3balo; $y = -6,6388 + 15,704x - 12,393x^2 + 4,5635x^3 - 0,8501x^4 + 0,0777x^5 - 0,0028x^6$, con una explicaci3n de $R^2 = 97,8\%$ para pejerrey de mar. Al parecer hay un intercambio en prioridad para estas especies de tipo c3clico con el transcurso de los a3os.

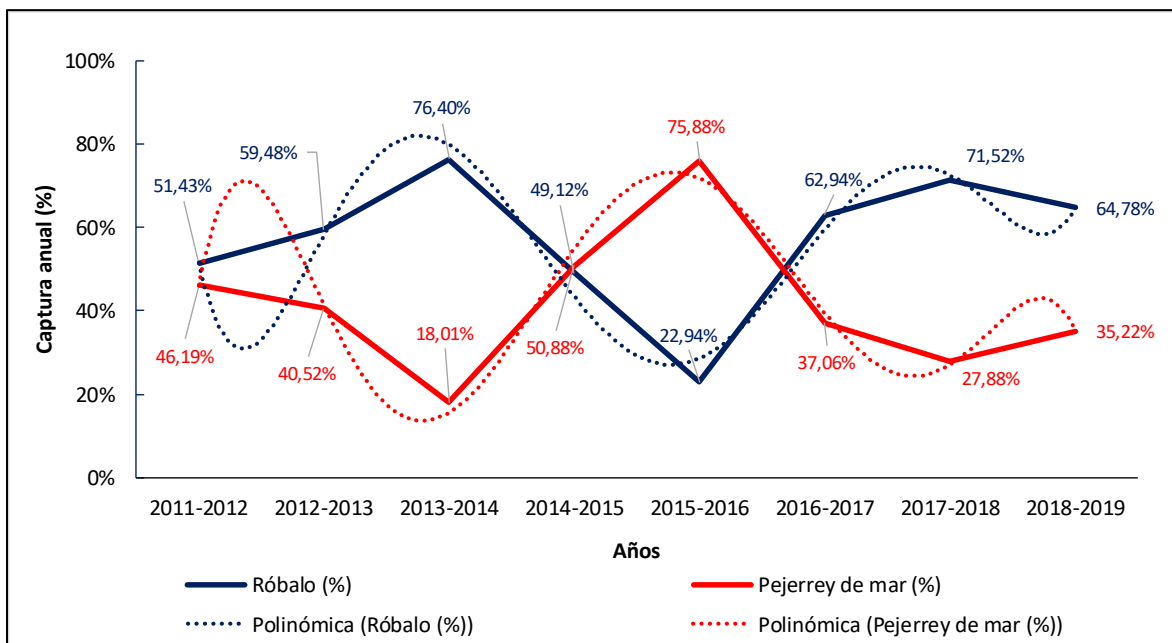


Figura 117. Tendencia de especies capturadas (r3balo y pejerrey de mar) para la zona de Chilo3 sur, Regi3n de Los Lagos durante el periodo 2011 hasta el a3o 2019.

En la zona de Punta Arenas, las capturas estuvieron principalmente compuestas por las especies r3balo y pejerrey de mar (**Figura 118**). Ambas especies presentaron tendencias c3clicas de tipo polinomial de quinto orden para pejerrey de mar, y de sexto orden para r3balo. En esta 3ltima especie, se observan una mantenci3n estable en la captura a trav3s del tiempo, superando el 90% durante el 3ltimo periodo (2018-2019). En el caso del pejerrey de mar se observ3 al aumento entre los a3os comprendidos entre 2011 y 2014, sin superar el 40%, pero disminuye hacia el 2015-2019 (2%). Las ecuaciones que estas tendencias son: $y = 8,4132 - 16,627x + 12,594x^2 - 4,5518x^3 + 0,852x^4 - 0,0797x^5 + 0,0029x^6$, con una explicaci3n de $R^2 = 98,3\%$ para r3balo; $y = 0,8637 - 1,7588x + 1,1822x^2 - 0,3186x^3 + 0,0373x^4 - 0,0016x^5$, con una explicaci3n de $R^2 = 90,9\%$ para pejerrey de mar.

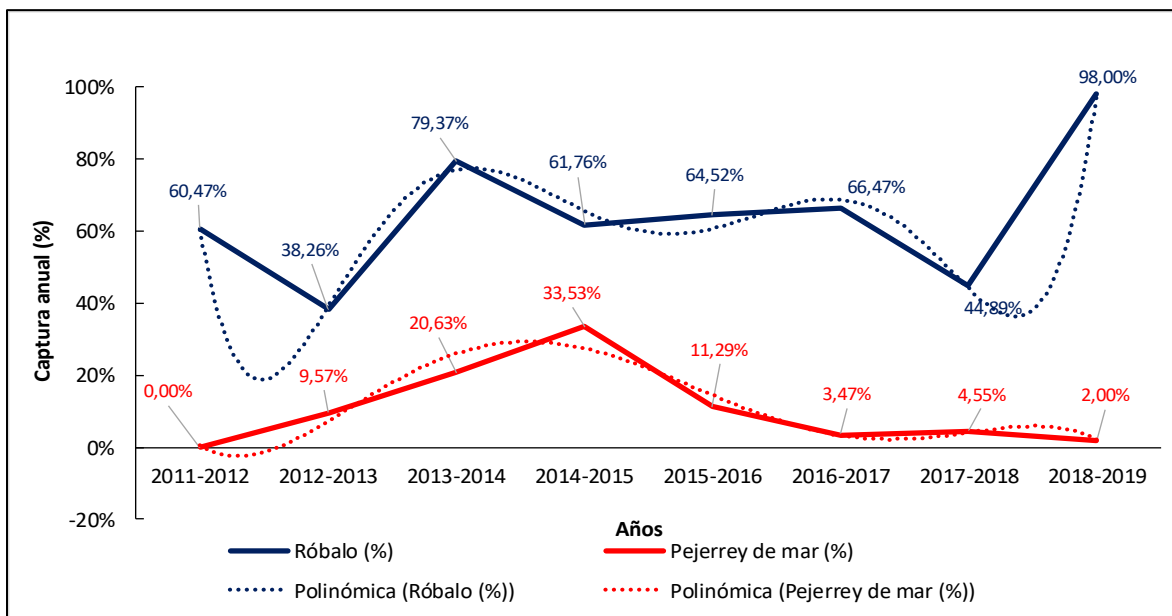


Figura 118. Tendencia de especies capturadas (r3balo y pejerrey de mar) para la zona de Punta Arenas, Regi3n de Magallanes y de la Ant3rtica Chilena, durante el periodo 2011 hasta el a3o 2019.

Zonas con 9 a3os de registro.

Para la zona de Estuario y Seno del Reloncav3 (Figura 119), las especies r3balo y pejerrey de mar muestran tendencias c3clicas de tipo polin3mica de sexto orden. Para r3balo se observan capturas estables con el transcurso del tiempo siendo superior al 40% y llegando al 100% el periodo 2018-2019. Para el caso de pejerrey de mar, se observa que las capturas se mantienen en torno al 34% durante el periodo 2015-2018, para luego disminuir hasta 0% el periodo 2018-2019. Las ecuaciones que explican estas tendencias son: $y = -1,0035 + 3,3321x - 2,5055x^2 + 0,8642x^3 - 0,1485x^4 + 0,0124x^5 - 0,0004x^6$, con una explicaci3n de $R^2 = 90,7\%$ para r3balo; $y = 0,0532 - 0,5443x + 0,9848x^2 - 0,4425x^3 + 0,0855x^4 - 0,0075x^5 + 0,0002x^6$, con una explicaci3n de $R^2 = 88,5\%$.

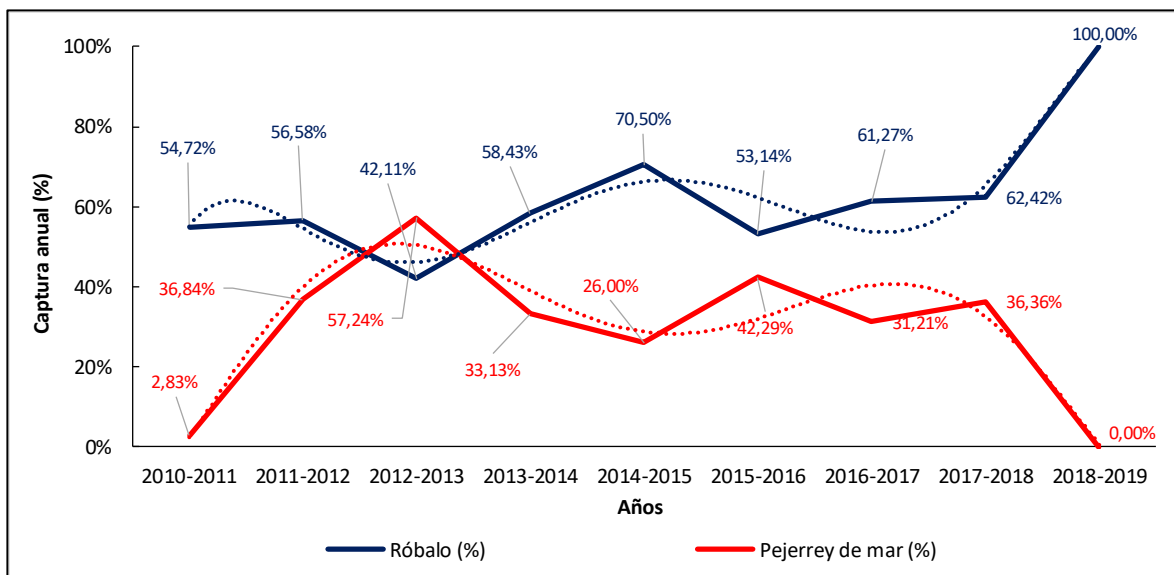


Figura 119. Tendencia de especies capturadas (pejerrey de mar, r3balo y trucha arcoiris) para la zona del Estuario y Seno del Reloncav3, Regi3n de Los Lagos durante el periodo 2010 hasta el a3o 2019.

Para el caso de Melinka y Guaitecas (**Figura 120**), se observ3 que las capturas estaban compuestas principalmente por r3balo y pejerrey de mar, las cuales presentaron tendencias c3clicas de tipo polinomial de sexto orden. Se observa que r3balo ha disminuido hacia el periodo 2014-2015 (33,53%), no obstante, a contar del 2016-2019 han aumentado sus capturas llegando al 93,04% en el 3ltimo a3o. Por el contrario, el pejerrey de mar muestra una tendencia al aumento hacia el periodo entre 2014 - 2015 (62,35%), pero con una disminuci3n hacia el 2015-2019, alcanzando un 6,96%. Estas tendencias son explicadas mediante las ecuaciones: $y = 5,0879 - 8,0799x + 5,4264x^2 - 1,7408x^3 + 0,2846x^4 - 0,0229x^5 + 0,0007x^6$, con una explicaci3n de $R^2 = 96,3\%$ para r3balo; $y = -6,9638 + 14,055x - 9,8215x^2 + 3,23x^3 - 0,5396x^4 + 0,0443x^5 - 0,0014x^6$, con una explicaci3n $R^2 = 90,9\%$ para pejerrey de mar.

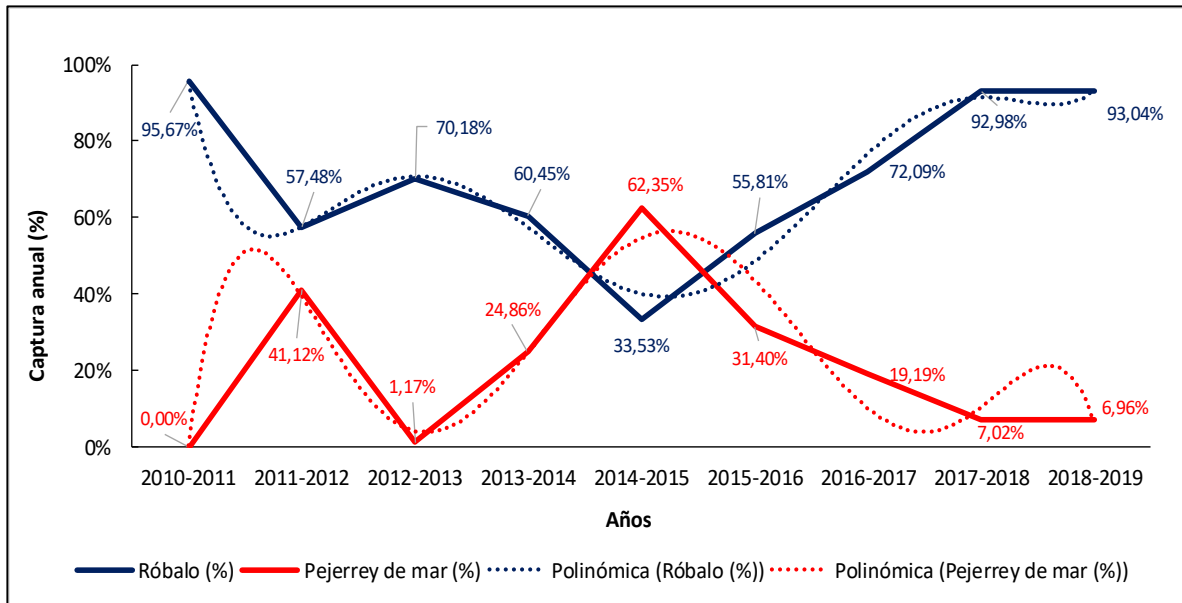


Figura 120. Tendencia de especies capturadas (pejerrey de mar y r3balo) para la zona de Melinka y Guaitecas norte, de la Regi3n de Ays3n del General Carlos Ib3n3ez del Campo, durante el periodo 2010 hasta el a3o 2019.

Las tendencias de capturas para la zona de Chilo3 central (**Figura 121**), estuvieron compuestas principalmente por las especies r3balo y pejerrey de mar. Ambas especies presentaron tendencias c3clicas de tipo polinomial de sexto orden. Los resultados para r3balo sugieren que las capturas se han mantenido en el tiempo con leves disminuciones en el periodo comprendido entre 2012 y 2014, manteni3ndose en torno al 56% durante el periodo 2015-2019. Del mismo modo, se observa que las capturas de pejerrey de mar se mantienen en torno al 44% (2013-2019). Las ecuaciones que explican estas tendencias son: $y = -2,9182 + 6,3216x - 4,1294x^2 + 1,2826x^3 - 0,2053x^4 + 0,0164x^5 - 0,0005x^6$, con una explicaci3n de $R^2 = 89,06\%$ para r3balo; $y = 3,0881 - 5,4622x + 3,7741x^2 - 1,207x^3 + 0,1964x^4 - 0,0158x^5 + 0,0005x^6$, con una explicaci3n de $R^2 = 86,66\%$ para pejerrey de mar.

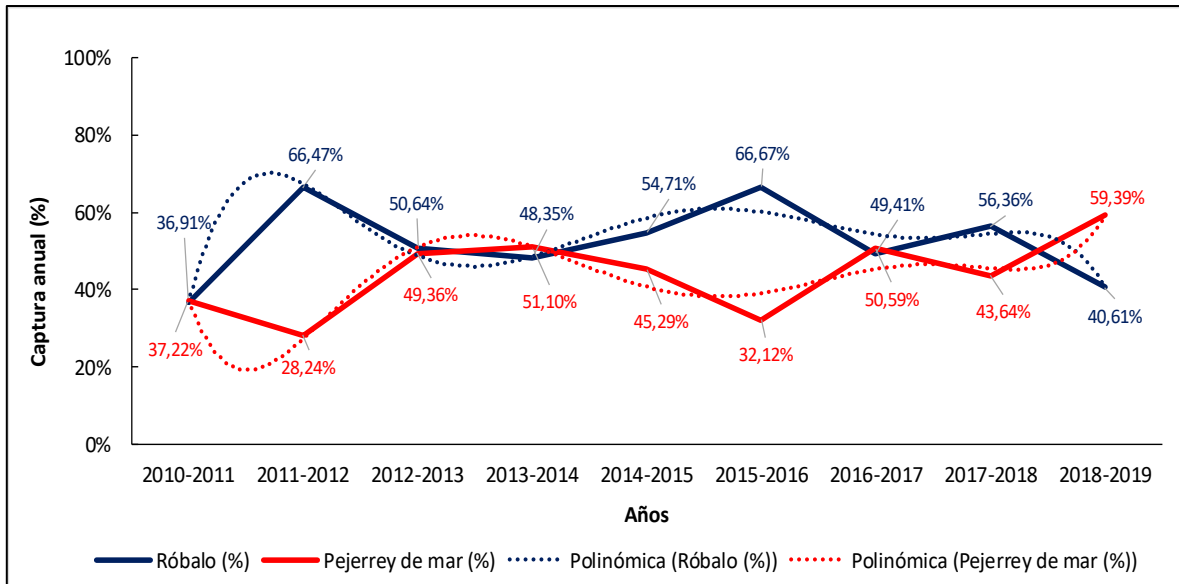


Figura 121. Tendencia de especies capturadas (pejerrey de mar y r3balo) para la zona de Chilo3 central, Regi3n de Los Lagos durante el periodo 2010 hasta el a3o 2019.

5.9.5 An3lisis de resultados positivos a pat3genos durante el periodo de estudio 2010 - 2019.

Los resultados positivos totales a cada pat3geno se encuentran detallados en la **Tabla 35**. Se observa que *F. psychrophilum* present3 resultados positivos que no superan el 5% durante todo el estudio. Para el caso de IPNV, se observa que los resultados positivos detectadas en especies silvestres han aumentado para el periodo comprendido entre el a3o 2013 y 2016 (alcanzando un 2,5%), pero disminuyendo a contar del 2016, llegando a 0,05% el 2019. Para el caso de PRV, se han registrado casos positivos entre los a3os 2013 y 2019, pero sin superar el 1,5% del total de casos. En estos tres pat3genos se puede observar en los datos que la tendencia de presentaci3n es c3clica con aumentos y disminuciones, sobre todo hacia el final del estudio (2016-2019) en que observan descensos con datos que no sobrepasaron el 1%. De manera adicional, el periodo 2018-2019 corresponde al primer a3o del programa en que se presentaron casos positivos al pat3geno *R. salmoninarum*, sin embargo, solo se presentaron 3 casos, los que no sobrepasaron el 0,1%.

El pat3geno *P. salmonis* registra datos para los nueve a3os de estudio, por lo que el an3lisis de tendencias, se centrar3 este pat3geno.



Tabla 35.

Resumen de resultados positivos totales para cada patógeno durante el periodo de estudio que comprende desde el año 2010 hasta el año 2019 (I: 2010-2011; II: 2011-2012; III: 2012-2013; IV: 2013-2014; V: 2014-2015; VI: 2015-2016; VII: 2016-2017; VIII: 2017-2018; IX: 2018-2019).

Patógeno	Resultado	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	Total general
<i>P. salmonis</i>	Negativo (n)	762	1649	2013	1611	2411	2150	1740	2199	2122	16657
	Positivo (n)	34	577	62	142	123	282	703	110	38	2071
	Análisis totales (n)	796	2226	2075	1753	2534	2432	2443	2309	2160	18728
	Positividad (%)	4,3%	25,9%	3,0%	8,1%	4,9%	11,6%	28,8%	4,8%	1,8%	11,1%
<i>F. psychrophilum</i>	Negativo (n)		2017	2511	1066	2550	2466	2545	2434	2339	17928
	Positivo (n)		107		4	13	10	82	15	13	244
	Análisis totales (n)		2124	2511	1070	2563	2476	2627	2449	2352	18172
	Positividad (%)		5,0%	0,0%	0,4%	0,5%	0,4%	3,1%	0,6%	0,6%	1,3%
IPNv	Negativo (n)		4340	4298	2808	4571	4579	4692	4469	4188	33945
	Positivo (n)		1		15	34	118	4	3	2	177
	Análisis totales (n)		4341	4298	2823	4605	4697	4696	4472	4190	34122
	Positividad (%)		0,0%	0,0%	0,5%	0,7%	2,5%	0,1%	0,1%	0,05%	0,5%
PRV	Negativo (n)			2029	605	1670	1617	1601	1498	1417	10437
	Positivo (n)				1	24	21	10	7	15	78
	Análisis totales (n)			2029	606	1694	1638	1611	1505	1432	10515
	Positividad (%)			0,0%	0,2%	1,4%	1,3%	0,6%	0,5%	1,0%	0,7%
BKD	Negativo (n)									4187	4187
	Positivo (n)									3	3
	Análisis totales (n)									4190	4190
	Positividad (%)									0,1%	0,1%
Total general	Positivos totales (n)	34	685	62	162	194	431	799	135	71	2573
	Total general (n)	796	4949	4487	3040	4695	4704	4699	4478	4190	36038
	Positividad (%)	4,3%	13,8%	1,4%	5,3%	4,1%	9,2%	17,0%	3,0%	1,69%	7,14%

Se realizó un análisis de tendencias sobre los resultados positivos totales, considerando a todos los patógenos en el mismo análisis (**Figura 122**). Mediante la aplicación de un modelo polinomial de sexto orden, a través de la ecuación $y = -0,4092 + 0,7219x - 0,3002x^2 + 0,0277x^3 + 0,0067x^4 - 0,0014x^5 + 7E-05x^6$ (el cual tiene un nivel de explicación de $R^2 = 74,7\%$), se puede observar que los resultados positivos en peces silvestres tienden a comportarse en forma cíclica en el transcurso del tiempo, presentando aumentos y disminuciones. Sin embargo, se destaca que los valores no superaron el 20%. Para el periodo 2015-2017 se registra un aumento que alcanza un 17% en el último periodo, el cual disminuye llegando hasta un 1,7% en el periodo 2018-2019. Esta tendencia está mayormente explicada por los resultados positivos a *P. salmonis*, por lo que sus tendencias son similares.

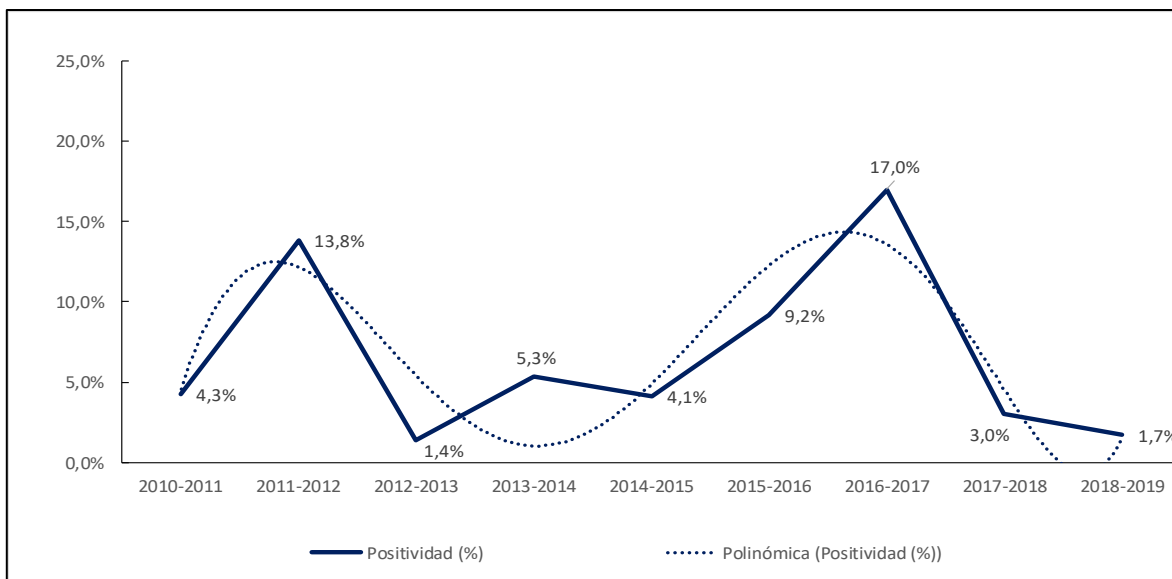


Figura 122. Tendencia de resultados positivos totales registrados durante el periodo de estudio que comprende desde el año 2010 hasta el año 2019.

5.9.6 Análisis de positividad a *Piscirickettsia salmonis* durante el periodo de estudio 2010 - 2019.

Del análisis de tendencias de resultados positivos a *P. salmonis* (**Figura 123**) se puede mencionar que presenta una tendencia cíclica de tipo polinomial de sexto orden mostrando incrementos y disminuciones en el tiempo. Uno de los mayores incrementos ocurrió en el periodo 2011-2012, para posteriormente disminuir hacia el año 2013. En el año 2016 ocurre nuevamente un aumento en los resultados positivos, alcanzando el 11,6% y posteriormente aumenta a 28,8% en el periodo 2016-2017. Nuevamente hacia el 2018, esta tendencia disminuye, alcanzado un 1,8% durante el último periodo. El comportamiento de los datos se explica a través de la ecuación $y = -0,9051 + 1,5025x - 0,6237x^2 + 0,0666x^3 + 0,0098x^4 - 0,0023x^5 + 0,0001x^6$, con una explicación de $R^2 = 72,62\%$.

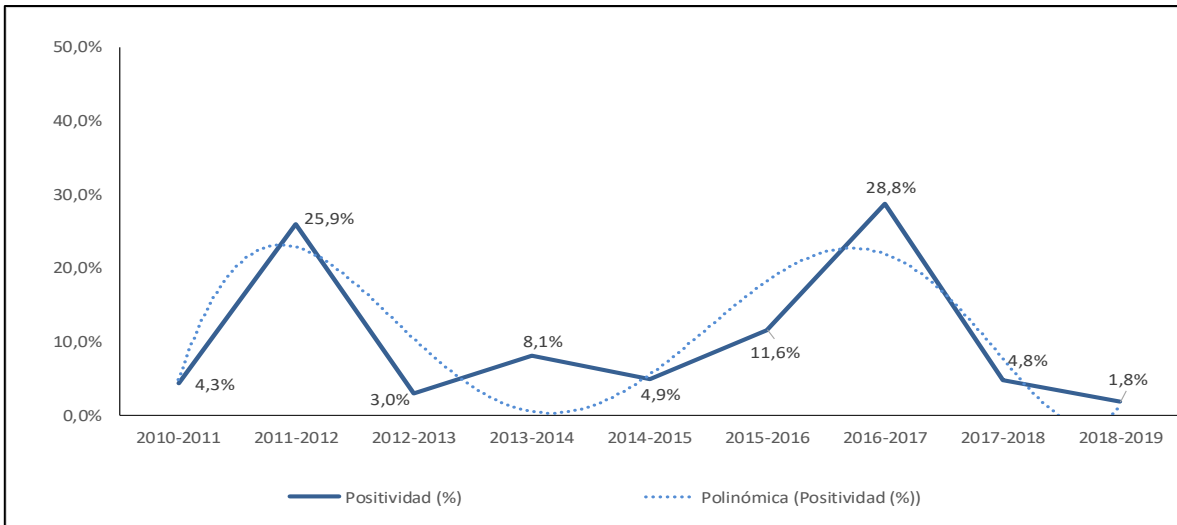


Figura 123. Tendencia de resultados positivos totales a *Piscirickettsia salmonis* registradas durante el periodo de estudio que comprende desde el a1o 2010 hasta el a1o 2019.

Adicionalmente, se realiz3 un an3lisis de tendencias de resultados positivos a *P. salmonis* en aquellas zonas que presentaron registros de capturas y resultados positivos para los ocho y nueve a1os de programa. La zona de Estuario Valdivia (**Figura 124**), los datos muestran un buen ajuste a un modelo de tipo polin3mico de sexto orden, con la ecuaci3n $y = 3,3736 - 6,1806x + 4,6408x^2 - 1,7819x^3 + 0,3652x^4 - 0,0375x^5 + 0,0015x^6$, con una explicaci3n del $R^2 = 81,64\%$. Este modelo explica que los resultados positivos presentan incrementos y disminuciones en el tiempo, bajo una tendencia c3clica con tendencia al aumento (periodo 2015-2016) y disminuci3n hacia el 2016-2019.

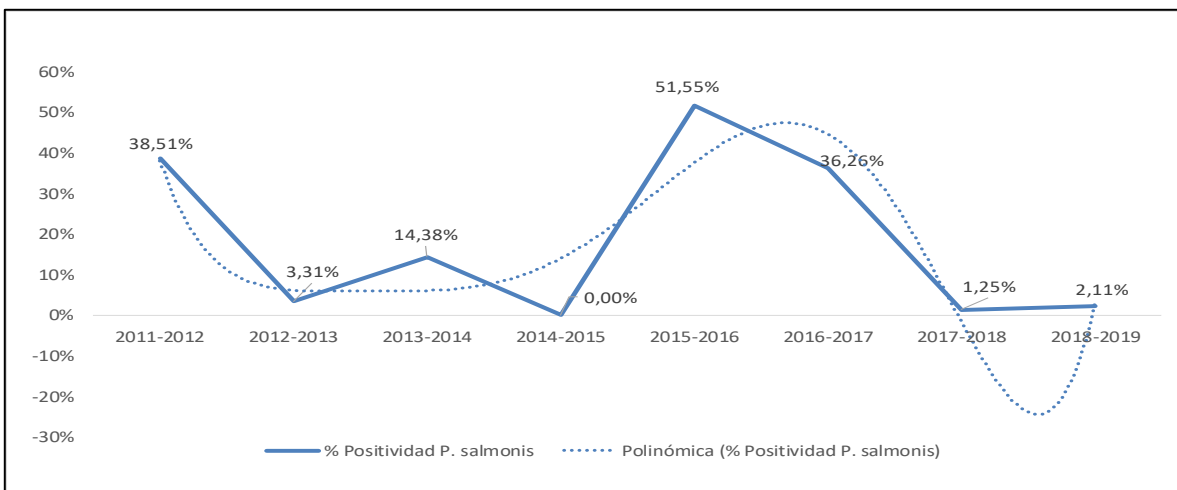


Figura 124. Tendencia de resultados positivos totales a *Piscirickettsia salmonis* registradas para la zona de Estuario Valdivia durante el periodo de estudio 2011 hasta el a1o 2019.

La zona Estuario y Seno del Reloncaví, presentó registros para nueve años y la tendencia observada corresponde a una de tipo polinomial de sexto orden (**Figura 125**), que sugiere que los datos han presentado disminuciones durante los años 2010 y 2013, para posteriormente mostrar incrementos estables, llegando al 65,3% en el período 2016-2017, para posteriormente experimentar un brusco descenso, alcanzando el 1,9% en el último período de programa (2018-2019). La ecuación que explica esta tendencia es $y = 4,3648 - 8,6333x + 6,2981x^2 - 2,1869x^3 + 0,3876x^4 - 0,0337x^5 + 0,0011x^6$, con una explicación de $R^2 = 59,83\%$.

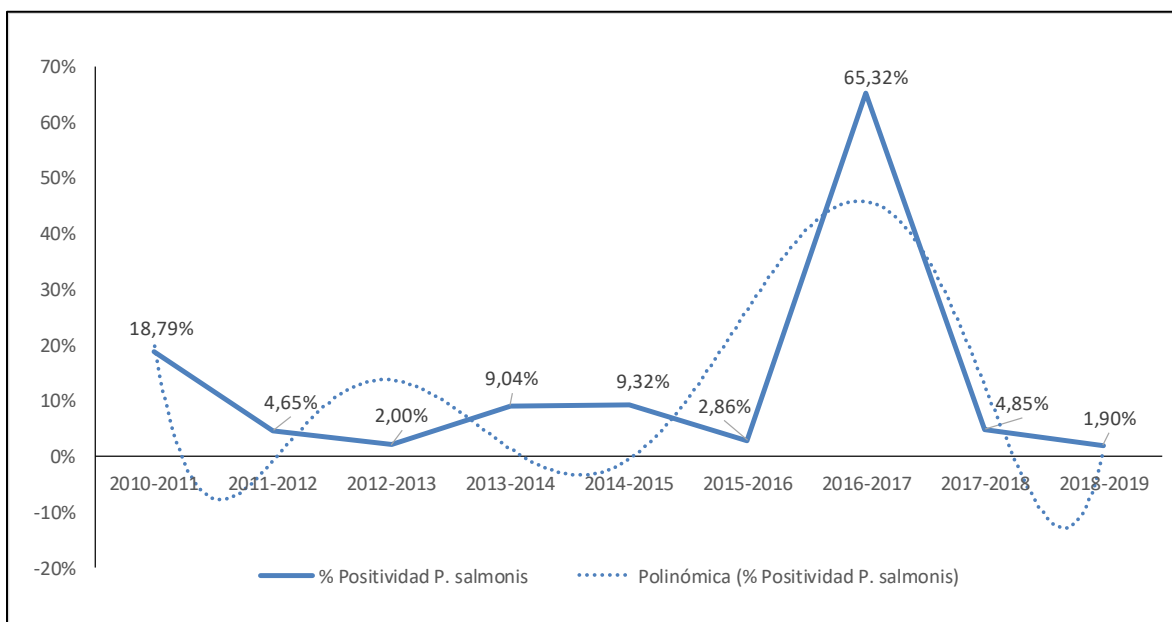


Figura 125. Tendencia de resultados positivos totales a *Piscirickettsia salmonis* registradas para la zona de Estuario y Seno del Reloncaví durante el periodo de estudio 2010 hasta el año 2019.

Para la zona de Chiloé central (**Figura 126**), se observa una tendencia de tipo polinomial de sexto orden que disminuye con el transcurso del tiempo hacia el 2015. Esto sugiere que los resultados positivos tienen un patrón cíclico con el transcurso del tiempo, observándose porcentajes similares entre el año 2012 y el 2016 (aumentos y disminuciones similares), pero registrando un aumento abrupto en el periodo 2016 - 2017 (50%), el cual disminuye hacia el 2019 (1,21%). La ecuación que explica esta tendencia es: $y = -2,3544 + 4,137x - 2,1284x^2 + 0,4607x^3 - 0,0422x^4 + 0,0011x^5 + 3E-05x^6$, con una explicación de $R^2 = 62,77\%$.

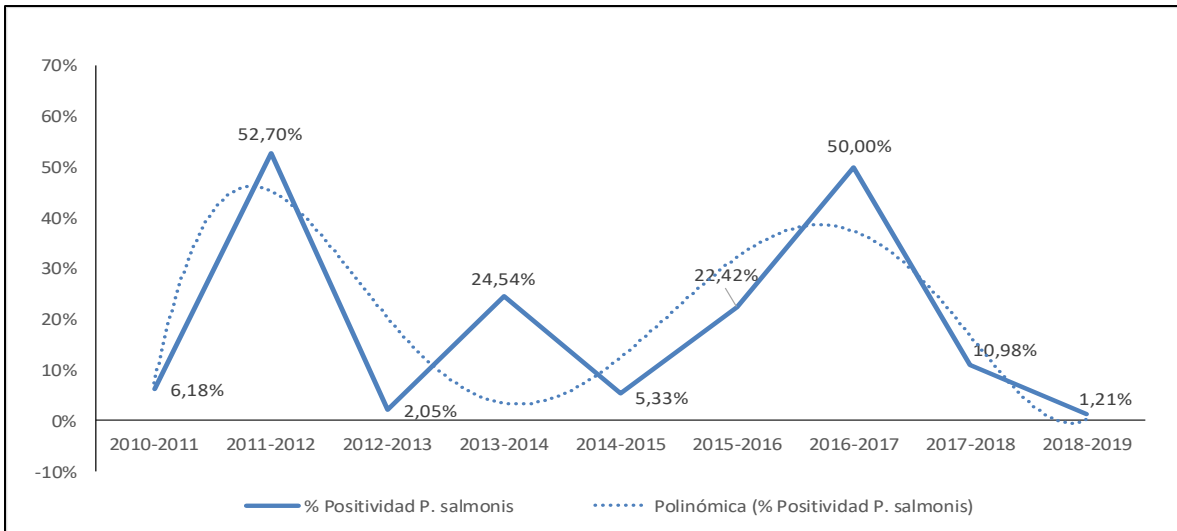


Figura 126. Tendencia de resultados positivos totales a *Piscirickettsia salmonis* registradas para la zona de Chiloé central durante el periodo de programa 2010 hasta el año 2019.

En cuanto a los resultados positivos observados para Chiloé sur (**Figura 127**), pueden ser explicadas a través de un modelo de tipo polinomial de sexto orden, mediante la ecuación $y = 6,3327 - 12,484x + 9,4711x^2 - 3,4726x^3 + 0,6571x^4 - 0,0617x^5 + 0,0023x^6$, con una explicación del $R^2 = 99,85\%$. Se destaca que al final del periodo de estudio, se presenta una disminuci3n que alcanza un 1,25%.

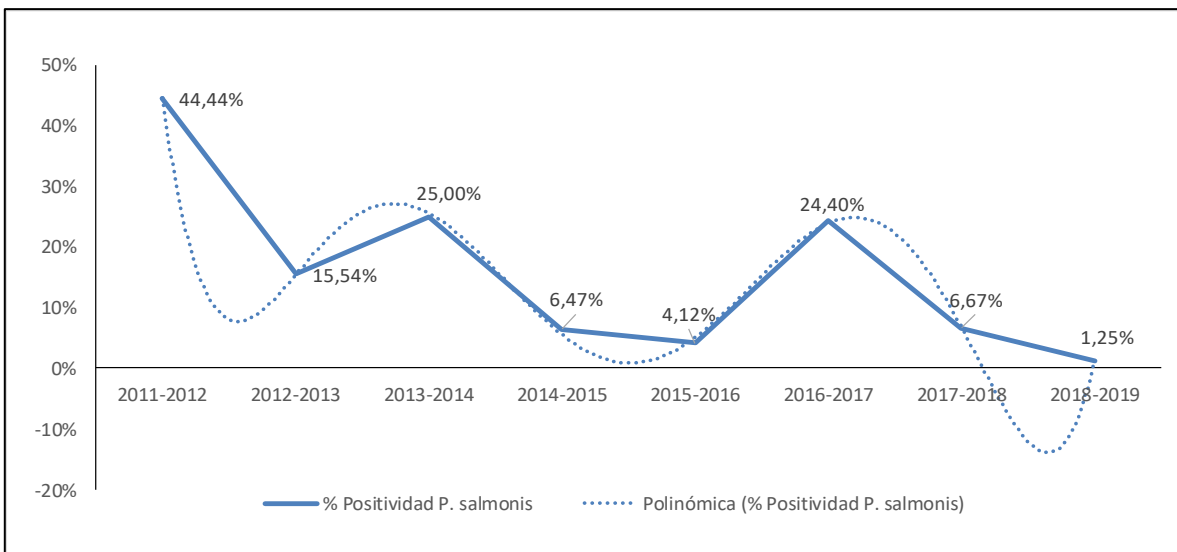


Figura 127. Tendencia de resultados positivos totales a *Piscirickettsia salmonis* registradas para la zona de Chiloé sur durante el periodo de programa 2011 hasta el año 2019.

Para la zona de Melinka y Guaitecas Norte, que tambi3n present3 registros para los nueve a3os de programa (**Figura 128**), los datos muestran una tendencia de tipo polinomial de sexto orden y c3clica. Presenta incrementos entre el a3o 2010 a 2012, disminuyendo hacia el 2013, para posteriormente aumentar nuevamente hacia 2014 y 2015. Nuevamente, el porcentaje decrece hacia el 2016 y aumenta a 41,28% en el a3o 2017. Posteriormente, se observa una disminuci3n hacia el 3ltimo periodo que alcanza un 1,25%. El modelo que explica esta tendencia es $y = -1,1651 + 1,8631x - 0,7428x^2 + 0,0671x^3 + 0,0149x^4 - 0,003x^5 + 0,0001x^6$, el cual tiene un nivel de explicaci3n del $R^2 = 51,47\%$.

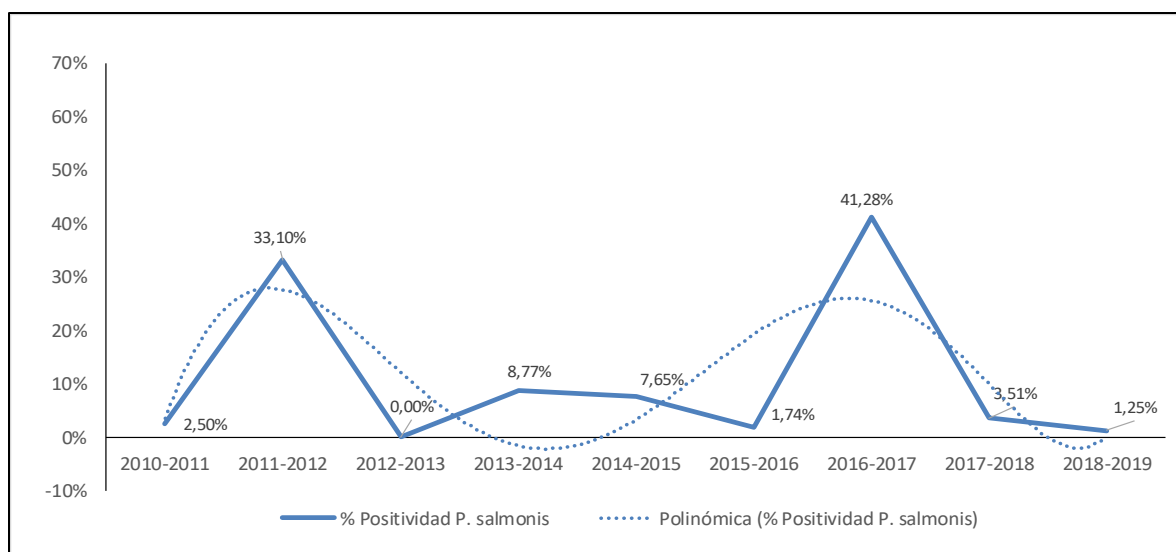


Figura 128. Tendencia de resultados positivos totales a *Piscirickettsia salmonis* registradas para la zona de Melinka y Guaitecas norte durante el periodo de programa 2010 hasta el a3o 2019.

Para la zona de Puerto Natales (**Figura 129**), los resultados positivos pueden ser explicadas mediante el modelo de tipo polinomial de sexto orden, sugiriendo una disminuci3n hacia el a3o 2013, seguido de una estabilidad en los resultados positivos entre 2012 y 2016. Posteriormente ocurri3 un aumento abrupto que alcanz3 un 49,41% para el periodo 2016-2017. Para el 3ltimo periodo se registr3 una disminuci3n que alcanz3 un 2,13%. La ecuaci3n para esta tendencia es $y = 6,6895 - 14,02x + 10,989x^2 - 4,1702x^3 + 0,8176x^4 - 0,0793x^5 + 0,003x^6$, el cual tiene una explicaci3n del $R^2 = 87,95\%$.

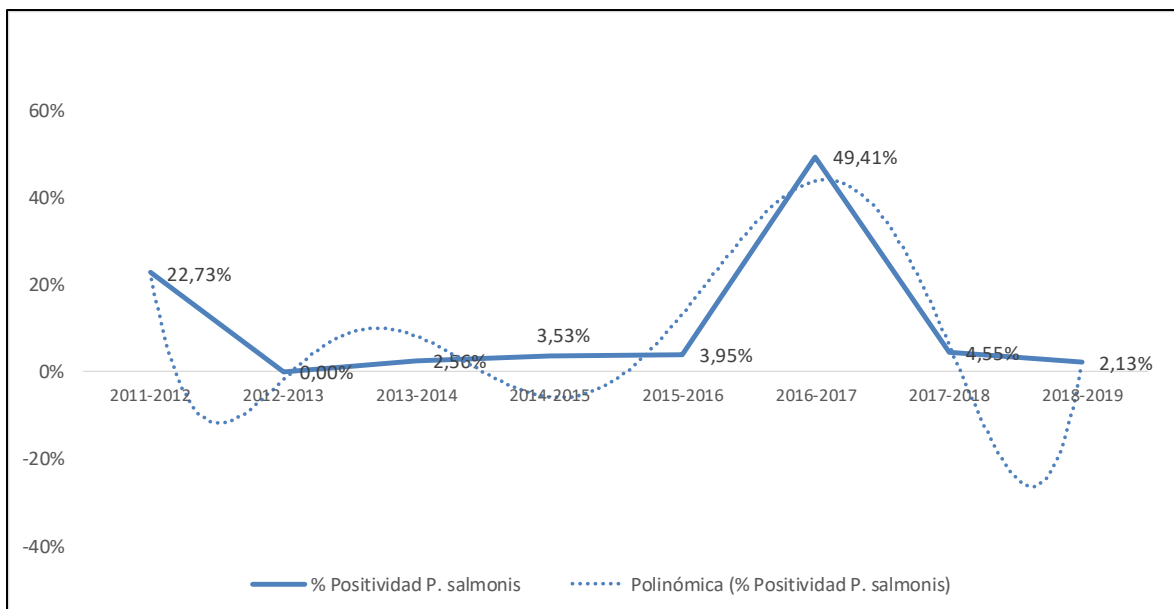


Figura 129. Tendencia de resultados positivos totales a *Piscirickettsia salmonis* registradas para la zona de Puerto Natales durante el periodo de programa 2011 hasta el año 2019.

De igual modo, y considerando que las especies r3balo y pejerrey de mar correspondieron a las especies m3s capturadas en proporci3n para el periodo 2010 al 2019, se abordarán las tendencias de sus resultados positivos al pat3geno *P. salmonis*.

Para la especie r3balo, se observa en la **Figura 130**, que una de las máximas resultados positivos para la totalidad de las zonas se presentó en el periodo 2011-2012 con un 29,6%, para luego presentar un descenso en el periodo 2012-2013, llegando al 6%, a partir del cual se ha mantenido relativamente constante a través del tiempo, registrándose un 4.9% de resultados positivos en el periodo 2014-2015. Para el periodo 2015-2016 se registra un aumento alcanzando el 13,92%, que continúa aumentando hasta alcanzar el máximo (29,7%) en el periodo 2016-2017. Hacia el 2019, esta tendencia disminuye hasta alcanzar un 1,8%. Por otra parte, los resultados positivos también pueden ser explicadas mediante el modelo de tipo polinomial de sexto orden, con tendencias cíclicas a través del tiempo. El modelo que explica esta tendencia es $y = -0,9917 + 1,6414x - 0,6579x^2 + 0,0583x^3 + 0,014x^4 - 0,0028x^5 + 0,0001x^6$, el cual presentó un nivel de explicaci3n del $R^2 = 80,36\%$.

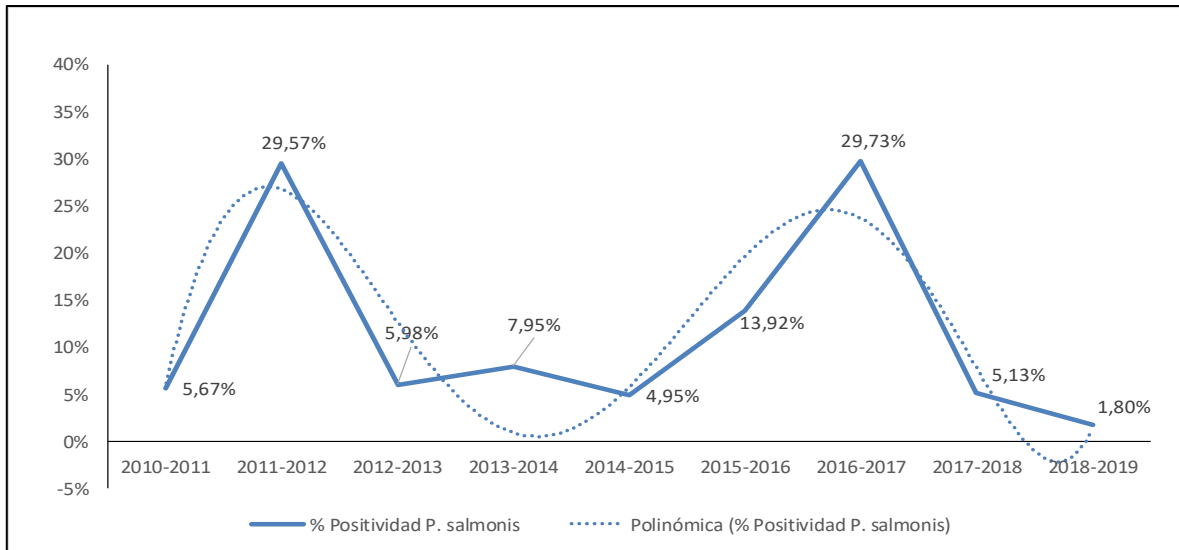


Figura 130. Tendencia de resultados positivos de la especie r3balo a *Piscirickettsia salmonis* registradas para la totalidad de las zonas durante el periodo de programa 2010 hasta el a3o 2019.

Para la especie pejerrey, se observa en la **Figura 131** que una de los m3ximos resultados positivos para la totalidad de las zonas se present3 en el periodo 2011-2012 con un 27,1%, para luego presentar un descenso en el periodo 2012-2013, llegando al 0,52%, a partir del cual se aumentaron nuevamente a 11,5% para llegar al periodo 2014-2015 con un 4,1%, presentando un aumento alcanzando el 10,61% en el periodo 2015-2016. Posteriormente, se presenta el m3ximo incremento de resultados positivos alcanzando 34,99% en el 2016-2017. Esta tendencia disminuye hacia el 2019 alcanzando un 1,89%. Adicionalmente, los resultados positivos tambi3n pueden ser explicadas mediante el modelo de tipo polinomial de sexto orden, con tendencias c3clicas de resultados positivos a trav3s del tiempo. El modelo que explica esta tendencia es $y = -0,3036 + 0,4978x + 0,025x^2 - 0,1399x^3 + 0,0441x^4 - 0,0051x^5 + 0,0002x^6$, el cual present3 un nivel de explicaci3n del $R^2 = 59,36\%$.

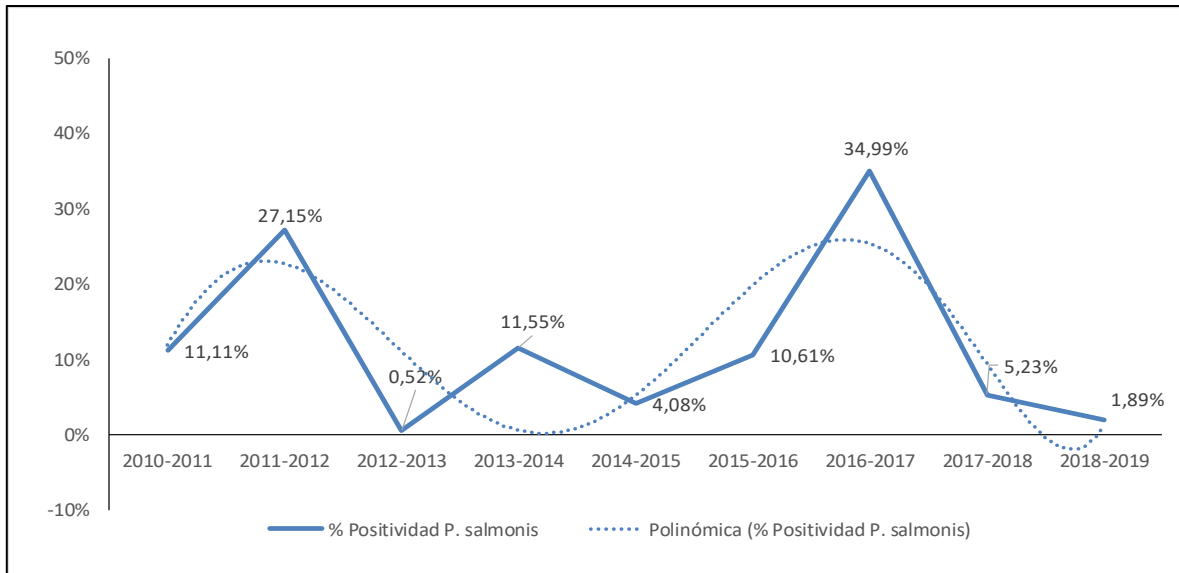


Figura 131. Tendencia de resultados positivos de la especie pejerrey de mar a *P. salmonis* registradas para la totalidad de las zonas durante el periodo de programa 2010 hasta el a3o 2019.

En relaci3n al an3lisis de las tendencias efectuado en t3rminos de capturas y n3mero de muestras positivas de los principales pat3genos de inter3s desde el punto de vista sanitario, para las zonas muestreadas desde la Regi3n de La Araucan3a a la Regi3n de Magallanes y de la Ant3rtica Chilena, en t3rminos de brechas, ser3a importante considerar al menos lo siguiente:

- 1.- Se hace necesario incorporar antecedentes de la din3mica de poblaciones en peces silvestres, sobre todo de aquellas especies que cohabitan en las cercan3as a los centros de cultivo de salm3nidos, que consideren variables biol3gicas y ambientales, como patrones reproductivos, conductas de alimentaci3n, interacciones entre especies y su rol en la cadena tr3fica, los efectos de par3metros ambientales en la biolog3a de las especies, y finalmente la existencia de migraciones, aspectos que sin duda ayudar3n a comprender de mejor forma la biolog3a de estas especies, adem3s de dilucidar el potencial rol epidemiol3gico que puedan cumplir estas especies tanto como mantenedores de los agentes infecciosos, o bien como portadores y/o diseminadores de pat3genos y sus enfermedades hacia otras zonas .
- 2.- El hecho que a3n existan algunas zonas donde no es posible la obtenci3n peri3dica del total de los ejemplares comprometidos por zona geogr3fica de monitoreo, a pesar de los esfuerzos reiterados de captura que se realizan, dificultar3a el poder establecer tendencias del comportamiento de las capturas/positividades de las principales especies silvestres que son objeto de captura.



3.- Finalmente, el hecho de que periódicamente se deban estar evaluando y redireccionando los muestreos hacia aquellos barrios dentro de las macrozonas sanitarias con mayor tasa de mortalidad específica a *P. salmonis*, implica el disponer de más recursos para poder abordar las zonas de mayor interés del punto de vista sanitario, algunas más lejanas que otras, y en caso que estas no puedan ser abordadas, podría afectar la posibilidad de detectar y de disponer de un mayor número de muestras positivas, e impedir tener una visión más completa de la situación sanitaria de los peces silvestres en las regiones y áreas sometidas a monitoreo.

Otras actividades complementarias

- **Taller de difusión de resultados**

Con fecha 24 de septiembre del 2019, se realizó en la ciudad de Puerto Montt, el taller de difusión de resultados del estudio “Evaluación y seguimiento de la situación sanitaria de especies silvestres en agua dulce y mar”, evento que contó con la participación de profesionales de la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura, Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura, laboratorios de diagnóstico, universidades, empresas salmonicultoras y profesionales del Instituto de Fomento Pesquero, entre otros. En el **Anexo 5**, se presenta el programa del Taller y el listado de asistentes a la actividad.

- **Documento Borrador**

Se elaboró un documento borrador (**Anexo 6**), con los principales resultados del estudio, según estaba estipulado en los Términos Técnicos de referencia del Programa.



6. DISCUSIÓN

- ❖ En relación a las capturas de peces objetivo, se ha observado que, durante la ejecución de este programa, y pese a la utilización 5 tipos de medida de tramado de la red de pesca, ha predominado la captura de la especie silvestre róbalo, en cuerpos de agua de mar, y la especie trucha arcoíris en el caso de cuerpos de agua dulce, seguido de pejerrey. En el caso de la especie róbalo, claramente ha demostrado ser, en términos de captura, una de las especies más abundantes, considerando de todas las zonas de muestreo localizadas en los canales interiores del sur de Chile. Esta corresponde a una especie que habita frecuentemente en las áreas costeras y del mar interior, desembocaduras de ríos y estuarios (Pavés *et al.*, 2005), y dado que las capturas en el marco del programa se realizan en dichas zonas, y más específicamente, en puntos cercanos a los centros de cultivo, se observa que al parecer esta especie permanece en los alrededores de las jaulas donde se cultiva el salmón, posiblemente dada la existencia de una fuente de alimento disponible, que correspondería al alimento no consumido por los salmones de cultivo. Evidencia de lo anterior es la presencia, en estómagos de los róbalo analizados en la necropsia, de pellet como contenido gástrico. Si bien los hábitos alimenticios del róbalo indican que su dieta usualmente consiste de una variedad de organismos bénticos tales como poliquetos y crustáceos (Pavés *et al.*, 2005), existen antecedentes desde el punto de vista de su conducta alimenticia, que evidencian un comportamiento similar a una especie omnívora a través de todo su ciclo de vida (Licandeo & Barrientos, 2006).

En el caso de trucha arcoíris, esta especie ha demostrado tener las mayores representatividades de captura y predominio en la mayoría de los lagos monitoreados en el actual programa, con respecto de las especies nativas presentes en dichos cuerpos de agua. Del total de especies que han sido capturadas en los dieciocho cuerpos de agua dulce (lagos y ríos) incluidos en el programa desde el año 2013 al 2019 (n=13.422), el 54% ha correspondido a especies salmónidas, y el 46% restante a especies nativas (perca trucha, peladilla y pejerrey), porcentajes relativamente similares a lo presentado en el período 2018-2019. En este contexto, Arismendi *et al.*, (2009) efectuaron un estudio tendiente a documentar el historial de poblaciones de salmónidos no nativos escapadas y autosuficientes en lagos del norte de la Patagonia, donde se realizó un muestreo de peces entre los años 1992 a 2001, durante diferentes estaciones del año, en seis lagos del sur de Chile (lago Ranco, Puyehue, Rupanco, Llanquihue, Todos Los Santos y Yelcho). Los resultados indican que se capturaron un total de 6.121 peces, de los cuales el 38% correspondió a especies salmónidas y el 62% a peces nativos (*Aplochiton*, *Percichthys* y *Galaxias*). Considerando dichos resultados, y comparándolos con los obtenidos en el presente estudio, y teniendo en cuenta que los lagos muestreados por dichos autores son también objeto de muestreo en el actual programa (con excepción del Lago Todos Los Santos), se ha observado una clara disminución en la abundancia de peces nativos. Una asociación negativa similar se ha demostrado indirectamente en mar y los ríos del sur de Chile (Soto *et al.*, 2001a) y en los ríos de Nueva Zelanda (McIntosh *et al.*, 1992) donde los sitios con alta abundancia de salmónidos, presentan poca abundancia de peces nativos, y aquellos con baja abundancia de salmónidos, presentan alta abundancia de peces nativos. En este sentido, y asociado de manera indirecta a los objetivos y propósitos del presente programa,



se hace necesario generar mayor conocimiento y una mejor comprensión de la dinámica y ecología de poblaciones en ambientes donde interactúan y coexisten ambos grupos de especies.

Respecto de la detección de muestras positivas a patógenos en los ejemplares capturados, con el transcurso de los años de ejecución del programa, en términos generales, se ha observado un comportamiento de ciclicidad en el número de muestras positivas a los agentes patógenos bajo monitoreo, en los cuales se ha detectado la presencia de material genético, observándose este comportamiento de una manera más evidente para el patógeno bacteriano *Piscirickettsia salmonis*; respecto de los otros agentes patógenos con resultados positivos (*F. psychrophilum*, *R. salmoninarum*, IPNV, PRV). Considerando que *P. salmonis* es uno de los agentes bacterianos más relevantes, y es el agente etiológico de la Piscirickettsiosis, una de las amenazas más importantes para la sostenibilidad de la industria salmicultora chilena (Ibieta *et al.*, 2011), toma más relevancia el hecho que durante todos los años de ejecución del presente programa de investigación, *P. salmonis* ha presentado sobre el 80% del total de muestras positivas, y por otro lado, sobre el 60% de esas muestras positivas se han presentado en la especie nativa róbalo. Existen estudios realizados en las especies nativas *Eleginops maclovinus* (róbalo) y *Odonthestes regia* (pejerrey de mar) que mostraron mediante análisis genéticos, que, dentro del tamaño del rango de secuencia analizado, las secuencias espaciadoras transcritas internas 1 (ITS-1) de las cepas chilenas de *P. salmonis* AL10015, IBM001 y EM-90, tenían una identidad del 100% con las secuencias obtenidas de estas especies, por lo que confirman la estrecha relación filogenética de *P. salmonis* descrita en peces nativos y salmónidos de cultivo en Chile (Contreras-Lynch *et al.*, 2015). De igual modo, evidencia de la presencia de esta enfermedad se ha encontrado en otras especies no salmónidas, como el mero *Epinephelus melanostigma* en Taiwan (Chen *et al.*, 2000b), la lubina blanca *Atractoscion nobilis* en California, EUA (Arkush *et al.*, 2005), en el muskellunge *Esox masquinongy* (Thomas & Faisal, 2009), y en Grecia, una confirmación de infección de *P. salmonis* se observó en la lubina o róbalo Europeo *Dicentrarchus labrax* (Athanassopoulou *et al.*, 2004; McCarthy *et al.*, 2005). Considerando los antecedentes anteriores, se hace necesario, por un lado, monitorear a través del tiempo si la especie róbalo continúa siendo la especie donde se reportan el mayor número de muestras positivas al patógeno *P. salmonis*, y por otro lado, dilucidar cual es el rol de las especies nativas en la epidemiología de la transmisión de las enfermedades, ya que se sabe que los sistemas de producción con redes abiertas, atraen un conjunto de peces nativos de gran diversidad en aguas frías (Dempster *et al.*, 2009), lo cual implica que los salmónidos cultivados y nativos entren en contacto y los peces nativos pudieran actuar como vectores de agentes patógenos y/o parasitarios entre centros de cultivo de salmónidos (Johansen *et al.*, 2011).

El segundo agente mayormente detectado durante los años de ejecución del programa de investigación, pero que corresponde al patógeno con mayor número de resultados positivos a nivel de cuerpos de agua dulce, ha correspondido a *Flavobacterium psychrophilum*, el que se ha presentado especialmente en la especie trucha arcoíris, donde ha alcanzado más del 50% del total de muestras positivas que han sido objeto de análisis. Este es el agente causal de la infección sistémica conocida como la enfermedad del agua fría, enfermedad del pedúnculo o síndrome de la trucha arcoíris en salmónidos, nombre que recibe por ser una enfermedad prevalente y afectar principalmente a esta especie (Loch & Faisal, 2015), siendo catalogada como una enfermedad



limitante en la trucha arcoíris (Brun *et al.*, 2009). Importante es destacar que a pesar del asilvestramiento que ha presentado la especie trucha arcoíris, este patógeno primario de salmónidos ha sido capaz de mantenerse en los cuerpos de agua dulce (lagos y ríos) que se encuentran bajo monitoreo, donde habitan salmónidos, además de otras especies de peces nativos con las cuales coexisten. En este contexto, es relevante señalar que la especie con el segundo lugar en número de muestras positivas a *F. psychrophilum* durante los años de monitoreo, correspondió a la especie nativa pejerrey de agua dulce (*Basilichthys australis*), especie en la que no se ha evidenciado la signología clínica clásica de Flavobacteriosis en relación a la que se presenta de manera habitual en salmónidos. Esto coincide a lo reportado por otros autores en otras especies de peces silvestres, los que han encontrado *F. psychrophilum* en peces silvestres utilizados como reproductores, los que no han presentado signos clínicos de la enfermedad, más aún de peces obtenidos desde un medio acuático donde hay peces cultivados que están infectados por la bacteria (Raynard *et al.*, 2007).

Los mismos autores señalan que no hay reportes sobre la enfermedad en peces silvestres en Europa, y tampoco se ha encontrado evidencia directa de transmisión de la enfermedad desde peces silvestres a peces de cultivo (Raynard *et al.*, 2007). Sin embargo, el año 2015 se reportaron brotes clínicos de *F. psychrophilum* en especies silvestres de anguilas en estado moribundo en Europa, donde se describen observaciones clínicas y patológicas de la infección por el agente, registrando lesiones histológicas blancas a nivel del tegumento en diferentes lugares del cuerpo, siendo detectada en todos los casos mediante aislamiento bacteriano (Soares *et al.*, 2019). Estos antecedentes requerirían de más investigación para comprender la patogenicidad de esta bacteria en las anguilas, sin embargo, de igual modo se requiere generar un mayor conocimiento a nivel de las especies de peces silvestres que son capturadas en el marco del programa de investigación, y de forma especial en el pejerrey de agua dulce, a fin de comprender el rol que juega esta especie como posible reservorio del agente patógeno.

- ❖ Respecto de la relación epidemiológica de los brotes de una enfermedad de alto riesgo en especies cultivadas con el estatus sanitario de las especies silvestres que son objeto de muestreo, este análisis se ha centrado en el patógeno *P. salmonis*, considerando la importancia de éste en producir altas mortalidades, siendo uno de los principales problemas para la industria del salmón en Chile (Fryer & Hedrick, 2003). Bajo este contexto, se hace necesario considerar, por ejemplo aspectos de la dinámica y ecología poblacional y conducta migratoria de las especies silvestres, que haga que peces potencialmente positivos migren hacia otras áreas que queden fuera, del punto de vista geográfico, de las zonas seleccionadas para ejecutar los muestreos en el marco del programa de monitoreo, más aun si consideramos a especies que tienen un comportamiento altamente migratorio como la especie róbalo, que es endémico tanto de aguas costeras templadas como subantárticas (Pequeño *et al.*, 1989). Aún más importante a esto, es la periodicidad y estacionalidad con que se llevan a cabo los muestreos, el intervalo acotado del tiempo en que se realizan las pescas de investigación, y la cobertura de los muestreos, donde finalmente solo se dispone de dos eventos de muestreo (verano y otoño), muchos de los cuales carecen de asociación espacio-temporal con los potenciales brotes de Piscirickettsiosis que se pudieran estar presentando a nivel



de los barrios integrantes de las Áreas de Concesiones de Salmonicultura que son objeto de monitoreo por parte del programa. Bajo este escenario, análisis espaciales y temporales son necesarios que consideren las conexiones hidrodinámicas entre poblaciones más aun en investigaciones en salud de animales acuáticos, no obstante, en ocasiones la falta de un conjunto y número de datos adecuados frena la adopción de estos enfoques (Peeler & Taylor, 2011).

A partir de estos resultados, como pasos necesarios a abordar, está el incrementar la cobertura y frecuencia de las capturas a nivel espacial como temporalmente, y realizar estudios filogénicos, que permitan relacionar de mejor forma los brotes de Piscirickettsiosis en las macrozonas sanitarias con la presencia del patógeno en especies de peces silvestres, confirmando así que están siendo afectados por la misma cepa bacteriana.

- ❖ En relación al estudio de cohabitación ejecutado entre la especie silvestre róbalo y salmón del Atlántico, con la finalidad de evaluar la capacidad de que especies no salmónidas puedan actuar como reservorio y/o transmisor de una EAR, el estudio se invalidó dado que no se presentó mortalidad en los ejemplares de salmón del Atlántico cohabitantes del grupo control positivo, donde se debía verificar la transmisión del agente patógeno en la especie susceptible. Probablemente, el inicio temprano de la presentación de mortalidad (día 5 post inoculación) en los ejemplares salmónidos troyanos inoculados con la bacteria, específicamente del grupo control positivo, llevó a que no transcurriera el tiempo suficiente para que los ejemplares troyanos infectados pudieran excretar las cargas bacterianas necesarias que aseguraran la transmisión de la bacteria e infección de los ejemplares cohabitantes a fin de generar signología clínica específica a piscirickettsiosis y mortalidad específica asociada al cuadro clínico en los ejemplares cohabitantes susceptibles al patógeno. De este modo, al día 13 post inoculación de la bacteria, se obtuvo el 100% de mortalidad de salares troyanos en uno de los estanques del grupo control positivo, y al día 17 el 85% de mortalidad en su réplica. Al respecto, un estudio reciente ejecutado por otros autores donde comparan el efecto patogénico de 2 cepas de *P. salmonis* (LF-89 – EM90) en post smolt de salmón del Atlántico por medio de un desafío experimental, reportan el inicio de mortalidad recién al día 20 (LF89) y día 13 (EM90) para cada una de las cepas analizadas, e inicio de mortalidad para los ejemplares cohabitantes al día 40 y día 36; respectivamente (Rozas-Serri *et al.*, 2017). Resultados similares a estos han sido obtenidos en otro estudio realizado por Strand & Midtlyng (2007) quienes desarrollaron modelos de desafíos experimentales por cohabitación para *P. salmonis*. En dicho estudio, los autores reportan igualmente el inicio de mortalidad en peces troyanos inoculados con la cepa LF-89 al día 16 post inoculación. Otros estudios de desafío realizados con *P. salmonis*, muestran variación en el inicio de la mortalidad y desarrollo de la enfermedad, lo cual podría estar relacionado con aspectos como temperatura del agua, salinidad e inclusive características del inóculo (Meza *et al.*, 2019; Vásquez, 2012).

Por otro lado, si bien pueden existir múltiples factores que determinen el éxito de un ensayo experimental, posiblemente la temperatura promedio del agua en la que se ejecutó el ensayo (13,5°C), haya sido un factor que igualmente influyó en la baja transmisión de la bacteria desde la especie salar troyano a salar cohabitante del grupo control positivo. De este modo, considerando



los resultados y experiencias de estudios anteriores realizados en el marco del mismo programa, donde se utilizó la especie trucha arcoíris, se ha propuesto realizar nuevamente el ensayo experimental, pero manteniendo la variable temperatura del agua cercana al valor de 15,8°C, temperatura en el cual si se logró verificar la transmisión de la bacteria *P. salmonis*, desde trucha arcoíris troyana a trucha cohabitante del grupo control positivo (Quintanilla *et al.*, 2016).

No obstante lo anterior, es relevante indicar que, a lo largo del curso del programa de investigación, se han obtenido novedosos e importantes resultados, los que actualmente se encuentran en etapa de publicación y que dicen relación con el primer reporte que demuestra la transmisión horizontal de la infección por el patógeno *P. salmonis* desde la especie silvestre róbalo (*E. maclovinus*) a trucha arcoíris (*O. mykiss*), corroborado por la presencia en trucha, de signos clínicos concordantes con la enfermedad en peces salmónidos infectados, y aislamiento de la bacteria desde truchas arcoíris enfermas, a través de un desafío de cohabitación bajo condiciones controladas. A partir de estos resultados, se ha podido establecer el rol de la especie nativa róbalo como portador asintomático y mantenedor de la bacteria transmitida a truchas arcoíris cohabitantes. De este modo, teniendo en consideración la coexistencia de poblaciones de estas dos especies en los centros de cultivo de salmónidos de la industria acuicultora chilena, se hace necesario desarrollar estudios que aborden las poblaciones y las conductas migratorias de la especie nativa *E. maclovinus* que permitan comprender de mejor forma su rol epidemiológico en la transmisión de enfermedades, y de este modo estimar el impacto de la mantención y eventual diseminación de la Piscirickettsiosis entre centros de cultivo y áreas de especies de salmónidos de cultivo.

- ❖ En relación a los análisis genéticos para verificar ejemplares asilvestrados o escapados mediante asignación individual, se observó que, del total de muestras provenientes desde ejemplares capturados en cuerpos de agua dulce de la Región de la Araucanía, el 67% de las muestras analizadas, desde el punto de vista de ancestría, fueron asignados al grupo genético de muestras del lago Llanquihue, lo cual se ha asemejado a resultados obtenidos en etapas anteriores del programa. En este sentido, estudios realizados por Canales-Aguirre *et al* (2018) usando un panel de polimorfismos de nucleótido único, encontraron métricas y patrones genéticos contrastantes entre las truchas naturalizadas en el lago Llanquihue, el cuerpo de agua dulce con la mayor producción de smolts de salmónidos de Chile durante casi 50 años. De este modo, la alta presión de propágulos producto de la acuicultura no solo podría aumentar la diversidad genética, a través de efectos demográficos y mezclas, sino que también podría incidir en la evolución de la estructura genética y aumentar el flujo de genes, de acuerdo con los hallazgos de poblaciones de salmónidos propagadas artificialmente (Canales-Aguirre *et al.*, 2018), lo que ha hecho que actualmente la trucha arcoíris forme poblaciones autosustentables en los lagos y ríos de Chile. De esta forma, esta especie ha poblado exitosamente los ecosistemas nativos debido a su mayor potencial para establecer poblaciones naturalizadas autosuficientes, en comparación con otras especies como salmón del Atlántico y salmón coho, donde se ha presentado una menor magnitud de escapes durante los últimos años (Sepúlveda *et al.*, 2013).



Por otro lado, el análisis de asignación individual realizado de manera independiente para cada uno de los lagos muestreados, mostró que sobre el 64%, con un máximo de 92% (lago Villarrica), corresponderían a individuos asignados genéticamente a centros de cultivo, lo que indicaría, que la gran mayoría de los ejemplares pertenecerían a peces escapados desde instalaciones de cultivo. Por otro lado, la presencia de muchas pisciculturas en los alrededores de este cuerpo de agua, pudiera explicar en gran parte esta asignación genética a peces escapados desde unidades de cultivo. Esto cobra importancia, ya que requiere una comprensión de los mecanismos de coexistencia entre los peces nativos y los salmónidos no nativos introducidos, a fin de diseñar estrategias de manejo efectivas destinadas a proteger los peces nativos de la introducción de salmónidos, y desarrollar más investigación para identificar e implementar indicadores confiables para estimar el impacto de los peces escapados a nivel ecosistémico y de la dinámica de las poblaciones, y sus implicancias sanitarias dada por la interacción entre especies escapadas y nativas (Sepúlveda *et al.*, 2013). En este sentido, la trucha arcoíris ha sido una especie especialmente dominante sobre los peces nativos y representa más del 80% de la biomasa total en la mayoría de los cuerpos de agua dulce de tercer a cuarto orden del sur de Chile. De este modo, las cuencas del sur de Chile siguen siendo cuerpos de agua poblados por truchas, las cuales definitivamente han demostrado su dominancia en la mayoría de ellas, sin embargo, el establecimiento de otros salmónidos sería bastante factible como resultado de escapes continuos generados por la acuicultura (Soto *et al.*, 2006). Esto ha llevado al desplazamiento no solo de peces nativos, sino también de otros salmónidos como la trucha marrón (*Salmo trutta*) y el salmón Coho (*Oncorhynchus kisutch*), que son más visibles en lagos con poca o nula presión de propágulos provenientes desde la actividad acuícola (Arismendi *et al.*, 2009). Al día de hoy, en el presente programa de investigación, no se ha reportado evidencia científica de la existencia de poblaciones asilvestradas o naturalizadas de salmón del Atlántico, otra de las especies objetivo del actual programa de investigación.

De manera complementaria, la información generada por el actual programa, además de entregar antecedentes del punto de vista de dinámica poblacional que permitan identificar entre salmónidos asilvestrados de aquellos escapados desde centros de cultivo, pudiese ser una herramienta valiosa que podría tener alguna aplicación desde el punto de vista normativo, la que permitiría tener una trazabilidad genética de aquellos salmónidos escapados, tanto en agua dulce como de mar, especialmente frente a eventos de escapes que no son notificados a la autoridad competente, lo que sin duda permitiría resguardar y cautelar el patrimonio sanitario del país de mejor manera.

- ❖ En relación a las tendencias que se han presentado a lo largo del programa en términos de número de ejemplares positivos a la detección de material genético de agentes patógenos causantes de enfermedades de alto riesgo sanitario, la proporción de muestras positivas se han mantenido relativamente bajas y estables en el tiempo para los patógenos *F. psychrophilum* (1,3%), IPNV (0,5%), PRV (0,7%) y *R. salmoninarum* (0,1%), agentes patógenos para los que se han registrado hallazgos de muestras positivas en los ejemplares capturados. La excepción al caso se ha presentado en el patógeno *P. salmonis* (11,1%), donde la tendencia total de muestras positivas a los patógenos bajo monitoreo durante todo el período del programa está explicada en su mayoría



por la ciclicidad que se ha presentado en las detecciones de muestras positivas para este último agente. Sin embargo, es importante destacar que, durante los últimos 2 años de programa, se ha observado un descenso marcado en el hallazgo de muestras positivas a *P. salmonis*, aun así cuando las tendencias y proporción de captura de especies nativos y salmónidos se han mantenido relativamente estables (2:1) durante los últimos 5 años, al igual que la representatividad de la especie róbalo como principal componente de la captura de especies nativas, lo que no deja de ser importante, considerando que el róbalo corresponde a la especie nativa donde se ha registrado el mayor porcentaje de hallazgos de positivities a *P. salmonis*.

Al respecto, debe tenerse presente que según antecedentes aportados por el Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura, a través de sus informes sanitarios de los años 2017 y 2018, se evidencia una mejora del desempeño sanitario general a nivel de la industria, y en forma específica a una disminución de la prevalencia a Piscirickettsiosis en los centros de alta diseminación (CAD) y centros en alerta en las macrozonas sanitarias, lo cual, coincide con lo observado a nivel del presente programa de monitoreo; no obstante, existen otras variables que pudiesen estar incidiendo de una manera más directa en la disminución observada en el número de ejemplares positivos a patógenos en las muestras analizadas, como ser la estacionalidad en la captura de peces, la necesidad de una mayor cobertura y frecuencia de los muestreos, y la falta de asociación espacio-temporal con los potenciales brotes de piscirickettsiosis, lo cual podría cambiar indudablemente el escenario de lo observado bajo las condiciones actuales.



7. CONCLUSIONES

Para el logro del **objetivo específico 1**, se consideró una revisión de normativas asociadas a sistemas oficiales de vigilancia de Enfermedades de Alto Riesgo (EAR) en peces silvestres, principalmente en aquellos países donde se desarrolla la actividad acuicultora; sin embargo, no se obtuvieron antecedentes nuevos asociados a programas oficiales de vigilancia y monitoreo en especies silvestres en relación a los presentados en el informe final del estudio precedente 2017-2018. No obstante, ello, se presentó una revisión de cuatro estudios basados en vigilancia de agentes patógenos causantes de EAR en especies silvestres en diversos países.

Durante las campañas de muestreo se mantuvieron las mismas 29 zonas geográficas de estudio, en base a los resultados del programa de seguimiento y vigilancia sanitaria de las etapas previas, a fin de poder establecer tendencias en términos de capturas y detección de material genético de agentes patógenos causantes de EAR. Se capturaron 4192 ejemplares entre los cuerpos de agua dulce, mar y estuarinos, en los cuales, las especies predominantes de captura fueron róbalo, trucha arcoíris y pejerrey de agua dulce representando entre ellas un 61,2% de la totalidad de las especies. Además, se mantuvo la vigilancia de hallazgos parasitarios en los individuos, donde el 11,1% (467) de las especies capturadas presentó endo y/o ectoparásitos, lo que representó una disminución del 0,3% del estudio anterior.

En términos de captura, la especie que presentó el mayor peso y longitud promedio correspondió a salmón del Atlántico, algo diferente a lo presentado en la etapa de monitoreo anterior, la que estuvo dado por la especie salmón chinook, por el contrario, la especie que presentó el menor peso y longitud promedio fue el pejerrey de mar. De igual modo, asociado a las variables morfométricas, se registró el contenido estomacal, que en general fue bastante heterogéneo en composición, destacando el contenido de materia orgánica como aquel que presentó los mayores registros (40%) en los estómagos analizados de la mayoría de las especies capturadas, en contraste a la baja representatividad que tuvo el contenido gástrico "pellet", con solo un 0,45% del total de estómagos analizados.

En cuanto a la distribución del contenido de grasa visceral en las especies capturadas, en casi el 45% de ellas se evidenció escasa grasa, y un 32% no presentó grasa, variable interesante a considerar, si se tiene en cuenta que el contenido de grasa visceral sería un reflejo, por una parte, de la disponibilidad de alimento de los peces, además de ser un indicativo de la existencia de reservas energéticas utilizables por los organismos en condiciones desfavorables de disponibilidad de alimento, sin embargo, al observar el factor de condición de Fulton (FC) promedio (1,09) para el total de los ejemplares capturados, no se observó la existencia de una baja relación peso/longitud en los ejemplares capturados, pese al bajo contenido de grasa visceral observado.

En cuanto al monitoreo de agentes patógenos, con respecto a la etapa anterior, se observó una disminución en el número de muestras positivas a patógenos causantes de EAR, donde el año anterior se presentó una ocurrencia de 3%, superior respecto del 1,69% obtenido en la presente etapa del



programa. La disminución más importante fue en las muestras positivas a *P. salmonis*, donde se presentaron 38 muestras positivas, en contraste a las 110 muestras de la etapa previa del programa, casi una disminución de 3 veces en magnitud. Al respecto, quizás la utilización de vacunas vivas ha demostrado tener una mayor efectividad para el control de la Piscirickettsiosis por parte de la industria salmonicultora nacional; sin embargo, se requieren mayores antecedentes y resultados de la utilización de éstas.

Para *F. psychrophilum* e IPNV, las positivities se mantuvieron prácticamente estables al período anterior; no obstante, para PRV, se produjo un incremento en más de 100%, respecto del total de muestras positivas del período anterior, pasando de 7 muestras positivas a 15 en el actual período. Destaca de igual modo, la primera detección en el programa de muestras positivas a *R. salmoninarum* realizadas en ejemplares de salmón coho. A pesar, de la baja ocurrencia de los patógenos en la Región de Magallanes y de la Antártica Chilena, se sugiere poner especial atención en la vigilancia de esa región, ya que, con el aumento de la biomasa en los centros de cultivo, aún posee pocos antecedentes sanitarios.

En relación con el **objetivo específico 2**, el análisis epidemiológico se priorizó nuevamente hacia el patógeno *Piscirickettsia salmonis*, donde de las 1678 especies capturadas en las regiones de Los Lagos, Aysén y Magallanes, 33 muestras resultaron positivas a *P. salmonis*, representando un 1,96% del total en estas regiones.

La distribución por región fue de un 55% para la Región de Aysén del General Carlos Ibáñez del Campo, 39% para la Región de Los Lagos y un 6% para la Región de Magallanes y de la Antártica Chilena. Con respecto a las mayores tasas de mortalidad anual por Piscirickettsiosis en la industria, a nivel de barrio, éstas se encontraron en barrios de la Región de Aysén del General Carlos Ibáñez del Campo, siendo los más altos el 22d, y el 22a, seguidos del 23b y 23c los que alcanzaron los valores más altos. A diferencia del período anterior, las mayores tasas de mortalidad se encontraron en la Región Los Lagos, y en lo referente a la Región de Magallanes y de la Antártica Chilena, nuevamente al igual que en el período anterior no se reportó a nivel de industria mortalidad atribuible al patógeno *P. salmonis*.

Respecto de la distribución espacial de la prevalencia de *P. salmonis* obtenidas en los peces silvestres, los mayores porcentajes se encontraron igualmente en la Región de Aysén del General Carlos Ibáñez del Campo, específicamente en los barrios 28b y 32, a diferencia de lo observado en el período 2017-2018 donde las prevalencias más altas se presentaron en la Región de Los Lagos.

Dado que la región de Aysén del General Carlos Ibáñez del Campo ha registrado el mayor número de centros de alta diseminación (CAD) del parásito *Caligus rogercresseyi*, durante lo que va del año 2019, las altas cargas parasitarias y el número de tratamientos por baño que se deben realizar para el control de esta parasitosis podrían ser considerados como eventuales factores de riesgo para que se presente una mayor mortalidad por Piscirickettsiosis, lo cual podría explicar en parte las mayores tasas de mortalidad mensual por barrio producidas por el patógeno *P. salmonis* en la región.



Por su parte, el análisis de correlación de Spearman entre la tasa de mortalidad mensual por *P. salmonis* en los barrios y la proporción de muestras positivas en peces silvestres, mostró la existencia de una asociación positiva **Rho= 0,234**, sin embargo, esta asociación no fue significativa ($p>0.05$), por lo que se concluye que no existe asociación entre ambas variables. Por su parte, el análisis de regresión lineal generalizado realizado sugiere que la tasa de mortalidad producida por *P. salmonis* en los barrios analizados, no tiene influencia sobre la proporción de peces silvestres positivos al patógeno, confirmando los resultados del análisis de correlación.

Con relación al **objetivo específico 3**, respecto del ensayo de cohabitación entre las especies salmón del Atlántico y róbalo, si bien se obtuvo una curva de mortalidad esperada para todos los salares troyanos, con un 97% de mortalidad promedio acumulada atribuida a *P. salmonis*, no ocurrió lo mismo para los róbalos troyanos donde no se presentó mortalidad, por lo que pareciera ser que esta especie nativa no se vería afectada por la bacteria, ni presentaría signología clínica a la observada habitualmente en salmónidos. Por otro lado, al no presentarse signología clínica ni mortalidad específica asociada a *P. salmonis* en los salmónidos cohabitantes del grupo control positivo, no se logró verificar la transmisión del agente en la especie susceptible, lo que llevó a invalidar el estudio.

En relación con los análisis genéticos en poblaciones salmónidas (**objetivo específico 4**), realizado a partir de órganos/tejidos colectados desde ejemplares de trucha arcoíris, el procedimiento de extracción de DNA y tipificación de SNPs, corroboró que el 100% de los órganos analizados correspondieron a ejemplares de trucha arcoíris. Usando una base de datos de genotipos multilocus de 879 individuos de trucha arcoíris, muestreadas desde el norte al sur de Chile, e inferencia estadística basada en análisis de componentes principales discriminante, se identificaron cuatro grupos genéticos de trucha arcoíris distribuidos a lo largo de Chile.

Los grupos de trucha arcoíris usados como referencia resultaron ser consistentes o confiables con porcentajes de autoasignación de más del 94%. El análisis de asignación individual de las muestras de tejido mostró tener mayor parentesco genético con individuos del grupo genético de referencia correspondiente al Lago Llanquihue (67%), seguido de individuos pertenecientes al grupo genético de referencia de Piscicultura (23%).

Por su parte, el análisis de asignación individual realizado para cada lago de manera independiente mostró porcentajes de asignación variable entre lagos. El Lago Villarrica presentó el mayor valor de asignación a centros de cultivo (92%), mientras el Lago Caburga presentó los menores valores de asignación a centros de cultivo (64%).

Respecto del **objetivo específico 5**, en el período 2018-2019, las capturas de peces salmónidos fueron inferiores a aquellas correspondientes a peces nativos, presentándose el mismo comportamiento en etapas anteriores del programa, manteniéndose una proporción de captura de salmónidos y peces nativos de 1:2, respectivamente. A modo general, la tendencia de las capturas ha respondido a patrones de ciclicidad, presentándose una estabilidad en los últimos 5 años de programa; no obstante,



existen zonas muestreadas donde se mantiene este patrón de ciclicidad, preponderando una especie sobre otra, intercambiándose en el siguiente periodo. Esto podría deberse a factores biológicos-ambientales, como temperaturas, alimentación o patrones reproductivos, que beneficie a una especie sobre otra, sin embargo, se requieren hacer análisis a mayor profundidad, considerando la incorporación de antecedentes de ecología, dinámica de poblaciones y conductas migratorias, entre otros parámetros, más aún en el caso de especies silvestres donde es escaso el conocimiento que hay al respecto.

En cuanto a las tendencias de los resultados positivos a patógenos, éstas han estado representadas mayormente por las tendencias correspondientes al patógeno *P. salmonis*, las cuales son de tipo cíclicas, es decir, en el tiempo tienden aumentar y disminuir. Uno de los mayores incrementos ocurrió en el periodo 2011-2012, para posteriormente disminuir hacia el año 2015. En el año 2016 ocurre un aumento en los resultados positivos, alcanzando el 11,6% y posteriormente aumenta a 28,8% en el periodo 2016-2017, disminuyendo nuevamente hacia el 2019, llegando a 1,7%. Tal cual como ha ocurrido en etapas anteriores, las especies que han presentado gran parte de los resultados positivos han correspondido a las especies róbalo y pejerrey de mar.

Finalmente, se realizó el taller de difusión de los resultados del programa, en el que se presentaron los resultados obtenidos tanto en periodo 2018-2019, como un consolidado de los resultados para la totalidad de los años de ejecución del programa. Esta actividad contó con la asistencia de un variado público, lo que permitió la interacción con especialistas del ámbito público, privado, representantes de las empresas productoras y académicos, constituyendo un valioso aporte para seguir profundizando en el conocimiento de las especies silvestres y ferales y sus diversas interacciones con otras especies y su entorno.



7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Anderson, E. C., R. S. Waples, and S. T. Kalinowski. 2008. An improved method for predicting the accuracy of genetic stock identification. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 65:1475-1486
- Arismendi, I., Soto, D., Penaluna, B., Jara, C., Leal, C., & León-Muñoz, J. (2009). Aquaculture, non-native salmonid invasions and associated declines of native fishes in Northern Patagonian lakes. *Freshwater Biology*, 54(5), 1135–1147. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2427.2008.02157.x>
- Arkush, K. D., McBride, A. M., Mendonca, H. L., Okihira, M. S., Andree, K. B., Marshall, S., ... Hedrick, R. P. (2005). Genetic characterization and experimental pathogenesis of *Piscirickettsia salmonis* isolated from white seabass *Atractoscion nobilis*. 63, 139–149.
- Athanassopoulou, B. F., Groman, D., Prapas, T., & Sabatakou, O. (2004). Pathological and epidemiological observations on rickettsiosis in cultured sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) from Greece. 20(2004), 525–529
- Basulto, S. 2003. El largo viaje de los salmones. Una crónica olvidada. Propagación y cultivo de especies acuáticas en Chile. Maval Ltda. Chile. 299 pp.
- Benavente, J. N., L. W. Seeb, J. E. Seeb, I. Arismendi, C. E. Hernández, G. Gajardo, R. Galleguillos, M. I. Cádiz, S. S. Musleh, and D. Gomez-Uchida. 2015. Temporal Genetic Variance and Propagule-Driven Genetic Structure Characterize Naturalized Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) from a Patagonian Lake Impacted by Trout Farming. *Plos One* 10:e0142040.
- Brun, E., Nilsen, H., Olsen, A.B., 2009. Faglige vurderinger av behov for kontrolltiltak overfor *Flavobacterium psychrophilum* i norsk lakseproduksjon (in Norwegian): National Veterinary Institute report series 13, Oslo.
- Campbell, N. R., S. A. Harmon, and S. R. Narum. 2015. Genotyping-in-Thousands by sequencing (GT-seq): A cost effective SNP genotyping method based on custom amplicon sequencing. *Molecular Ecology Resources* 15:855-867.
- Canales-Aguirre, C. B., L. W. Seeb, J. E. Seeb, M. I. Cádiz, S. S. Musleh, I. Arismendi, G. Gajardo, R. Galleguillos, and D. Gomez-Uchida. 2018. Contrasting genetic metrics and patterns among naturalized rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in two Patagonian lakes differentially impacted by trout aquaculture. *Ecology and Evolution* 8:273-285.
- Cárcamo, C. B., N. F. Diaz, and F. M. Winkler. 2015. Genetic diversity in Chilean populations of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Latin American Journal of Aquatic Research* 43:59-70.



- Chambers E., R. Gardiner, E. Peeler. 2008. An investigation into the prevalence of *Renibacterium salmoninarum* in farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and wild fish populations in selected river catchments in England and Wales between 1998 and 2000. *J Fish Dis* 31: 89-96.
- Chen, S. C., Wang, P. C., Tung, M. C., Thompson, K. D., & Adams, A. (2000). A *Piscirickettsia salmonis*-like organism in grouper, *Epinephelus melanostigma*, in Taiwan. *Journal of Fish Diseases*, 23(6), 415–418. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2761.2000.00250.x>
- Clifford S.L., McGinnity P. & Ferguson A. (1998) Genetic changes in Atlantic salmon (*Salmo salar*) populations of northwest Irish rivers resulting from escapes of adult farm salmon. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 55, 358–363.
- Contreras-Lynch, S., Olmos, P., Vargas, A., Figueroa, J., González-Stegmaier, R., Enríquez, R., & Romero, A. (2015). Identification and genetic characterization of *Piscirickettsia salmonis* in native fish from southern Chile. *Diseases of Aquatic Organisms*, 115(3), 233–244. <https://doi.org/10.3354/dao02892>.
- Crozier W.W. (1993) Evidence of genetic Interaction between escaped farmed salmon and wild Atlantic salmon (*Salmo-Salar* L) in a Northern Irish river. *Aquaculture* 113, 19–29.
- Dempster, T., Uglem, I., Sanchez-Jerez, P., Fernandez-Jover, D., Bayle-Sempere, J., Nilsen, R., & Bjern, P. A. (2009). Coastal salmon farms attract large and persistent aggregations of wild fish: An ecosystem effect. *Marine Ecology Progress Series*, 385(Fao 2008), 1–14. <https://doi.org/10.3354/meps08050>.
- Evensen, Ø. (2017). Immunization Strategies against *Piscirickettsia salmonis* Infections: Review of Vaccination Approaches and Modalities and Their Associated Immune Response Profiles. (November 2016). <https://doi.org/10.3389/fimmu.2016.00482>
- Everett, M. V., E. D. Grau, and J. E. Seeb. 2011. Short reads and nonmodel species: exploring the complexities of next-generation sequence assembly and SNP discovery in the absence of a reference genome. *Molecular Ecology Resources* 11:93-108.
- Fryer, J., & Hedrick, R. (2003). *Piscirickettsia salmonis*: A Gram-negative intracellular bacterial pathogen of fish. *Journal of Fish Diseases*, 251–262.
- Garseth ÅH, Fritsvold C, Opheim M, Skjerve E, Biering E. 2013. Piscine reovirus (PRV) in wild Atlantic salmon, *Salmo salar* L., and sea-trout, *Salmo trutta* L., in Norway. *J Fish Dis*. 36(5):483-93.
- Glover, K. A. 2010. Forensic identification of fish farm escapees: the Norwegian experience. *Aquaculture Environment Interactions* 1:1-10.



- Glover K.A., Quintela M., Wennevik V., Besnier F., Sørvik A.G.E. & Skaala Ø. (2012) Three decades of farmed escapees in the wild: a spatio-temporal analysis of atlantic salmon population genetic structure throughout Norway. *PLoS ONE* 7, e43129.
- Glover K.A., Pertoldi C., Besnier F., Wennevik V., Kent M. & Skaala O. (2013a) Atlantic salmon populations invaded by farmed escapees: quantifying genetic introgression with a Bayesian approach and SNPs. *Bmc Genetics* 14, 74.
- Henríquez, V. P., González, M. T., Licandeo, R. & Carvajal, J. 2011b. Metazoan parasite communities of rock cod *Eleginops maclovinus* along southern Chilean coast and their use as biological tags at a local spatial scale. *J Fish Biol*, 79, 1851-65
- Hobbs, JA., Lewis, L., Ikemiyagi, N, Sommer, T., & Baxter R. 2010. The use of otolith strontium isotopes ($^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$) to identify nursery habitat for a threatened estuarine fish. *Environmental Biology of Fishes* 89 (3-4): 557-569.
- Ibieta, P., Tapia, V., Venegas, C., Hausdorf, M., & Takle, H. (2011). Chilean Salmon Farming on the Horizon of Sustainability: Review of the Development of a Highly Intensive Production, the ISA Crisis and Implemented Actions to Reconstruct a More Sustainable Aquaculture Industry. *Aquaculture and the Environment - A Shared Destiny*, 215–246. <https://doi.org/10.5772/30678>.
- Johansen, L. H., Jensen, I., Mikkelsen, H., Bjørn, P. A., Jansen, P. A., & Bergh, O. (2011). Disease interaction and pathogens exchange between wild and farmed fish populations with special reference to Norway. *Aquaculture*, 315(3–4), 167–186. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2011.02.014>.
- Jombart, T. 2008. adegenet: a R package for the multivariate analysis of genetic markers. *Bioinformatics* 24:1403-1405.
- Jombart, T., and I. Ahmed. 2011. adegenet 1.3-1: new tools for the analysis of genome-wide SNP data. *Bioinformatics*.
- Jombart, T., S. Devillard, and F. Balloux. 2010. Discriminant analysis of principal components: a new method for the analysis of genetically structured populations. *BMC Genetics* 11:94
- Jones, M. H., J. E. Seeb, K. I. Warheit, T. R. Seamons, T. P. Quinn, and L. W. Seeb. 2015. Consequences of emergence timing for the growth and relative survival of Steelhead Trout fry from naturally spawning wild and hatchery parents. *Transactions of the American Fisheries Society* 144:977-989.
- Kalinowski, S., K. R. Manlove, and M. L. Taper. 2008. ONCOR: a computer program for genetic stock identification. Department of Ecology, Montana State University.



- Kalinowski, S. T. 2011. The computer program STRUCTURE does not reliably identify the main genetic clusters within species: simulations and implications for human population structure. *Heredity* 106:625-632.
- King J.A., Snow M., Smail D.A. & Raynard R.S. (2001) Distribution of viral haemorrhagic septicaemia virus in wild fish species of the North Sea, north east Atlantic Ocean and Irish Sea. *Diseases of Aquatic Organisms* 47, 81–86.
- Licandeo, R. R., & Barrientos, Æ. C. A. (2006). Age, Growth Rates, Sex Change and Feeding Habits of Notothenioid Fish *Eleginops Maclovinus* from the Central-southern Chilean Coast Age, growth rates, sex change and feeding habits of notothenioid fish *Eleginops maclovinus* from the central-southern Chi. (June 2014). <https://doi.org/10.1007/s10641-006-9054-z>.
- Loch, T. P., & Faisal, M. (2015). Emerging flavobacterial infections in fish: A review. *Journal of Advanced Research*, 6(3), 283–300. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2014.10.009>.
- McCarthy, Ú., Steiropoulos, N. A., Thompson, K. D., Adams, A., Ellis, A. E., & Ferguson, H. W. (2005). Confirmation of *Piscirickettsia salmonis* as a pathogen in European sea bass *Dicentrarchus labrax* and phylogenetic comparison with salmonid strains. *Diseases of Aquatic Organisms*, 64(2), 107–119. <https://doi.org/10.3354/dao064107>
- McIntosh, A. R., Townsend, C. R., & Crowl, T. A. (1992). Competition for space between introduced brown trout (*Salmo trutta* L.) and a native galaxiid (*Galaxias vulgaris* Stokell) in a New Zealand stream. *Journal of Fish Biology*, 41(1), 63–81. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1992.tb03170.x>
- Meyers T.R., S. Short, C. Farrington, K. Lipson, H.J. Geiger, R. Gates. 1993. Establishment of negative-positive threshold optical density value for enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) to detect soluble antigen of *Renibacterium salmoninarum* in Alaskan Pacific salmon. *Dis Aquat Organ* 16:191-197.
- Meza, K., Inami, M., Dalum, A. S., Lund, H., Bjelland, A. M., Sørum, H., & Løvoll, M. (2019). Comparative evaluation of experimental challenge by intraperitoneal injection and cohabitation of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) after vaccination against *Piscirickettsia salmonis*. (August), 1–18. <https://doi.org/10.1111/jfd.13091>
- Murray, A.; Peeler, E. 2005. A framework for understanding the potential for emerging diseases in aquaculture. *Prev. Vet. Med.* 67: 223-235.
- Niklitschek E. & Aedo E. 2002. Estudio del ciclo reproductivo de las principales especies objetivo de la pesca deportiva en la XI Región. Informe Final FIP 2000-Coyhaique, Chile: Universidad Austral de Chile.



- Oidtmann B., E. Peeler, T. Lyngstadb, E. Brun, B.B. Jensen, K. Stark. 2013. Risk-based methods for fish and terrestrial animal disease surveillance. *Prev Vet Med* 112: 13-26.
- Pavés, H., Pequeño, G., Bertrán, C., & Vargas, L. (2005). Limnetic feeding in *Eleginops maclovinus* (Valenciennes, 1830) in the Valdivia River, Chile. *INCI*, 30(Mar), 120–125.
- Peeler, E. J., & Taylor, N. G. (2011). The application of epidemiology in aquatic animal health - opportunities and challenges. *Veterinary Research*, 42(1), 94. <https://doi.org/10.1186/1297-9716-42-94>
- Peeler E., S.W. Feist, M. Longshaw, M.A. Thrush, S. St-Hilarie. 2008. An assessment of the variation in the prevalence of renal myxosporidiosis and hepatitis in wild brown trout, *Salmo trutta* L., within and between rivers in South England. *J Fish Dis* 31: 719-728.
- Pequeño, G. (1989). The geographical distribution and taxonomic arrangement of South American notothenidae fishes (Osteichthyes, Notothenidae). *Bol Soc Biol Concepción, Chile* 60:183–200.
- Pritchard, J. K., M. Stephens, and P. Donnelly. 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155:945-959.
- Quintanilla JC, Barrientos JP & González M. 2016. Evaluación y seguimiento de la situación sanitaria de especies silvestres en agua dulce y mar. Instituto de Fomento Pesquero, Convenio de Desempeño 2015, Informe Final: 264 pág.
- R Core Team. 2018. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org>.
- Rafalski, J. A. 2002. Novel genetic mapping tools in plants: SNPs and LD-based approaches. *Plant Science* 162:329-333.
- Rannala, B., and J. L. Mountain. 1997. Detecting immigration by using multilocus genotypes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 94:9197-9201.
- Raynard, R., Wahli, T., Vatsos, I., Mortensen, S., 2007. In: DIPNET (Ed.), Review of disease interactions and pathogen exchange between farmed and wild finfish and shellfish in Europe, p. 459 <http://www.dipnet.info/docs/doc.asp?id=48>. Aberdeen.
- Raynard R.S., A.G. Murray, A. Gregory. 2001. Infectious salmon anemia virus in wild fish from Scotland. *Dis Aquat Organ* 46: 93-100.
- Rozas-Serri, M., Ildfonso, R., Peña, A., Enríquez, R., Barrientos, S., & Maldonado, L. (2017). Comparative pathogenesis of piscirickettsiosis in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) post-smolt experimentally challenged with LF-89-like and EM-90-like *Piscirickettsia salmonis* isolates.



- Journal of Fish Diseases, 40(10), 1451–1472. <https://doi.org/10.1111/jfd.12671>.
- SalmonChile. Departamento de estudios. 2009. Ficha industria del salmón N° 12/2008.
- Sepulveda, M., I. Arismendi, D. Soto, F. Jara, and F. Farias. (2013). Escaped farmed salmon and trout in Chile: incidence, impacts, and the need for an ecosystem view. *Aquaculture Environment Interactions* 4:273-283. <https://doi.org/10.3354/aei00089>.
- Sepulveda, M., F. Farías, and E. Soto. 2009. Salmon escapes in Chile. WWF Chile, Valdivia.
- Skaala Ø., Wennevik V. & Glover K.A. (2006) Evidence of temporal genetic change in wild Atlantic salmon, *Salmo salar* L., populations affected by farm escapees. *Ices Journal of Marine Science* 63, 1224–1233.
- Smith, P.; Larenas, J.; Vera, P. 2001. Principales enfermedades de los peces salmonídeos cultivados en Chile. *Monografías de Medicina Veterinaria*, Vol.21 (2).
- Snow M., P. McKay, A. J. McBeath, J. Black, F. Doig, R. Kerr, C. O. Cunningham, A. Nylund & M. Devold. (2006). Development, application and validation of a Taqman real-time RT-PCR assay for the detection of infectious salmon anaemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Dev Biol (Basel)* 126, 133–145, discussion 325–326.
- Soto, D., I. Arismendi, J. Gonzalez, J. Sanzana, F. Jara, C. Jara, E. Guzman, and A. Lara. 2006. Southern Chile, trout and salmon country: invasion patterns and threats for native species. *Revista Chilena De Historia Natural* 79:97-117.
- Soto, D., Jara, F., & Moreno, C. (2001). Escaped salmon in the inner seas, Southern Chile: Facing Ecological and Social Conflicts. *Ecological Applications*, 11(6), 1750–1762.
- Strand, C., & Midtlyng, P. J. (2007). Development of an experimental cohabitation challenge model for *Piscirickettsia salmonis*. In *Proceedings of the 13th International Conference of Fish and Shellfish Diseases*, Grado, Italy (ed. by European Association of Fish Pathologists), (p. 275).
- Subsecretaría de Pesca y Acuicultura. 2019. Informe sectorial en pesquería y acuicultura, julio del año 2019.
- Thomas, M. V, & Faisal, M. (2009). *Piscirickettsia* Infection in the Muskellunge Population of Lake St. Clair. 32.
- Vásquez, F. (2012). Análisis del efecto de la administración intraperitoneal de los neuropéptidos C-RFA y NPY sobre la mortalidad de una población de peces de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) desafiados con *Piscirickettsia salmonis*. 7, 1–25.



Wahli T., D. Bernet, P.A. Steiner, H. Schmidt-Posthaus. 2007 Geographic distribution of *Tetracapsuloides bryosalmonae* infected fish in Swiss rivers: an update. *Aquat Sci* 69:3-10.

A N E X O S

A N E X O 1:

Carta Oficio de Solicitud de Pesca de Investigación



IFOP/2018/LC/N°023/DIR/ 0720
SUBPESCA

Ant.: Convenio Desempeño ASIPA
2018, Subsecretaría de Economía
y EMT

Adj.: Copia Formulario solicitud pesca
de investigación.
Copia Términos Técnicos de
Referencia 1.- Estudio 2018-07.
Copia Antecedentes curriculares
equipo de trabajo.
Copia antecedentes legales de
IFOP.

Mat.: Solicita pesca de investigación que
se indica.

Valparaíso, 27 de agosto de 2018

30 AGO. 2018

Al : Señor Subsecretario de Pesca y Acuicultura

Del : Director Ejecutivo del Instituto de Fomento Pesquero

Mediante Convenio de Desempeño del Ant., el Instituto de Fomento Pesquero, debe ejecutar el proyecto **Evaluación y seguimiento de la situación sanitaria de especies silvestres en agua dulce y mar.**

En este contexto y con el propósito de efectuar un seguimiento del estatus sanitario de las especies silvestres o ferales en cuerpos de agua dulce y agua de mar, con especial énfasis en especies salmónidas, el Instituto de Fomento Pesquero, solicita a usted tenga a bien autorizar la pesca de investigación denominada **Evaluación y seguimiento de la situación sanitaria de especies silvestres en agua dulce y mar.** Además, para ejecutar el estudio se necesita la autorización de una cuota con fines de investigación de las especies objetivas.

Al respecto, dicho estudio se realizará por un periodo de doce (12) meses a contar de la fecha de la resolución, en la zona de estudio definida en Formulario y Términos Técnicos de Referencia adjuntos.

Finalmente reitero a usted, la disposición de este Instituto para aclarar o complementar cualquier antecedente relacionado con esta materia.

Saluda atentamente a usted,

Luis Parot Danoso
Director Ejecutivo



DISTRIBUCIÓN
- SUBPESCA
- Archivos IFOP

c.c.: Dir
LC
ACP



A N E X O 2:

Subsecretaría de Pesca y Acuicultura
Resolución de Pesca de Investigación: R. Ex N° 3601 de 17 octubre 2018



MINISTERIO DE ECONOMÍA
FOMENTO Y TURISMO
SUBSECRETARÍA DE PESCA Y ACUICULTURA
PINV 230-2018 EVALUACION Y SEGUIMIENTO



AUTORIZA A INSTITUTO DE FOMENTO PESQUERO
PARA REALIZAR PESCA DE INVESTIGACIÓN QUE
INDICA.

VALPARAÍSO, 17 OCT. 2018

R. EX. Nº **3601**

VISTO: Lo solicitado por Instituto de Fomento Pesquero, mediante oficio IFOP/2018/LC/Nº023/DIR/0720, de fecha 27 de agosto de 2018, C.I. SUBPESCA Nº 9418, de fecha 27 de agosto de 2018; lo informado por la División de administración Pesquera de esta Subsecretaría en Informe Técnico Nº 230/2018, contenido en Memorándum Técnico (P.INV) Nº 230/2018, de fecha 09 de octubre de 2018; los Términos Técnicos de Referencia del Proyecto **"Evaluación y Seguimiento de la situación sanitaria de especies silvestres en agua dulce y mar"**, elaborados por la peticionaria y aprobados por esta Subsecretaría; la Ley Nº 19.880; la Ley General de Pesca y Acuicultura Nº 18.892 y sus modificaciones cuyo texto refundido fue fijado por el D.S. Nº 430 de 1991, el D.F.L. Nº 5 de 1983, el D.S. Nº 461 de 1995; el Convenio de Desempeño suscrito entre la Subsecretaría de Economía y Empresas de Menor Tamaño y el Instituto de Fomento Pesquero, aprobado mediante D.S. Nº 06 de 2018 y el Decreto Exento Nº 878 de 2011, todos del actual Ministerio de Economía, Fomento y Turismo; la Resolución Nº 332 de 2011, del Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura.

CONSIDERANDO:

Que el Instituto de Fomento Pesquero, ingresó mediante carta citada en Visto, una solicitud para desarrollar la pesca de investigación conforme los Términos Técnicos de Referencia del Proyecto denominado **"Evaluación y Seguimiento de la situación sanitaria de especies silvestres en agua dulce y mar"**.

Que mediante Memorándum Técnico (P.INV) Nº 230/2018, la División de Administración Pesquera de esta Subsecretaría, informa que las actividades planteadas en la solicitud califican como pesca de investigación de acuerdo a lo definido en el artículo 2º número 29 de la Ley General de Pesca y Acuicultura, por cuanto es una actividad extractiva sin fines de lucro, cuya finalidad es obtener datos e información para generar conocimiento científico, para proteger la biodiversidad y el patrimonio sanitario del país.

Que la pesca de investigación que se solicita es de interés desde la perspectiva del conocimiento sobre el estado sanitario de especies de peces de agua dulce y mar.



Que las actividades planteadas en la solicitud son indispensables para el cumplimiento de los objetivos de los Términos Técnicos de Referencia del "Programa de evaluación y seguimiento de la situación sanitaria de especies silvestres en agua dulce y mar, 2018-2019", establecido en Convenio de Desempeño ASIPA 2018, suscrito entre la Subsecretaría de Economía y Empresas de Menor Tamaño, aprobado mediante D.S. N° 06 de 2018, citado en Visto.

Que dicha solicitud cumple con las exigencias dispuestas en el D.S. N° 461 de 1995, del actual Ministerio de Economía, Fomento y Turismo, que establece los requisitos que deben cumplir las solicitudes de pesca de investigación.

Que de acuerdo a lo anterior y de conformidad a lo dispuesto en los artículos 98 a 102 de la Ley General de Pesca y Acuicultura, corresponde autorizar la pesca de investigación solicitada.

RESUELVO:

1.- Autorízase al Instituto de Fomento Pesquero, R.U.T. N° 61.310.000-8, con domicilio en calle Blanco N° 839, Valparaíso, Región de Valparaíso, para efectuar una pesca de investigación, de conformidad con los Términos Técnicos de Referencia del Proyecto "**Evaluación y Seguimiento de la situación sanitaria de especies silvestres en agua dulce y mar**", elaborados por el peticionario y aprobados por esta Subsecretaría, y el informe técnico citado en Visto, los que se consideran parte integrante de la presente resolución.

2.- El objetivo de la pesca de investigación que por la presente resolución se autoriza consiste en efectuar un seguimiento del estatus sanitario de las especies silvestres o ferales en cuerpos de agua dulce y agua de mar, con especial énfasis en especies salmónidas.

3.- La pesca de investigación se efectuará en un período de 12 meses contados desde la fecha de publicación de la presente resolución de conformidad con lo establecido en el Artículo N° 174 de la Ley General de Pesca y Acuicultura, cuya área de estudio se encuentra en las aguas marítimas y continentales de la Región de La Araucanía, Región de Los Ríos, Región de Los Lagos, Región de Aysén del General Carlos Ibáñez del Campo y Región de Magallanes y La Antártica Chilena, en las zonas de estudio indicadas a continuación:

Región	Zona de estudio
Región de La Araucanía	Lago Caburgua
	Lago Calafquén
	Lago Colico
	Lago Villarrica

Región	Zona de estudio
Región de Los Ríos	Lago Ranco
	Lago Panguipulli
	Lago Riñihue
	Estuario Valdivia



Región	Zona de estudio
Región de Los Lagos	Macrozona 1
	Macrozona 2
	Macrozona 3
	Macrozona 4
	Macrozona 5
	Lago Chapo
	Lago Yelcho
	Lago Llanquihue
	Lago Rupanco
	Lago Puyehue
	Lago Natri
Lago Huillinco	

Región	Zona de estudio
Región de Aysén del General Carlos Ibáñez del Campo	Fiordo Aysén
	Macrozona 6
	Macrozona 7
	Macrozona 8
	Caleta Tortel
	Lago Riesco

Región	Zona de estudio
Región de Magallanes y La Antártica Chilena	Puerto Natales
	Punta Arenas
	Lago Sofia

4.- En cumplimiento de los objetivos de la presente pesca de investigación, el peticionario podrá realizar las siguientes actividades:

- a. Realizar el muestreo y extracción, con y sin retención de especies, según el siguiente detalle:

Matriz Biológica	Arte de Pesca, Equipos o elementos	Características
Fauna Íctica	Red de trasmallo, red de enmalle y/o espinel. En la pesca en lagos, también se considerará (solo de ser necesario) el uso artes de pesca complementarios tales como cañas de pescar, mediante pesca de arrastre, con señuelos tipo rapala y spinner, en aquellos puntos de muestreo donde por profundidad, topografía, etc., permitan su utilización.	Redes de monofilamento de distintas tramas considerando como mínimo una disponibilidad de 8 redes por zona de muestreo de al menos tres tramas (2, 4 y 6 pulgadas), con largo de relinga distribuido en un rango de 50 a 100 metros y una altura de red de 3 a 15 metros.



b. Realizar la captura de las siguientes especies, mediante muestreos en agua de mar:

Nombre común	Nombre Científico
Salmón del Atlántico	<i>Salmo salar</i>
Salmón Coho	<i>Oncorhynchus kisutch</i>
Trucha Arcoíris	<i>Oncorhynchus mykiss</i>
Salmón Rey	<i>Oncorhynchus tshawytscha</i>
Trucha fario	<i>Salmo trutta fario</i>
Pejerrey de mar	<i>Odontheistes regia</i>
Róbalo	<i>Eleginops maclovinus</i>

c. Realizar la captura de especies, mediante muestreos en agua dulce:

Nombre común	Nombre Científico
Salmón del Atlántico	<i>Salmo salar</i>
Salmón Coho	<i>Oncorhynchus kisutch</i>
Salmón Rey	<i>Oncorhynchus tshawytscha</i>
Trucha Arcoíris	<i>Oncorhynchus mykiss</i>
Trucha fario	<i>Salmo trutta fario</i>
Pejerrey de agua dulce	<i>Basilichthys australis</i>
Perca Trucha	<i>Percichthys trucha</i>
Peladilla	<i>Aplochiton taeniatus</i>
Puye Grande	<i>Galaxias maculatus</i>

En el caso de requerir realizar un muestreo dentro de un Área Marina Protegida o de un Área de Manejo de Explotación de Recursos Bentónicos (AMERB) el responsable de la presente solicitud deberá coordinar la actividad con el administrador del Área.

5.- Para efectos de la pesca de investigación que se autoriza por la presente resolución, el peticionario se exceptúa del cumplimiento de las normas de administración establecidas mediante Decreto Exento N° 878 de 2011, del Ministerio de Economía, Fomento y Turismo.

6.- Para efectos de dar cumplimiento a las medidas establecidas en el programa de vigilancia, detección y control establecido por el Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura para la plaga *Didymosphenia geminata* (Didymo), el peticionario deberá:

- a) Desinfectar los equipos, artes, implementos, aparejos de pesca y demás fómites que entren en contacto directo con el agua; en el lugar en donde se efectúen las actividades en terreno, tanto al comienzo y término de cada muestreo y en cada estación, debiendo utilizar los protocolos descritos en la Resolución Exenta 332 de 2011 del Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura y el Manual para el Monitoreo e Identificación de la microalga bentónica *Didymosphenia geminata* de la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura.



- b) Dar aviso a más tardar dentro de las primeras 24 horas, una vez terminadas las campañas de muestreo, a la Dirección Regional del Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura correspondiente, en caso que durante la ejecución de las actividades en terreno se sospeche de la aparición de dicha plaga en el área de estudio. De la misma forma, en caso de encontrar células de la plaga en los análisis posteriores, se deberá dar aviso al Servicio dentro del mismo tiempo indicado en el párrafo precedente.

7.- El peticionario deberá informar a la oficina del Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura correspondiente, con a lo menos dos días hábiles de anticipación, las fechas y lugares exactos en que se realizarán las jornadas de muestreo, para su control y fiscalización.

8.- El solicitante deberá elaborar un informe resumido de las actividades realizadas, que contenga a lo menos información de la obtención de muestras, de los materiales y métodos ocupados. Asimismo, se deberá entregar una base de datos, en formato EXCEL, conteniendo: Localización de la red o estaciones de muestreo, número de muestras, número de ejemplares capturados por especie cuando proceda o una cuantificación de la captura y características de los individuos muestreados en el contexto de la autorización.

Lo anterior deberá ser entregado dentro del plazo de 30 días corridos, contados desde la fecha de término del período de pesca autorizado, el cual deberá entregarse impreso por medio de una carta conductora a la cual se le deberá adjuntar un dispositivo de respaldo digital que contenga una copia del informe más la base de datos solicitada.

El incumplimiento de la obligación antes señalada se considerará como causal suficiente para denegar cualquier nueva solicitud de pesca de investigación.

9.- La obligación anterior es sin perjuicio, del reporte de resultados del presente estudio en el Informe de Avance, del proyecto "Programa de evaluación y seguimiento de la situación sanitaria de especies silvestres en agua dulce y mar, 2018-2019", que es parte integral del Convenio ASIPA 2018.

10.- Designase al Jefe de la División de Administración Pesquera de esta Subsecretaría, como funcionaria encargada de velar por el oportuno y debido cumplimiento de la obligación establecida en el numeral 8.- de la presente resolución.

11.- Esta autorización es intransferible y no podrá ser objeto o instrumento de negociación o situación de privilegio alguno.

12.- El Instituto designa como persona responsable de esta pesca de investigación a don Luis Alfredo Parot Donoso, R.U.T. N° 6.797.121-3, del mismo domicilio.

13.- El solicitante deberá dar cumplimiento a las obligaciones que se establecen en la presente resolución, y a las establecidas en la Ley General de Pesca y Acuicultura y en el D.S. N° 461 de 1995, citado en Visto. El incumplimiento hará incurrir a la titular en el término inmediato de la pesca de investigación sin que sea necesario formalizarlo, y sin perjuicio de las sanciones que correspondan de acuerdo a lo dispuesto en la Ley General de Pesca y Acuicultura, ya citada.

14.- La presente resolución es sin perjuicio de las que correspondan conferir a otras autoridades, de acuerdo a las disposiciones legales y reglamentarias vigentes o que se establezcan.



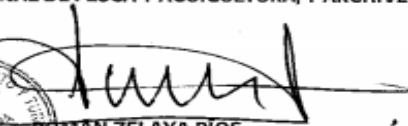
15.- El Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura deberá adoptar las medidas y efectuar los controles que sean necesarios para lograr un efectivo cumplimiento de las disposiciones de la presente resolución.


16.- La presente resolución podrá ser impugnada por la interposición del recurso de reposición contemplado en el artículo 59 de la Ley N° 19.880, ante esta misma Subsecretaría y dentro del plazo de 5 días hábiles contados desde la respectiva notificación, sin perjuicio de la aclaración del acto dispuesta en el artículo 62 del citado cuerpo legal y de las demás acciones y recursos que procedan de conformidad con la normativa vigente.

17.- La presente resolución deberá ser publicada en extracto en el Diario Oficial, por cuenta del interesado.

18.- Transcribese copia de esta resolución a la Dirección General del Territorio Marítimo y Marina Mercante, al Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura y a la División Jurídica de esta Subsecretaría.

ANÓTESE, NOTIFÍQUESE POR CARTA CERTIFICADA, PUBLÍQUESE A TEXTO ÍNTEGRO EN LOS SITIOS DE DOMINIO ELECTRÓNICO DE LA SUBSECRETARÍA DE PESCA Y ACUICULTURA Y DEL SERVICIO NACIONAL DE PESCA Y ACUICULTURA, Y ARCHÍVESE


ROMAN ZELAYA RÍOS
Subsecretario de Pesca y Acuicultura (S)



CCS/AVT/avt



A N E X O 3:

Protocolo de desafío de cohabitación



**PROTOCOLO ESTUDIO DE DESAFÍO POR COHABITACIÓN CON EL
PATÓGENO *Piscirickettsia salmonis* EN RÓBALOS Y SALMÓN DEL
ATLÁNTICO EN CONDICIONES CONTROLADAS**



OBJETIVOS

- Determinar la transmisión bidireccional de la infección por inoculación experimental y cohabitación entre salmón del Atlántico y róbalo (Criterio B de OIE, 2012).
- Detectar y cuantificar la presencia (Criterio A de OIE, 2012) de *Piscirickettsia salmonis* en riñón y bazo en ejemplares de salmón del atlántico y róbalo infectados experimentalmente en forma invasiva y por cohabitación mediante PCR.
- Aislar *Piscirickettsia salmonis* desde ejemplares de salmón del Atlántico y róbalo a partir de tejido renal u otro que presente lesiones a la necropsia (Criterio C de OIE, 2012).

INTRODUCCIÓN

El desarrollo de la acuicultura en base a la introducción de especies de peces salmónidos ha generado diversos cambios en las relaciones ecológicas lacustres y marinas de las regiones en las cuales se desarrolla esta actividad, con resultados inciertos tanto para las especies cultivadas, así como las especies acuáticas nativas. Factores como el aumento en la concentración de animales y la disponibilidad de alimento en las cercanías de los centros de cultivo, escapes de salmónidos desde unidades de cultivo, accidentes climáticos y sismológicos (Sepúlveda et al., 2009), pueden favorecer las interacciones entre peces cultivados y peces de vida libre, lo cual favorece las posibilidades de transmisión de agentes infecciosos entre ellos. La piscirickettsiosis en Chile es una enfermedad importante en el cultivo de peces salmónidos, y dado el hecho de que se ha detectado *Piscirickettsia salmonis* en órganos de peces de vida libre (IFOP, 2012-2015), es importante verificar si existe transmisión desde la especie de vida libre y nativa *Eleginops maclovinus* a peces salmonídeos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Peces

En el desafío por cohabitación se utilizarán ejemplares de la especie róbalo (*Eleginops maclovinus*) y de la especie salmón del Atlántico (*Salmo salar*).

Ejemplares de vida libre de la especie róbalo, serán capturados vivos en el sector del Estuario y Seno del Reloncaví 41°52'59,47" S 73°31'53,95" O, (referencia aproximada) por medio de redes de enmalle, seleccionando 300 individuos de 150 g aproximadamente. Los peces serán trasladados en estanques contenedores de fibra de vidrio con difusores de oxígeno hasta el Centro de Maricultura Hueihue (CMH) del Instituto de Fomento Pesquero (IFOP) en la localidad de Manao 41°52'47,61"S 73°50'18,52"O, (referencia aproximada), instalaciones de piscicultura de flujo abierto, la que cuenta con sistema de desinfección de efluentes y afluentes, teniendo una temperatura promedio estimada de 10°C durante el periodo de otoño, en que se desarrollará el ensayo, y una salinidad promedio de 30 ppm.

Previo al ensayo de cohabitación, se realizarán análisis de laboratorio con el fin de verificar la ausencia de enfermedades en los peces de ensayo, tanto en róbalo como en salmón Atlántico.



Del grupo de peces capturados, se tomará una muestra de al menos el 10% de los peces capturados, y se agruparán en pooles de 3 individuos desde los cuales se colectarán muestras de riñón, bazo, corazón y branquia, para análisis por PCR e IFAT, a fin de verificar que se encuentren libres de patógenos tales como ISAV, *Piscirickettsia salmonis* e IPNV.

Del mismo modo, se utilizarán 300 ejemplares de salmón del Atlántico (*Salmo salar*), no vacunados contra *P. salmonis*, y en un peso promedio de 1000 g. De forma simultánea, se tomará una muestra de 30 individuos, que serán remitidos a un laboratorio externo para su análisis, mediante la técnica de PCR e IFAT, a fin de verificar que se encuentren libres de patógenos tales como ISAV, *Piscirickettsia salmonis* e IPNV.

Para ambas especies, se realizará un período de aclimatación de 7 a 14 días, durante el cual los ejemplares serán dispuestos en estanques de 1 m³. Se llevará registro de los parámetros de salinidad, oxígeno y temperatura de cada estanque de mantención.

Para la alimentación y en el caso del salmón del Atlántico, se le suministrará una dieta estándar comercial calibre 4 *ad libitum*, siguiendo las recomendaciones de fabricante. El grupo de róbalo será alimentado mediante la entrega de mitílicos desconchados, los cuales corresponden al alimento de tipo natural. El régimen será de 2 veces al día, con una tasa de consumo de alimento de 1,4% de su peso vivo.

Aislado bacteriano

Se utilizará una cepa de *P. salmonis* genogrupo EM90, aislada desde salmón del Atlántico, proveniente del cepario propio del Departamento de Salud Hidrobiológica del IFOP.

DISEÑO EXPERIMENTAL

El modelo de desafío por cohabitación se desarrollará según el siguiente esquema de trabajo:

Se utilizará una densidad de cultivo de entre 20 a 22 Kg/m³ lo que estará en función de los pesos de los ejemplares obtenidos y del volumen del agua a utilizar por estanque. El estudio se realizará en triplicado para los grupos experimentales G1 y G2, y en duplicado para los grupos control G3 y G4, los cuales se describen a continuación:

G1:

Considera la incorporación de 18 ejemplares de róbalo (troyanos) inyectados intraperitonealmente con un inóculo de *Piscirickettsia salmonis* de patogenicidad conocida, previamente titulado, en un volumen de 0,2 ml de inóculo, a un estanque que contiene 18 ejemplares de salmón del Atlántico no inoculados (cohabitantes).

G2:

Considera la incorporación de 18 ejemplares de salmón del Atlántico (troyanos) inyectados intraperitonealmente con un inóculo de *Piscirickettsia salmonis* de patogenicidad conocida,

previamente titulado, en un volumen de 0,2 ml de inóculo, a un estanque que contiene 18 ejemplares de róbalo no inoculados (cohabitantes).

G3 (control positivo):

Considera la incorporación de 18 ejemplares de salmón del Atlántico (troyanos) inyectados intraperitonealmente con un inóculo de *Piscirickettsia salmonis* de patogenicidad conocida, previamente titulado, en un volumen de 0,2 ml de inóculo, a un estanque que contiene 18 ejemplares de salmón del Atlántico no inoculados (cohabitantes).

G4 (control negativo):

Considera la incorporación de 18 ejemplares de róbalo y 18 ejemplares de salmón del Atlántico, ambas especies inoculadas con 0,2 ml de suero fisiológico estéril (PBS).

En el grupo control positivo, únicamente a los individuos troyanos se les realizará un marcaje por medio de corte de aleta pélvica, a fin de permitir la identificación respecto de los individuos cohabitantes.

La duración del ensayo comprenderá un periodo de 45 días, periodo en el cual se deberá registrar la mortalidad diaria, la cual deberá ser analizada mediante necropsia, con toma de muestra de órganos para su posterior análisis (se detalla más abajo).

El esquema del diseño experimental se detalla en la Figura 1.



Figura 1. Diseño experimental. Esquema de distribución y número de individuos por estanque en ensayo de inoculación experimental. Texto en rojo corresponde a peces "troyanos".



Análisis de laboratorio de las muestras obtenidas durante el ensayo.

a) Mortalidad de peces durante el estudio

Las mortalidades o peces moribundos serán retirados al menos 3 veces al día durante la duración del estudio, y serán evaluados por medio de necropsia, tomando los registros fotográficos respectivos. Paralelamente, de aquellos peces donde se evidencie mayor signología clínica de piscirickettsiosis, se realizará siembra en placas con medio de cultivo selectivo para *P. salmonis*, lo que permitirá realizar aislamiento del patógeno desde muestras de riñón y bazo. Este procedimiento será realizado hasta una vez logrado con éxito el aislamiento de la bacteria desde peces clínicamente enfermos.

Posterior a la toma de muestras para aislamiento bacteriano, se tomarán muestras de riñón y bazo, las que serán analizadas en pool de órganos por medio de la metodología de RT-PCR en tiempo real para la detección y cuantificación de *Piscirickettsia salmonis*, procedimiento que se deberá aplicar a toda la mortalidad de peces que ocurra durante la ejecución del estudio.

El Procedimiento de necropsia y toma de muestras se presenta como anexo del presente protocolo.

b) Peces sobrevivientes

En caso de no producirse mortalidad de los cohabitantes al finalizar el estudio, se analizará a la totalidad de los peces sobrevivientes por medio de análisis anatomopatológico, en tanto que solamente se analizará una fracción de los individuos sobrevivientes, por grupo experimental, mediante la técnica de RT-PCR para confirmar la presencia o ausencia del patógeno inoculado.

Invaldación del estudio

Se pondrá fin a las pruebas en cualquier momento en caso de que exista la muerte de más del 60% de los peces en un sólo día. Este término temprano se realizará mediante el traslado de los peces a estanques que contengan una sobredosis de anestésico (> 250 mg/l de benzocaína clorhidrato). Se enviarán muestras para análisis a modo de determinar si la mortalidad ocurrida es debida a patógenos u otra presunta causa.

El estudio a su vez será invalidado en el caso que se observe una mayor mortalidad en los grupos controles sin desafío que en los tratamientos desafiados, que no sea atribuible a manejos homogéneamente realizados a los grupos como por ejemplo la inyección. El término temprano se realizará mediante el traslado de los peces a estanques que contengan una sobredosis de anestésico (> 250 mg/l de benzocaína clorhidrato). Se enviarán muestras para análisis a modo de determinar si la mortalidad ocurrida es debida a patógenos u otra presunta causa.

De igual modo, el estudio será invalidado en el caso de no presentarse la enfermedad clínica y mortalidad asociada en los peces cohabitantes del grupo control positivo, grupo en el cual se verifica la transmisión del agente patógeno.



De igual manera se pondrá fin al estudio, en el caso de cumplidos los 45 días post inoculación, no se genere mortalidad en los grupos experimentales.

Análisis estadístico y registros

Se analizarán los resultados obtenidos de necropsia y de PCR a modo de verificar que la mortalidad ocurrida durante el ensayo corresponden al patógeno *P. salmonis*, constituyendo así la mortalidad específica producida por el patógeno. Además, este análisis permitirá determinar la presencia del patógeno en individuos cohabitantes, lo que verificará la transmisión del agente entre individuos troyanos-cohabitantes.

Respecto del análisis estadístico, se graficarán las curvas de mortalidad acumulada correspondiente a cada tipo de pez dentro de los tratamientos. Por otra parte, los datos serán analizados mediante un análisis de supervivencia de Kaplan-Meier, como también, el análisis de Log Rank utilizando el software SPSS 21. Esto permitirá definir la respuesta de las especies róbalo y salmón del Atlántico al inóculo (troyanos), como también, la respuesta de los individuos cohabitantes.

La información de observaciones diarias se registrará de acuerdo a la **Tabla 1**. Los resultados de sobrevivencia de los grupos experimentales serán registrados utilizando el formato de la **Tabla 2**. Por su parte, los resultados de los análisis de laboratorio aplicados serán registrados utilizando el formato presentado en la **Tabla 3**.

Tabla 1.

Tabla de registros de observaciones diarias y de toma de muestras en peces moribundos o de mortalidad.

Día N°	Estanque N°	Pez N°	Peso (g)	Long (cm)	Especie	Moribundo o Mortalidad	Observaciones macroscópicas	Cultivo Bacteriológico	Muestra PCR <i>P_s</i>
1									
2									
3									
4									
.									
.									
30									



Tabla 2.

Tabla de contingencia de sobrevivencia de peces en relación con la condición de Inoculado (trojano) o Cohabitante para cada una de las especies de peces.

ESPECIE	TRATAMIENTO	Moribundo o mortalidad	Sobreviviente	TOTAL
Salmón del Atlántico	Inoculado			
	Cohabitante			
	Control			
SUBTOTAL				
Róbalo	Inoculado			
	Cohabitante			
	Control			
SUBTOTAL				
TOTAL				

Tabla 3.

Tabla de contingencia de resultados de análisis de laboratorio en relación con la condición de Inoculado (trojano) o Cohabitante de cada una de las especies de peces.

ESPECIE	TRATAMIENTO	Órgano	Lesiones Macroscópicas	Cultivo bacteriológico	RT PCR <i>P.salmonis</i>	Subtotal	Total
Salmón del Atlántico	Inoculado	Riñón					
		Bazo					
	Cohabitante	Riñón					
		Bazo					
	Control	Riñón					
		Bazo					
Róbalo	Inoculado	Riñón					
		Bazo					
	Cohabitante	Riñón					
		Bazo					
	Control	Riñón					
		Bazo					



REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Instituto de Fomento Pesquero, 2012. Evaluación y seguimiento de la situación sanitaria de especies silvestres en agua dulce y mar - Informe final. Puerto Montt.
- Instituto de Fomento Pesquero, 2013. Evaluación y seguimiento de la situación sanitaria de especies silvestres en agua dulce y mar - Informe final. Puerto Montt.
- Instituto de Fomento Pesquero, 2014. Evaluación y seguimiento de la situación sanitaria de vida silvestre y posibles reservorios en agua dulce y mar.
- Instituto de Fomento Pesquero, 2015. Evaluación y seguimiento de la situación sanitaria de especies silvestres en agua dulce y mar - Informe final. Puerto Montt.
- Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE), 2006. Manual de pruebas de diagnóstico para los animales acuáticos, 2003.
- Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE), 2012. Report of the Meeting of the OIE Aquatic Animal Health Standards Commission. Paris, 5–9 March 2012.
- Sepúlveda, M; F. Farías y E. Soto. 2009. Escapes de salmones en Chile. Eventos, impactos, mitigación y prevención. Valdivia, Chile: WWF.

ANEXO 4:

Procedimiento de necropsia y toma de muestras de órganos



C3digo: LN – Necropsia	Necropsia y Toma de Muestras Desafío por cohabitaci3n Salm3n del Atl3ntico-R3balos	
PROCEDIMIENTO NECROPSIA Y TOMA DE MUESTRAS DESAFÍO POR COHABITACI3N SALMON ATL3NTICO- R3BALOS	P3gina 1 de 3 Elaborado por: Jefe de Laboratorio.	
Edici3n N3 : 03	Fecha : Febrero 2017	Aprobado por: Jefe de Proyecto.



1. Prop3sito

El objetivo de este procedimiento es la obtenci3n de muestras para an3lisis de diagn3stico de *Piscirickettsia salmonis*.

2. Alcance

Este procedimiento es ejecutado por el personal autorizado de IFOP y se aplica a nivel de investigaci3n y diagn3stico de enfermedades.

3. Referencias

- 3.1. OIE. Manual of Diagnostic Tests for Aquatic Animals, 2012.

4. Responsabilidades

El Jefe de Laboratorio es responsable de la implementaci3n y actualizaci3n de este procedimiento. Tambi3n es responsable de supervisar su correcta ejecuci3n, revisar los resultados, revisar y/o elaborar el informe final de los resultados y supervisar el envío de los informes vía correo electr3nico u otra vía a quien solicita dicho an3lisis al laboratorio.

El analista de laboratorio es el responsable de realizar las actividades de an3lisis descritas en este procedimiento.

5. Desarrollo de la actividad

5.1. Equipos y Materiales

- 5.1.1 Papel tipo Kraft o Jumbo
- 5.1.2 Material quir3rgico est3ril
- 5.1.3 Algod3n
- 5.1.4 Tubos tipo Eppendorf de 2 ml con etanol
- 5.1.5 Portaobjetos
- 5.1.6 T3rulas
- 5.1.7 Tubos con formalina tamponada 10%
- 5.1.8 Asa de siembra
- 5.1.9 Placas con agar para cultivo de *Piscirickettsia salmonis*
- 5.1.10 Cajas para tubos tipo Eppendorf
- 5.1.11 Cajas de aislapol
- 5.1.12 Guantes
- 5.1.13 Icti3metro o regla
- 5.1.14 Balanza
- 5.1.15 Aspersores
- 5.1.16 C3mara fotogr3fica
- 5.1.17 Mechero de Bunsen
- 5.1.18 Estufa de incubaci3n
- 5.1.19 L3piz marcador indeleble



Código: LN – Necropsia	Necropsia y Toma de Muestras Desafío por cohabitación Salmón del Atlántico-Róbalos	
PROCEDIMIENTO NECROPSIA Y TOMA DE MUESTRAS DESAFÍO POR COHABITACIÓN SALMON ATLÁNTICO- RÓBALOS	Página 2 de 3	
Edición Nº : 03	Fecha : Febrero 2017	Aprobado por: Jefe de Proyecto.



5.2. Reactivos

- 5.2.1. Alcohol 70° (para desinfectar)
- 5.2.2. Etanol calidad para análisis
- 5.2.3. Virkon's
- 5.2.4. Dip blue o Mortgreen

5.3 Procedimiento

Necropsia.

- 5.3.1 Sobre el mesón, extender un trozo de papel y seleccionar el material quirúrgico (pinzas, mango de bisturí, tijeras), previamente desinfectado con alcohol.
- 5.3.2 Pesar (gr) y medir (cm) cada uno de los peces, registrar los datos obtenidos en el registro de muestreo y distribuirlos sobre el papel, ordenados de forma tal que al observarlos, la cabeza y la cola estén a la izquierda y derecha del analista, respectivamente.
- 5.3.3 Tomar una fotografía externa del pez, procurando que en la imagen aparezca la identificación del pez (N° correlativo del pez y fecha). Realizar una descripción macroscópica de las características de la superficie externa del pez, considerando ambos lados, con el fin de observar y registrar la presencia de cualquier anomalía aparente y visible.
- 5.3.4 Luego del examen externo, con material quirúrgico debidamente desinfectado, se realiza una incisión en el pez de tal forma de exponer los órganos internos de éste (ventana de necropsia).
- 5.3.5 Tomar una fotografía interna del pez y examinar los órganos internos para describir las anomalías macroscópicas relevantes como cambios morfológicos, posición y coloración presente en los órganos y tejidos, presencia de fluidos en la cavidad abdominal, presencia o ausencia de contenido estomacal.
- 5.3.6 Una vez concluido en análisis anatomopatológico, el analista deberá comenzar con el proceso de toma de muestras para los distintos análisis en el siguiente orden:

Siembra de órganos en placas para cultivo bacteriológico.

- 5.3.7 Dividir la placa de agar en 2 partes iguales, rotular una parte como "bazo" y la otra parte como "riñón", en el borde de la placa rotular el N° correlativo de pez y la fecha.
- 5.3.8 Encender el mechero y mantener la asepsia del entorno en el cual se va a sembrar.
- 5.3.9 Tomar el asa de siembra y esterilizar, poniéndola sobre el mechero de 8 a 10 segundos hasta que se torne color rojo intenso, luego enfriarla en el agar, trabajando siempre cerca del mechero.
- 5.3.10 Inmediatamente después de enfriar el asa de siembra, frotarla sobre el órgano blanco (previamente despejado) y luego cargar el asa con la muestra sobre el agar haciendo estrias paralelas en una sola porción del agar, sin devolverse.



Código: LN – Necropsia	Necropsia y Toma de Muestras Desafío por cohabitación Salmón del Atlántico-Róbalos
------------------------	--

PROCEDIMIENTO NECROPSIA Y TOMA DE MUESTRAS DESAFÍO POR COHABITACIÓN SALMON ATLÁNTICO- RÓBALOS	Página 3 de 3 Elaborado por: Jefe de Laboratorio.	
Edición Nº : 03	Fecha : Febrero 2017	Aprobado por: Jefe de Proyecto.



5.3.11 Trasladar las placas a la estufa de incubación, que debe permanecer a 18°C de temperatura por un periodo máximo de 7 días hasta su traslado al Laboratorio IFOP, Puerto Montt (en adelante "Laboratorio").

Pooles para análisis de PCR

5.3.12 Con ayuda de pinzas y bisturí tomar dos pequeños trozos (máximo 5 mm²) de riñón y bazo de cada pez. Depositar uno de los trozos de cada órgano en un tubo Eppendorf con etanol, para usarlo como muestra y el otro trozo de cada órgano en otro tubo con etanol absoluto para guardarlo como contramuestra.

5.3.13 Cada tubo debe estar rotulado con el N° correlativo de pez y la fecha.

5.3.14 Para evitar contaminación cruzada, las muestras de cada pez deben ser tomadas con material quirúrgico único, el cual debe ser lavado y luego desinfectado inmediatamente, sumergiéndolo 3 a 5 minutos en una solución de Virkon 's al 1%, luego 3 a 5 minutos en alcohol 70°, para que pueda volver a ser utilizado.

5.3.15 Una vez tomadas las muestras, se deben disponer en cajas para mantener su posición vertical y mantener a temperatura de refrigeración (4-8°C aprox), por un periodo máximo de 7 días hasta su envío al Laboratorio.

Envío de muestras al Laboratorio

5.3.16 El envío de muestras se realizará los días lunes desde Ancud, con guía de despacho interna.

Disposición de la mortalidad

5.3.17 Una vez finalizada la toma de muestras de todos los peces, se deben eliminar los restos biológicos dentro de doble bolsa y rosear con Dip blue o Mortgreen (inactivador de mortalidad - ácido acético 7%) y congelar a ± 20°C para, luego de finalizar el estudio, trasladar al vertedero Rexin S.A., con guía de despacho visada por el Servicio Nacional de Pesca.

6. Documentación

6.1 Registro de muestreo

7. Anexos

No aplica.

A N E X O 5:

Programa de Seminario de difusión de resultados
y listado de participantes



Taller de difusión de resultados Programas:

“Vigilancia de la resistencia de *Caligus rogercresseyi* a antiparasitarios aplicados en la salmonicultura nacional (Etapa II)”

“Evaluación y Seguimiento de la Situación Sanitaria de Especies Silvestres en Agua Dulce y Mar, 2018-2019”

Martes 24 de septiembre 2019 – Salón Manquehue, Hotel Manquehue, Puerto Montt

HORARIO	ACTIVIDAD	RELATOR
14:30 - 14:45	Inscripciones - Bienvenida	-
14:45 - 15:00	“Investigación para la administración de la acuicultura”	Maureen Alcayaga Subpesca
15:00 - 15:30	“Resultados del Programa Evaluación y seguimiento de la situación sanitaria de especies silvestres en agua dulce y mar, (2018-2019)”	Juan Carlos Quintanilla Investigador IFOP
15:30 - 16:00	“Presencia de pisciculturas y análisis de ID de truchas naturalizadas versus cultivo: Perspectivas globales y locales”	Dr. Daniel Gómez-Uchida Universidad de Concepción
16:00 - 16:30	Café	-
16:30 - 16:45	“Situación sanitaria de caligidosis 2019”	Patricio Medina Jefe Departamento de Salud Animal, Sernapesca
16:45 - 17:15	“Resultados Programa Vigilancia de la resistencia de <i>Caligus rogercresseyi</i> a antiparasitarios (etapa II)”	Dra. Margarita González Investigador IFOP
17:15 - 18:00	Dudas, comentarios, discusión	Todos
Cierre		



Taller de difusión de resultados Programas:
 “Vigilancia de la resistencia de *Caligus rogercresseyi* a antiparasitarios aplicados en la salmonicultura nacional (Etapa II)”
 “Evaluación y Seguimiento de la Situación Sanitaria de Especies Silvestres en Agua Dulce y Mar, 2019”

Martes 24 de septiembre 2019 – Salón Manquehue, Hotel Manquehue, Puerto Montt

Nombre	Institución	Correo	Firma
1. Masreen Alcaraz	Subpesc	masreena@subpesc.cl	
2. Gonzalo Nolasco	PROMECC	GNOLASCO@PROMECC	
3. Noelia Vega	IFOP	noelia.vega@ifop.cl	
4. M. Evelyn Loy	IFOP	Mery.evelyn@ifop.cl	
5. Christian Espinoza	IFOP	christian.espinoza@ifop.cl	



Nombre	Institución	Correo	Firma
6 José Gabriel Bravo	Valparaiso Chile	menis.pugna@coligandil.cl	
7 LUIS NORAZUENA	IFOP	L.U.S.-LORAM31@NAF,IFOP.CL	
8 Andrián Musalem	Aquabench	emusalem@aquabench.com	
9 Alejandra Morales	Aquabench	amoralet@aquabench.com	
10 David Weisner	Aquabench	dweisner@aquabench.com	
11 Aldo Carrón	Aquabench	acarron@aquabench.com	
12 Sonia Stolz	Benchmark Animal Health	sonia.stolz@benchmarkanimalhealth.com	
13 Cristian Weischner	Salmores System	CLOSCINER@SALMORES.COM	
14 Emilio Vieytes	Univ. de las Lajas	emilio.vieytes@ulaj.cl	
15 María Leonorete	IFOP	marialeonorete@ifop.cl	
16 Katherine Subiabre	IFOP	katherine.subiabre@ifop.cl	



Nombre	Institución	Correo	Firma
Daniel Gómez Nieves	Universidad de Concepción	dgomez@udc.cl	
Venerio Prieto	IFOP	Venerio.vrieto@ifop.cl	
Leonardo Cerzua	IFOP	leonardo.cerzua@ifop.cl	
Christian Soto	IFOP	daniel.spruett@ifop.cl	
Francisco Soto	Salmonexpert	francisco@salmonexpert.cl	
Alejandro Hainings	Multiexport	ahainings@multiexport.cl	
Ivonne Hano	SCUNAPESU	ihano@scunapesu.cl	
Roberto Montt	Senarica	montt@senarica.cl	
Patricio Parra	SEMARCA	pparra@semarca.cl	
Sergio Vespucio	NSD AH	sergio.vespucio@nsd.ah.cl	
Paulo Dinech	Multiexport	pdinech@multiexport.cl	



Nombre	Institución	Correo	Firma
26 Sergio Silva	INVERHA	sergio.silva@inverha.cl	[Firma]
29 María Bausch	UACH	maria.bausch@uach.cl	[Firma]
30 Claudio Arce	IVC Chile	claudio.arce@ivc.gov.cl	[Firma]
31 Andrés Saldaña	Servicio de Pesca	ANDRES.SALDANA@SVC.CC	[Firma]
32 Mariana Mancilla	UACH	mariana.mancilla@uach.cl	[Firma]
33 Karen Ruiz	Monsi	Karen.ruiz@monsicon.cl	[Firma]
34 Gastón Urd	GERNA	Gaston.Urd@gerna.cl	[Firma]
35 Caroline Swartz	ELANCO	caroline.swartz@elanco.com	[Firma]
36 Julio Berthoin	Elanco	Julio.Berthoin@elanco.com	[Firma]
37 Daniel Jiménez	Intesa	djimenez@intesa.cl	[Firma]
38 Marcela Galent	Austronics	mgalenti@austronics.com	[Firma]



Nombre	Institución	Correo	Firma
39 Jover Rivera	AUSIACIS	Jrivera@ausiacis.gub.ve	
40 Sandra Neuri	UACH	smerin@uach.cl	
41 David Olivo	IFOP	david.olivo@ifop.cl	
42 Renato Otáñez	IFOP	RENATO_OTANEZ@ifop.cl	
43 LORETO OVALLE	IFOP	loreto.ovalle@ifop.cl	
44 Paola Olivo	IFOP	paola.olivo@ifop.cl	
45 Anagaité González	IFOP	anagaita.gonzalez@ifop.cl	
46 Juan Carlos Quintanilla	IFOP	juan.carlos.quintanilla@ifop.cl	
47 Mario Nivas F	IFOP	MARIO.NIVAS@ifop.cl	
48 Sergio Contreras L.	IFOP	sergio.contreras@ifop.cl	

ANEXO 6:

Documento borrador con los principales
resultados del estudio



Evaluación y seguimiento de la situación sanitaria de especies silvestres en agua dulce y Mar

Resumen

El presente programa de investigación tiene por objetivo establecer una vigilancia de los agentes patógenos causantes de Enfermedades de Alto Riesgo (EAR) en peces silvestres de cuerpos de aguas, fluviales, estuarinos y marinos de las Regiones donde se han establecido las producciones de peces salmonídeos a nivel industrial (La Araucanía, Los Ríos, Los Lagos, Aysén del General Carlos Ibáñez del Campo y Magallanes y de la Antártica Chilena). La iniciativa considera la evaluación de especies tanto salmonídeas como no salmonídeas, respecto de la detección de agentes patógenos virales y bacterianos, tanto exóticos como endémicos de nuestro país. La metodología diagnóstica para desarrollar la vigilancia es a través de la técnica molecular de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), en tiempo real, seleccionada debido a la rapidez, sensibilidad y especificidad de la misma, permitiendo entregar resultados más confiables y en un menor tiempo. Se efectuó la totalidad de las campañas de pesca comprometidas para las 29 zonas propuestas y sometidas a consenso con la contraparte técnica del estudio, lo que permitió capturar un total de 4192 ejemplares considerando las especies establecidas por resolución de Pesca de Investigación. Del total de ejemplares capturados en las campañas de pesca de investigación del período 2018-2019, el 29,2% (1226) correspondió a la especie róbalo, seguido por pejerrey de agua dulce con un 16,1% (676) del total. En tercer lugar, con un 15,9% (665) se encontró trucha arcoiris, seguido por pejerrey de mar con un 11,3% (475) del total de las especies capturadas. En menor proporción se encontraron las especies trucha fario, perca trucha y salmón coho con un 10,5% (440), 8,8% (369) y 7,6% (319) del total. Aquellas con número de capturas menor al 1% fueron peladilla y salmón del Atlántico, con un 0,3% y 0,2%; respectivamente. Respecto del análisis diagnóstico de las Enfermedades de Alto Riesgo (EAR), de la totalidad de muestras analizadas en el período 2018-2019 (n= 4190), se detectaron 38 muestras positivas a *P. salmonis*, 2 positivas a IPNV, 15 positivas al patógeno PRV, 13 muestras positivas a *F. psychrophilum* y finalmente 3 muestras positivas a *Renibacterium salmoninarum*. En cuanto al análisis genético de la especie salmón del Atlántico, mediante el Análisis de Componentes Principales Discriminantes (ACPD), el análisis de asignación individual de las muestras de tejido de ejemplares de trucha arcoiris mostró tener mayor parentesco genético con individuos del grupo genético de referencia correspondiente al Lago Llanquihue (67%), seguido de individuos pertenecientes al grupo genético de referencia de Piscicultura (23%). Por su parte, el análisis de asignación individual realizado para cada lago de manera independiente mostró porcentajes de asignación variable entre lagos. El Lago Villarrica presentó el mayor valor de asignación a centros de cultivo (92%), mientras el Lago Caburga presentó los menores valores de asignación a centros de cultivo (64%). En relación al análisis epidemiológico efectuado, las mayores proporciones de especies silvestres que resultaron positivas a la detección de material genómico de *P. salmonis* se encontraron en barrios (ACS) de la Región de Aysén del General Carlos Ibáñez del Campo, siendo los más altos el 22d (0,48%), y el 22a (0,36%), seguidos del 23b y 23c con un 0,32% cada uno. Por su parte, El análisis de correlación efectuado entre los resultados obtenidos de muestras



positivas a agentes patógenos en peces silvestres con los resultados de mortalidad anual por SRS en centros de cultivo de salmónidos, mostró la existencia de una asociación positiva $Rho= 0,234$, sin embargo, esta asociación no fue significativa ($p>0.05$), por lo que se concluye que no existe asociación entre ambas variables. Por su parte, el análisis de regresión lineal generalizado realizado sugiere que la tasa de mortalidad producida por *P. salmonis* en los barrios analizados, no tiene influencia sobre la proporción de peces silvestres positivos al patógeno, confirmando los resultados del análisis de correlación. Finalmente, en relación al análisis de tendencias desde el año 2010-2019, de los 36.038 ejemplares que han sido analizados durante la totalidad del programa, el 92,8% han sido negativos a la presencia de patógenos causantes de EAR sanitario, en tanto el 7,13% dieron resultados positivos a la detección de material genético de patógenos. De ellos, el 80,5% fue positivo a *P. salmonis*, el 9,48% a *F. psychrophilum*, el 6,88% a IPNv, el 3,03% a PRV y el 0,12% a *R. salmoninarum*.



Introducción

El rol epidemiológico de las especies silvestres como portador diseminador y/o vector en la transmisión de enfermedades a los animales de producción es un tema discutido ampliamente. Tras la crisis sanitaria producida en la industria del salmón en el sur de Chile, ocasionada por el patógeno ISAy y los recientes problemas asociados a *Piscirickettsia salmonis* como agente bacteriano más importante, implicó cambios respecto al sistema de vigilancia sanitaria realizada por la Autoridad. El presente trabajo ha tenido por objetivo establecer una vigilancia en la detección de material genético de agentes patógenos causantes de Enfermedades de Alto Riesgo (EAR) en peces silvestres y ferales de cuerpos de agua lacustres, estuarinos y marinos de las regiones donde se ha establecido la Salmonicultura (La Araucanía, Los Ríos, Los Lagos, Aysén del General Carlos Ibañez del campo y de Magallanes y la Antártica Chilena). La iniciativa consideró la evaluación de especies tanto salmonídeas como no salmonídeas, respecto de la detección de agentes patógenos virales y bacterianos, tanto exóticos como endémicos de nuestro país, con la finalidad de generar antecedentes respecto de posibles relaciones en la presentación de patologías relevantes en especies salmonídeas en cultivo y el rol de las especies silvestres o asilvestradas en su presentación.

Materiales y métodos

Se ejecutaron actividades de pesca de investigación, autorizada por medio de Resolución Exenta N° 3601 - 2018, en 29 zonas de muestreo distribuidas entre las regiones de La Araucanía, Los Ríos, Los Lagos, Aysén del General Carlos Ibañez del Campo, y de Magallanes y de la Antártica Chilena (Tabla 1). Una vez capturados los ejemplares desde las zonas de muestreo, se trasladaron al Laboratorio del Instituto de Fomento Pesquero, donde fueron evaluados según sus características morfométricas, luego de ello se realizó la necropsia enfocada a describir anomalías en base a comparación de los ejemplares observados en cada muestreo y hallazgos de parásitos. De cada pez se extrajeron por separado una muestra de aproximadamente 0,5 centímetros cúbicos de cada uno de los órganos blanco: riñón, corazón, branquias y bazo, los cuales en conjunto constituyeron un pool de órganos, los que fueron preservadas en etanol 90%. Además, en las especies salmonídeas se incorporaron muestras de corazón (50% del aprox. incluyendo aurícula y ventrículo) y musculo esquelético fijado en formalina tamponada al 10% para el análisis histopatológico de PRV, en el caso de ser necesario llevarlo a cabo. De igual modo, se registraron los hallazgos parasitarios detectados a la necropsia en la totalidad de los peces sometidos a estudio. El análisis de las muestras, se realizó mediante la técnica de PCR en tiempo real y se realizó en dependencias del Instituto de Fomento Pesquero, Puerto Montt. Los patógenos analizados fueron, ISAy, Alfavirus, IHNv, VHSV, OMv, EHNv, PRV, IPNV *P. salmonis*, *F. psychrophilum* y *R. salmoninarum*. Para cada muestra se incorporó un control interno o *housekeeping gene*.

**Tabla 1. Zonas de muestreo y códigos asignados**

Zona de muestreo	Código zona
Fiordo Aysén	FA
Estuario de Valdivia y Río Valdivia	EV
Macrozona 1 (Estuario y Seno de Reloncaví)	M1
Macrozona 5 (Hornopirén y Fiordo Comau)	M5
Macrozona 2 (Chiloé Norte)	M2
Macrozona 4 (Chiloé Sur)	M4
Macrozona 3 (Chiloé Central)	M3
Macrozona 6 (Melinka y Guaitecas norte)	M6
Macrozona 7 (Guaitecas Sur, Fiordo Cupuelan y Estero Quilcalco)	M7
Macrozona 8 (Fiordo Puyuhuapi y Raúl Marín Balmaceda)	M8
Control Negativo (Caleta Tortel y Río Cochrane)	CN
Puerto Natales	PM
Capitán Aracena	PA
Lago Llanquihue	L1
Lago Chapo	L2
Lago Riesco	L3
Lago Huillínco	L4
Lago Natri	L5
Lago Sofía	L6
Lago Caburga	L7
Lago Calafquén	L8
Lago Colico	L9
Lago Villarica	L10
Lago Ranco	L11
Lago Panguipulli	L12
Lago Riñihue	L13
Lago Yelcho	L14
Lago Rupanco	L15
Lago Puyehue	L16

Se consideraron 3 puntos geográficos dentro de cada zona de muestreo. Se mantuvieron, en lo posible, los mismos puntos de muestreo definidos durante el período de programa 2017-2018 a fin de mantener la continuidad espacial de los muestreos, que permitan establecer las tendencias de capturas y de muestras positivas a patógenos por zona de monitoreo.



Resultados y discusión

En las pescas de investigación se obtuvieron un total de 4192 individuos capturados en las zonas comprometidas. Del total de ejemplares capturados en el período 2018-2019, el 29,2% (1226) correspondió a la especie róbalo, seguido por pejerrey de agua dulce con un 16,1% (676) del total. En tercer lugar, con un 15,9% (665) se encontró trucha arcoiris, seguido por pejerrey de mar con un 11,3% (475) del total de las especies capturadas. En menor proporción se encontraron las especies trucha fario, perca trucha y salmón coho con un 10,5% (440), 8,8% (369) y 7,6% (319) del total. Aquellas con número de capturas menor al 1% fueron peladilla y salmón del Atlántico, con un 0,3% y 0,2%; respectivamente. Respecto del análisis diagnóstico de las Enfermedades de Alto Riesgo (EAR), de la totalidad de muestras analizadas en el período 2018-2019 (n= 4190), se detectaron 38 muestras positivas a *P. salmonis*, 2 positivas a IPNv, 15 positivas al patógeno PRV, 13 muestras positivas a *F. psychrophilum*, y finalmente 3 muestras positivas al patógeno *R. salmoninarum*, las que se presentaron en ejemplares de la especie salmón coho capturados en la Región de Magallanes y de la Antártica Chilena. Se encontró una prevalencia de un 0% para los patógenos IHNv, VHSV, EHNv, SAV, ISAv, y PMCV. La ocurrencia de los patógenos detallada por región se presenta en la Tabla 2, donde se observa una ocurrencia total de un 17% de las muestras fueron positivas a algún patógeno en vigilancia. En el análisis por región, la Región de Aysén del General Carlos Ibáñez del Campo fue la que presentó la ocurrencia más alta con un 3,02%, seguido por la Región de Los Lagos con un 1,68%, Región de Los Ríos con un 1,10%, y finalmente la Región de Magallanes y de la Antártica Chilena con un 1,05%. No se presentaron muestras positivas para agentes patógenos en la Región de La Araucanía

Tabla 2.

Distribución de patógenos bajo monitoreo con resultados PCR positivos y su ocurrencia por región.

Región	IPNv	PRV	<i>P. salmonis</i>	<i>F. psychrophilum</i>	<i>R. salmoninarum</i>	(+)/Total	Ocurrencia (%)
ARAUC	0	0	0	0	0	0/616	0%
RIOS	0	0	3	3	0	6/542	1,10%
LAGOS	1	6	15	6	0	28/1661	1,68%
AYSEN	1	8	16	3	0	30/992	3,02%
MAG	0	1	2	1	3	7/679	1,05%
Total	2	15	38	13	3	71/4190	1,69%

En la Tabla 3 se realizó el análisis de las muestras positivas a *P. salmonis* identificadas por especie. El total de las muestras positivas fueron 38 de las 2160 analizadas, resultando una proporción de muestras positivas al patógeno del 1,8%. La especie con mayor número de casos fue róbalo con 22 muestras positivas (57,8%), seguido del Pejerrey de mar con 9 muestras positivas (23,7%) y pejerrey de agua dulce con 3 casos (7,89%).



Tabla 3.
Ocurrencia de positividad a la detecci3n de *P. salmonis* por especie capturada.

Especie	Nº muestras analizadas	Positivas a <i>P. salmonis</i>	Negativas a <i>P. salmonis</i>	Ocurrencia de <i>P. salmonis</i>
Pejerrey agua dulce	114	3	111	2,6%
Pejerrey de mar	475	9	466	1,9%
Peladilla	11	-	11	0%
Perca trucha	1	-	1	0%
Robalo	1225	22	1203	1,8%
Salmon Atl3ntico	5	-	5	0%
Salmon coho	159	1	158	0,6%
Trucha arcoiris	41	1	40	2,4%
Trucha faro	129	2	127	1,6%
TOTAL	2160	38	2122	1,8%

Con los resultados de las positividades de los pat3genos en vigilancia y la informaci3n productiva obtenida desde los centros de cultivo de las Macrozonas sanitarias, se realiz3 un an3lisis epidemiol3gico con el prop3sito de vincular los brotes por *P. salmonis* en la industria con respecto a las positividades en peces silvestres. Se realiz3 un an3lisis y distribuci3n espacial de las muestras positivas (Figura 1, 2 y 3) en los barrios donde se capturaron peces silvestres. Las zonas con mayor prevalencia fueron el barrio 28b ubicado en el Fiordo Ays3n, en la Regi3n de Ays3n del General Carlos Ibañez del Campo, con un 5,17% de muestras positivas, seguido por el barrio 2 ubicado la Macrozona 1 (LAGOS) con un 4,41%, y el barrio 32 ubicado en la Macrozona 8 (AYSEN) con un 3,75% de sus muestras. Adem3s, se encontraron muestras positivas en la Regi3n de Magallanes y de la Ant3rtica Chilena, donde los barrios 46 y 44 ubicados en Puerto Natales alcanzaron una prevalencia del 2,33% y 1,96%; respectivamente. En esta etapa, no se registraron muestras positivas para la zona de Punta Arenas, en la Regi3n de Magallanes y de la Ant3rtica Chilena. Adem3s, se realiz3 un an3lisis de correlaci3n de Spearman con la finalidad de determinar si existe alguna asociaci3n entre las variables tasa de mortalidad por *P. salmonis* a nivel de barrio con respecto a la proporci3n de muestras positivas a *P. salmonis* en los barrios muestreados. El an3lisis de correlaci3n (Figura 4) entre las variables arroj3 como resultado un valor de correlaci3n de Spearman de $Rho = 0,234$, denotando una relaci3n de tipo positiva entre las variables. Sin embargo, los resultados tambi3n indican que esta relaci3n no es significativa ($p > 0,05$), por lo que se concluye que no existe relaci3n entre las prevalencias observadas en peces silvestres y la tasa de mortalidad ocurrida en los barrios, ambas producidas por *P. salmonis*. Por otra parte, se realiz3 un an3lisis de regresi3n lineal generalizada, la cual sugiere que la tasa de mortalidad producida por *P. salmonis* a nivel de los barrios, no tiene influencia o impacto sobre los resultados positivos a este pat3geno en los peces silvestres (estadístico de Wald= 0,08; $p = 0,77$). Este an3lisis confirma los resultados de la correlaci3n.

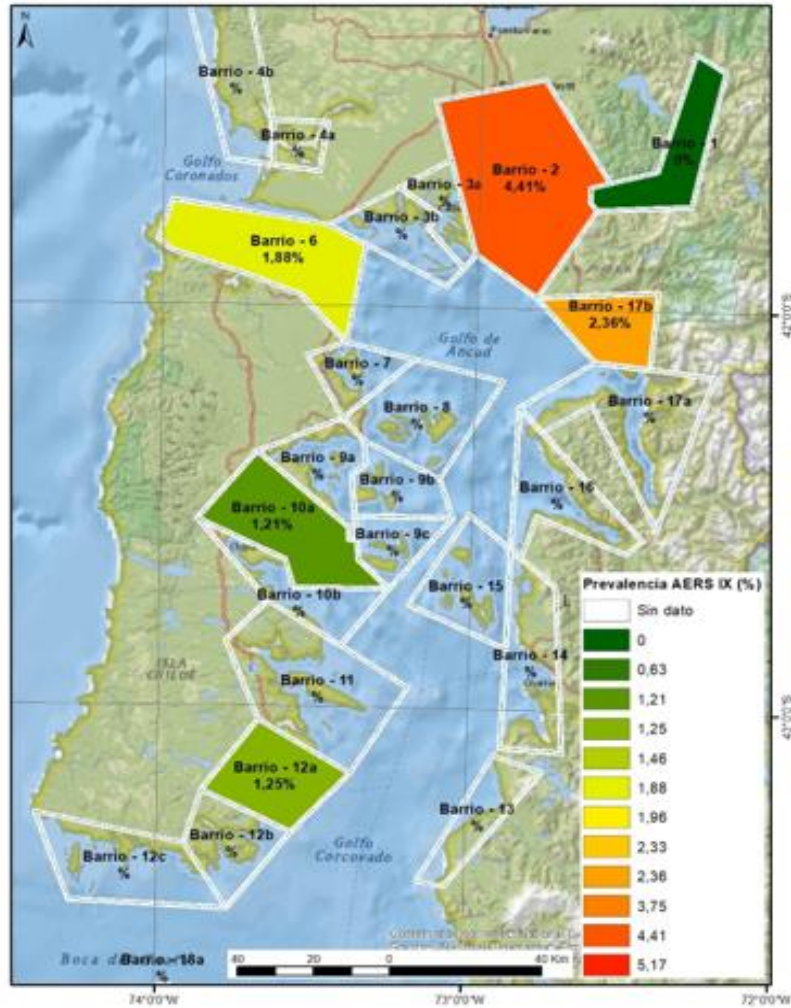


Figura 1. Mapa coropleto de la ocurrencia de *P. salmonis* en las especies silvestres y ferales capturadas entre 2018-2019, en la Regi3n de Los Lagos.

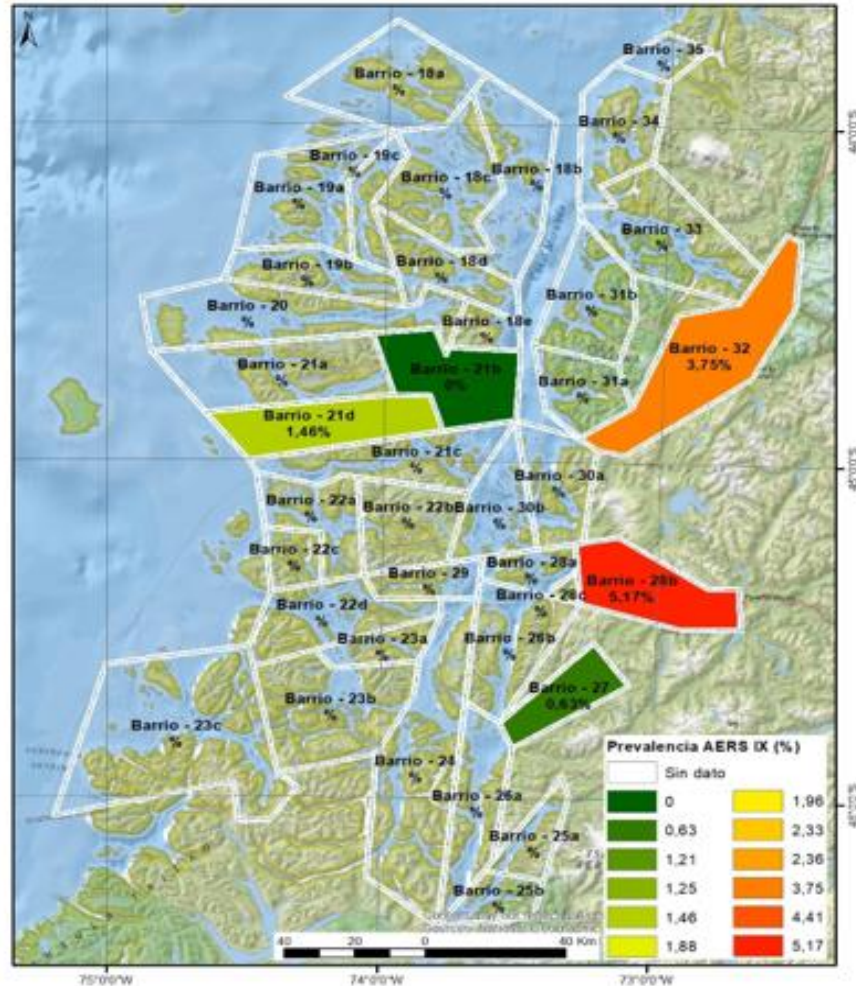


Figura 2. Mapa coropleto de la ocurrencia de *P. salmonis* en las especies silvestres y ferales capturadas entre 2018-2019, en la Regi3n de Ays3n del General Carlos Ibañez del Campo.

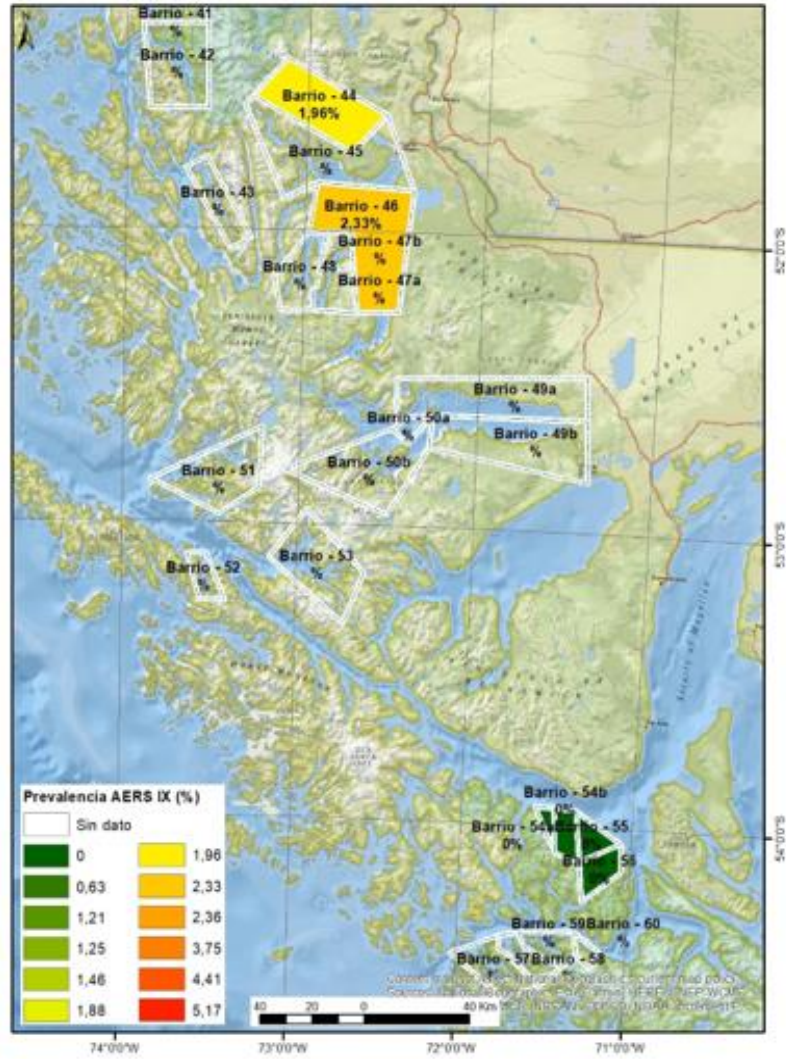


Figura 3. Mapa coropleto de la ocurrencia de *P. salmonis* en las especies silvestres y ferales capturadas entre 2018-2019, en la Región de Magallanes y de la Antártica Chilena.

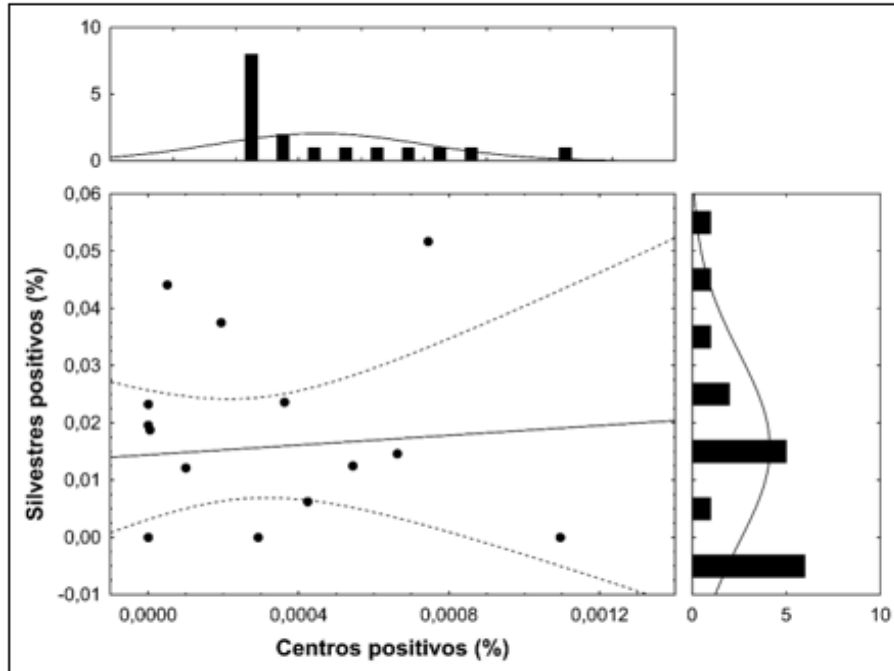


Figura 4. Gráfico de dispersión de datos y su línea de ajuste y correlación.

Para el desarrollo del análisis de tendencias, se consideró la revisión de bases de datos obtenidas durante proyectos anteriores (ASIPA 2010-2018). Se consideraron las bases de datos de capturas de peces, como también, de positividad a patógenos relevantes para la acuicultura, que abarcan desde las regiones de La Araucanía, Los Ríos, Los Lagos, Aysén del General Carlos Ibáñez del Campo y de Magallanes y de la Antártica Chilena. Se realizaron análisis en la búsqueda de la presencia de los patógenos para cada período según el detalle: años 2010 - 2011 (EHNv, IHNv, VHSv, OMv, *Vibrio ordalii*, *Aeromonas salmonicida*, *P. salmonis*), para los años 2011-2012 (agregándose a los anteriores, ISAv, IPNv, Alphavirus, *F. psychrophilum*, *R. salmoninarum*, *S. phocae* y *Y. ruckeri*), para los años 2012-2013 (agregándose a los anteriores PRV), para los años 2013-2014 (manteniendo los anteriores), y para los años 2014-2015 (incorporando a los anteriores PMCV), y desde el año 2015 en adelante, se han mantenido en total 11 agentes patógenos bajo monitoreo (IPNv, PMCV, VHS, IHNv, EHNv, PRV, SAV, ISAv, *P. salmonis*, *R. salmoninarum* y *F. psychrophilum*), y solo en caso de presentarse la enfermedad clínica, los agentes *A. salmonicida*, *V. ordalii*, *Y. ruckeri* y *S. phocae*. A la fecha, se han analizado un total de 36.038 peces, englobando todas las zonas estudiadas y especies, de los cuales, 33.465 peces (92,86%) se encontraron negativos a los patógenos mencionados y 2.573 individuos (7,14%) se encontraron positivos a alguno de los patógenos bajo monitoreo. Del total de peces positivos, se destaca que 2.071 individuos (80,5%) resultaron positivos a *P. salmonis*,



244 individuos (9,48%) resultaron positivos a *F. psychrophilum*, para el patógeno IPNV se encontraron 177 individuos positivos (6,88%), 78 individuos (3,03%) resultaron positivos a *Piscine reovirus* (PRv) y finalmente 3 individuos (0,12% resultaron positivos a *R. salmoninarum*.

Conclusiones

En el seguimiento de la situación sanitaria de las especies silvestres y ferales en los cuerpos de agua de mar, dulce y estuarinas, en el análisis de la tendencia de muestras positivas a nivel general, durante el período 2010-2019, se puede observar un comportamiento cíclico del hallazgo de muestras positivas a patógenos causantes de EAR. En cuanto a esta etapa en particular (2018-2019), se registró una disminución en las detecciones de muestras positivas a material genético de los agentes patógenos que son objeto de monitoreo, con especial la bacteria *Piscirickettsia salmonis*, alcanzando un valor de 1,7%, a diferencia de un 3% para el período 2017-2018. Además, se mantuvieron las especies róbalo (*E. maclovinus*) y pejerrey de mar (*O. regia*), como los principales ejemplares con las mayores proporciones de muestras positivas a los patógenos en vigilancia. Considerando estos resultados, la vigilancia epidemiológica de las especies silvestres y asilvestradas debe mantenerse con la finalidad de poder obtener el conocimiento necesario que nos lleve a una mejor comprensión del rol epidemiológico de las especies silvestres en la transmisión y/o diseminación de enfermedades, ya sea como vectores, portadores o mantenedores de agentes infecciosos tales como *P. salmonis* o IPNV. Cabe destacar la relevancia de este antecedente para el patógeno *P. salmonis*, principal agente causal de la Piscirickettsiosis, la que genera elevadas mortalidades a nivel de la industria en la actividad salmonicultura nacional. La presencia de éstos patógenos en especies silvestres y asilvestradas es un antecedente que debe ser profundizado, por una parte, para conocer la direccionalidad de la transmisión de patógenos, y por otro lado, para generar el conocimiento científico necesario que se requiere para comprender la dinámica de las poblaciones de estas especies a fin de entender sus hábitos y posibles patrones de movimientos migratorios, los cuales podrían cumplir un rol preponderante en la diseminación de agentes patógenos y sus enfermedades.]

ANEXO 7:

Respuestas a observaciones del evaluador



RESPUESTA DE UNIDAD EJECUTORA A OBSERVACIONES DE INFORME FINAL

I. ANTECEDENTES GENERALES DEL PROYECTO

- a) Título del proyecto: **Evaluación y seguimiento de la situación sanitaria de especies silvestres en agua dulce y mar.**
- b) Tipo de informe: **Final**
- c) Jefe de programa: **Juan Carlos Quintanilla Correa**
- d) Nombre del evaluador: **Sandra Bravo Segura**
- e) Fecha de evaluación: **22.10.2019**

II. EVALUACIÓN

1. Aspectos formales

Observación 1.1

Se sugiere incluir el análisis y discusión de los resultados y conclusiones para cada objetivo específico, considerando que este corresponde al informe final del estudio.

De acuerdo con los resultados presentados, se sugiere evaluar la continuidad de este programa y/o adaptarlo a los requerimientos de la autoridad oficial.

Definir si es necesario continuar con este programa en los cuerpos de agua dulce, considerando la fragilidad de estos ecosistemas y la disminución de las poblaciones salmonídeas por sobrepesca. Tema que han reclamado los pescadores recreativos, los cuales son regulados por la normativa de pesca recreativa que les exige la pesca con devolución.

Por lo demás, y de acuerdo con los resultados generados de estos estudios, los peces silvestres en agua dulce presentan patógenos principalmente oportunistas (Flavobacterias) y se desconoce el real efecto del virus PRV y la forma no patógena del virus ISA HPRO.



Respuesta:

Se ha incorporado explícitamente una nueva sección de discusión en la nueva versión del informe.

Respecto de la solicitud del evaluador, asociada a presentar los resultados por objetivo específico del programa de investigación, se aclara que éstos ya son presentados de esa forma en la sección respectiva.

En relación a la sugerencia del revisor externo respecto de “*evaluar la continuidad de este programa y/o adaptarlo a los requerimientos de la autoridad oficial*”, ésta se considera una aseveración que demuestra un total desconocimiento del proceso de cómo se definen los programas de investigación permanente que realiza IFOP para el Estado de Chile de acuerdo a la Ley General de Pesca y Acuicultura vigente. Adicionalmente, se considera que dicha aseveración escapa a una evaluación de tipo técnico-científica que sea un aporte a la eventual mejora en la calidad de las metodologías empleadas y el logro de los objetivos propuestos por el programa de investigación.

A manera de breve explicación, cada año se generan, proponen y validan las propuestas de estudios que formaran parte de la cartera de programas/estudios del año subsiguiente, en conjunto con la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura y el Servicio Nacional de Pesca, de acuerdo a prioridades estratégicas de ambas entidades públicas. Como ejemplo, el programa de vigilancia en especies de peces silvestres que desarrolla IFOP, es el programa que se presenta de forma oficial como país, frente a los organismos internacionales relacionados con la materia, y que, entre otros aspectos, exigen un programa de estas características implementado en Chile y cuyo objetivo final es el resguardo del patrimonio sanitario de las especies ícticas que habitan los ecosistemas dentro del territorio.

Respecto de la afirmación “*Definir si es necesario continuar con este programa en los cuerpos de agua dulce, considerando la fragilidad de estos ecosistemas y la disminución de las poblaciones salmonídeas por sobrepesca. Tema que han reclamado los pescadores recreativos, los cuales son regulados por la normativa de pesca recreativa que les exige la pesca con devolución*”, se deben aclarar varios aspectos al evaluador.

Por un lado, tal como se puede observar en la sección metodológica, solo se toman muestras de un máximo de 80 ejemplares por cuerpo de agua. Asimismo, que la gran mayoría de los ejemplares capturados, no corresponde a especies salmonídeas, como puede verificarse en el desglose de



capturas. Indicar además que toda pesca se hace bajo la modalidad de “pesca de investigación” la que posee una serie de exigencias, y que es finalmente autorizada por resolución de Subpesca y supervisada por funcionarios de Sernapesca en terreno.

Los cuerpos de agua dulce, son justamente los sistemas que más importancia tienen desde el punto de vista de seguir realizando investigación para verificar las interacciones entre la fauna nativa, la asilvestrada y aquella escapada desde centros de cultivo.

En relación a la aseveración “*Por lo demás, y de acuerdo con los resultados generados de estos estudios, los peces silvestres en agua dulce presentan patógenos principalmente oportunistas (Flavobacterias) y se desconoce el real efecto del virus PRV y la forma no patógena del virus ISA HPRO*”, se aclara lo siguiente.

El presente programa de investigación no hace vigilancia de las “Flavobacterias”, sino que específicamente del patógeno primario de salmónidos, *Flavobacterium psychrophilum*, el que como el evaluador debe conocer, corresponde a un patógeno que no es definido como oportunista, sino que genera una enfermedad ampliamente conocida y distribuida en el mundo, verificable a través de numerosas publicaciones científicas.

Por otro lado, las consecuencias de los efectos de PRV en salmónidos son conocidas y verificables en la literatura científica. Su importancia es creciente de acuerdo a los datos de este mismo programa, así como al verificar los resultados de prevalencia de la vigilancia oficial que realiza Sernapesca en los centros de cultivo de salmónes de la industria nacional.

En consecuencia, rechazamos enérgicamente el comentario sin fundamento del revisor externo, respecto de evaluar la continuidad del presente programa.

2. Aspectos de contenido

a) Desarrollo del proyecto.

Objetivo específico N° 1: Continuar y perfeccionar la ejecución del programa de vigilancia y monitoreo desarrollado en etapas anteriores, que permita conocer la evolución del estatus sanitario de las especies silvestres y ferales, en relación con las enfermedades de alto riesgo (EAR).



Observación 2.1

Para una mejor comprensión de la información presentada, se sugiere que los resultados sean presentados por tipo de ambiente; separando por agua dulce y mar. En agua dulce separar la información por tipo de cuerpo de agua (ríos y lagos), considerando que los patógenos que habitan los cuerpos de agua dulce son diferentes a los patógenos presentes en el mar.

Se presentan los resultados generados de los muestreos realizados, pero no se hace un análisis de la evolución del estatus sanitario como se plantea en el Objetivo N°1. Para esto se debiera hacer un análisis incluyendo los resultados de los estudios realizados anteriormente. Da la impresión que lo presentado en el Objetivo N°5 corresponde al análisis de los resultados registrados en el Objetivo N°1. Se sugiere incluir una sección de conclusiones de los resultados generados en este objetivo, considerando que este corresponde al informe final del estudio. Tampoco hay una sección de “Análisis y Discusión”

Respuesta:

Los resultados son presentados por objetivo tal como previamente sugiere el evaluador. Se considera que el reordenar los resultados por tipo de cuerpo de agua solo generaría mayor confusión, por lo demás, se tiene claridad de cuáles son los patógenos más prevalentes e importantes por tipo de cuerpo de agua a lo largo del programa de investigación. No obstante lo anterior, en la sección de resultados, se verifica entrega de información de captura, positividad y otros antecedentes, ordenados por tipo de cuerpo de agua.

Se aclara que el objetivo n°5 es el que permite realizar el análisis temporal comparativo de las positividad registradas en la presente etapa con respecto a las anteriores.

Finalmente indicar que se incorporó una sección explícita de discusión en la nueva versión del informe.

Objetivo específico N° 2: Relacionar epidemiológicamente la presentación clínica de una EAR en peces de cultivo con el estatus sanitario de las especies silvestres muestreadas.



Observación 2.2

De acuerdo a lo presentado en el informe, se señala que... “los resultados sugieren que, al no existir un patrón claro en los barrios muestreados en los últimos cuatro programas de monitoreo, los resultados sugieren que no existe una relación clara entre las muestras halladas positivas en peces silvestres y la tasa de mortalidad en centros de cultivo”.

Al igual que para lo señalado en el Objetivo N°1, se sugiere incluir una sección de “Análisis y Discusión”, y una sección de conclusiones de los resultados generados en este objetivo, considerando que este corresponde al informe final del estudio.

Considerando los resultados generados en los últimos cuatro programas de monitoreo, al parecer no se justificaría insistir con este objetivo.

Importante es entender que los patógenos que afectan a los salmones en cautiverio NO necesariamente afectan a otras especies de peces no salmónidas, ya que por lo general los patógenos son huésped específico, como ocurre con el virus ISA por ejemplo, siendo la única especie susceptible el salmón del Atlántico. A diferencia de los microorganismos oportunistas como Flavobacterias, por ejemplo.

Además, existen abundantes estudios que señalan que los salmones silvestres pueden portar al patógeno, sin cursar un cuadro de enfermedad. Esto porque son capaces de migrar y buscar condiciones adecuadas para su bienestar, a diferencia de lo que ocurre con los peces en cautiverio.

Respuesta:

En relación a la aseveración “Considerando los resultados generados en los últimos cuatro programas de monitoreo, al parecer no se justificaría insistir con este objetivo”, se aclara lo siguiente.

En relación al objetivo específico indicado, se aclara que se efectuarán cambios a las metodologías de toma de muestras y de obtención de datos, de forma de homologar el número de muestra para determinar prevalencias oficiales obtenidas desde centros de cultivo, con los datos obtenidos en el presente programa. Al respecto, se considera de sumo interés científico seguir investigando esta relación.



Por otro lado, se aclara al evaluador, que *Flavobacterium psychrophilum*, que es el patógeno objeto de estudio en este programa, no es un patógeno oportunista, sino que corresponde a un patógeno primario en especies salmonídeas.

Se aclara por otro lado, que el presente objetivo, es ver la relación de las prevalencias de peces de cultivo con prevalencias en peces nativos y asilvestrados, que no consideran solo salmonídeos, sino que, en su gran mayoría, están representados por especies nativas que habitan los entornos de los centros de cultivo.

Finalmente, y como se indicó previamente, se incorporó una sección explícita de discusión en la nueva versión del informe.

Objetivo específico N° 3: Identificar y evaluar la capacidad de que especies no salmonídeas puedan actuar como reservorio y/o transmisor de una EAR.

Observación 2.3

*De acuerdo a lo presentado en el informe, se señala que... “Respecto al grupo control positivo (salar troyano/salar cohabitante), no se presentó mortalidad en salares cohabitantes durante la ejecución del desafío con *P. salmonis*, lo que no permitió verificar la transmisión del agente patógeno en la especie susceptible.”*

Los resultados generados en este estudio coinciden con lo señalado en las observaciones del Objetivo N°2. ..los patógenos que afectan a los salmónes en cautiverio NO necesariamente afectan a otras especies de peces no salmónidas, ya que por lo general los patógenos son huésped específico”

Al igual que para lo señalado en objetivos anteriores, se sugiere incluir una sección de “Análisis y Discusión”, y una sección de conclusiones de los resultados generados en este objetivo, considerando que este corresponde al informe final del estudio.

*Además, es relevante incorporar antecedentes generados como resultados del proyecto FIE por el grupo de investigadores liderados por el Dr. Sergio Marshall, en el que se señala que los reservorios de *P. salmonis* son microalgas y microorganismos unicelulares, como las amebas, por ejemplo.*



Respuesta:

Como se indica en la sección metodológica, el objetivo específico N° 3 busca efectuar estudios de cohabitación entre especies salmonídeas y especies nativas para verificar transmisión horizontal de *P. salmonis*, muy diferente de un análisis epidemiológico de datos de prevalencia, como lo que se buscaba desarrollar en el objetivo N° 2.

El objetivo del estudio de cohabitación era verificar la eventual transmisión bidireccional del patógeno *P. salmonis* entre la especie *S. salar* y la especie nativa *E. maclovinus*, tal como ya se ha verificado entre trucha arcoiris y el mismo róbalo (publicación en revisión).

En consecuencia, a diferencia de lo indicado por el evaluador, se considera de alto interés seguir estudiando esta interacción, conociendo además que la razón del no logro de los resultados esperados en la presente etapa, se pudiese deber principalmente, a las características (concentración) del inóculo bacteriano utilizado, como lo demuestra el resultado del grupo control positivo.

Respecto de lo indicado por el evaluador, en relación a considerar los resultados de otros grupos de trabajo, se considera que, además de no ser atingentes a la problemática del presente programa, no son de disponibilidad pública ni están formalizados a través de publicaciones científicas con comité editor.

Finalmente, y como se indicó previamente, se incorporó una sección explícita de discusión en la nueva versión del informe.

Objetivo específico N° 4: Realizar análisis genéticos respecto de las especies salmónidas capturadas para identificar si corresponden a ejemplares escapados o asilvestrados.

Observación 2.4

De acuerdo a lo presentado en el informe, se señala que... “El Análisis de Componentes Principales Discriminantes (ACPD) distinguió cuatro grupos genéticos identificables. Esto es coincidente con los resultados presentados durante el 2016 y 2018 del mismo programa. Lo anterior sugiere que al parecer el número de muestra por localidad no influyó ostensiblemente en los resultados. Los cuatro grupos



de referencia corresponden a (i) Lago Todos los Santos (rojo); (ii) Lago Llanquihue (verde); (iii) Norte-Centro (negro); y (iv) Pisciculturas (azul).

Respecto a la diferenciación entre salmónidos escapados y asilvestrados, lo recomendable es diseñar una guía simple que permita diferenciar en terreno la naturaleza del pez capturado. De hecho, las características externas e internas exhibidas permiten diferenciarlos fácil y rápidamente, por lo que no se justifica realizar un análisis genómico que es caro y poco práctico para estudios de campo (terreno). Al igual que para lo señalado en objetivos anteriores, se sugiere incluir una sección de “Análisis y Discusión”, y una sección de conclusiones de los resultados generados en este objetivo, considerando que este corresponde al informe final del estudio.

Respuesta:

Los análisis genómicos para identificar salmónidos realizados en este estudio, están enfocados en identificar si los ejemplares de trucha arcoíris capturados corresponden a individuos genéticamente vinculados a centros de cultivo. Si bien a veces es posible identificar truchas de cultivo escapadas mediante algunos atributos externos (erosión de las aletas, úlceras en la piel), esto no siempre es posible, y diseñar una guía que permita la identificación de caracteres externos o internos, en circunstancia que el programa ya cuenta con un material de consulta que permite realizar dicha diferenciación, es insuficiente y poco confiable para tales fines. Para poder conocer si este corresponde a un individuo escapado de un centro de cultivo es necesario recurrir a análisis más específicos. Las aproximaciones utilizadas en este estudio son de bastante utilidad, ya que, al utilizar una gran base de datos de genotipos de miles de individuos de una misma especie de diversos orígenes genéticos, es posible construir grupos de referencia, lo que luego permite poder asignar a cualquier individuo de origen desconocido al grupo de referencia genéticamente más cercano. Para poder realizar estos análisis es necesario que los marcadores moleculares empleados tengan la capacidad necesaria para poder identificar el nivel de estructuración genética de los individuos analizados. Este estudio utilizó 96 polimorfismos de único nucleótido (SNPs), los cuales han sido implementados en numerosos estudios de estructuración genética, detección de híbridos e identificación de escapados de centros de cultivo, demostrando que este tipo de aproximaciones son



de gran utilidad para la detección de posibles escapes de salmónidos tanto en ríos y lagos como en el mar abierto.

Finalmente, y como se indicó previamente, se incorporó una sección explícita de discusión en la nueva versión del informe.

Objetivo específico N° 5: Realizar análisis respecto de los resultados obtenidos en los estudios previos, e identificar tendencias y brechas.

*De acuerdo a lo presentado en el informe, se señala que... “ Se observa que *F. psychrophilum* presentó resultados positivos que no superan el 5% durante todo el estudio. Para el caso de IPNV, se observa que los resultados positivos detectadas en especies silvestres han aumentado para el periodo comprendido entre el año 2013 y 2016 (alcanzando un 2,5%), pero disminuyendo a contar del 2016, llegando a 0,05% el 2019. Para el caso de PRV, se han registrado casos positivos entre los años 2013 y 2019, pero sin superar el 1,5% del total de casos. En estos tres patógenos se puede observar en los datos que la tendencia de presentación es cíclica con aumentos y disminuciones, sobre todo hacia el final del estudio (2016-2019) en que observan descensos con datos que no sobrepasaron el 1%. De manera adicional, el periodo 2018-2019 corresponde al primer año del programa en que se presentaron casos positivos al patógeno *R. salmoninarum*, sin embargo, solo se presentaron 3 casos, los que no sobrepasaron el 0,1%. El patógeno *P. salmonis* registra datos para los nueve años de estudio, por lo que el análisis de tendencias, se centrará este patógeno”.*

*Interesante es corroborar que los peces silvestres muestran una baja positividad hacia patógenos que infectan a salmones en cautiverio. Sin embargo, al igual que para los objetivos anteriores, se sugiere incluir una sección de “Análisis y Discusión”, y una sección de conclusiones de los resultados generados en este objetivo, considerando que este corresponde al informe final del estudio, y considerando la tendencia mostrada por la curva de positividad de *P. salmonis* a través del tiempo para las zonas y especies analizadas (Fig. 123-131).*



Respuesta:

El evaluador cita el informe, no obstante, no queda clara cuál es la observación técnica.

Como se indicó previamente, se incorporó una sección explícita de discusión en la nueva versión del informe.

b) Plan de actividades

No aplica.

3. Base de datos

No aplica.

4. Calificación del informe

Observación 4.1

*En las Conclusiones se señala que la baja incidencia en la detección de *P. salmonis* en el último catastro realizado podría ser atribuida a... “la utilización de vacunas vivas que ha demostrado tener una mayor efectividad para el control de la Piscirickettsiosis por parte de la industria salmonicultora nacional. “. Esta aseveración requiere mayor análisis ya que está demostrado que las vacunas desarrolladas para la prevención de *P. salmonis* no entregan la protección esperada.*

Se señala además que ...”se hace necesario profundizar en esta materia, a fin de aclarar las potenciales interacciones sanitarias entre la fauna nativa y los salmones de cultivo”. Sin embargo, es importante señalar que a diferencia de lo que ocurre en países del hemisferio norte, en los cuales se ha puesto énfasis en la interacción del piojo de mar entre los salmones de cultivo y salmones silvestres, en Chile la realidad es totalmente diferente ya que los salmones son especies introducidas y es el salmón Chinook la única especie salmonidea que se ha asilvestrado exitosamente. Por otro lado, en agua dulce la interacción entre salmones cultivados y salmones silvestres es mínima debido a las características de las instalaciones de cultivo, lo que es avalado por los resultados generados en este estudio.



Respuesta:

Respecto a la observación del evaluador asociado a la baja incidencia en la detección de *P. salmonis* en el último catastro, tal como se indica en el informe, se plantea, a manera de discusión por parte de los autores, que la mayor utilización de la vacuna viva pueda ser una de las eventuales causales de dicha disminución. No obstante, no se afirma en ninguna sección del documento, que estas vacunas sean las óptimas ni tengan la cobertura esperada.

Respecto del comentario asociado a *Caligus*, se aclara que el presente programa no incluye en su vigilancia patógenos parasitarios.

En relación al trabajo que aborda el programa en agua dulce, se reitera la aclaración al evaluador, respecto de que el objetivo del programa es evaluar el estatus sanitario de peces silvestres, asilvestrados y ferales que habitan en dichos cuerpos de agua, y no en particular, solo la interacción entre especies salmonídeas, que como se ha indicado, representan un porcentaje menor de las capturas y, en consecuencia, de los análisis efectuados.



INSTITUTO DE FOMENTO PESQUERO

Almte. Manuel Blanco Encalada 839

Fono 56-32-2151500

Valparaíso, Chile

www.ifop.cl



www.ifop.cl