



**UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN  
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y OCEANOGRÁFICAS**

Evaluación de las interacciones tróficas e impacto de salmónidos asilvestrados  
en la fauna nativa del Río Toltén

Tesis para optar al grado de Doctor en Ciencias mención Manejo de Recursos  
Acuáticos Renovables

POR: SELIM MUSLEH VEGA

Profesor Guía: Dr. Sergio Neira

Profesor Co-Guía: Dr. Daniel Gómez-Uchida

Concepción – Chile Julio, 2023

Dedicada a quienes me han apoyado en este proceso  
Especialmente a mi familia, amigos y colegas



## AGRADECIMIENTOS

Estaré eternamente agradecido con quienes de alguna u otra forma me apoyaron y acompañaron a recorrer este viaje llamado tesis doctoral, viaje que como cualquier otro no estuvo exento de desazones. Una vez más estoy en deuda con mis colegas y amigos Mauricio Cañas y Pablo Rivara, sin su valiosa ayuda en terreno nada habría sido lo mismo. Agradezco también la generosa ayuda de mi colega y amiga, la Dra. Francisca Valenzuela, por aportar con datos de individuos colectados en el Golfo de Ancud utilizados en el primer capítulo de esta tesis. También agradezco a las Doctoras Carmen Barrios y Maritza Sepúlveda, quienes gentilmente colaboraron con información fundamental sobre fauna costera para la realización del capítulo 2 de esta tesis.

Sin duda debo agradecer enormemente a mis amigos y familia por su apoyo en este proceso. Agradezco especialmente a Daniela Lazo, quien estuvo a mi lado para apoyarme en los peores momentos de este proceso. Agradezco también tanto a mis compañeros como profesores del doctorado MAREA, por todas las instancias en las que aportaron a mi estadía en este programa. Agradezco especialmente a los profesores que formaron parte de esta tesis tanto como Guía y Evaluadores, a los Drs. Sergio Neira, Daniel Gómez-Uchida, Chris Harrod, e Iván Arismendi. También agradezco también a mis colegas y

superiores en mi actual trabajo en el Instituto de Fomento Pesquero por apoyarme en la logística para poder terminar y presentar mi tesis.

Finalmente, agradezco a las Fuentes de financiamiento que apoyaron el desarrollo de la presente tesis. Primero quiero agradecer al Núcleo Milenio de Salmónidos Invasores y a su continuación el Núcleo Milenio de Salmónidos Invasores Australes INVASAL. Agradezco también a los proyectos FONDECYT 1130807 y 1191256, NCN2021-056 y NCN16-034, y FIPA 2014-87. También agradezco a mi fuente de financiamiento, la beca CONICYT 21160640 para estudios de Doctorado Nacional año 2016, que a pesar de que se acabó hace ya un rato, fue buena mientras duró.

## TABLA DE CONTENIDOS

Índice de tablas .....	VIII
Índice de figuras .....	X
Resumen .....	XII
Abstract .....	XVII
Introducción .....	22
Objetivos .....	28
Capítulo 1: Análisis de mezcla de stocks del salmón Chinook, un pez migratorio no-nativo en su fase costera y su posterior asignación a sitios natales en agua dulce dentro de su rango de introducción en América del Sur .....	31
Abstract .....	32
Introducción .....	33
Metodología .....	34
Resultados .....	36
Discusión .....	37
Referencias .....	39
Capítulo 2: Relaciones tróficas entre estadios tempranos de salmónidos invasores y peces nativos en el Río Toltén .....	40
Abstract .....	41
Introducción .....	44
Metodología .....	47
Resultados .....	50

Discusión .....	51
Conclusiones .....	54
Referencias .....	55
Capítulo 3: Estudio de las interacciones tróficas entre el salmón Chinook y la fauna nativa durante su fase oceánica utilizando análisis isótopos estables y análisis de contenido estomacal .....	86
Introducción .....	87
Metodología .....	91
Resultados .....	99
Discusión .....	103
Conclusiones .....	109
Referencias .....	122
Conclusiones .....	127
Referencias .....	130

## INDICE DE TABLAS

### Capítulo 1

Tabla 1: Información geográfica de los ríos presentes de las colecciones del salmón Chinook asilvestrado .....	36
--	----

### Capítulo 2

Tabla 1: Tabla resumen de la información de los sitios de muestreo y valores de los análisis de isótopos estables por especie .....	74
---	----

Tabla 2: Comparación de valores isotópicos entre especies de salmónidos y zonas de muestreo utilizando PERMANOVA de dos vías.....	76
---	----

Tabla 3: Análisis post hoc del PERMANOVA de dos vías sobre análisis de isótopos estables .....	78
--	----

Tabla 4: PERMANOVA de dos vías basado en valores del análisis de contenido estomacal de las especies de salmónidos .....	80
--	----

Tabla 5: PERMANOVA de dos vías basado en valores del análisis de contenido estomacal removiendo interacción entre sitio y especies .....	82
--	----

Tabla 6: Análisis post hoc del PERMANOVA de dos vías sobre análisis de contenido estomacal .....	84
--	----

### Capítulo 3

Tabla 1: Información sobre la recolección de tejido utilizadas para análisis de isótopos estables. Las muestras fueron recolectadas en distintos eventos y localidades .....	116
--	-----



Tabla 2: Información sobre el muestreo de estómagos de salmón Chinook muestreadas en las zonas estuarina y costera adyacente al Río Toltén.....	118
Tabla 3: Tabla con resultado PERMANOVA sobre contenido estomacal de salmón Chinook donde se comparan contenidos de individuos presentes en las zonas estuarina y costera adyacente del Río Toltén .....	119
Tabla 4: Tabla resultados análisis SIMPER sobre contenido estomacal de salmónes Chinook capturados en las zonas estuarinas y costera adyacente del Río Toltén entre los años 2015 y 2018 .....	120

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Modelos conceptual de las principales etapas del ciclo de vida de los salmónidos de vida libre y los principales taxones sobre los que depreda ..28

### Capítulo 1

Figura 1: Muestras de las localidades costeras y colecciones de muestras de agua dulce del salmón Chinook asilvestrado en América del Sur ..... 35

Figura 2: Análisis de mezcla individual y coeficientes de ancestría ..... 36

Figura 3: Análisis discriminante de componentes principales de las poblaciones de referencia y análisis de asignación individual de los individuos costeros a poblaciones de referencia ..... 36

### Capítulo 2

Figura 1: Mapa de los sitios de muestreo en la cuenca del Río Toltén ... 65

Figura 2: Gráficos bidimensionales de los valores isotópicos de carbono, nitrógeno y azufre ..... 66

Figura 3: Sobreposición de nichos isotópicos usando carbono, nitrógeno y azufre ..... 67

Figura 4: Probabilidad de sobreposición de nichos isotópicos entre especies usando carbono, nitrógeno y azufre ..... 68

Figura 5: Gráfico de barras apiladas del contenido estomacal de las especies de salmónidos muestreadas en el Río Toltén ..... 69

Figura 6: Escalamiento multidimensional no-métrico (NMDS) utilizando distancia multivariada de Bray-Curtis basado en el contenido estomacal de los salmónidos ..... 71

Figura 7: Modelos lineales aditivos (GAM) de salmónidos en el que se relaciona el tamaño corporal y los valores de isótopos estables para las muestras del sitio de captura de la zona media ..... 72

Figura 8: Modelos lineales aditivos (GAM) de salmónidos en el que se relaciona el tamaño corporal y los valores de isótopos estables para las muestras del sitio de captura de la zona alta ..... 73

### Capítulo 3

Figura 1: Sitios de muestreo. Los puntos azules representan los lugares desde los cuales se recolectaron muestras para este estudio ..... 111

Figura 2: Histogramas de la longitud total de individuos de salmón Chinook muestreados en el estuario (n= 123) y zona costera adyacente (n= 65) del Río Toltén entre los años 2015 y 2018..... 112

Figura 3: Biplot con valores de isótopos estables carbono y nitrógeno de las muestras recolectadas en zonas costeras (Tabla 1)..... 113

Figura 4: Gráfico de barras apiladas con composición relativa del contenido estomacal del salmón Chinook capturado en el estuario del Río Toltén y la zona costera adyacente entre los años 2015 - 2018..... 114

Figura 5: Escalamiento multi-dimensional no-métrico NMDS de los individuos de salmón Chinook basado en su contenido estomacal ..... 115

## RESUMEN

La invasión de peces salmónidos ha sido reconocida como una de las peores invasiones biológicas del mundo debido a sus efectos perjudiciales sobre la biota nativa. Los salmónidos son nativos del hemisferio norte, sin embargo, han sido ampliamente translocados y ahora se consideran uno de los grupos de peces más introducidos en todo el mundo. En Sudamérica, la biomasa de salmónidos puede ser superior a la de los peces nativos. La presencia de los salmónidos en los ecosistemas tanto de agua dulce como oceánicos ha conllevado el desarrollo de interacciones interespecíficas entre estos peces y la fauna nativa chilena, la que evolucionó sin la presencia de estas especies.

A lo largo de tres capítulos, esta tesis abordó las dinámicas genético-poblacionales del salmón Chinook (*Oncorhynchus tshawytscha*) y las interacciones entre las tres especies de salmónidos asilvestrados más abundantes en Chile, la trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*), la trucha café (*Salmo trutta*) y el salmón Chinook y la fauna nativa que habita en el Río Toltén (38°59' S 72°38 O) y la zona costera adyacente (Región de la Araucanía, Chile).

En el capítulo uno se estudió de la estructura genético-poblacional del salmón se realizaron análisis utilizando marcadores genéticos de polimorfismos de nucleótido único (conocidos como SNPs por su sigla en inglés) y métodos de agrupamiento bayesianos e identificación genética de poblaciones. Para este

capítulo se trabajó bajo la hipótesis que el salmón Chinook se mantenía en el área costera adyacente cercana a su sitio de desove con un bajo nivel de mezcla con otras poblaciones asilvestradas. Para probar esta hipótesis, se utilizaron muestras de dos zonas costeras con presencia de salmón Chinook, las zonas frente al Río Toltén (n= 53) y al Golfo de Ancud (n= 42). Además se utilizaron colecciones de individuos con genotipos conocidos provenientes de las principales poblaciones de salmón Chinook asilvestrado de Chile, las que fueron utilizadas como poblaciones de referencia contra las cuales se realizó la asignación genética de los individuos de las muestras costeras.

Como resultado se encontró para el salmón Chinook, tanto los individuos capturados en la zona costera como los adultos retornantes capturados en la zonas estuarinas pertenecían a la población asilvestrada en el río más cercano a la zona costera donde las muestras fueron capturadas. Este resultado indicaría que los individuos adultos de salmón Chinook asilvestrados en Chile, al igual que aquellos individuos nativos del hemisferio norte, presentan una alta filopatría con respecto a su río de origen. Además, nuestros análisis de los individuos costeros no-retornantes sugieren que estos podrían mantenerse en las cercanías de su río de origen durante su alimentación en el océano, probablemente debido a la alta disponibilidad de alimento en aquellas zonas.

En el capítulo dos se estudiaron las relaciones tróficas entre tres especies de salmónidos (salmón Chinook (n= 43), trucha café (n= 43) y trucha arcoíris (n=

53)), y entre estos salmónidos y peces nativos (*Aplochiton zebra* (n=2), *Galaxias maculatus* (n=2), *Trichomycterus areolatus* (n=3)) del Río Toltén. En este capítulo se hipotetizó sobre cómo los distintos rasgos de historia de vida de los salmónidos estudiados podrían modelar sus dietas y diferenciar sus impactos en la fauna nativa dulceacuícola del Río Toltén. Para estudiar las relaciones tróficas entre salmónidos y la fauna nativa se realizaron análisis basados en metodologías de análisis de isótopos estables (carbono , nitrógeno y azufre) y de contenido estomacal.

Los resultados del estudio de las relaciones tróficas entre especies de salmónidos, y entre salmónidos y peces nativos en el Río Toltén, revelaron distintos grados de sobreposición de nichos tróficos en las comparaciones entre especies de salmónidos, y entre salmónidos y peces nativos. Esto podría sugerir que los estadios tempranos de tanto de salmón Chinook, trucha arcoíris y trucha café estarían depredando sobre recursos que también son parte de la dieta de especies de peces nativos. La magnitud de los impactos de estas interacciones entre salmónidos y peces nativos podría estar relacionada con los diferentes rasgos de historia de vida presentes en las especies de salmónidos naturalizados en Chile, ya que existen grandes diferencias en el tiempo de residencia de estas especies en agua dulce.

En el capítulo tres se caracterizó las relaciones tróficas del salmón Chinook y la fauna nativa durante su fase oceánica, utilizando muestras de individuos

adultos capturados en el estuario del Río Toltén (n= 35) y en la zona costera adyacente (n= 35), peces nativos estuarinos (n= 37) y mamíferos marinos (n= 25). En este capítulo el objetivo fue caracterizar las relaciones tróficas y la dieta del salmón Chinook, en busca de comprender cómo interactúa con la fauna nativa durante su fase oceánica. Para estudiar las relaciones tróficas entre salmónidos y la fauna nativa se realizaron análisis basados en metodologías de análisis de isótopos estables (carbono , nitrógeno y azufre) y de contenido estomacal, las que permitieron describir parte de las interacciones tróficas de esta especie introducida con la comunidad de especies presentes en la zona costera frente al Río Toltén. Como resultados de este capítulo se encontró que el salmón Chinook depreda sobre especies pelágicas pequeñas, principalmente sobre sardina y anchoveta, pudiendo variar en cantidad y composición específica dependiendo de la zona donde se encuentre. Por otra parte, se encontró información que sugiere que el salmón Chinook también podría ser presa de depredadores nativos, como lo son los lobos marinos.

Como conclusión general, los salmónidos asilvestrados en Chile han desarrollado interacciones interespecíficas con especies de las comunidades que los recibieron. Dentro de estas interacciones, la depredación de especies nativas y la sobreposición trófica con las mismas son algunas de las más relevantes de estudiar para conocer y monitorear los impactos de los salmónidos sobre la fauna nativa. La fauna nativa se ve afectada en distintas

medidas por los efectos su interacción con salmónidos, dependiendo principalmente la especie de salmónido, sus rasgos de historia de vida y el ambiente en el cual interactúan. En agua dulce, especies de salmónidos residentes—como la truchas café y la trucha arcoíris—no presentan depredadores naturales y tienen el potencial de generar mayores efectos negativos sobre la fauna nativa, porque interactúan con especies más vulnerables y en estados de conservación de preocupación. En la zona costera, especies anádromas como el salmón Chinook no serían grandes amenazas para la comunidad marina, debido a que esta especie se alimenta particularmente de especies de peces pelágicos pequeños que no se encuentran en estados de conservación de cuidado, como sardinas y anchovetas, y por otra parte, sus poblaciones presentan remociones de individuos adultos por parte de la pesca artesanal y depredadores naturales como los lobos marinos.



## ABSTRACT

The salmonid fish invasion has been recognized as one of the world's worst due to its detrimental effects on native biota. Salmonids are native to the northern hemisphere; however, they have been widely translocated and are now considered one of the most introduced fish groups worldwide. In South America, the biomass of salmonids may exceed the biomass of native fishes. The presence of salmonids in both freshwater and oceanic ecosystems has led to the development of new interspecific interactions between these fishes and the native Chilean fauna. Throughout three chapters, this thesis addressed the genetic-population dynamics of Chinook (*Oncorhynchus tshawytscha*) salmon and the interactions between the three most abundant feral salmonid species in Chile, rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), brown trout (*Salmo trutta*) and Chinook salmon and the native fauna inhabiting the Toltén River (38°59' S 72°38' W) and the adjacent coastal zone (Araucanía Region, Chile).

In chapter one, the genetic-population structure of salmon was studied using genetic markers of single nucleotide polymorphisms (SNPs) and bayesian clustering methods and population genetic identification. For this chapter we worked under the hypothesis that Chinook salmon remained in the adjacent coastal area near their spawning grounds with a low level of mixing with other naturalized populations. To test this hypothesis, samples from two separated coastal areas with Chinook salmon presence, the areas in front of the Toltén

River (n= 53) and the Gulf of Ancud (n= 42), were used. In addition, collections of individuals with known genotypes from the main naturalized Chinook salmon populations in Chile were used as reference populations. Samples from coastal sites were test against the reference populations in order to assign coastal samples to the known naturalized populations.

As a result, for Chinook salmon, both the individuals captured in the coastal zone and the returning adults captured in the estuarine zones belonged to the naturalized population from the river closest to the coastal zone where the samples were captured. This result would indicate that adult Chinook salmon individuals naturalized in Chile, like those individuals native to the northern hemisphere, present a high philopatry with respect to their river of origin. In addition, our analysis of coastal non-returning individuals Chinook salmon suggests that they may remain in the vicinity of their river of origin during ocean feeding, probably due to the high availability of food in those areas.

Chapter two present a study about the trophic relationships among three salmonid species (Chinook salmon (n= 43), brown trout (n= 43) and rainbow trout (n= 53)), and between these salmonids and native fish (*Aplochiton zebra* (n=2), *Galaxias maculatus* (n=2), *Trichomycterus areolatus* (n=3)) of the Toltén River. In this chapter, the objective was to characterize the diet and trophic relationships of Chinook salmon in order to understand how they interact with native fauna during their oceanic phase. To study the trophic relationships

between salmonids and native fauna, analyses based on stable isotope (carbon, nitrogen and sulfur) and stomach content analysis methodologies were performed.

The results of the study of trophic relationships between salmonid species, and between salmonids and native fish in the Toltén River, revealed different degrees of trophic niche overlap in comparisons between salmonid species, and between salmonids and native fish. This could suggest that the early stages of both Chinook salmon, rainbow trout and brown trout are preying on resources that are also part of the diet of native fish species. The magnitude of the impacts of these interactions between salmonids and native fish could be related to the different life history traits present in naturalized salmonid species in Chile, since there are large differences in the residence time of these species in freshwater.

Chapter three present a characterization of the trophic interactions of Chinook salmon and native fauna during their oceanic phase, using samples of adult individuals captured in the Toltén River estuary (n= 35) and in the adjacent coastal zone (n= 35), native estuarine fish (n= 37) and marine mammals (n= 25). In this chapter, the objective was to characterize the trophic relationships and diet of Chinook salmon in order to understand how they interact with native fauna during their oceanic phase. To study the trophic relationships between salmonids and native fauna, analyses were carried out based on stable isotope analysis methodologies (carbon, nitrogen and sulfur) and stomach contents,

which made it possible to describe part of the trophic interactions of this introduced species with the community of species present in the coastal zone in front of the Toltén River. As results of this chapter, it was found that Chinook salmon prey on small pelagic species, mainly sardine and anchovy. On the other hand, information was found suggesting that Chinook salmon could also be preyed upon by native predators, such as sea lions.

As a general conclusion, naturalized salmonids in Chile have developed interspecific interactions with species of the communities that received them. Among these interactions, predation on native species and trophic overlap with them are some of the most relevant to study in order to understand and monitor the impacts of salmonids on native fauna. Native fauna is affected to different extents by the effects of salmonids, depending mainly on the salmonid species, its life history traits, and the environment in which it interacts. In freshwater, resident salmonid species-such as brown trout and rainbow trout-have no natural predators and have the potential to generate greater negative effects on native fauna because they interact with more vulnerable species and species of conservation concern. In the coastal zone, anadromous species such as Chinook salmon would not be a major threat to the marine community, because this species feeds particularly on small pelagic fish species that are not in conservation states of concern, such as sardines and anchovies, and their

populations show removals of adult individuals by artisanal fishing and natural predators such as sea lions.

## INTRODUCCIÓN

Las especies invasoras son una de las mayores amenazas para la biodiversidad de los ecosistemas, siendo capaces de afectar la estructura y función de las comunidades receptoras (Stachowicz et al., 2002; Walther et al., 2009; Heinis, 2012). Los procesos e impactos de las invasiones biológicas han sido motivo de numerosos artículos y revisiones (Simberloff, 2001; Meyerson & Mooney, 2007; Lowry et al., 2013). No existe, sin embargo, un consenso general en la terminología utilizada en la extensa literatura dedicada a estudiar las invasiones biológicas a lo largo de su historia (Falk-Petersen, Bøhn & Sandlund, 2006). Por lo tanto y para evitar confusiones, el presente trabajo utilizará las definiciones de invasiones biológicas y sus procesos propuestas por Blackburn (2011) en inglés o adaptadas al español. Cualquier especie llevada por algún efecto antrópico, fuera de su rango nativo, corresponde a una especie exótica, ya sea que se encuentren en cautiverio o libre en un nuevo ambiente. Además, si individuos de especies exóticas logran generar poblaciones autosustentables en la zona donde fue introducida, la especie exótica se considera a su vez asilvestrada, naturalizada o establecida (Blackburn, 2011). Finalmente, cuando una especie exótica que se encuentra asilvestrada en un lugar puntual logra dispersarse efectivamente fuera de su nuevo rango de introducción inicial, se considera como una especie invasiva o invasora Blackburn (2011). En este contexto una especie invasora no es intrínsecamente

dañina, pero puede generar impactos negativos sobre las comunidades receptoras.

Las especies invasoras son una de las principales amenazas para la biodiversidad de los sistemas de aguas continentales (García-Berthou, 2007; Leprieur et al., 2009; Marr et al., 2010). En el caso de Chile, las especies introducidas más abundantes y ampliamente distribuidas en aguas continentales pertenecen a la familia de los salmónidos (Salmonidae) (Habit et al., 2015). Actualmente ejemplares introducidos de la familia Salmonidae, entre los que se encuentran tanto truchas como salmones, presentan incluso mayores valores de abundancia y biomasa que las especies nativas en sistemas de agua dulce (Soto et al., 2006). Los salmónidos han sido introducidos por particulares y agencias de gobierno para desarrollar y fomentar la pesca recreativa y la acuicultura (Basulto, 2003; Arismendi & Nahuelhual, 2007; Iizuka, Roje & Vera, 2016; Shepard et al., 2019). En la actualidad existen poblaciones asilvestradas de salmónidos que cohabitan con la fauna nativa, y que por otra parte han cobrado importancia socioeconómica por sustentar actividades de pesca recreativa (Soto et al., 2006; Pascual & Ciancio, 2007; Correa & Gross, 2008).

Los salmónidos son especies endémicas del hemisferio norte que han sido introducidas en todos los continentes, excepto la Antártica (Froese & Pauly, 2022). El éxito en la colonización de nuevos hábitats en Chile por parte los salmónidos se debe a una combinación entre los esfuerzos de introducción y la

baja resistencia biótica de las comunidades locales (Basulto, 2003; Soto et al., 2006; Arismendi et al., 2014). Las especies de salmónidos más introducidas en Chile corresponden a representantes de los géneros *Salmo* y *Oncorhynchus*. Dentro del género *Salmo*, a la trucha café (*S. trutta*) es una especie que ha logrado asilvestrarse en gran parte de los cuerpos de agua de Chile. En el caso del salmón del Atlántico (*S. salar*), que es el salmónido más cultivada en Chile según el Anuario estadístico de pesca y acuicultura 2022 del Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura, a la fecha no existen registros de poblaciones asilvestradas. Dentro del género *Oncorhynchus*, las especies más representadas en cuerpos de agua nacionales son el salmón Chinook (*O. tshawytscha*) y la trucha arcoíris (*O. mykiss*). Tanto la trucha café como la trucha arcoíris fueron introducidas desde comienzos de 1900, principalmente por colonos europeos, para poblar los ríos de Chile Central y desarrollar pesca recreativa (Basulto, 2003). Una década más tarde comienzan a implementarse las primeras pisciculturas de salmónidos, desde las cuales se obtuvieron individuos para poblar de truchas numerosos cuerpos de agua dulce del centro y sur de Chile (Basulto, 2003). Actualmente la trucha café y la trucha arcoíris forman poblaciones asilvestradas en numerosos ríos a lo largo de todo el país (Arismendi et al., 2014). Por su parte, el salmón Chinook es una de las especies más conspicuas en el sur de Chile, habitando ríos desde la Región de la Araucanía hasta la Región de Magallanes y la Antártica Chilena (Correa & Gross, 2008; Gomez-Uchida et al., 2016, 2018).



Los salmónidos son especies carnívoras que han sido descritos como depredadores de especies de invertebrados nativos, y competidores y depredadores de especies de peces nativos. Entre sus presas se cuentan pochas, puyes y bagres, cuyo estado de conservación es preocupante (Habit, Dyer & Vila, 2006, p. 20; Pardo, Vila & Capella, 2009; Arismendi et al., 2012; Ministerio del Medio Ambiente, 2018). Los salmónidos representan una amenaza para la fauna íctica nativa de aguas continentales, la cual evolucionó en ausencia de salmónidos u otros peces depredadores de gran tamaño (Habit et al., 2015). Desde un punto de vista trófico, Ortiz-Sandoval (2014; 2015) indican que en lagos donde coexisten trucha café y trucha arcoíris junto a especies nativas, ambas especies de salmónidos son capaces de desplazar por competencia y depredación al pez nativo *Galaxias platei*.

Por otra parte, los salmónidos introducidos en Chile generan beneficios económicos a localidades aledañas a ríos asociados al turismo (pesca recreativa) y la pesca artesanal tanto documentada como no documentada (Pascual et al., 2001, 2009; Soto, Jara & Moreno, 2001; Cid-Aguayo et al., 2021). En este sentido Chile enfrenta una paradoja socio-ecológica con respecto a los salmónidos. Por un lado, se han documentado los costos ecosistémicos de la presencia de los salmónidos manifestadas principalmente por sus efectos negativos sobre la biodiversidad nativa de aguas continentales (Vargas et al., 2010; Arismendi et al., 2014; Habit et al., 2015). Como contra parte, la presencia de los salmónidos ha permitido el desarrollo de los sectores

pesquero artesanal y turístico asociado a la pesca recreativa, actividades que se encuentran reguladas con un marco regulatorio que norma y protege a la pesca de especies de salmónidos (Ley de Pesca Recreativa 20.256 y la modificación del decreto supremo 88-2017).

Los salmónidos son peces que se caracterizan por sus rasgos plásticos e.g. comportamiento, dieta, crecimiento, morfología, historias de vida, entre otros (Quinn, 2018). Dentro de las especies de salmónidos encontrados en cuerpos de agua dulce, y que cohabitan con peces nativos en Chile, encontramos especies que presentan un amplio rango de historias de vida. Los efectos perjudiciales que podrían producir los salmónidos, especies carnívoras y de crecimiento rápido, sobre la fauna nativa podrían variar dependiendo de los diferentes rasgos de historia de vida que presentan estas especies introducidas (Figura 1). En Chile, las especies de salmónidos más abundantes pueden presentar historias de vida diferentes, pudiendo ser anádromas o potádromas. Especies potádromas como la trucha café y la trucha arcoíris presentan múltiples eventos reproductivos a lo largo de su vida (reproducción iterópara), y pueden vivir toda su vida en sistemas de agua dulce, pero también pueden presentar ciclos de vida anádromos en algunos casos (e.g., trucha arcoíris “steelhead” o “cabeza plateada”) (Arismendi et al., 2019). En las etapas tempranas de su ciclo de vida, las truchas habitan en cuencas continentales alimentándose principalmente de invertebrados (Berrios et al., 2002; Palma et al., 2002; Ibarra et al., 2011; Rivera Escobar, 2014). Tanto la trucha arcoíris

como la trucha café residentes permanecen en agua dulce y se vuelven más piscívoras a medida que crecen hasta que alcanzan su tamaño adulto (Arismendi et al., 2012). Por el contrario, en Chile el salmón Chinook presenta un solo evento reproductivo (reproducción semépara) y un ciclo de vida donde realiza migraciones entre cuencas de agua dulce y el mar (ciclo de vida anádromo) (Soto et al., 2007). El salmón Chinook en Chile pasa aproximadamente un año en agua dulce, y entre 2 y 3 años en el océano, para luego retornar a desovar en ríos de agua dulce (Di Prinzio & Pascual, 2008; Gomez-Uchida et al., 2016, 2017). Los salmones Chinook juveniles habitan ríos de agua dulce durante entre uno y dos años, donde consumen insectos, invertebrados y, a medida que crecen, incorporan también peces nativos de pequeño tamaño a su dieta (Ibarra et al., 2011). Los salmones Chinook migran al océano después de crecer en agua dulce. Se han descrito dos ecotipos en función del tiempo que los individuos pasan en el agua dulce, conocidos por su nombre en inglés como “*ocean type*” y “*stream type*”. Los individuos de *stream type* pasan entre uno y dos años creciendo en agua dulce previo a su migración hacia el océano, mientras que los individuos *ocean type* permanecen en agua dulce un periodo inferior al año (Quinn, 2018). En el mar, el salmón Chinook depreda principalmente peces pelágicos e invertebrados (Niklitschek & Toledo, 2008; Gomez-Uchida et al., 2016).

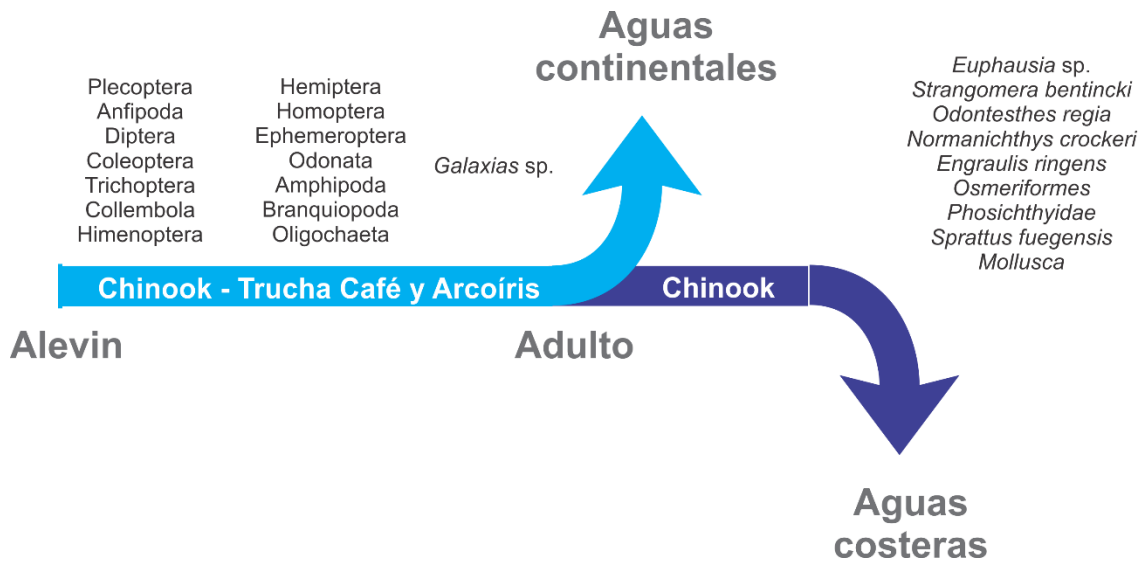


Figura 1: Modelo conceptual de las principales etapas del ciclo de vida de los salmónidos de vida libre y los principales taxones sobre los que depredan en la zona sur de Chile Fuente: elaboración propia.

## OBJETIVOS

La presente tesis tiene por objetivo general comprender las relaciones tróficas que se han desarrollado entre salmónidos anádromos y potádromos con la fauna nativa del Río Toltén y la zona costera adyacente desde que estas especies invasoras fueron introducidas. Para esto, a lo largo de tres capítulos, se desarrolló una investigación que aborda las interacciones de los salmónidos y la biota nativa estudiando especies anádromas y potádromas que habitan el Río Toltén y la zona costera adyacente (Región de la Araucanía, Chile).

El primer capítulo comprende un estudio genético del salmón Chinook, una especie anádroma que desarrolla su ciclo de vida entre los ecosistemas de agua dulce y oceánicos. Al ser el salmón Chinook una especie introducida, con el primer capítulo busqué conocer las dinámicas espaciales de los adultos que habitaban en la zona oceánica, en busca de poder identificar la población de origen de los individuos de salmón Chinook que remontaban en el Río Toltén y el Río Petrohué. Para esto se desarrollaron análisis genéticos utilizando marcadores moleculares SNPs y metodologías de genética de poblaciones y análisis de identificación de stocks para mezclas poblacionales. La hipótesis de trabajo para este capítulo fue que los individuos de salmón Chinook en Chile habitaban zonas aledañas a las costas cercanas a los ríos donde nacieron, lo que se conoce como homing.

En el segundo capítulo de esta tesis se estudiaron las relaciones tróficas entre salmónidos y especies nativas durante su estadía en agua dulce, tomando como zona de estudio la cuenca del Río Toltén. En este capítulo se analizó tanto la composición isotópica como el contenido estomacal de individuos de las especies potádromas trucha arcoíris y trucha café, y de la especie anádroma salmón Chinook. En este capítulo se trabajó bajo dos objetivos. El objetivo uno consistió en explorar las diferencias en dieta entre las especies de salmónidos y su relación con sus distintos ciclos de vida, comparando información proveniente de análisis de isótopos estables y de contenido estomacal. El

objetivo dos consistió en evaluar el cambio ontogenético en la dieta de los salmónidos utilizando información proveniente de análisis de isótopos estables.

En el tercer capítulo se caracterizaron las relaciones tróficas del salmón Chinook en su fase oceánica. En este capítulo se utilizó una base de datos de isótopos, donde además de contar con muestras de salmón Chinook, se analizó información isotópica para la materia orgánica particulada (POM), peces pelágicos de zonas costeras como estuarinas, e individuos de lobo marino. Además, también se analizó el contenido estomacal de individuos de salmón Chinook de las zonas costera y estuarina de La Barra del Río Toltén durante la época de remonte. Utilizando la información proveniente de los datos de isótopos estables y el contenido estomacal se caracterizaron las relaciones interespecíficas del salmón Chinook desde un punto de vista trófico.

A lo largo de estos tres capítulos se desarrolló un estudio de las relaciones tróficas de los salmónidos que consideró sus migraciones y su estructura genético poblacional, con el fin de aportar al conocimiento de los salmónidos como especies invasoras tanto en sistemas de agua dulce como oceánicos, donde potencialmente interactúan con múltiples especies nativas como depredadores, competidores e incluso presas.

Capítulo 1: Análisis de mezcla de stocks del salmón Chinook, un pez migratorio no-nativo en su fase costera y su posterior asignación a sitios natales en agua dulce dentro de su rango de introducción en América del Sur.

Chapter 1: Mixed-stock analyses of migratory, non-native Chinook salmon at sea and assignment to natal sites in fresh water at their introduced range in South America

Capítulo publicado en la revista Biological Invasions:

Musleh, S.S., Seeb, L.W., Seeb, J.E., Ernst, B., Neira, S., Harrod, C., Gomez-Uchida, D. Mixed-stock analyses of migratory, non-native Chinook salmon at sea and assignment to natal sites in fresh water at their introduced range in South America. *Biological Invasions* 22, 3175–3182 (2020).

<https://doi.org/10.1007/s10530-020-02319-0>.



## Mixed-stock analyses of migratory, non-native Chinook salmon at sea and assignment to natal sites in fresh water at their introduced range in South America

Selim S. Musleh · Lisa W. Seeb · James E. Seeb · Billy Ernst · Sergio Neira · Chris Harrod · Daniel Gomez-Uchida

Received: 1 August 2019 / Accepted: 20 July 2020  
© Springer Nature Switzerland AG 2020

**Abstract** Invasive species with migratory behavior and complex life cycles represent a challenge for evaluating natal sites among individuals. Private and government-sponsored initiatives resulted in the successful introduction and naturalization of Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) throughout northern and southern Patagonia in South America. Migratory populations of Chinook salmon breed in fresh water, but spend most of their life feeding at sea, forming abundant populations in several watersheds

draining into the southeast Pacific Ocean. We used single nucleotide polymorphisms combined with genetic structure and mixed-stock analyses to evaluate natal sites of Chinook salmon at sea caught in one estuary and two coastal locations compared to reference populations from breeding sites in fresh water. Firstly, Bayesian individual-assignment analyses revealed no genetic structure among adults caught off the coast of the Toltén River and migrating (maturing) adults caught in Toltén River estuary, suggesting they likely belong to a single population. Secondly, mixed-stock genetic analyses revealed that most Chinook salmon caught in one estuary and two coastal locations likely originated from spawners from

**Electronic supplementary material** The online version of this article (<https://doi.org/10.1007/s10530-020-02319-0>) contains supplementary material, which is available to authorized users.

S. S. Musleh  
Programa de Doctorado en Ciencias con Mención en Manejo de Recursos Acuáticos Renovables (MaReA), Faculty of Natural Sciences and Oceanography, Universidad de Concepción,  
P.O. Box 160-C, Concepción, Chile

S. S. Musleh · L. W. Seeb · J. E. Seeb ·  
B. Ernst · S. Neira · C. Harrod · D. Gomez-Uchida  
Núcleo Milenio INVASAL, Concepción, Chile

S. S. Musleh · D. Gomez-Uchida (✉)  
Genomics in Ecology, Evolution and Conservation Laboratory, Departamento de Zoología, Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, Universidad de Concepción, P.O. Box 160-C, Concepción, Chile  
e-mail: dgomezu@udec.cl

L. W. Seeb · J. E. Seeb  
School of Aquatic and Fishery Sciences, University of Washington, 1122 NE Boat Street, Box 355020, Seattle, WA 98195-5020, USA

B. Ernst · S. Neira  
Departamento de Oceanografía, Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, Universidad de Concepción, P.O. Box 160-C, Concepción, Chile

C. Harrod  
Instituto de Ciencias Naturales Alexander von Humboldt, Facultad de Ciencias del Mar y Recursos Biológicos, Universidad de Antofagasta, Antofagasta, Chile

C. Harrod  
Universidad de Antofagasta Stable Isotope Facility, Instituto Antofagasta, Universidad de Antofagasta, Antofagasta, Chile



the nearest river (86–96%). Contributions from distant watersheds to mixtures at sea decreased with increasing geographic distance. Our combined genetic evidence points strongly to *homing* among non-native Chinook salmon, whereby most adults return to breed to their natal river amid potentially long-distance migrations through the coast. Mixed-stock genetic analyses provide considerable potential to identify the population of origin of Chinook salmon mixtures caught off the coast. They also seem an appropriate proof of concept to assess homing versus dispersal and infer invasion pathways via long-distance migration.

**Keywords** Non-native Pacific salmon · Single nucleotide polymorphisms · Invasion genetics · Fishery management of non-native species · Chilean Patagonia

## Introduction

Population genetics and genomics approaches have been increasingly implemented for studying invasions and their ecological and evolutionary consequences (Barrett 2015; Crommenacker et al. 2015). Primary foci among studies include comparing genetic metrics between native and non-native populations, identifying invasion pathways from donor population sources, and evaluating the role of receiving environments on selection and adaptation among established genotypes (Barrett 2015; Chown et al. 2015). Applications oriented to assign individuals of unknown origin to their natal locations in their non-native, post-establishment range have received lesser attention (but see Darling and Folino-Rorem 2009 for an exception). Knowledge of migration patterns among invasive species with a complex life cycle might benefit from such applications, namely species in which juveniles and adults occupy different environments. Also, and because adults may form population mixtures, quantifying proportions from different populations is a crucial first step to gauge ecological impacts of specific non-native populations, as prey or predators, on native ecosystems and provide strategies for management and control.

Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) is an anadromous fish native to the Northern Hemisphere and is also found in multiple non-endemic locations

throughout the world. Chinook salmon breed in fresh water but feed most of their lives at sea. In their native range, juveniles migrate to the ocean either in the spring or summer after emerging from the gravel (subyearling) or outmigrate the next spring (yearling), typically followed by 2 to 5 years growing at sea—(Quinn 2005). Patterns of Chinook salmon migration are a highly variable trait among populations; some undertake long migrations, while others remain close to the coast (Healey 1991; Trudel et al. 2009). Regardless, most Chinook will return to breed to their river of origin through a process known as *homing* (Quinn 2005). Chinook salmon are also a carnivorous fish that prey over a broad range of pelagic species such as euphausiids, decapods, cephalopods, and other fishes (Brodeur 1990; Daly et al. 2009; Riddell et al. 2018). The species is also an important resource for recreational, tribal, and commercial fisheries and is considered one of the most valuable Pacific salmon species in North America (Quinn 2005).

The clear fishery potential of Chinook salmon triggered government-sponsored and private initiatives to propagate it throughout Pacific Ocean watersheds in South America during 1978–1990 (Correa and Gross 2008), with donor (native) populations spanning multiple geographic regions from North America (Correa and Moran 2017; Gomez-Uchida et al. 2018; Riva Rossi et al. 2012). These introduction efforts failed to yield a sustainable commercial activity, but resulted in the naturalization of multiple populations. A recent genetics study has shown that non-native Chinook salmon have invaded new watersheds in South America, establishing genetically differentiated population groups originating from both artificial and natural dispersal (Gomez-Uchida et al. 2018). Genetic differentiation of populations has been routinely used within the native range to develop reference databases of populations. These reference databases can be used to study migratory behavior and identify the contribution of natal populations to mixed stock aggregations at sea in its native distribution (Bellinger et al. 2015; Bradbury et al. 2016; McKinney et al. 2017). Implementation of mixture models among non-equilibrium, non-native populations (some of mixed origin) suggests that potential violations of such models may not be fatal (Correa and Moran 2017). The use of mixture models and analyses could thus be extended to assess homing, dispersal and long-distance migration among non-native populations by

gauging their relative contribution to mixtures sampled at sea.

Here we employed single nucleotide polymorphisms (SNPs) and individual assignment methods to characterize genetic structure and population mixtures among non-native Chinook salmon at sea, including one estuary and two coastal locations. We deterministically assigned at-sea individuals to natal spawning sites using a set of reference freshwater populations. Our study design included two at-sea locations in South America: one study site off the Toltén River watershed (39°S) and another at the Gulf of Ancud (42°S) in northern Patagonia (Fig. 1). These represent two potentially important feeding grounds for migratory Chinook salmon populations.

## Materials and methods

### Study sites and sampling

Toltén River supports one of the largest Chinook salmon populations identified to-date in Chile (Gomez-Uchida et al. 2016). The entire watershed comprises four lakes and multiple rivers that run from the Andean mountains to the Pacific Ocean (Fig. 1). River habitats in the western foothills of the Andes (1500–2000 m above sea level) provide high-quality habitat for breeding (Gomez-Uchida et al. 2016). The coastal area off Toltén River is highly productive and supports large stocks of common sardine (*Strangomera bentincki*) and anchovy (*Engraulis ringens*) (Instituto de Fomento Pesquero 2018), an important prey item for coastal Chinook salmon (Gomez-Uchida et al. 2016). Chinook salmon samples from the estuary (n = 121) and off the coast of Toltén River (n = 53) were collected by small-scale artisanal fishers using gill nets under Chile's Undersecretariat of Fisheries and Aquaculture permit (Res. Ex. 3417/2014) during austral summer 2015.

The Gulf of Ancud is located within the Inner Sea of Chiloé (Fig. 1) in Chile's northern Patagonia (Los Lagos Region). The Gulf of Ancud has been described as a breeding and nursery area for several native fishes (Bustos et al. 2008) and is therefore a potential feeding ground for juvenile and adult Chinook salmon. Here coastal salmon fisheries are prohibited by law. Samples (n = 42) originated from bycatch of the southern

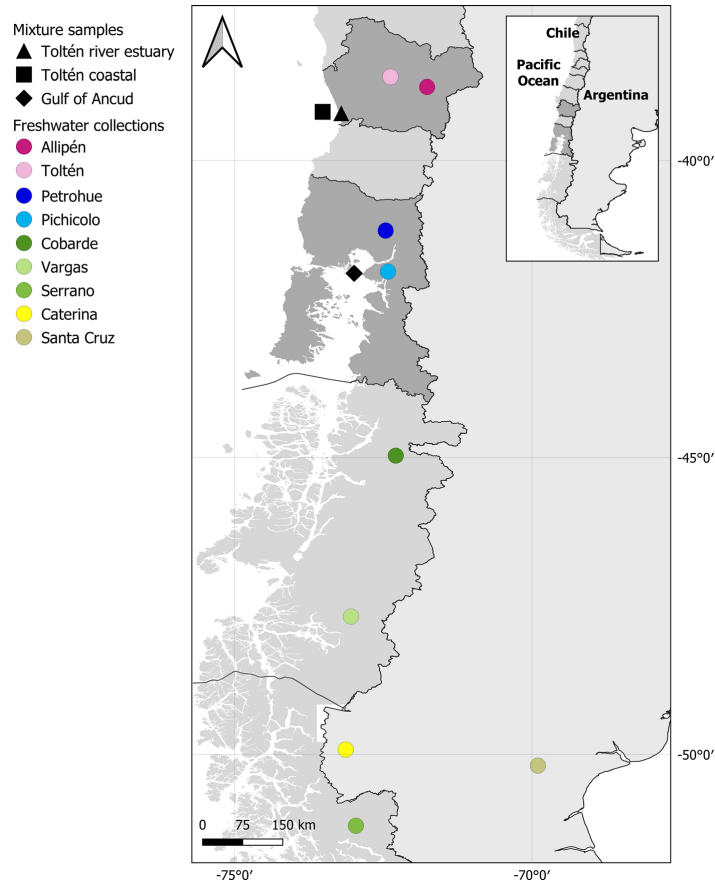
hake (*Merluccius australis*) long-line fishery taken during 2014 austral summer.

### SNP genotyping and selection

From each individual, genomic DNA was isolated from the axillary process (i.e., a small pointed protrusion located above the pelvic fin) using a Macherey-Neigel Nucleospin Tissue kit following manufacturer's instructions. PCR was carried out using Fluidigm® 96.96 dynamic array chips following established pre-amplification and amplification protocols (Seeb et al. 2009; Smith et al. 2011). We screened DNA samples for 170 SNPs (Table S1). These loci were selected based on information content among non-native populations, fit to Hardy-Weinberg equilibrium (HWE) proportions, and non-significant linkage disequilibrium (LD) among loci (Gomez-Uchida et al. 2018).

### Individual-based inference of genetic structure among Chinook salmon at Tolten River

We assessed genetic population structure among estuarine and coastal Chinook salmon at Toltén River using Bayesian clustering based on minimization of HWE-LD departures implemented in STRUCTURE (Pritchard et al. 2000). This was based on demographic differences between these zones; previous surveys (Gomez-Uchida et al. 2016) indicated that coastal adults, especially females, were younger (ages 2+ and 3+) than estuary adults (ages 3+ and 4+). We therefore evaluated the likelihood that adults from estuary and coastal fisheries belong to one, two, or three different demes (number of demes = K values). For each K value, 10 independent iterations were run, using the admixture model with 20,000 iterations burn-in period of and 250,000 Markov Chain Monte Carlo steps after the burn-in. We arrived at "consensus" coefficients of individual membership (Q-values) within K values using CLUMMP to avoid label switching artifacts and multimodality among independent runs (Jakobsson and Rosenberg 2007).



**Fig. 1** Mixture samples from three locations at sea (black) and nine freshwater collections of non-native Chinook salmon in South America (colored circles)

Mixed stock analyses of estuarine and coastal Chinook salmon and their assignment to reference populations in fresh water

We modified a data set of Chinook salmon genotypes from Gomez-Uchida et al. (2018) that included several Pacific Ocean and Atlantic Ocean watershed sites in South America screened for a panel of 170 SNPs (Table S1). Most sites displayed significant genetic divergence from each other, implying that they could be used as reference populations. However, we

removed Prat River located in southern Patagonia as the origin of this population was a translocation of founders for Petrohue River, one of the first Chinook salmon populations to become established in northern Patagonia, and thus genetically close to Prat River (Gomez-Uchida et al. 2018).

We initially performed a discriminant analysis of principal components or DAPC (Jombart et al. 2010) on the data set to define the most probable number of reference populations. This was followed by implementation of the R package 'rubias' (Moran and

Anderson 2018; R Core Team 2018) to carry out simulation and inferences. First, we used the function *assess\_reference\_loo* to evaluate how much accuracy we could expect from the data set of reference populations using a leave-one-out approach (Anderson et al. 2008). Genotypes were bootstrapped by resampling alleles in 200 mixtures per natal site containing 500 individuals each. Second, we assessed Chinook salmon mixtures at sea, both individual posterior membership probabilities and mixture proportions, using *infer\_mixture* in *rubias* based on 200,000 MCMC iterations and 40,000 burn-in period. Third, *rubias* enabled Z-score tests comparing maximum a posteriori probabilities assignments to random normal to appraise whether any fish from the mixture samples may originate from potentially unsampled reference populations.

## Results

### Individual-based inference of genetic structure among Tolten River Chinook salmon

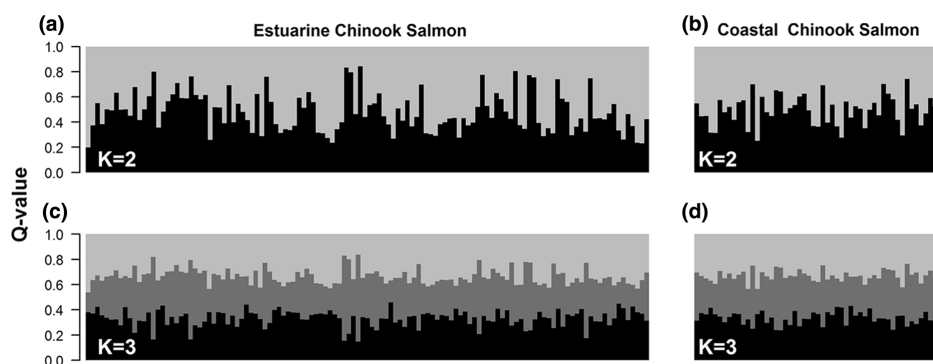
Bayesian clustering analysis showed no evidence of genetic admixture among migrating Chinook salmon adults caught at the estuary of Tolten River and adults caught off the coast. Individual membership coefficients were symmetric assuming  $K = 2$  and  $K = 3$  number of demes (Fig. 2), consistent with the

hypothesis that estuarine and coastal Chinook salmon likely belong to a single population off Tolten River.

Mixed stock analyses of estuarine and coastal Chinook salmon and their assignment to reference populations in fresh water

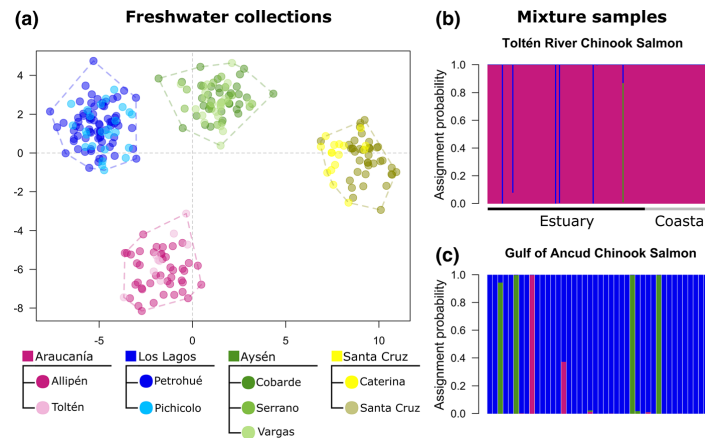
DAPC conducted on the modified data set defined four genetically differentiated clusters, three among Pacific Ocean watersheds and one among Atlantic Ocean watersheds: (1) *Araucanía*, (2) *Los Lagos*, (3) *Aysén*, and (4) *Santa Cruz* (Fig. 3a). We considered these our four reference populations for subsequent analyses. Leave-one-out simulations in *rubias* indicated that genotypes originating from freshwater collections were accurately assigned to their reference population between 86% and 100% of the time (Table 1; Fig S1).

The greatest proportion of Chinook salmon mixtures at sea, from one estuary and two coastal locations, was assigned to the nearest reference population. Mixture proportions among estuarine and coastal individuals caught off Tolten River were 96% *Araucanía*, 3% *Los Lagos*, 0.7% *Aysén*, and 0.3% *Argentina* (Fig. 3b). Mixture proportions among Gulf of Ancud samples were 86% *Los Lagos*, 10% *Aysén*, 4% *Araucanía*, and 0.5% *Argentina* (Fig. 3c). Z-scores in *rubias* suggested congruence between maximum a posteriori probabilities and random normal expectations, suggesting a low probability that any fish originated from unsampled reference populations (Fig S1).



**Fig. 2** Admixture analysis of individual ancestry coefficients (Q-values) among Chinook salmon genotypes sampled at the estuary (a, c) and off the coast of Tolten River (b, d). Clustering

was performed assuming  $K = 2$  (a, b: upper panels) or  $K = 3$  demes (c, d lower panels)



**Fig. 3** Discriminant analysis of principal components among reference populations of Chinook salmon in South America (modified from Gomez-Uchida et al. 2018) and assignment of mixture samples from two coastal and one estuary locations. **a** Dots represent individual genotypes and dashed lines delimit reference populations. Colors represent nine freshwater collections (Table 1); squares are reference populations composed of

two or more natal sites. **b** Individual assignment probability of estuarine and coastal Chinook salmon off Toltén River to reference populations. **c** Individual assignment probability of Chinook salmon from Gulf of Ancud to reference populations. Each bar represents an individual and colors represent probabilities to be assigned to one of four reference populations

**Table 1** Geographic information among freshwater collections of non-native Chinook salmon

Basin	Country, region	Freshwater collections	Reference population	Self-assignment (%)
Pacific ocean	Chile, Araucanía	Allipén	Araucanía	98
	Chile, Araucanía	Toltén		95
	Chile, Los Lagos	Petrohué	Los Lagos	98
	Chile, Los Lagos	Pichicolo		100
	Chile, Aysén	Cobarde	Aysén	86
	Chile, Aysén	Vargas		99
	Chile, Magallanes	Serrano		100
Atlantic ocean	Argentina, Santa Cruz	Caterina	Santa Cruz	91
	Argentina, Santa Cruz	Santa Cruz		97

Collections have been nested within reference populations. Self-assignment depicts the probability of an individual genotype from a collection to be assigned to its reference population using leave-one-out simulations

## Discussion

Using a combination of statistical methods to analyze population mixtures and genetic information provided by SNPs, we used posterior membership probabilities and mixture proportions to assign non-native Chinook salmon caught at sea to natal sites in fresh water in South America. Mixture proportions from one estuary

and two coastal locations suggested that most adults originated from the nearest freshwater collection (86–96%), while contributions from distant collections appear to decrease with increasing geographic distance. Below we discuss implications of our findings to illuminate dispersal and migration patterns among non-native Chinook salmon. Identifying such

patterns has the potential to clarify invasion pathways as well as assist management of invasive species.

#### Individual-based inference of genetic structure among Tolten River Chinook salmon

We used clustering methods to examine putative genetic structure and admixture among Chinook salmon captured in the estuarine and coastal zones off Tolten River, but no genetic structure was apparent. This suggests that each collection of coastal and estuarine adults likely belong to one single, self-sustaining population, even though they differ in age class composition (Gomez-Uchida et al. 2016). We speculate that the population of Chinook salmon from Tolten River has been established for four or five generations since migrating adults showed in high numbers during 2000–2005, assuming a generation length of 4 years (Gomez-Uchida et al. 2018). Even though it may be a recently founded population, several studies agree that it is genetically distinct, likely as a result of unique donor lineages that differed from those artificially propagated further south throughout Patagonia (Correa and Moran 2017; Gomez-Uchida et al. 2018; Narum et al. 2017).

#### Mixed stock analyses of estuarine and coastal Chinook salmon and their assignment to reference populations in fresh water

Clear genetic differentiation among four reference populations enabled assignment of adults captured at sea to their natal sites in fresh water. This largely resulted from stocking genetically distinct donor Chinook salmon lineages from North America, combined with contemporary changes driven by founder effects, genetic drift, and gene flow (Correa and Moran 2017; Gomez-Uchida et al. 2018). Although our coverage of all potential natal sites in fresh water was incomplete, Z-scores from *rubias* revealed that bias resulting from unsampled reference populations contributing to mixtures samples may be small.

Our combined genetic evidence that, (1) Chinook salmon adults sampled from one estuary and two coastal sites likely originated from the nearest watershed and (2) contributions from distant freshwater sites to mixture samples decreased with increasing geographic distance, points strongly to *homing* among non-native populations. Homing or the ability to return

to natal rivers after spending years at sea is a staple life history trait in native, migratory salmonid populations (Quinn 2005), but has received little attention in non-native environments. For example, we know from tagging studies and mixed-stock genetic analyses in their native range that most Chinook salmon adults in the ocean will be recovered or caught within major regions where they were tagged or assigned to, although with notable exceptions (Bellinger et al. 2015; Weitkamp 2010). Indeed, the fact that adults in feeding areas and returning adults were largely from the nearest known watershed does not exclude long migrations during 3–4 years of their marine life history. Trudel et al. (2009) described migrations of several thousand km among juvenile Chinook salmon in their native range; long-distance movements occur at variable age depending on the population of origin. In South America, Chinook salmon adults have been caught by recreational fishers in both Pacific Ocean and Atlantic Ocean, in some cases thousands of km away from the nearest known established population in fresh water (Liotta 2019; authors' field observations).

Invasive species frequently experience range expansions and distributional changes, and predicting invasion pathways as well as evaluating the rate of spread are crucial for efficient management of non-native taxa (Sakai et al. 2001). Mixed stock analyses hold clear potential to study homing versus dispersal patterns among non-native Chinook salmon by assigning adults caught at sea to their natal sites in fresh water. Such analyses may clarify whether presence of Chinook salmon propagules at sea originate from nearby or distant populations as part of an ongoing process of invasion by this successful salmonid.

**Acknowledgements** We are indebted to Cristian Canales-Aguirre, Pablo Rivara, Diego Cañas, Mauricio Cañas, Francisca Valenzuela-Aguayo, and Francisco González (“Don Quete”) for their substantial contribution to sample collection. Carita Pascal performed all laboratory analyses, including SNP genotyping, allele scoring, and database management. Recommendations from two anonymous referees greatly improved earlier manuscript versions. This research was supported by Núcleo Milenio INVASAL funded by Chile’s government program, Iniciativa Científica Milenio from Ministerio de Economía, Fomento y Turismo, and Chile’s government Grants, FONDECYT 1130807, 1191256, and FIPA 2014-87. Student support came from CONICYT 21160640 doctoral scholarship to SSM. SN also acknowledges funding from COPAS Sur-Austral ANID PIA APOYO CTE AFB170006.

## References

- Anderson EC, Waples RS, Kalinowski ST (2008) An improved method for predicting the accuracy of genetic stock identification. *Can J Fish Aquat Sci* 65:1475–1486
- Barrett SCH (2015) Foundations of invasion genetics: the Baker and Stebbins legacy. *Mol Ecol* 24:1927–1941
- Bellinger MR, Banks MA, Bates SJ et al (2015) Geo-referenced, abundance calibrated ocean distribution of Chinook salmon *Oncorhynchus tshawytscha* stocks across the west coast of North America. *PLoS ONE* 10:e0131276
- Bradbury IR, Hamilton LC, Chaput G et al (2016) Genetic mixed stock analysis of an interceptory Atlantic salmon fishery in the Northwest Atlantic. *Fish Res* 174:234–244
- Brodeur RD (1990) A synthesis of the food habits and feeding ecology of salmonids in marine waters of the North Pacific Fisheries Research Institute, University of Washington, Seattle (INPFC Doc.) FRI-UW-9016, pp 1–38
- Bustos CA, Landaeta MF, Balbontín F (2008) Efectos ambientales sobre la variabilidad espacial del ictioplancton de Chile austral durante noviembre de 2005. *Reva Chil Hist Nat* 81:205–219
- Chown SL, Hodgins KA, Griffin PC et al (2015) Biological invasions, climate change and genomics. *Evol Appl* 8:23–46
- Correa C, Gross MR (2008) Chinook salmon invade southern South America. *Biol Invasions* 10:615–639
- Correa C, Moran P (2017) Polyphyletic ancestry of expanding Patagonian Chinook salmon populations. *Sci Rep* 7:14338
- Crommenacker J, Bourgeois YXC, Warren BH et al (2015) Using molecular tools to guide management of invasive alien species: assessing the genetic impact of a recently introduced island bird population. *Divers Distrib* 21:1414–1427
- Daly EA, Brodeur RD, Weitkamp LA (2009) Ontogenetic shifts in diets of juvenile and subadult coho and Chinook Salmon in coastal marine waters: important for marine survival? *Trans Am Fish Soc* 138:1420–1438
- Darling JA, Folino-Rorem NC (2009) Genetic analysis across different spatial scales reveals multiple dispersal mechanisms for the invasive hydrozoan cordylophora in the Great Lakes. *Mol Ecol* 18:4827–4840
- Gomez-Uchida D, Ernst B, Aedo G et al (2016) Informe Final FIP 2014-87: Estudio biológico pesquero y sanitario de la población de Salmón Chinook en la cuenca del Río Toltén. Subsecretaría de Pesca y Acuicultura; Fondo de Investigación Pesquera y Acuicultura, p 420. [http://www.subpesca.cl/fipa/613/articles-89445\\_informe\\_final.pdf](http://www.subpesca.cl/fipa/613/articles-89445_informe_final.pdf)
- Gomez-Uchida D, Cañas-Rojas D, Riva-Rossi CM et al (2018) Genetic signals of artificial and natural dispersal linked to colonization of South America by non-native Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). *Ecol Evol* 8:6192–6209
- Healey M (1991) Life history of Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). In: Groot C, Margolis L (eds) Pacific salmon life histories. UBC Press, Vancouver, pp 311–394
- Jakobsson M, Rosenberg NA (2007) CLUMPP: a cluster matching and permutation program for dealing with label switching and multimodality in analysis of population structure. *Bioinformatics* 23:1801–1806
- Jombart T, Devillard S, Balloux F (2010) Discriminant analysis of principal components: a new method for the analysis of genetically structured populations. *BMC Genet* 11:94
- Liotta J (2019) Surprising record of a Chinook salmon *Oncorhynchus tshawytscha* (Walbaum, 1792) from the Paraná river delta in San Pedro, Buenos Aires, Argentina. *Ichthyol Contrib Peces Criollos* 63:1–4
- McKinney GJ, Seeb JE, Seeb LW (2017) Managing mixed-stock fisheries: genotyping multi-SNP haplotypes increases power for genetic stock identification. *Can J Fish Aquat Sci* 74:429–434
- Moran BM, Anderson EC (2018) Bayesian inference from the conditional genetic stock identification model. *Can J Fish Aquat Sci* 76:551–560
- Narum SR, Gallardo P, Correa C et al (2017) Genomic patterns of diversity and divergence of two introduced salmonid species in Patagonia, South America. *Evol Appl* 10:402–416
- Pritchard JK, Stephens M, Donnelly P (2000) Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155:945–959
- Quinn T (2005) The behavior and ecology of Pacific salmon and trout. University Press, Seattle, p 320
- R Core Team (2018) R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. <http://www.R-project.org/>
- Riddell BR, Brodeur RD, Bugaev AV et al (2018) Ocean ecology of Chinook salmon. In: Beamish RJ (ed) The ocean ecology of Pacific salmon and trout. American Fisheries Society, Bethesda, pp 555–696
- Riva Rossi CM, Ma Pascual, Aedo Marchant E et al (2012) The invasion of Patagonia by Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*): inferences from mitochondrial DNA patterns. *Genetica* 140:439–453
- Sakai AK, Allendorf FW, Holt JS et al (2001) The population biology of invasive species. *Annu Rev Ecol Syst* 32:305–332
- Seeb J, Pascal C, Ramakrishnan R et al (2009) SNP genotyping by the 5'-nuclease reaction: advances in high throughput genotyping with non-model organisms. In: Komar A (ed) Methods in molecular biology, single nucleotide polymorphisms, 2nd edn. Humana Press, New York, pp 277–292
- Smith MJ, Pascal CE, Grauvogel Z, Habicht C, Seeb JE, Seeb LW (2011) Multiplex preamplification PCR and microsatellite validation enables accurate single nucleotide polymorphism genotyping of historical fish scales. *Mol Ecol Resour* 11:268–277
- Trudel M, Fisher J, Orsi JA et al (2009) Distribution and migration of juvenile Chinook salmon derived from coded wire tag recoveries along the continental shelf of western North America. *Trans Am Fish Soc* 138:1369–1391
- Weitkamp LA (2010) Marine distributions of Chinook salmon from the west coast of North America determined by coded wire tag recoveries. *Trans Am Fish Soc* 139:147–170

**Publisher's Note** Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Capítulo 2: Relaciones tróficas entre estadios tempranos de salmónidos invasores y peces nativos en el Río Toltén

Chapter 2: Trophic relationships among early stages invasive salmonids and native fishes in the Toltén River

Capítulo enviado a la revista PeerJ:

Musleh, S.S., Quezada-Romegialli, C., Rivara P., Cañas, M., Lazo-Cancino, D., Neira, S., Harrod, C., Gomez-Uchida, D. Trophic relationships among early stages invasive salmonids and native fishes in the Toltén River. PeerJ (2022 enviado).



## Trophic relationships among early stages invasive salmonids and native fishes in the Toltén River

Selim Musleh<sup>1,2,3</sup>, Claudio Quezada-Romegialli<sup>4</sup>, Pablo Rivara<sup>3,5</sup>, Mauricio Cañas<sup>3</sup>, Daniela Lazo-Cancino<sup>6,7</sup>, Sergio Neira<sup>2,3,8</sup>, Chris Harrod<sup>3,9</sup>, Daniel Gomez-Uchida<sup>Corresp. 3,10</sup>

<sup>1</sup> División de Investigación Pesquera, Instituto de Fomento Pesquero (IFOP), Valparaíso, Región de Valparaíso, Chile

<sup>2</sup> Doctorado en Ciencias con mención Manejo de Recursos Acuáticos Renovables (MaReA), Departamento de Oceanografía, Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, Universidad de Concepción, Concepción, Región del Biobío, Chile

<sup>3</sup> Núcleo Milenio INVASAL, Concepción, Región del Biobío, Chile

<sup>4</sup> Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Tarapacá, Tarapacá, Región de Arica y Parinacota, Chile

<sup>5</sup> Magister en Ciencia con mención en Pesquerías, Departamento de Oceanografía, Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, Universidad de Concepción, Concepción, Región del Biobío, Chile

<sup>6</sup> Laboratorio de Mastozoología, Departamento de Zoología, Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, Universidad de Concepción, Concepción, Región del Biobío, Chile

<sup>7</sup> Doctorado en Sistemática y Biodiversidad, Departamento de Zoología, Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, Universidad de Concepción, Concepción, Región del Biobío, Chile

<sup>8</sup> Departamento de Oceanografía, Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, Universidad de Concepción, Concepción, Región del Biobío, Chile

<sup>9</sup> Instituto de Ciencias Naturales Alexander Von Humboldt, Universidad de Antofagasta, Antofagasta, Región de Antofagasta, Chile

<sup>10</sup> Departamento de Zoología, Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, Universidad de Concepción, Concepción, Región del Biobío, Chile

Corresponding Author: Daniel Gomez-Uchida

Email address: dgomezu@udec.cl

### Background.

The invasion of non-native salmonid fishes has been recognized as one of the world's worst biological invasions due to their detrimental impacts on native biota. Salmonids are native to the Northern Hemisphere, however, have been widely translocated and are now considered one of the most introduced groups of fish worldwide. In South America, salmonid biomass can be higher than the biomass of native fishes and can display a range of life histories. The detrimental effects of salmonids on conservation concern native fauna will vary depending on salmonid life-history traits.

In this study, we used a combination of methodologies such as stomach content analysis and stable isotope analysis to study the trophic ecology of three invasive salmonids (rainbow trout, brown trout, and Chinook salmon) that cohabit with endangered native fishes in the Toltén River.

### Methods.

Rainbow trout, brown trout, and Chinook salmon were analyzed for stable isotope and stomach content analysis. We also sampled seven native fish and invertebrates from the Toltén River. We estimated and compared the isotopic niche of the salmonids and native fishes for  $\delta^{13}\text{C}$ ,  $\delta^{15}\text{N}$ , and  $\delta^{34}\text{S}$ . We compared salmonid's stomach content. We examined the evidence for ontogenetic dietary shifts in the three salmonid species using generalized additive models.

### Results.

PeerJ reviewing PDF | (2022:11:79103:0:1:NEW 14 Nov 2022)

The isotopic niche shows that resident brown trout have a significantly larger feeding spectrum than rainbow trout, Chinook salmon, and native fish. Anadromous Chinook salmon showed a narrower isotopic niche than both, rainbow trout and brown in the Toltén River. The qualitative stomach content analysis revealed that the main prey of freshwater salmonids were aquatic insects, followed by crustaceans, which is consistent with previous studies. The stomach content analysis also showed that Chinook salmon consumed fewer items than trout, being almost exclusively insectivorous. Rainbow trout and brown trout stomach contents included a small number of Centrarchiformes (natives) and Salmoniformes fish.

#### **Conclusions.**

Isotopic and stomach content analysis shows that trout present greater diet diversity and larger isotopic niches than Chinook salmon and native fish in the Toltén River suggesting different levels of impact on naive fishes. Regarding ontogenetic dietary shifts, tests for Chinook salmon were inconclusive due to our small samples and likely size biased to smaller individuals. Brown trout showed an ontogenetic dietary shift consistent with a trophic scaling with size for a typical freshwater resident species. We also found an ontogenetic dietary shift for rainbow trout, but our results suggest that the energy source for the largest individual and the maternal signal were different, a pattern more consistent with an anadromous species. Further research is still needed to understand the effects of invasive salmonids on the invaded ecosystem and diversity through its complex life cycle.

1 **Trophic relationships among early stages invasive salmonids**  
2 **and native fishes in the Toltén River**

3

4 Selim S. Musleh<sup>1,2,3</sup>, Claudio Quezada-Romegialli<sup>4</sup>, Pablo Rivara<sup>2,5</sup>, Mauricio Cañas<sup>2</sup>, Daniela  
5 Lazo-Cancino<sup>6,7</sup>, Sergio Neira<sup>1,2,8</sup>, Chris Harrod<sup>2,9</sup>, Daniel Gomez-Uchida<sup>2,10</sup>

6

7 <sup>1</sup> Doctorado en Ciencias con mención Manejo de Recursos Acuáticos Renovables (MaReA),  
8 Departamento de Oceanografía, Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, Universidad  
9 de Concepción, Concepción, Chile.

10 <sup>2</sup> Núcleo Milenio INVASAL, Concepción, Chile.

11 <sup>3</sup> División de Investigación Pesquera, Instituto de Fomento Pesquero (IFOP), Valparaíso, Chile.

12 <sup>4</sup> Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Tarapacá, Arica, Chile.

13 <sup>5</sup> Magister en Ciencia con mención en Pesquerías, Departamento de Oceanografía, Facultad de  
14 Ciencias Naturales y Oceanográficas, Universidad de Concepción, Concepción, Chile.

15 <sup>6</sup> Doctorado en Sistemática y Biodiversidad, Departamento de Zoología, Facultad de Ciencias  
16 Naturales y Oceanográficas, Universidad de Concepción, Concepción, Chile.

17 <sup>7</sup> Laboratorio de Mastozoología, Departamento de Zoología, Facultad de Ciencias Naturales y  
18 Oceanográficas, Universidad de Concepción, Concepción, Chile.

19 <sup>8</sup> Departamento de Oceanografía, Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, Universidad  
20 de Concepción, Concepción, Chile.

21 <sup>9</sup> Instituto de Ciencias Naturales Alexander Von Humboldt, Universidad de Antofagasta,  
22 Antofagasta, Chile.

23 <sup>10</sup> Departamento de Zoología, Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, Universidad de  
24 Concepción, Concepción, Chile.

25

26 Corresponding Author:

27 Daniel Gomez-Uchida

28 Víctor Lamas 1290, Concepción, Biobío, 4070386, Chile.

29 Email address: [dgomezu@udec.cl](mailto:dgomezu@udec.cl)

30

**31 Abstract****32 Background.**

33

34 The invasion of non-native salmonid fishes has been recognized as one of the world's worst biological  
35 invasions due to their detrimental impacts on native biota. Salmonids are native to the Northern  
36 Hemisphere, however, have been widely translocated and are now considered one of the most introduced  
37 groups of fish worldwide. In South America, salmonid biomass can be higher than the biomass of native  
38 fishes and can display a range of life histories. The detrimental effects of salmonids on conservation  
39 concern native fauna will vary depending on salmonid life-history traits.

40 In this study, we used a combination of methodologies such as stomach content analysis and stable  
41 isotope analysis to study the trophic ecology of three invasive salmonids (rainbow trout, brown trout, and  
42 Chinook salmon) that cohabit with endangered native fishes in the Toltén River.

**43 Methods.**

44 Rainbow trout, brown trout, and Chinook salmon were analyzed for stable isotope and stomach content  
45 analysis. We also sampled seven native fish and invertebrates from the Toltén River. We estimated and  
46 compared the isotopic niche of the salmonids and native fishes for  $\delta^{13}\text{C}$ ,  $\delta^{15}\text{N}$ , and  $\delta^{34}\text{S}$ . We compared  
47 salmonid's stomach content. We examined the evidence for ontogenetic dietary shifts in the three  
48 salmonid species using generalized additive models.

**49 Results.**

50 The isotopic niche shows that resident brown trout have a significantly larger feeding spectrum than  
51 rainbow trout, Chinook salmon, and native fish. Anadromous Chinook salmon showed a narrower  
52 isotopic niche than both, rainbow trout and brown in the Toltén River. The qualitative stomach content  
53 analysis revealed that the main prey of freshwater salmonids were aquatic insects, followed by  
54 crustaceans, which is consistent with previous studies. The stomach content analysis also showed that  
55 Chinook salmon consumed fewer items than trout, being almost exclusively insectivorous. Rainbow trout  
56 and brown trout stomach contents included a small number of Centrarchiformes (natives) and  
57 Salmoniformes fish.

**58 Conclusions.**

59 Isotopic and stomach content analysis shows that trout present greater diet diversity and larger isotopic  
60 niches than Chinook salmon and native fish in the Toltén River suggesting different levels of impact on  
61 naive fishes. Regarding ontogenetic dietary shifts, tests for Chinook salmon were inconclusive due to our  
62 small samples and likely size biased to smaller individuals. Brown trout showed an ontogenetic dietary  
63 shift consistent with a trophic scaling with size for a typical freshwater resident species. We also found an  
64 ontogenetic dietary shift for rainbow trout, but our results suggest that the energy source for the largest  
65 individual and the maternal signal were different, a pattern more consistent with an anadromous species.  
66 Further research is still needed to understand the effects of invasive salmonids on the invaded ecosystem  
67 and diversity through its complex life cycle.

**68 Introduction**

69 The proliferation of invasive species is a key driver of global change, contributing to biodiversity loss,  
70 ecosystem degradation, and impairment of ecosystem services worldwide (Pysek & Richardson, 2010).  
71 Multiple definitions and concepts have been coined to characterize invasive species. Several researchers  
72 have studied the invasion process and its impact (Simberloff, 2001; Colautti & MacIsaac, 2004;  
73 Meyerson & Mooney, 2007; Lowry et al., 2013). Here we follow the definitions and framework proposed  
74 and updated by Blackburn et al. (2011) which considers invasive species for those species that were  
75 moved by humans beyond their native range, followed by successful self-sustained reproduction and  
76 further geographical expansion in the new environment.  
77

78 Invasive species are a significant threat to the structure and function of native ecosystems (Stachowicz et  
79 al., 2002; Walther et al., 2009; Heinis, 2012). Biological invasions affect the functioning of ecosystems  
80 by changing the availability of resources and disturbing invaded ecosystems and can lead to a decrease in  
81 the abundance, species richness, and diversity of native communities (Pysek & Richardson, 2010;  
82 Gallardo et al., 2016; Mollot, Pantel & Romanuk, 2017). Invasive species can also lead to a  
83 homogenization of regional biotas (Vargas, Arismendi & Gomez-Uchida, 2015). They can mediate  
84 changes in the conditions of the habitats - for example, in aquatic ecosystems, invasive species can  
85 increase water turbidity and nitrogen and organic matter concentration (Gallardo et al., 2016) - which can  
86 subsequently affect native species (Pysek & Richardson, 2010). Additionally, the invasion of a species  
87 into a community causes disruptions and modifies the food web by adding new trophic links and  
88 ecological interactions such as predation, competition, parasites and grazing (Gallardo et al., 2016; David  
89 et al., 2017). Invasive predators can drive population declines and cause local extinction of native species.  
90 This is particularly important when there is a marked mismatch in the size of the two groups, where  
91 invasive predators are often larger than native fishes. Competition, where native and invasive coexist, is  
92 frequently asymmetrical, where the invaders have more negative impacts on native species (David et al.,  
93 2017). Given that predators often share habitats with their putative prey as they grow, they may both  
94 compete with and then predate on native species (Mills, Rader & Belk, 2004; Broughton, 2019).  
95 Predation risk and competitive interactions can lead to native species using suboptimal niches, meaning  
96 invasive species can both, directly and indirectly, modify the abundance of native taxa.  
97

98 The invasion of non-native salmonid fishes has been recognized as one of the world's worst biological  
99 invasions in freshwater ecosystems (Lowe et al., 2000), largely due to their marked detrimental impacts  
100 on native biota (see Townsend, 1996; Arismendi et al., 2009). Salmonids (family Salmonidae; salmon,  
101 trout, and char) are native to the Northern Hemisphere. However, salmonids have been widely  
102 translocated over the last 150 years and are now considered the most introduced group of fish worldwide.  
103 Currently, they are present in all continents, except Antarctica, where they support aquaculture and  
104 fisheries (Froese & Pauly, 2022). Notwithstanding their economic importance, salmonids are among the  
105 world's worst invasive alien species (Lowe et al., 2000). In the southern cone of South America, and  
106 particularly in Chile, salmonids are widely distributed, and their biomass can be higher than the biomass of  
107 native fishes (Soto et al., 2006). Three of the most common free-living salmonids in Chile are rainbow  
108 trout (*Oncorhynchus mykiss*), brown trout (*Salmo trutta*), and Chinook salmon (*Oncorhynchus*  
109 *tshawytscha*). Chile's government stocked rainbow trout and brown trout in multiple rivers and lakes  
110 starting in the early 1900s (Basulto, 2003) where both their sporting value and negative impacts on the  
111 typically small-bodied native fishes were quickly noted by recreational anglers (MacDonald & Ruxton,  
112 2017). The introduction of Chinook salmon due to their great fishery and open-aquaculture potential  
113 motivated government-sponsored and private initiatives to stock them throughout Pacific Ocean  
114 watersheds in South America from 1978 to 1990 (Correa & Gross, 2008). Currently, rainbow trout, brown  
115 trout and Chinook salmon form highly abundant self-sustaining populations, especially in Patagonia in  
116 southern South America. Although life-history traits differ between these three species they often coexist  
117 in freshwater environments during some life stages (Soto et al., 2006; Pascual et al., 2007; Correa &  
118 Gross, 2008; Habit et al., 2015).

119  
120 Salmonid fishes are characterized by ecological plasticity e.g., in behavior, diet, growth, and morphology,  
121 among other traits (Quinn, 2018). South American watersheds include salmonids displaying a range of  
122 life histories that represent a threat to coexisting native fishes. The detrimental effects of fast-growing,  
123 carnivorous non-native salmonids on native fauna will vary depending on salmonid life-history traits.  
124 Among the most abundant salmonids in Chile, we find both anadromous and potamodromous species.  
125 Iteroparous salmonids such as brown and rainbow trout can live entirely in freshwater ecosystems (e.g.,  
126 potamodromous) or can be anadromous (Ivan Arismendi et al., 2019). In the early stages of life, trout  
127 inhabit continental watersheds feeding mainly on invertebrates (Berríos et al., 2002; Palma et al., 2002;  
128 Ibarra et al., 2011; Rivera Escobar, 2014). Resident rainbow and brown trout stay in freshwater and  
129 become increasingly piscivorous as they reach adult size (Arismendi et al., 2012). Conversely, in Chile  
130 Chinook salmon are semelparous and anadromous (Soto et al., 2007). Chinook salmon in Chile spend  
131 about a year in freshwaters, between 2 and 3 years in the ocean, and then return to spawn in freshwater  
132 rivers (cita). Juvenile Chinook salmon inhabit freshwater streams for about a year, where they consume  
133 insects, invertebrates, and as they grow, small-bodied native fish (Ibarra et al., 2011). Juvenile Chinook  
134 salmon typically migrate to the ocean after growing in freshwater. Two ecotypes were described  
135 depending on the time that individuals spend in the freshwater. Ocean-type and stream-type individuals  
136 spend about one and two years in freshwater respectively (Quinn, 2018). At sea, Chinook salmon prey  
137 mainly on pelagic fish and invertebrates (Niklitschek & Toledo, 2008; Gomez-Uchida et al., 2016).  
138

139 Most of the native freshwater fish species currently found in sympatry with salmonids in Chile are of  
140 conservation concern. For example, the conservation status of native galaxiids varies from vulnerable to  
141 at risk of extinction (Murillo & Ruiz, 2002; Habit, Dyer & Vila, 2006; Arismendi & Penaluna, 2009).  
142 Juvenil salmonids and native fishes compete for both food and space, and when salmonids grow, they  
143 predate on natives (Arismendi & Penaluna, 2009; Vargas et al., 2010; Ibarra et al., 2011). Evidence from  
144 both analyses of stomach content and stable isotope analysis show trophic overlap between native fish  
145 and introduced salmonids (Ibarra et al., 2011; Arismendi et al., 2012). Some studies have shown that the  
146 trophic overlap can result in native fish being forced into trophic bottlenecks (Ortiz-Sandoval, 2014;  
147 Habit et al., 2015; Ortiz-Sandoval et al., 2015). Moreover, in Chile, introduced salmonids now dominate  
148 freshwater habitats in terms of both abundance and biomass relative to native fish, increasing the threat to  
149 native fish (Soto et al., 2006; Vargas, Arismendi & Gomez-Uchida, 2015; Rojas et al., 2019). Fish size is  
150 highly important in fish's prey-predator relationship, in freshwater and marine ecosystems (Scharf, Juanes  
151 & Rountree, 2000; Gaeta et al., 2018). Salmonids at adult size reach larger body sizes than native fish,  
152 moving from competitors through predators as they grow.  
153

154 Two principal approaches are commonly used to characterize trophic interactions between fish species:  
155 direct (e.g. stomach content analysis, SCA) and indirect (e.g. stable isotopes analysis, SIA) methods,  
156 among others (Harrod & Stallings, 2021). SCA involves the taxonomic identification and quantification,  
157 or qualification of the prey consumed by fish. However, it has several disadvantages including the  
158 common situation where prey items in the stomach are partial or fully digested (the digestibility of prey  
159 can differ too), making prey identification difficult (Buckland et al., 2017). In addition, accurate prey  
160 identification requires taxonomic expertise, which can be limited, and when it exists, is expensive  
161 (Vinson & Budy, 2011), and accurately quantifying the relative consumption of different prey is very  
162 complicated (Buckland et al., 2017). SCA reflect the most recent meals of the predator and as such do not  
163 reflect long-term feeding patterns and, in many fishes, a large proportion of captured individuals may  
164 have empty stomachs (Vinson & Angradi, 2011). SIA can be more representative of a consumer's long-  
165 term feeding behavior (Boecklen et al., 2011). The use of SIA reflects predictable differences in stable  
166 isotope ratios in different energetic pathways (e.g. terrestrial plants versus freshwater epilithic algae) and  
167 between trophic levels to estimate the source of materials assimilated into consumer's tissues. Using  
168 white muscle tissue, SIA reflects the average assimilated diet over an annual growth period in temperate

169 fishes (Thomas & Crowther, 2015). Different taxa can have similar stable isotope values, and as such,  
170 SIA does not provide the taxonomic resolution offered by SCA. Stable isotope values allow researchers to  
171 reconstruct diets, characterize trophic relationships, and elucidate and construct food webs (Boecklen et  
172 al., 2011). Given that both methods have their advantages and disadvantages, there is considerable utility  
173 in combining both SCA and SIA in studies of trophic ecology (Harrod & Stallings, 2021).  
174

175 Here, we studied the trophic ecology of three invasive salmonids (rainbow trout, brown trout, and  
176 Chinook salmon) that cohabit with endangered native fishes in the Toltén River (southern Chile, Fig. 1)  
177 using a combination of SCA and SIA. Chinook Salmon were introduced to the Toltén River between  
178 2000 – 2005 (Gomez-Uchida et al., 2016) and currently supports a large, self-sustaining population of  
179 Chinook salmon that permit the only legal commercial salmonid fishery in Chile (Gomez-Uchida et al.,  
180 2016). Brown and rainbow trout were introduced in early 1900 for recreational fishing (Basulto, 2003).  
181 Thus, Toltén River provides an excellent opportunity to examine the trophic interactions between  
182 salmonids and native fishes, and among the three most abundant free-living invasive salmonid species  
183 introduced in Chile.  
184

185 Given the variation in the life histories of the three dominant salmonids in the Toltén River, we examined  
186 two hypotheses: (i) life history differences among salmonids will reflect variation in various degrees of  
187 isotopic values, isotopic niche, and stomach content; (ii) salmonids will show ontogenetic dietary shifts in  
188  $\delta^{13}\text{C}$ ,  $\delta^{15}\text{N}$ , and  $\delta^{34}\text{S}$  isotopic values with size due to the change in diet related to its size. We use stable  
189 isotope analysis to evaluate isotopic niche measure niche overlap among invasive salmonids and native  
190 fishes. We use stomach content analysis to provide more detailed information on the salmonid diet within  
191 the Toltén River. Our overall goal was to understand the trophic relationship between and within  
192 salmonids and native fish providing an informed management of invasive salmonids and improving the  
193 conservation of native endangered fishes. We have two specific goals: first, understand the trophic  
194 relationship among the three introduced salmonid species, and between salmonids and native fish in a  
195 freshwater environment using stable isotope and stomach content analyses. Second, evaluate the  
196 salmonid's ontogenetic dietary shifts (trophic scaling with size) using stable isotopes.  
197

## 198 **Materials & Methods**

### 199 **Fieldwork sampling**

200 We sampled invasive salmonids and native fishes using standard two-pass electrofishing with a HallTech  
201 2000 backpack under various settings depending on water conductivity (400–700V; 40–80 Hz) in two  
202 representative sites in both the mid- and upper-catchment sites in the Toltén River, in four sampling  
203 locations (Fig 1). Mid-catchment sites have high presence of recreational fishermen, close to Melipeuco  
204 city and were thought to be a spawning area for rainbow trout and brown trout (information provided by  
205 local fishermen). Upper-catchment sites were located at a more pristine and harder-to-access area in  
206 higher altitude. Upper-catchment sites were reported as a spawning ground for Chinook salmon, in  
207 addition to rainbow trout and brown trout (Gomez-Uchida et al., 2016). By sampling both, mid- and  
208 upper-catchment sites we maximize our chance to find the three salmonid species of interest present in the  
209 Toltén River.  
210

211 We sampled each sampling location during October in austral spring and January - February in austral  
212 summer. We electrofished all available habitats (pool-run-riffle). A total of 53 rainbow trout, 43 brown  
213 trout, and 43 Chinook salmon were captured and euthanized by overdose with Benzocaine. Most native

214 fishes captured were released reflecting their conservation status. Some individuals did not recover after  
215 sampling and were sampled. This included three species (*Aplocheilichthys zebra*, *Galaxias maculatus*, and  
216 *Trichomycterus areolatus*). All sampling was conducted with relevant permissions from Subsecretaría de  
217 Pesca y Acuicultura (SUBPESCA: P.INV. 217/2017 INVASAL) and bioethics standards from Bioethics  
218 Committee from Universidad de Concepción (CEBB 417-2019 and CEBB 822-2020 Universidad de  
219 Concepción).

220

221 We measured the total length ( $\pm 0.1$  cm) and blotted wet body mass ( $\pm 0.1$  g) of each fish. We took  
222 samples of dorsal muscle and liver samples for carbon, nitrogen, and sulfur stable isotope analysis and  
223 stored them on ice in the field. These tissues were subsequently dried using an electric dehydrator for 48h  
224 at 70°C at a field workstation. Fish stomachs were preserved in 95% ethanol for subsequent stomach  
225 content analysis.

226

227 We performed a qualitative assessment of the benthic macroinvertebrate community at each sample site.  
228 We sampled potential macroinvertebrate fish prey using kick-sampling conducted across representative  
229 habitats at each location. Macroinvertebrates were identified to the lowest taxonomic level possible  
230 (commonly to order level). Representative samples were dried (70°C for 48 hours) to be used as a  
231 reference baseline for SIA.

## 232 Stable isotope analyses

233 Dried fish and macroinvertebrate samples were homogenized using a mill-grinder, and then weighed into  
234 tin cups (typical sample mass = 1.514 mg). Elemental percentages for carbon, nitrogen, sulfur and stable  
235 isotope ratios ( $\delta^{13}\text{C}$ ,  $\delta^{15}\text{N}$ , and  $\delta^{34}\text{S}$ ) were measured in fish and macroinvertebrate samples using a  
236 Pyrocube elemental analyzer (Elementar, Langensfeld, Germany) linked to a visION continuous-flow  
237 isotope ratio mass spectrometer (Elementar, Langensfeld, Germany) at the Universidad de Antofagasta  
238 Stable Isotope Facility (UASIF), Chile. Stable isotope ratios are expressed in  $\delta$  units relative to Vienna  
239 Pee Dee Belemnite for carbon, air for nitrogen, and Vienna Canyon Diablo Troilite for sulfur as isotopic  
240 standards. Several international standards were used in each batch to calibrate and assess analytical error  
241 using the ionOS software package v4.1.005 (Elementar, Langensfeld, Germany). Certified reference  
242 materials USGS40 and USGS41a were used for carbon and nitrogen and IAEA-SO-5, IAEA-SO-6, and  
243 IAEA-S2 for sulfur. Repeated analysis of standards showed analytical errors ( $\pm 1$  SD) of  $\pm 0.04$  ‰ for  
244  $\delta^{13}\text{C}$ ,  $\pm 0.06$  ‰ for  $\delta^{15}\text{N}$ , and  $\pm 0.6$  ‰ for  $\delta^{34}\text{S}$ . We used two calibration standards, a) sulfonamide  
245 (Elementar, Germany) and b) an in-house standard (rainbow trout dorsal muscle), to correct for machine  
246 drift. Given the potential influence of lipids, we corrected fish muscle  $\delta^{13}\text{C}$  values arithmetically  
247 ([Kiljunen et al., 2006](#)).

## 248 Statistical analysis

### 249 Isotope niche inference

250 Stable isotope data for salmonids, native fish, and invertebrates were first plotted as bivariate scatterplots  
251 to perform a qualitative assessment of the likely trophic relationships among species and isotopic  
252 variation within species. To examine potential differences in isotopic composition ( $\delta^{13}\text{C}$ ,  $\delta^{15}\text{N}$ , and  $\delta^{34}\text{S}$ )  
253 among the three different salmonid species in each location group, we used a two-way permutational ( $n_{\text{perm}}$   
254 = 9 999) multivariate analysis of variance (PERMANOVA), based on a Euclidean distance matrix,  
255 followed by a post hoc test, using PRIMER v7.0.21 & PERMANOVA+ ([Anderson, Gorley & Clarke,](#)  
256 2008). Subsequent statistical analyses were conducted in R version 4.2.1 ([R Core Team, 2022](#)) under  
257 RStudio IDE version 2022.7.1.554 ([RStudio Team, 2022](#)).



258

259 We estimate the niche size based on  $\delta^{13}\text{C}$ ,  $\delta^{15}\text{N}$ , and  $\delta^{34}\text{S}$  isotope values using the R package  
260 NicheROVER version 1.1.0 (Lysy, Stasko & Swanson, 2021). Also, as we were using three stable  
261 isotopes, we estimated bayesian standard ellipses to estimate the degree of isotopic niche overlap among  
262 salmonid species and between salmonids and native fish separately using the R package NicheROVER.  
263 NicheROVER estimates niche overlap metrics for multidimensional ecological niches, using  $\delta^{13}\text{C}$ ,  $\delta^{15}\text{N}$ ,  
264 and  $\delta^{34}\text{S}$  simultaneously. We estimated the overlap probability among species using 1000 iterations with  
265 an alpha value of 95%.

### 266 Stomach content analysis

267 We conducted stomach content analysis for the salmonid species only, reflecting the limited sample size  
268 for native fishes. Stomach content were taxonomically identified using relevant literature (Domínguez et  
269 al., 2006; Domínguez, Molineri & Nieto, 2009; Stark, Froehlich & Zuñiga, 2009; Collado et al., 2011)  
270 and counted. The relative contribution of different prey taxa was estimated by percentage abundance  
271 (based on counts of each prey taxon) and frequency of occurrence (the percentage of consumers feeding  
272 on a given taxon) grouped by salmonid species and location. We visually explored variation in salmonid  
273 stomach contents using non-metric multidimensional scaling (NMDS) based on a Bray-Curtis  
274 dissimilarity on a transformed data matrix using metaMDS function available in the “vegan” R package  
275 (Oksanen et al., 2012). MetaMDS function performs a heuristic data transformation depending on the  
276 data. In this case, our stomach content dataset was transformed using a Wisconsin double standardization  
277 on the square-root transformed matrix. We then used two-way PERMANOVA in PRIMER v7.0.21 &  
278 PERMANOVA+ to examine the relative influence of salmonid species and capture location on diet,  
279 followed by a post-hoc test to compare differences between the three salmonid species. We finally  
280 perform a SIMPER analysis to quantify the diet similarity/dissimilarity among salmonid species, and also  
281 to identify the preys that most contribute to the estimated similarity/dissimilarity using PRIMER  
282 v7.0.21 & PERMANOVA+.

### 283 Ontogenetic dietary shifts

284

285 We examined the evidence for putative ontogenetic dietary shifts in the three salmonid species by  
286 examining relationships between fish size (total length) and  $\delta^{13}\text{C}$ ,  $\delta^{15}\text{N}$ , and  $\delta^{34}\text{S}$ . We used generalized  
287 additive models (GAM) in the R package “mgcv” (Wood, 2011) to examine the strength and form of any  
288 such relationship.

289

## 290 Results

### 291 Fieldwork sampling

292 A total of 25 Chinook salmon, 18 brown trout, and 33 rainbow trout were captured on the mid-catchment  
293 site; whereas 18 Chinook salmon, 25 brown trout, and 20 rainbow trout were captured on the upper  
294 catchment sites (Table 1). We also analyzed seven native fish (*Aplochiton zebra*: 2, *Galaxias maculatus*:  
295 2, and *Trichomycterus areolatus*: 3) on the mid-catchment site. The mean total length of the salmonids  
296 was 12.2 cm ( $\pm$  6 cm) on the mid-catchment site, and a mean of 10.1 cm ( $\pm$  5 cm) on the upper-catchment  
297 site (Table 1).

## 298 Isotope niche inference

299 Stable isotope values varied considerably between taxa and locations (Fig. 2). At the mid-catchment site,  
300 macroinvertebrate  $\delta^{13}\text{C}$  varied between -28 and -20.3 ‰, and  $\delta^{15}\text{N}$  between 1.02 and 6.59 ‰.  
301 Macroinvertebrate  $\delta^{34}\text{S}$  was less variable, ranging between 1.83 and 6.05 ‰. In this site, fish showed a  
302 larger isotopic range than macroinvertebrates, ranging  $\delta^{13}\text{C}$  between -31.4 and -17.6 ‰,  $\delta^{15}\text{N}$  between 5.6  
303 and 15.6 ‰, and  $\delta^{34}\text{S}$  between 1.97 and 10.6 ‰. At the upper-catchment site, macroinvertebrate  $\delta^{13}\text{C}$   
304 varied between -33.8 and -20.2,  $\delta^{15}\text{N}$  between 0.37 and 5.38, and  $\delta^{34}\text{S}$  between 0.53 and 8.63 ‰. Here  
305 fish also showed a larger isotopic range than macroinvertebrates, ranging from  $\delta^{13}\text{C}$  varied between -30.9  
306 and -20.2,  $\delta^{15}\text{N}$  between 5.57 and 13.8 ‰, and  $\delta^{34}\text{S}$  between 3.59 and 9.8 ‰.  
307

308 Multivariate comparisons of  $\delta^{13}\text{C}$ ,  $\delta^{15}\text{N}$  and  $\delta^{34}\text{S}$  between sampling locations (mid- and upper catchment)  
309 and salmonid species (Chinook salmon, brown trout and rainbow trout) showed significant effects on the  
310 f both factors (Location: Pseudo  $F_{1,134} = 76.9$ ,  $P < 0.0001$ ; Species: (Location: Pseudo  $F_{1,134} = 76.9$ ,  $P <$   
311  $0.0001$ ; Species: Pseudo  $F_{2,134} = 9.8$ ,  $P < 0.0001$ ). The Location x species interaction (Pseudo  $F_{2,134} = 4.4$ ,  
312  $P = 0.0009$ ), indicating simultaneous isotopic differences between species and between the mid- and  
313 upper-catchment of the Toltén River. Post-hoc tests (Table 2) showed significant differences among all  
314 pairwise comparisons involving all three salmonids in the mid-catchment site (all  $P \leq 0.002$ ). At the  
315 upper-catchment site, the three species were largely similar isotopically, except for Chinook salmon and  
316 brown trout ( $P = 0.0006$ ).  
317

318 Isotopic niches ( $\delta^{13}\text{C}$ ,  $\delta^{15}\text{N}$ , and  $\delta^{34}\text{S}$ ) were estimated for the species at mid- and -upper-catchment sites  
319 (Fig. 3). Brown trout showed the largest isotopic niche of all species at the upper-catchment site (mid-  
320 catchment: 51.56 ‰; upper-catchment: 87.91 ‰). In both catchment sites, the brown trout niche was  
321 bigger than both rainbow trout (mid-catchment: 61.39 ‰; upper-catchment: 67.95 ‰) and Chinook  
322 salmon (mid-catchment: 44.67 ‰; upper-catchment: 52.63 ‰) isotopic niches. In the mid-catchment  
323 (Fig 7), both Chinook salmon and rainbow trout showed ellipses of similar sizes (44.67 ‰<sup>2</sup> and 61.39 ‰<sup>2</sup>,  
324 respectively) and a high overlap, especially for the  $\delta^{15}\text{N}/\delta^{34}\text{S}$  niche (Figs. 3 and 4). Isotopic ellipses of  
325 native fish were often smaller than ellipses for any salmonid species (Fig. 3) whereas niche of native  
326 fishes (mid-catchment: 51.56 ‰<sup>2</sup>) and salmonids from the mid-catchment site showed significant overlap  
327 (Fig. 4). Among salmonids, the highest overlap was between brown trout and both Chinook salmon and  
328 rainbow trout, ranging from 5% (Chinook salmon over brown trout) to 80% (brown trout over rainbow  
329 trout). When comparing salmonids and native fishes from the mid-catchment site (Fig 4a), high overlap  
330 values between native fishes and rainbow trout (~60%) and between native fishes and brown trout (~85%)  
331 were observed. In the upper-catchment site, all three salmonids showed more overlapped ellipses for all  
332 combinations of  $\delta^{13}\text{C}$ ,  $\delta^{15}\text{N}$ , and  $\delta^{34}\text{S}$ . We found more similar values in the overlap estimations among  
333 species within the upper-catchment site, ranging in general between a mean of 30% (Chinook salmon  
334 over brown trout) to 80% (rainbow trout over brown trout) overlap (Fig 4b).

## 335 Stomach content analysis

336 The qualitative stomach content analysis revealed that aquatic insects, followed by crustaceans, were the  
337 main prey of all salmonids (Fig 5). Chinook salmon stomach content was almost exclusively insects,  
338 whereas rainbow trout and brown trout stomach contents were fish, Perciformes (natives), and  
339 Salmoniformes. The highest number of crustacean prey items were found in brown trout stomach  
340 contents. The NMDS ordinations indicated that the stomach content of all three salmonid species was  
341 generally similar, with no obvious differences in prey types consumed (Fig 6).  
342

343 The two-way PERMANOVA examining the influence of Species and Location on variation in SCA data  
344 (square-root transformed percentage abundance) and the interaction between the two terms showed

345 significant effects of both main factors ( $P < 0.0001$  in both cases) but no significant effect of their  
346 interaction (Pseudo  $F_{2,38} = 1.87$ ,  $P = 0.08$ ). As such, the PERMANOVA was re-run (Table 5), without the  
347 interaction term, indicating that Species (Pseudo  $F_{2,38} = 6.63$ ,  $P = 0.0001$ ) had a stronger influence than  
348 Location (Pseudo  $F_{1,38} = 2.72$ ,  $P = 0.03$ ). A post-hoc test showed significant differences in the diet of each  
349 of the three salmonid species (Chinook salmon vs rainbow trout:  $t_{62} = 3.13$ ,  $P = 0.0001$ ; Chinook salmon  
350 vs brown trout:  $t_{62} = 3.06$ ,  $P = 0.0001$ ; brown trout vs rainbow trout:  $t_{62} = 1.67$ ,  $P = 0.029$ ). The SIMPER  
351 analysis indicated that the mean dissimilarity between Chinook salmon and rainbow trout was 64.5, and  
352 that Chinook salmon consumed relatively more Coleoptera and Diptera than rainbow trout, while rainbow  
353 trout consumed more Ephemeroptera and Plecoptera (Supplementary table 1). The same analysis between  
354 Chinook salmon and brown trout had a mean dissimilarity of 68.7, largely driven by increased relative  
355 consumption of Coleoptera, Diptera, and Trichoptera by Chinook salmon compared to brown trout which  
356 consumed relatively more Plecoptera. SIMPER indicated that differences in the consumption patterns  
357 between brown and rainbow trout were slightly less marked (dissimilarity = 62.1), with the differences  
358 driven by increased relative consumption by brown trout of Plecoptera, Trichoptera, and Coleoptera, and  
359 increased consumption of Ephemeroptera and Diptera by rainbow trout (Supplementary table 2). The  
360 overall consumption of salmonid fishes between the two sampling locations using SIMPER indicated that  
361 fish from the two sampling locations had a mean dissimilarity of 65.3, and that fish from the mid-  
362 catchment site consumed relatively more Plecoptera, Diptera, and Coleoptera than fish from the upper-  
363 catchment site, which consumed more Ephemeroptera and Trichoptera.

### 364 **Ontogenetic dietary shifts**

365 GAM analysis revealed that rainbow trout  $\delta^{13}\text{C}$ ,  $\delta^{15}\text{N}$ , and  $\delta^{34}\text{S}$  values from both sampling locations were  
366 negatively, and non-linearly related to individual length, consistent with an isotopic shift as total length of  
367 ca. 5 cm (Figs 7 and 8). The  $\delta^{13}\text{C}$ ,  $\delta^{15}\text{N}$ , and  $\delta^{34}\text{S}$  enriched values seen in these small-bodied rainbow trout  
368 were higher than expected for non-anadromous individuals. There was no evidence for size-based isotopic  
369 shifts in brown trout or Chinook salmon (Supplementary table 1). Chinook salmon only included a  
370 narrow range of sizes (all fish were juveniles) likely limiting the likelihood of distinguishing such shifts.  
371

### 372 **Discussion**

373 In this work, we addressed two main goals regarding how invasive salmonids compete with and prey on  
374 endangered native fishes as part of Chile's freshwater communities (Arismendi et al., 2009; Habit et al.,  
375 2010, 2015). First, we evaluated the degree of isotopic niche overlap between freshwater stages of resident  
376 (i.e., rainbow trout & brown trout) and anadromous (i.e., Chinook salmon) salmonid species and native  
377 fishes, analyzing  $\delta^{13}\text{C}$ ,  $\delta^{15}\text{N}$ , and  $\delta^{34}\text{S}$  muscle isotopic values of 139 salmonids, 54 aquatic  
378 macroinvertebrates, and seven native fishes. We also used stomach content analysis of a subsample of  
379 102 salmonids to further evaluate its trophic preferences. Second, we evaluated salmonid ontogenetic  
380 dietary shifts (trophic scaling with size) using stable isotopes, where we found some unexpected results  
381 that bring us information about underlying processes co-occurring with the expected trophic scaling.

### 382 **Isotope niche inference**

383 As a proxy of trophic niche, isotopic niche shows that brown trout have a significantly larger feeding  
384 spectrum than rainbow trout, Chinook salmon, and native fishes (Fig 3). The large isotopic niche of  
385 brown trout may result from the wide variety of feeding strategies that this species presents for different  
386 environments within a single population (Bridcut & Giller, 1995; Giller & Greenberg, 2015). For  
387 instance, brown trout could present a pattern of individual specialization (McCarthy & Waldron, 2000;  
388 Bolnick et al., 2003), where individual behavior explains intrapopulation variation in the diet and isotopic

389 signature (Bryan & Larkin, 1972; Brodersen et al., 2012). We failed to test the degree of specialization  
390 of brown trout present in Toltén River as this is beyond the scope of the present study. A larger sample size  
391 would be needed to elucidate if there is a pattern of individual specialization in the populations, sampling  
392 the widest variety of microhabitats present within each sampling location.

393  
394 Anadromous Chinook salmon showed a narrower isotopic niche than the potamodromous trout in the  
395 Toltén River (Fig 3). Chinook salmon commonly stay less than a year in the Toltén River before  
396 migrating to sea (Gomez-Uchida et al., 2016). Stomach content analysis also showed that Chinook  
397 salmon consumed fewer items than rainbow trout or brown trout, being almost exclusively insectivorous  
398 (Fig 5). Chinook salmon analyzed in this study ranged from 5 to 9 cm in total length. This bias in the size  
399 of the samples was driven by three main factors: (i) spawning date of Chinook salmon, the difficult-to-  
400 catch out-migrating individuals, and the fishing gear we used. In the Toltén River, the reproduction of  
401 Chinook salmon occurs between austral summer and fall, giving us a wide window of potential spawning  
402 time. The abundance and availability of recent hatching individuals tend to bias the length of the samples  
403 to small fish, especially when using electro-fishing gear. The difficulty of catching out-migrating Chinook  
404 salmon is directly related to our fishing gear. The out-migrating individuals tend to have about 10 months  
405 to a year in austral summer when the environmental condition allows us to sample the tributaries of the  
406 Toltén River. At this age, these individuals are starting their travel to the ocean, and even in the river, they  
407 are not fully available for the electro-fishing and rod fishing gear (Gomez-Uchida et al., 2016). To sample  
408 the entire size structure of Chinook salmon in the Toltén River, a combination of methods is  
409 recommended; the use of electro-fishing for small sizes and the rotary screw traps for out-migrating  
410 individuals could highly improve the size spectrum of Chinook salmon and other fish. The bias in the size  
411 structure of sampled Chinook salmon could bias the niche size estimation and deprive our study of  
412 making further extrapolations over the implication of the niche overlap between Chinook salmon from all  
413 ages present in the river and native fish. Small fish tend to eat smaller prey (Gaeta et al., 2018), and the  
414 diet of small Chinook salmon was mainly based on insects, acting as potential competitors for the native  
415 fish. On the other hand, there is plenty of evidence showing that Chinook salmon could become  
416 piscivorous at a larger size, even in Chile's freshwater ecosystems (Ortiz-Sandoval et al., 2015). For those  
417 reasons, further study has to be conducted using complementary fishing gear in order to ensure to capture  
418 the entire size spectrum of this species.

### 419 **Stomach content analysis**

420 The qualitative stomach content analysis revealed that the main preys of freshwater salmonids in Toltén  
421 River were aquatic insects, followed by crustaceans (Fig 5). This is consistent with previous studies found  
422 for salmonids in freshwaters at early stages (Palma et al., 2002; Buria et al., 2009; Ibarra et al., 2011;  
423 Arismendi et al., 2012; Bravo et al., 2021). Chinook salmon stomach content was almost exclusively  
424 insects, probably due to its small size. Rainbow trout and brown trout stomach content included a small  
425 number of Centrarchiformes (natives) and Salmoniformes fish. The NMDS ordination indicated that the  
426 stomach content of all three salmonid species was similar, with no obvious differences in prey types  
427 consumed due to the high abundance of aquatic insects in the three salmonids (Fig 6). When evaluating  
428 the influence of species and location, and their interaction, on variation in SCA data we found significant  
429 differences among species and between locations, but no significant differences were found in the  
430 interactions of species and locations. Stronger differences were found among species than between  
431 locations. Among species, the significant differences were driven mainly by the differential abundance in  
432 Coleoptera, Diptera, Ephemeroptera, and Plecoptera, and the presence of fish in the stomach content  
433 (Supplementary table 1). Those differences in the stomach content could reflect differences in size and  
434 life stages. Chinook salmon samples came from individuals smaller on average than the samples from  
435 rainbow trout and brown trout. The size-related diet pattern is widely demonstrated in fish, and in  
436 salmonids specifically (Scharf, Juanes & Rountree, 2000; Arismendi et al., 2012; Ortiz-Sandoval et al.,

437 [2015; Gaeta et al., 2018](#)). The spatial differences found in this study could be driven by the river altitude,  
438 the differential presence of human settlement, and land use. Mid-catchment site was located close to  
439 Melipeuco city, an area more exposed to human-driven nutrients and perturbations than the upper-  
440 catchment site. Those factors could modify could modulate the fauna present in the river diversity and  
441 functional groups of aquatic macroinvertebrates ([Karouna-Renier & Sparling, 2001](#); [Fierro et al., 2015](#),  
442 [2017](#)). We do not delve further into the spatial differences because were out of the scope of this study.

### 443 **Ontogenetic dietary shifts**

444 We evaluated the shift in isotopic values along with the fish length (Figs 7 and 8). Literature supports an  
445 ontogenetic shift in the non-native trout diet from small invertebrate feeders towards piscivory and the  
446 appearance of larger prey as individuals increase in body size ([Arismendi et al., 2012](#)). We expected  
447 Chinook salmon to show the most significant change due to its anadromous behavior. Unfortunately, the  
448 individual length of the Chinook samples on our dataset doesn't allow us to explore the pattern further.  
449 Conversely, the length distribution of rainbow trout and brown trout captured allowed us to examine the  
450 change in isotopic values over their growth. Brown trout showed a shift in the values on  $\delta^{15}\text{N}$  coherent  
451 with the progressive loss of the maternal signal and the beginning of its predatory behavior. The highest  
452 values of  $\delta^{15}\text{N}$  showed two peaks, the first due to the maternal signal observed in fish with size under 15  
453 cm, and the second peak of about the same height as the first in fish over 20 cm. There is no similar  
454 pattern in brown trout for  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{34}\text{S}$ , suggesting that the energy source for the largest individual and  
455 the maternal signal (inferred from the smallest individuals) could be the same. In the case of rainbow  
456 trout, we found one high peak followed by a decaying pattern for size and all three isotopic values  $\delta^{13}\text{C}$ ,  
457  $\delta^{15}\text{N}$ , and  $\delta^{34}\text{S}$  consistently. These decaying patterns show the progressive dilution (or loss) of the  
458 maternal isotopic signal until about 10 cm, followed by a small increment passing through the 10 cm. In  
459 contrast to what we found in the brown trout, the pattern in rainbow trout suggests that the energy source  
460 for the largest individual and the maternal signal (inferred from the smallest individuals) were different.  
461 Here we present our hypothesis about the causes of this pattern.

462  
463 Our first hypothesis is that the freshwater environment is enriched for a certain period of time due to the  
464 adjacent land uses. The lands adjacent to the Toltén River were mainly used for small-scale agriculture  
465 and livestock that directly interacted with the freshwater ecosystem and small towns and villages. There is  
466 evidence that land use can incidentally influence the chemical composition of adjacent freshwater  
467 ecosystems ([Peierls et al., 1991](#); [Richards, Johnson & Host, 1996](#)).

468  
469 Our second hypothesis is that the maternal signal from resident trout was enriched with marine-derived  
470 nutrients. This can be possible due to the presence of anadromous Chinook salmon in the Toltén River  
471 transporting marine nutrients from marine to freshwater environments when its reproductive migration  
472 occurs ([Arismendi & Soto, 2012](#); [Muñoz et al., 2021, 2022](#)). Rainbow trout could feed on marine-  
473 enriched environments or directly predate Chinook salmon's juveniles or eggs, as was shown by  
474 [Figueroa-Muñoz et al. \(2022\)](#). This new interaction could enrich the isotopic signal of the freshwater  
475 community and explain the unusual pattern presented in rainbow trout's GAM (Figs 7 and 8).

476  
477 Our third hypothesis is that a proportion of the rainbow trout population from the Toltén River has an  
478 anadromous life cycle. It is known that rainbow trout is plastic in terms of life-history traits, there are two  
479 ecotypes. There are populations of resident trouts, anadromous trout (also known as steelhead due to their  
480 phenotypical differences from the resident ones), or a mixture of both ecotypes ([Kendall et al., 2015](#)). In  
481 the Toltén River, there is no previous evidence of anadromous rainbow trout. Nevertheless, [Pascual et al.](#)  
482 [\(2001\)](#) described the presence of anadromous rainbow trout in Argentinian Patagonia, and further studies  
483 have been made to evaluate the implications of the presence of anadromous rainbow trout populations  
484 ([Ciancio et al., 2008](#); [Ciancio, Beauchamp & Pascual, 2010](#)).

485  
486 We were unable to test which of these hypotheses could be correct because a specific sampling design is  
487 needed. Still, we suggest that it can be interesting to study the mechanism behind the pattern shown by  
488 rainbow trouts and its implications for the native fauna of the Toltén River.  
489

### 490 **Conclusions**

491 In this study, we addressed two main goals regarding how naturalized salmonids compete with and prey  
492 on endangered native fishes as part of Chile's freshwater communities. First, we evaluated the degree of  
493 overlap in the isotopic niche between freshwater stages of salmonids, both resident (i.e., rainbow trout  
494 and brown trout) and anadromous (i.e., Chinook salmon), and native fish. We examine the hypothesis that  
495 life history differences among salmonids will be reflected in terms of isotopic values, isotopic niche, and  
496 stomach content variation among salmonids. Isotopic and stomach content analysis showed that resident  
497 trout present a more diverse diet and larger niche than Chinook salmon and native fish. This suggests  
498 different levels of impact as competitors and predators depending on the salmonid species.  
499

500 We examine the hypothesis that salmonids will show ontogenetic dietary shifts in  $\delta^{13}\text{C}$ ,  $\delta^{15}\text{N}$ , and  $\delta^{34}\text{S}$   
501 isotopic values with size due to the change in diet related to its size. Unfortunately, the individual length  
502 of the Chinook samples on our dataset doesn't allow us to explore the pattern further. Brown trout  
503 showed a shift in the values on  $\delta^{15}\text{N}$  coherent with the progressive loss of the maternal signal and the  
504 beginning of its predatory behavior. There is no similar pattern in brown trout for  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{34}\text{S}$ ,  
505 suggesting that the energy source for the largest individual and the maternal signal remains the same. In  
506 contrast to what we found in the brown trout, the pattern in rainbow trout suggests that the energy source  
507 for the largest individual and the maternal signal were different. Here we present three hypotheses about  
508 the causes of this pattern: a seasonal enrichment of freshwater environment is enriched due to the adjacent  
509 land uses; maternal signal from resident trout was enriched with marine-derived nutrients from  
510 anadromous Chinook salmon; or a proportion of the rainbow trout population from the Toltén River has  
511 an anadromous life cycle. We were unable to test these hypotheses because a specific sampling design is  
512 needed. Still, we suggest that it can be interesting to study the mechanism behind the pattern shown by  
513 rainbow trouts and its implications for the native fauna of the Toltén River.  
514

515 Further research is still needed to understand the effects of invasive salmonids on the invaded ecosystem  
516 and diversity through its complex life cycle. All three salmonid species in this study show to have not the  
517 same diet and isotopic niche, potentially producing a differential detrimental effect on the local freshwater  
518 community. Salmonid species have highly plastic life history traits that can produce a large variation in  
519 their interactions with the native fauna in freshwater ecosystems.  
520

### 521 **Acknowledgements**

522 We are indebted to Felipe Docmac and Pablo Pérez for their contribution on the sample  
523 management at Universidad de Antofagasta Stable Isotope Facility (UASIF).  
524

525

526

527

527 **References**

- 528 Anderson MJ, Gorley RN, Clarke RK. 2008. *Permanova+ for Primer : guide to software and statisticl*  
529 *methods*.
- 530 Arismendi I, Gonzalez J, Soto D, Penaluna B. 2012. Piscivory and diet overlap between two non-native  
531 fishes in southern Chilean streams. *Austral Ecology* 37:346–354.
- 532 Arismendi I, Penaluna B. 2009. *Peces nativos en aguas continentales del Sur de Chile / Native inland*  
533 *fishes of Southern Chile*. Valdivia, Chile: Imprenta América Ltda.
- 534 Arismendi I, Soto D. 2012. Are salmon-derived nutrients being incorporated in food webs of invaded  
535 streams? Evidence from southern Chile. *Knowledge and Management of Aquatic Ecosystems*:01–01.  
536 DOI: 10.1051/kmae/2012009.
- 537 Arismendi I, Soto D, Penaluna B, Jara C, Leal C, León-Muñoz J. 2009. Aquaculture, non-native salmonid  
538 invasions and associated declines of native fishes in Northern Patagonian lakes. *Freshwater Biology*  
539 54:1135–1147. DOI: 10.1111/j.1365-2427.2008.02157.x.
- 540 Basulto S. 2003. *El largo viaje de los salmones: Una crónica olvidada: propagación y cultivo de especies*  
541 *acuáticas en Chile*. Santiago, Chile: Editorial Marval, Ltda.
- 542 Berrios P, Ruiz VH, Figueroa R, Araya E, Palma A. 2002. Hábitos Alimentarios de Salmo trutta (Linneo,  
543 1758) y Oncorhynchus mykiss (Walbaum, 1792), en el Río Chillán (Chile). *Boletín de la Sociedad de*  
544 *Biología de Concepción* 73:103–114.
- 545 Blackburn TM, Pyšek P, Bacher S, Carlton JT, Duncan RP, Jarošík V, Wilson JRU, Richardson DM. 2011.  
546 A proposed unified framework for biological invasions. *Trends in Ecology & Evolution* 26:333–339.  
547 DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tree.2011.03.023>.
- 548 Boecklen WJ, Yarnes CT, Cook BA, James AC. 2011. On the Use of Stable Isotopes in Trophic Ecology.  
549 *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 42:411–440. DOI: 10.1146/annurev-ecolsys-  
550 102209-144726.
- 551 Bolnick DI, Svanbäck R, Fordyce JA, Yang LH, Davis JM, Hulsey CD, Forister ML. 2003. The ecology of  
552 individuals: incidence and implications of individual specialization. *The American Naturalist* 161:1–28.

- 553 Bravo S, Whelan K, Silva MT, Bravo S, Whelan K, Silva MT. 2021. Assessment of trout populations  
554 inhabiting the Palena River, southern Chile. *Latin american journal of aquatic research* 49:29–39. DOI:  
555 10.3856/vol49-issue1-fulltext-2577.
- 556 Bridcut EE, Giller PS. 1995. Diet variability and foraging strategies in brown trout (*Salmo trutta*): an  
557 analysis from subpopulations to individuals. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*  
558 52:2543–2552. DOI: 10.1139/f95-845.
- 559 Brodersen J, Malmquist HJ, Landkildehus F, Lauridsen TL, Amsinck SL, Bjerring R, Søndergaard M,  
560 Johansson LS, Christoffersen KS, Jeppesen E. 2012. Short-and long term niche segregation and  
561 individual specialization of brown trout (*Salmo trutta*) in species poor Faroese lakes. *Environmental*  
562 *Biology of Fishes* 93:305–318. DOI: 10.1007/s10641-011-9914-z.
- 563 Broughton R. 2019. Current and future impacts of nest predation and nest-site competition by invasive  
564 eastern grey squirrels *Sciurus carolinensis* on European birds. *Mammal Review* 50. DOI:  
565 10.1111/mam.12174.
- 566 Bryan JE, Larkin PA. 1972. Food Specialization By Individual Trout. *Journal of the Fisheries Research*  
567 *Board of Canada* 29:1615–1624. DOI: 10.1139/f72-248.
- 568 Buckland A, Baker R, Loneragan N, Sheaves M. 2017. Standardising fish stomach content analysis: The  
569 importance of prey condition. *Fisheries Research* 196:126–140. DOI:  
570 <https://doi.org/10.1016/j.fishres.2017.08.003>.
- 571 Buria LM, Albariño RJ, Modenutti BE, Balseiro EG. 2009. Variación temporal en la dieta de la trucha  
572 exótica arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) en un arroyo forestado de los Andes patagónicos. *Revista*  
573 *chilena de historia natural* 82:3–15. DOI: 10.4067/S0716-078X2009000100001.
- 574 Ciancio J, Beauchamp DA, Pascual M. 2010. Marine effect of introduced salmonids: Prey consumption by  
575 exotic steelhead and anadromous brown trout in the Patagonian Continental Shelf. *Limnology and*  
576 *Oceanography* 55:2181–2192. DOI: 10.4319/lo.2010.55.5.2181.



- 577 [Ciancio JE, Pascual MA, Botto F, Frere E, Iribarne O. 2008. Trophic relationships of exotic anadromous](#)  
578 [salmonids in the southern Patagonian Shelf as inferred from stable isotopes. \*Limnology and\*](#)  
579 [Oceanography](#) 53:788–798. DOI: 10.4319/lo.2008.53.2.0788.
- 580 [Colautti RI, MacIsaac HJ. 2004. A neutral terminology to define “invasive” species. \*Diversity and\*](#)  
581 [Distributions](#) 10:135–141. DOI: 10.1111/j.1366-9516.2004.00061.x.
- 582 [Collado G, Méndez M, Letelier S, Veliz D, Sabando M. 2011. Morfología peniana y taxonomía del género](#)  
583 [Heleobia Stimpson, 1865 en Chile junto a una revisión de los ejemplares tipo del Museo Nacional de](#)  
584 [Historia Natural de Chile. \*Amici Molluscarum\*:49–58.](#)
- 585 [Correa C, Gross MR. 2008. Chinook salmon invade southern South America. \*Biological Invasions\* 10:615–](#)  
586 [639. DOI: 10.1007/s10530-007-9157-2.](#)
- 587 [David P, Thébault E, Anneville O, Duyck P-F, Chapuis E, Loeuille N. 2017. Chapter One - Impacts of](#)  
588 [Invasive Species on Food Webs: A Review of Empirical Data. In: Bohan DA, Dumbrell AJ, Massol F](#)  
589 [eds. \*Advances in Ecological Research\*. Networks of Invasion: A Synthesis of Concepts. Academic Press,](#)  
590 [1–60. DOI: 10.1016/bs.aecr.2016.10.001.](#)
- 591 [Domínguez E, Molineri C, Nieto C. 2009. \*Macroinvertebrados bentónicos Sudamericanos. Sistemática y\*](#)  
592 [Biología.](#)
- 593 [Domínguez E, Molineri C, Pescador ML, Hubbard MD, Nieto C. 2006. Ephemeroptera of South America.](#)  
594 [In: Adis J, Arias JR, Wantzen MK, Rueda-Delgado G eds. \*Aquatic Biodiversity of Latin America \(ABLA\)\*.](#)  
595 [Moscú, Rusia: Pensoft Publishers..](#)
- 596 [Fierro P, Bertrán C, Mercado M, Peña-Cortés F, Tapia J, Hauenstein E, Caputo L, Vargas-Chacoff L. 2015.](#)  
597 [Landscape composition as a determinant of diversity and functional feeding groups of aquatic](#)  
598 [macroinvertebrates in southern rivers of the Araucanía, Chile. \*Latin American Journal of Aquatic\*](#)  
599 [Research](#) 43:186–200. DOI: 10.3856/vol43-issue1-fulltext-16.
- 600 [Fierro P, Bertrán C, Tapia J, Hauenstein E, Peña-Cortés F, Vergara C, Cerna C, Vargas-Chacoff L. 2017.](#)  
601 [Effects of local land-use on riparian vegetation, water quality, and the functional organization of](#)

- 602 macroinvertebrate assemblages. *Science of The Total Environment* 609:724–734. DOI:  
603 10.1016/j.scitotenv.2017.07.197.
- 604 Figueroa-Muñoz G, Arismendi I, Urzúa Á, Guzmán-Rivas F, Fierro P, Gomez-Uchida D. 2022.  
605 Consumption of marine-derived nutrients from invasive Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*)  
606 transfer  $\omega$ -3 highly unsaturated fatty acids to invasive resident rainbow trout (*O. mykiss*). *Science of The*  
607 *Total Environment* 844:157077. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2022.157077.
- 608 Froese R, Pauly D. 2022. Family Salmonidae - Salmonids. Available at  
609 [https://www.fishbase.se/summary/FamilySummary.php?ID=76#famList\\_tab](https://www.fishbase.se/summary/FamilySummary.php?ID=76#famList_tab) (accessed November 2,  
610 2022).
- 611 Gaeta JW, Ahrenstorff TD, Diana JS, Fetzer WW, Jones TS, Lawson ZJ, McInerney MC, Jr VJS, Zanden  
612 MJV. 2018. Go big or ... don't? A field-based diet evaluation of freshwater piscivore and prey fish size  
613 relationships. *PLOS ONE* 13:e0194092. DOI: 10.1371/journal.pone.0194092.
- 614 Gallardo B, Clavero M, Sanchez MI, Vila M. 2016. Global ecological impacts of invasive species in  
615 aquatic ecosystems. *Glob Chang Biol* 22:151–63. DOI: 10.1111/gcb.13004.
- 616 Giller P, Greenberg L. 2015. The relationship between individual habitat use and diet in brown trout.  
617 *Freshwater Biology* 60:256–266. DOI: 10.1111/fw.12472.
- 618 Gomez-Uchida D, Ernst B, Aedo G, Canales-Aguirre CB, Ferrada S, Musleh SS, Rivara PE, Santelices A.  
619 2016. *Informe Final FIP 2014-87: Estudio biológico pesquero y sanitario de la población de Salmón*  
620 *Chinook en la cuenca del Rio Toltén*. [http://www.subpesca.cl/fipa/613/articles-89445\\_informe\\_final.pdf](http://www.subpesca.cl/fipa/613/articles-89445_informe_final.pdf).
- 621 Subsecretaría de Pesca y Acuicultura; Fondo de Investigación Pesquera y Acuicultura.
- 622 Habit E, Dyer B, Vila I. 2006. Estado de conocimiento de los peces dulceacuícolas de Chile. *Gayana*  
623 *(Concepción)* 70:100–113.
- 624 Habit E, González J, Ortiz-Sandoval J, Elgueta A, Sobenes C. 2015. Efectos de la invasión de salmónidos  
625 en ríos y lagos de Chile. *Ecosistemas* 24:43–51. DOI: 10.7818/ECOS.2015.24-1.08.

- 626 [Habit E, Piedra P, Ruzzante DE, Walde SJ, Belk MC, Cussac V ctor E, Gonzalez J, Colin N. 2010.](#)  
627 [Changes in the distribution of native fishes in response to introduced species and other anthropogenic](#)  
628 [effects. \*Global Ecology and Biogeography\* 19:697–710. DOI: 10.1111/j.1466-8238.2010.00541.x.](#)
- 629 [Harrod C, Stallings CD. 2021. Trophodynamics. In: S. Midway, C. Hasler, P. Chakrabarty eds. \*Methods in\*](#)  
630 [Fish Biology](#). Bethesda, MD: American Fisheries Society.
- 631 [Heinis JJ. 2012. Review of Biological Invasions: Economic and Environmental Costs of Alien Plant,](#)  
632 [Animal, and Microbe Species. \*Journal of Agricultural & Food Information\* 13:202–203. DOI:](#)  
633 [10.1080/10496505.2012.667689.](#)
- 634 [Ibarra J, Habit E, Barra R, Solis K. 2011. Chinook salmon juveniles \(\*Oncorhynchus tshawytscha\* Walbaum,](#)  
635 [1792\) in rivers and lakes of the Chilean patagonia. \*Gayana\* 75:17–25.](#)
- 636 [Ivan Arismendi, Brooke E. Penaluna, Daniel Gomez-Uchida, Cecilia Di Prinzio, Douglas Rodríguez-](#)  
637 [Olarte, Fernando M. Carvajal-Vallejos, José Iván Mojica, Rosana Mazzoni, Victor Cussac, Mabel](#)  
638 [Maldonado, Erica Pellegrini Caramaschi, América J. Zeballos, Andrea Villalba, Paul A. Van Damme,](#)  
639 [Leslie Córdova, Ricardo Iglesias-Rios, Diego Cañas-Rojas, Mauricio Cañas-Merino, Javiera N.](#)  
640 [Benavente, Mónica Núñez-Flores, Selim S. Musleh, Pablo Savaria. 2019. Trout and Char of South](#)  
641 [America. In: Jeffrey L. Kershner, Jack E. Williams, Gresswell RE, Lobón-Cerviá J eds. \*Trout and Char\*](#)  
642 [of the World](#). Bethesda: American Fisheries Society, 777.
- 643 [Karouna-Renier NK, Sparling DW. 2001. Relationships between ambient geochemistry, watershed land-](#)  
644 [use and trace metal concentrations in aquatic invertebrates living in stormwater treatment ponds.](#)  
645 [Environmental Pollution 112:183–192. DOI: 10.1016/S0269-7491\(00\)00119-6.](#)
- 646 [Kendall NW, McMillan JR, Sloat MR, Buehrens TW, Quinn TP, Pess GR, Kuzishchin KV, McClure MM,](#)  
647 [Zabel RW. 2015. Anadromy and residency in steelhead and rainbow trout \(\*Oncorhynchus mykiss\*\): a](#)  
648 [review of the processes and patterns. \*Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences\* 72:319–342.](#)  
649 [DOI: 10.1139/cjfas-2014-0192.](#)

- 650 [Kiljunen M, Grey J, Sinisalo T, Harrod C, Immonen H, Jones RI. 2006. A revised model for lipid-](#)  
651 [normalizing  \$\delta^{13}\text{C}\$  values from aquatic organisms, with implications for isotope mixing models. \*Journal of\*](#)  
652 [Applied Ecology](#) 43:1213–1222. DOI: 10.1111/j.1365-2664.2006.01224.x.
- 653 [Lowe S, Browne M, Boudjelas S, De Poorter M. 2000. \*100 of the World's Worst Invasive Alien Species: A\*](#)  
654 [selection from the Global Invasive Species Database. Auckland, Australia: The Invasive Species](#)  
655 [Specialist Group \(ISSG\) is a specialist group of the Species Survival Commission \(SSC\) of World](#)  
656 [Conservation Union \(IUCN\).](#)
- 657 [Lowry E, Rollinson EJ, Laybourn AJ, Scott TE, Aiello-Lammens ME, Gray SM, Mickley J, Gurevitch J.](#)  
658 [2013. Biological invasions: a field synopsis, systematic review, and database of the literature. \*Ecology\*](#)  
659 [and \*Evolution\* 3:182–196. DOI: 10.1002/ece3.431.](#)
- 660 [Lysy M, Stasko AD, Swanson HK. 2021. nicheROVER: Niche Region and Niche Overlap Metrics for](#)  
661 [Multidimensional Ecological Niches.](#)
- 662 [MacDonald A, Ruxton I. 2017. \*Trout Fishing in Chilean Rivers: A Concise Survey\*. Lulu.com.](#)
- 663 [McCarthy ID, Waldron S. 2000. Identifying migratory \*Salmo trutta\* using carbon and nitrogen stable](#)  
664 [isotope ratios. \*Rapid Communications in Mass Spectrometry\* 14:1325–1331. DOI: 10.1002/1097-](#)  
665 [0231\(20000815\)14:15<1325::AID-RCM980>3.0.CO;2-A.](#)
- 666 [Meyerson LA, Mooney HA. 2007. Invasive Alien Species in an Era of Globalization. \*Frontiers in Ecology\*](#)  
667 [and the \*Environment\* 5:199–208.](#)
- 668 [Mills MD, Rader RB, Belk MC. 2004. Complex interactions between native and invasive fish: the](#)  
669 [simultaneous effects of multiple negative interactions. \*Oecologia\* 141:713–721. DOI: 10.1007/s00442-](#)  
670 [004-1695-z.](#)
- 671 [Mollot G, Pantel JH, Romanuk TN. 2017. Chapter Two - The Effects of Invasive Species on the Decline in](#)  
672 [Species Richness: A Global Meta-Analysis. In: Bohan DA, Dumbrell AJ, Massol F eds. \*Advances in\*](#)  
673 [Ecological Research. Networks of Invasion: A Synthesis of Concepts. Academic Press, 61–83. DOI:](#)  
674 [10.1016/bs.aecr.2016.10.002.](#)

- 675 [Muñoz NJ, Reid B, Correa C, Madriz RI, Neff BD, Reynolds JD. 2022. Emergent trophic interactions](#)  
676 [following the Chinook salmon invasion of Patagonia. \*Ecosphere\* 13:e3910. DOI: 10.1002/ecs2.3910.](#)
- 677 [Muñoz NJ, Reid B, Correa C, Neff BD, Reynolds JD. 2021. Non-native Chinook salmon add nutrient](#)  
678 [subsidies and functional novelty to Patagonian streams. \*Freshwater Biology\* 66:495–508. DOI:](#)  
679 [10.1111/fwb.13655.](#)
- 680 [Murillo VH, Ruiz VH. 2002. El puye \*Galaxias globiceps\* Eigenmann 1927 \(osteichthyes: Galaxiidae\): ¿una](#)  
681 [especie en peligro de extinción? \*Gayana \(Concepción\)\* 66:191–197.](#)
- 682 [Niklitschek EJ, Toledo P. 2008. Evaluación cuantitativa de estado trófico de salmónidos de vida libre en el](#)  
683 [fiordo de Aysén, XI región. Informe final proyecto FIP 2008-30. Universidad Austral de Chile. 240 pp.](#)
- 684 [Oksanen J, Blanchet G, Kindt R, Legendre P, Minchin P, O'Hara RB, Simpson G, Solymos P, Stevens H,](#)  
685 [Wagner H. 2012. vegan: Community ecology package. R package version 2.0-4. \[http://cran.r-\]\(http://cran.r-project.org/web/packages/vegan/index.html\)](#)  
686 [project.org/web/packages/vegan/index.html.](#)
- 687 [Ortiz-Sandoval JJ. 2014. Interferencia trófica de salmónidos sobre peces ictiófagos nativos en lagos](#)  
688 [patagónicos de Chile. Concepción, Chile: Universidad de Concepción.](#)
- 689 [Ortiz-Sandoval JJ, Górski K, González-Díaz A, Habit E. 2015. Trophic scaling of \*Percichthys trucha\*](#)  
690 [\(\*Percichthyidae\*\) in monospecific and multispecific lakes in western Patagonia. \*Limnologia\* 53:50–59.](#)  
691 [DOI: 10.1016/j.limno.2015.05.006.](#)
- 692 [Palma A, Figueroa R, Ruiz VH, Araya E, Berríos P. 2002. Composición de la dieta de \*Oncorhynchus\*](#)  
693 [mykiss \(Walbaum 1792\) \(Pisces: Salmonidae\) en un sistema fluvial de baja intervención antrópica: Estero](#)  
694 [Nonguen, VIII Región, Chile. \*Gayana \(Concepción\)\* 66:129–139. DOI: 10.4067/10.4067/S0717-](#)  
695 [65382002000200007.](#)
- 696 [Pascual M, Bentzen P, Rossi CR, Mackey G, Kinnison MT, Walker R. 2001. First documented case of](#)  
697 [anadromy in a population of introduced rainbow trout in Patagonia, Argentina. \*Transactions of the\*](#)  
698 [American Fisheries Society](#) 130:53–67. DOI: 10.1577/1548-8659(2001)130<0053:fdcoai>2.0.co;2.
- 699 [Pascual MA, Cussac V, Dyer B, Soto D, Vigliano P, Ortubay S, Macchi P. 2007. Freshwater fishes of](#)  
700 [Patagonia in the 21st Century after a hundred years of human settlement, species introductions, and](#)

- 701 environmental change. *Aquatic Ecosystem Health & Management* 10:212–227. DOI:  
702 10.1080/14634980701351361.
- 703 Peierls BL, Caraco NF, Pace ML, Cole JJ. 1991. Human influence on river nitrogen. *Nature* 350:386–387.  
704 DOI: 10.1038/350386b0.
- 705 Pysek P, Richardson DM. 2010. Invasive Species, Environmental Change and Management, and Health. In:  
706 Gadgil A, Liverman DM eds. *Annual Review of Environment and Resources, Vol 35*. Annual Review of  
707 Environment and Resources. 25–55.
- 708 Quinn TP. 2018. *The behavior and ecology of Pacific salmon and trout*. University of Washington press.
- 709 R Core Team. 2022. R: A Language and Environment for Statistical Computing.
- 710 Richards C, Johnson LB, Host GE. 1996. Landscape-scale influences on stream habitats and biota.  
711 *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 53:295–311. DOI: 10.1139/f96-006.
- 712 Rivera Escobar LP. 2014. Caracterización biológica del salmón chinook (*Oncorhynchus tshawytscha*,  
713 walbaum, 1792), capturado en el Río Palena X Región de Chile. Tesis para Optar al Título de Ingeniero  
714 en Acuicultura. Universidad Austral de Chile.
- 715 Rojas P, Vila I, Habit E, Castro SA. 2019. Homogenization of the freshwater fish fauna of the  
716 biogeographic regions of Chile. *Global Ecology and Conservation* 19:e00658. DOI:  
717 10.1016/j.gecco.2019.e00658.
- 718 RStudio Team. 2022. RStudio: Integrated Development Environment for R.
- 719 Scharf FS, Juanes F, Rountree RA. 2000. Predator size - prey size relationships of marine fish predators:  
720 interspecific variation and effects of ontogeny and body size on trophic-niche breadth. *Marine Ecology*  
721 *Progress Series* 208:229–248.
- 722 Simberloff D. 2001. Biological invasions—how are they affecting us, and what can we do about them?  
723 *Western North American Naturalist* 61:308–315.
- 724 Soto D, Arismendi I, Di Prinzio C, Jara F. 2007. Establishment of Chinook salmon (*Oncorhynchus*  
725 tshawytscha) in Pacific basins of southern South America and its potential ecosystem implications.  
726 *Revista Chilena De Historia Natural* 80:81–98.

- 727 Soto D, Arismendi I, Gonzalez J, Sanzana J, Jara F, Jara C, Guzman E, Lara A. 2006. Southern Chile, trout  
728 and salmon country: invasion patterns and threats for native species. *Revista Chilena De Historia Natural*  
729 79:97–117.
- 730 Stachowicz JJ, Terwin JR, Whitlatch RB, Osman RW. 2002. Linking climate change and biological  
731 invasions: Ocean warming facilitates nonindigenous species invasions. *Proceedings of the National*  
732 *Academy of Sciences of the United States of America* 99:15497–500. DOI: 10.1073/pnas.242437499.
- 733 Stark BP, Froehlich C, Zuñiga MC. 2009. South American Stoneflies (Plecoptera). In: Adis J, Arias JR,  
734 Golovatch S, Wantzen MK, Rueda-Delgado G eds. *Aquatic Biodiversity of Latin America (ABLA)*,  
735 Moscú, Rusia: Pensoft Publishers.
- 736 Thomas SM, Crowther TW. 2015. Predicting rates of isotopic turnover across the animal kingdom: a  
737 synthesis of existing data. *Journal of Animal Ecology* 84:861–870. DOI: 10.1111/1365-2656.12326.
- 738 Townsend CR. 1996. Invasion biology and ecological impacts of brown trout *Salmo trutta* in New Zealand.  
739 *Biological Conservation* 78:13–22. DOI: 10.1016/0006-3207(96)00014-6.
- 740 Vargas PV, Arismendi I, Gomez-Uchida D. 2015. Evaluating taxonomic homogenization of freshwater fish  
741 assemblages in Chile. *Revista Chilena De Historia Natural* 88:16.
- 742 Vargas PV, Arismendi I, Lara G, Millar J, Peredo S. 2010. Evidence of microhabitat overlap between  
743 juvenile of introduced salmon *Oncorhynchus tshawytscha* and the native fish *Trichomycterus areolatus* in  
744 the Allipen River, Chile. *Revista De Biología Marina Y Oceanografía* 45:285–292.
- 745 Vinson MR, Angradi TR. 2011. Stomach Emptiness in Fishes: Sources of Variation and Study Design  
746 Implications. *Reviews in Fisheries Science* 19:63–73. DOI: 10.1080/10641262.2010.536856.
- 747 Vinson MR, Budy P. 2011. Sources of variability and comparability between salmonid stomach contents  
748 and isotopic analyses: study design lessons and recommendations. *Canadian Journal of Fisheries and*  
749 *Aquatic Sciences* 68:137–151. DOI: 10.1139/F10-117.
- 750 Walther G-R, Roques A, Hulme PE, Sykes MT, Pyšek P, Kühn I, Zobel M, Bacher S, Botta-Dukát Z,  
751 Bugmann H, Czúcz B, Dauber J, Hickler T, Jarošík V, Kenis M, Klotz S, Minchin D, Moora M, Nentwig  
752 W, Ott J, Panov VE, Reineking B, Robinet C, Semchenko V, Solarz W, Thuiller W, Vilà M, Vohland

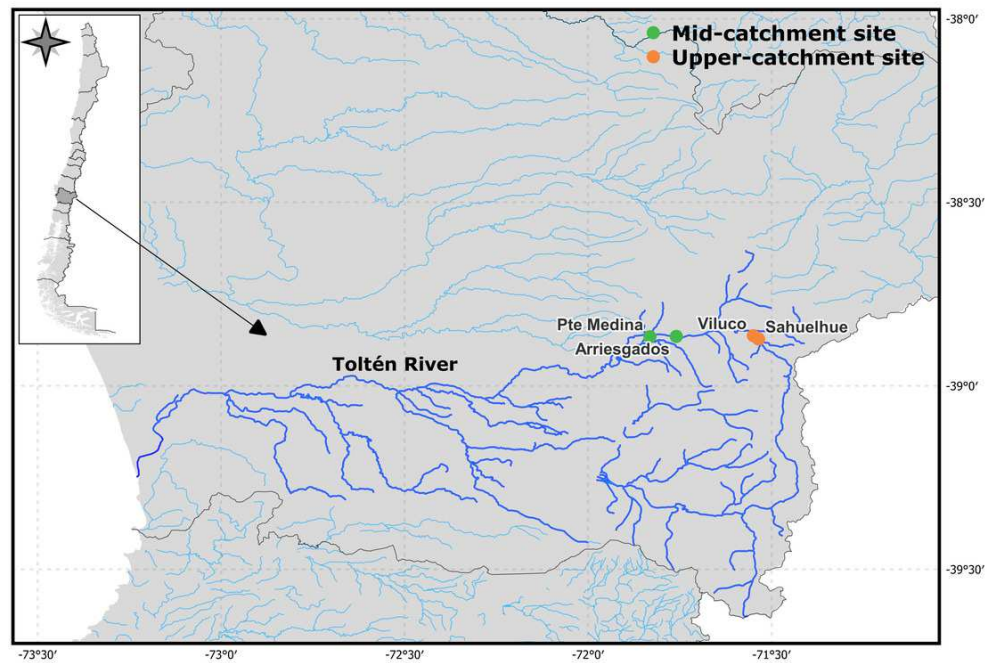
- 753 K, Settele J. 2009. Alien species in a warmer world: risks and opportunities. *Trends in Ecology &*  
754 *Evolution* 24:686–693. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tree.2009.06.008>.
- 755 Wood SN. 2011. Fast stable restricted maximum likelihood and marginal likelihood estimation of  
756 semiparametric generalized linear models. *Journal of the Royal Statistical Society: Series B (Statistical*  
757 *Methodology*) 73:3–36. DOI: [10.1111/j.1467-9868.2010.00749.x](https://doi.org/10.1111/j.1467-9868.2010.00749.x).



## Figure 1

Map of the Toltén River Basin in south-central Chile.

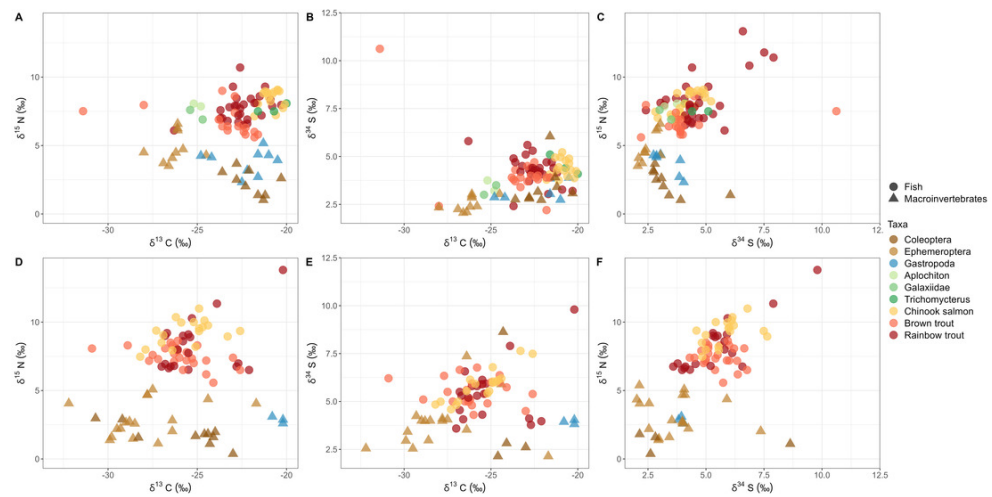
Toltén River Basin was highlighted with dark and wide lines. Samples from the mid-catchment site (middle zone) were green, and samples from the upper-catchment site (upper zone) were orange.



## Figure 2

Biplot using  $\delta^{13}\text{C}$ ,  $\delta^{15}\text{N}$ , and  $\delta^{34}\text{S}$  isotope values

Panels A, B, and C correspond to the mid-catchment site samples. Panels D, E, and F correspond to the upper-catchment site. Shapes separate fish (circle) from invertebrates (triangle), and colors represent the nine species sampled.

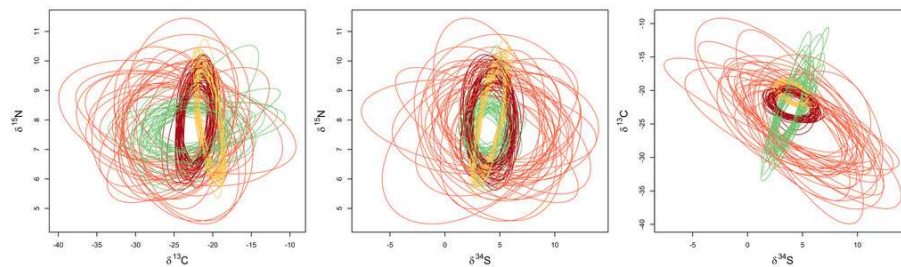


## Figure 3

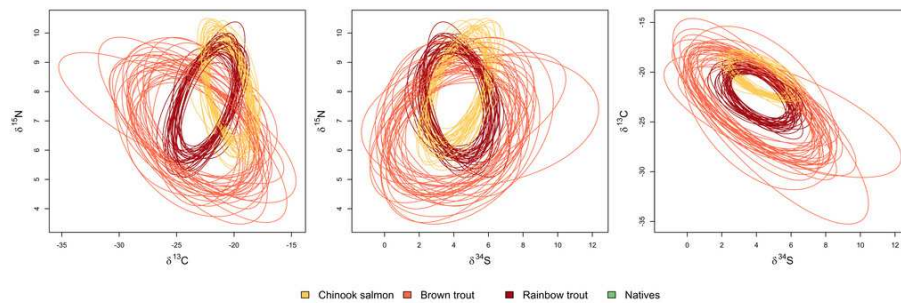
Overlap of the isotopic niche using  $\delta^{13}\text{C}$ ,  $\delta^{15}\text{N}$ , and  $\delta^{34}\text{S}$ .

(A) Salmonids and native fish from the mid-catchment site. (B) Salmonid fishes from the upper-catchment site. For both, mid- and upper-catchment sites, brown trout shows the largest niche, containing a large proportion of the niche of rainbow trout, chinook salmon, and native fishes.

## A Mid-catchment sites



## B Upper-catchment sites

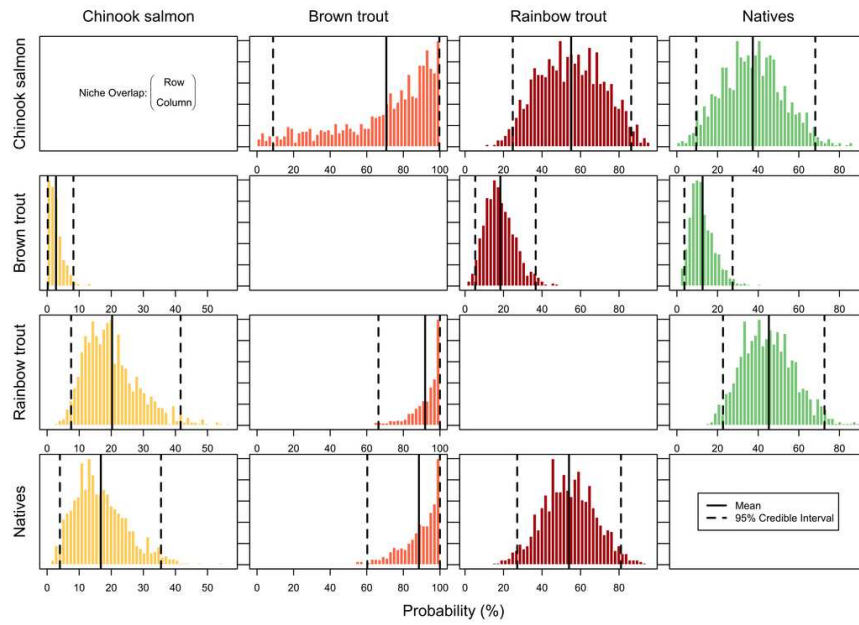


## Figure 4

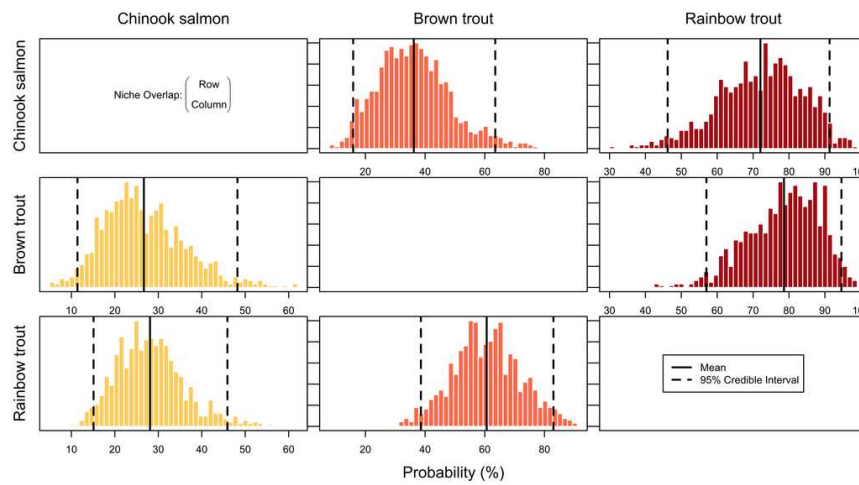
Overlap probability of the isotopic niche among species using  $\delta^{13}\text{C}$ ,  $\delta^{15}\text{N}$ , and  $\delta^{34}\text{S}$ .

This image represents the posterior probability that an individual from the species indicated by the row will be found within the niche of the species indicated by the column header. (A) Mid-catchment site comparisons. (B) Upper-catchment site comparisons. The black continuous line represents the mean of the probability and the dashed lines show the 95% credible intervals.

### A Mid-catchment sites



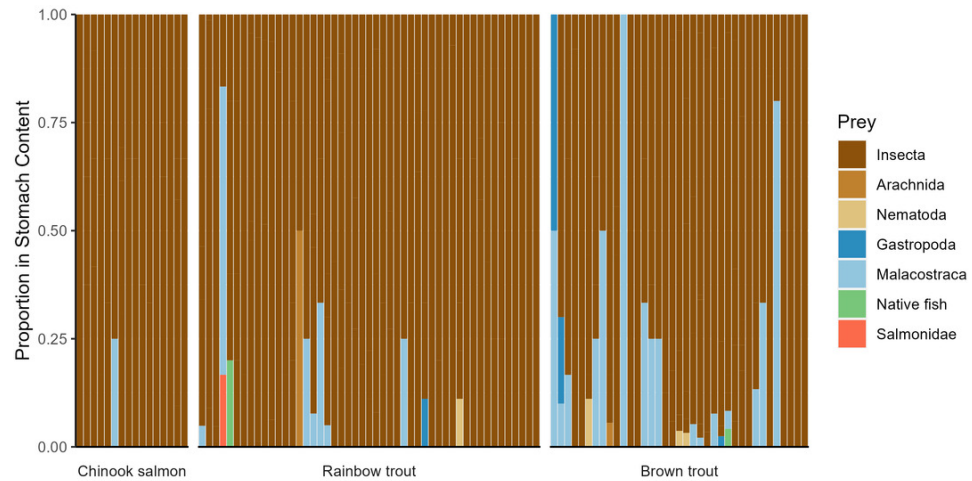
### B Upper-catchment sites



## Figure 5

Stacked barplot of the stomach content of salmonid species sampled in the Toltén River.

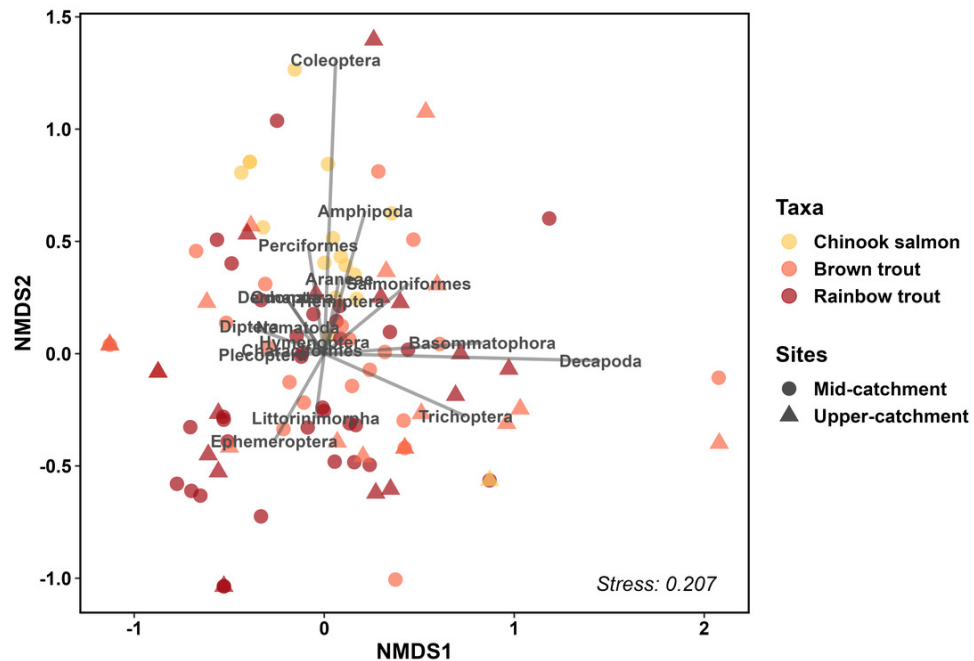
Each individual bar represents the stomach content of an individual. The colors represent the different prey on the salmonid stomachs. The divisions on the plots separate the three predator salmonids on this study.



## Figure 6

Non-Metric Multidimensional Scaling of the stomach content of salmonids species using Bray-Curtis multivariate distance.

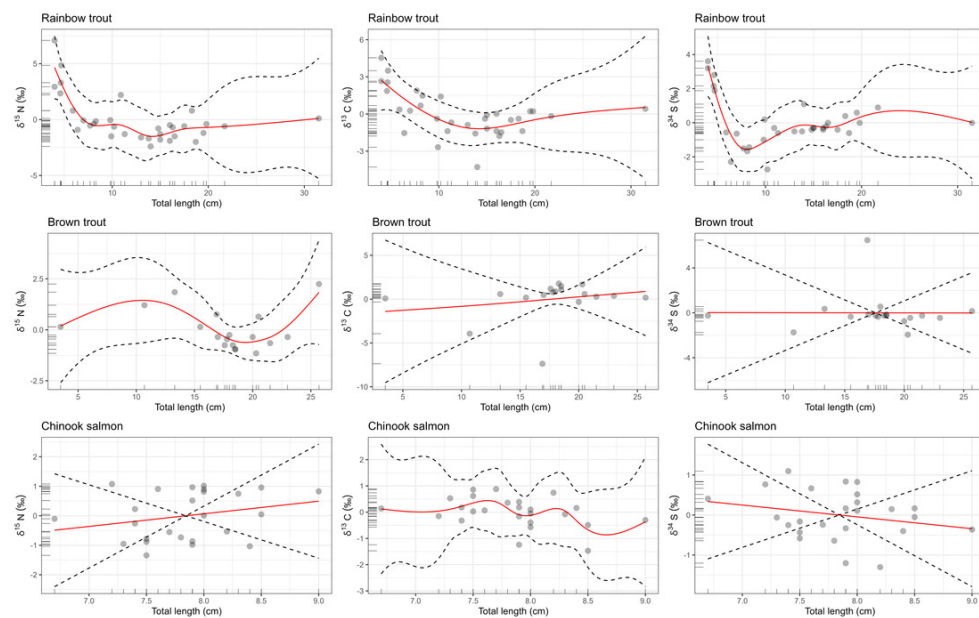
The shapes and colors show the group and species of each fish. The labeled gray lines represent the axis of variation among points on a particular prey. Larger gray lines show larger variations in stomach content along the axis in the specific element stated in the axis label. The axis that explains the major part of the separation of the stomach content is the quantity of Decapoda and Coleoptera in the stomach.



## Figure 7

GAM for rainbow trout, brown trout, and Chinook salmon body size vs.  $\delta^{13}\text{C}$ ,  $\delta^{15}\text{N}$ , and  $\delta^{34}\text{S}$  stable isotope values for the mid-catchment site samples.

Each data point represents an individual. The red line represents the trend of the relationship between the isotopic values and the fish size, and the dashed lines represent the 95% confidence interval.

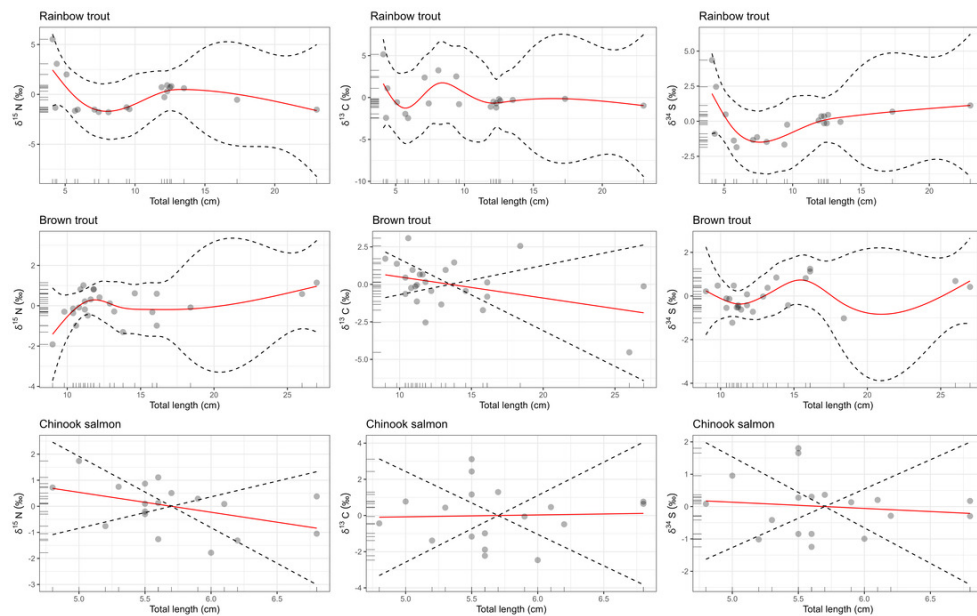




## Figure 8

GAM for rainbow trout, brown trout, and Chinook salmon body size vs.  $\delta^{13}\text{C}$ ,  $\delta^{15}\text{N}$ , and  $\delta^{34}\text{S}$  stable isotope values for the upper-catchment site samples.

Each data point represents an individual. The red line represents the trend of the relationship between the isotopic values and the fish size, and the dashed lines represent the 95% confidence interval.



**Table 1** (on next page)

Summary data of samples and SIA values per species

Each row presents a group of individuals from the same species in a sampling site. The table shows the sampling site details. The number of captured individuals, the mean and range of the carbon, nitrogen, and sulfur isotope values. Also mean and standard deviation of total length and weight, sample location, and sample group for the three salmonid species in the Toltén River.

	Species	Site	Latitude	Longitude	N	Carbon ( $\delta^{13}\text{C}$ ‰)		Nitrogen ( $\delta^{15}\text{N}$ ‰)		Sulfure ( $\delta^{34}\text{S}$ ‰)		Carbon:Nitrogen		Lenght (cm)	Weight (g)
						Range	Mean	Range	Mean	Range	Mean	Range	Mean	Mean $\pm$ SD	Mean $\pm$ SD
Mid-catchment	Aplochiton	ARR	-39.05	-71.75	2	-25.2; -24.8	-25.00	7.86; 8.06	7.96	3.21; 3.75	3.48	3.39; 3.52	3.46	7.2 $\pm$ 0.5	2.1 $\pm$ 0.1
	Galaxiidae	ARR	-39.05	-71.75	2	-25.4; -24.7	-25.05	6.9; 7.6	7.25	3; 3.5	3.25	3.61; 3.67	3.64	8.2 $\pm$ 3.3	1.6 $\pm$ 0.2
	Trichomycterus	MED	-39.05	-71.83	1	-20; -20	-20.00	8.08; 8.08	8.08	4.09; 4.09	4.09	4.4; 4.4	4.40	6.3	1.7
	Trichomycterus	ARR	-39.05	-71.75	2	-21.6; -20.7	-21.15	7.5; 7.5	7.50	4.4; 5.1	4.75	3.52; 5.81	4.67	4.8 $\pm$ 3.2	3.5 $\pm$ 1.4
	Chinook salmon	MED	-39.05	-71.83	25	-21.8; -19.2	-20.42	6.66; 9.08	8.00	2.82; 5.22	4.12	3.18; 3.65	3.41	7.8 $\pm$ 0.5	5.612 $\pm$ 1.3
	Brown trout	MED	-39.05	-71.83	7	-31.4; -22.5	-25.00	6.5; 9	7.70	2.41; 10.62	4.86	3.23; 3.58	3.41	17.2 $\pm$ 4.9	112.4 $\pm$ 130.8
	Brown trout	ARR	-39.05	-71.75	11	-23.8; -21.6	-22.63	5.6; 6.9	6.15	2.2; 4	3.69	3.28; 3.85	3.58	17.8 $\pm$ 5.1	118.8 $\pm$ 52.8
	Rainbow trout	MED	-39.05	-71.83	26	-23.7; -17.6	-21.56	6.6; 15.58	8.81	1.97; 8.32	4.76	3.07; 4.32	3.49	12.4 $\pm$ 6.9	75.6 $\pm$ 138.4
Upper-catchment	Rainbow trout	ARR	-39.05	-71.75	7	-26.3; -22.2	-23.31	6.1; 10.7	7.31	4.1; 5.8	4.53	3.49; 4.17	3.85	13.1 $\pm$ 2.9	43.3 $\pm$ 39.3
	Chinook salmon	VIL	-39.05	-71.55	8	-25.2; -22.6	-24.39	8.2; 10	9.35	5.42; 7.64	6.29	3.35; 3.91	3.50	6 $\pm$ 0.6	2.4 $\pm$ 0.6
	Chinook salmon	SAH	-39.06	-71.53	10	-28.2; -24.6	-26.53	7.47; 10.99	9.18	4.59; 6.79	5.47	3.31; 3.66	3.44	5.5 $\pm$ 0.4	1.68 $\pm$ 0.4
	Brown trout	VIL	-39.05	-71.55	25	-30.9; -22.6	-26.00	5.57; 8.63	7.49	4.3; 6.77	5.53	3.01; 3.47	3.26	13.5 $\pm$ 4.5	53.016 $\pm$ 57.9
	Rainbow trout	VIL	-39.05	-71.55	14	-26.8; -20.2	-24.87	6.5; 13.81	8.37	3.78; 9.8	5.61	3.02; 3.72	3.30	11.8 $\pm$ 4.5	36.45 $\pm$ 25.4
	Rainbow trout	SAH	-39.06	-71.53	6	-27; -23.9	-25.85	6.52; 11.35	8.08	3.5; 7.9	5.06	3.51; 3.85	3.68	5.5 $\pm$ 1.2	2.05 $\pm$ 1.5

1 Sites: ARR: Arriescados; MED: Medina; VIL: Viluco; SAH: Sahuelhue

2

**Table 2** (on next page)

Two-way PERMANOVA statistics using  $\delta^{13}\text{C}$ ,  $\delta^{15}\text{N}$ , and  $\delta^{34}\text{S}$  isotope values

Df: degrees of freedom; SS: Square sums, MS: mean squares; Pseudo-F and P values were estimated based on permutations.

<i>PERMANOVA table of results</i>						
Source	df	SS	MS	Pseudo-F	P(perm)	unique_perms
Salmonid species	2	124.68	62.339	9.7742	0.0001	9951
Catchment site	1	490.32	490.32	76.879	0.0001	9953
Salmonid species x Catchment site	2	55.593	27.797	4.3583	0.0009	9934
Res	134	854.63	6.3778			
Total	139	1582.4				

1

**Table 3** (on next page)

Two-way PERMANOVA Post hoc statistics

T and P values were estimated based on permutations.

Post hoc test - Species comparison Within level "mid-catchment site"			
Groups	t	P(perm)	Unique perms
Chinook salmon, Rainbow trout	2.4216	0.0024	9948
Chinook salmon, Brown trout	4.7103	0.0001	9949
Rainbow trout, Brown trout	2.7058	0.0007	9953

Post hoc test - Species comparison Within level "upper-catchment site"			
Groups	t	P(perm)	Unique perms
Chinook salmon, Rainbow trout	1.3335	0.1648	9960
Chinook salmon, Brown trout	3.0003	0.0006	9963
Rainbow trout, Brown trout	1.5328	0.0802	9949

1

**Table 4**(on next page)

Two-way PERMANOVA SCA.

Df: degrees of freedom; SS: Square sums, MS: mean squares; Pseudo-F and P values were estimated based on permutations.



<i>PERMANOVA table of results</i>						
Source	df	SS	MS	Pseudo-F	P(perm)	Unique perms
Species	2	10892	5446.2	2.881	0.0058	9946
Catchment site	1	7793.5	7793.5	4.1227	0.0019	9958
Species x Catchment site	2	7086.2	3543.1	1.8743	0.0815	9939
Res	96	181480	1890.4			
Total	101	222890				

1

**Table 5** (on next page)

Two-way PERMANOVA SCA without interaction between factors.

Df: degrees of freedom; SS: Square sums, MS: mean squares; Pseudo-F and P values were estimated based on permutations. (Excluding interaction).

<i>PERMANOVA table of results</i>						
Source	df	SS	MS	Pseudo-F	P(perm)	Unique perms
Species	2	25495	12747	6.625	0.0001	9955
Catchment site	1	5231.6	5231.6	2.719	0.0312	9956
Res	98	188560	1924.1			
Total	101	222890				

1

**Table 6** (on next page)

Two-way PERMANOVA Post hoc statistics.

T and P values were estimated based on permutations.

Post hoc test - Species comparison			
Groups	t	P(perm)	Unique perms
Chinook salmon, Rainbow trout	3.129	0.0001	9958
Rainbow trout, Brown trout	1.6705	0.0286	9952
Chinook salmon, Brown trout	3.0579	0.0001	9963

1

Capítulo 3: Determinación de las interacciones tróficas del salmón Chinook durante su fase oceánica en el sur de Chile mediante análisis isótopos estables y contenido estomacal

Chapter 3: Study of trophic interactions between Chinook salmon and native fauna during their oceanic phase using stable isotope analysis and stomach content analysis.

Capítulo aún no enviado a revista científica.

## INTRODUCCIÓN

Las especies invasoras son una de las mayores amenazas para la biodiversidad de los ecosistemas, siendo capaces de afectar la estructura y función de las comunidades receptoras (Stachowicz et al., 2002; Walther et al., 2009; Heinis, 2012). Los procesos e impactos de las invasiones biológicas han sido motivo de numerosos artículos y revisiones (Simberloff, 2001; Meyerson & Mooney, 2007; Lowry et al., 2013). En el caso de Chile, algunas de las especies introducidas más abundantes y ampliamente distribuidas corresponden a la familia de los salmónidos, las que actualmente presentan mayores valores de biomasa que las especies nativas en sistemas de agua dulce (Soto et al., 2006). Hoy en día existen poblaciones asilvestradas de salmónidos que cohabitan e interactúan negativamente con la fauna nativa, y que han cobrado importancia socioeconómica por sustentar actividades de pesca recreativa y acuicultura principalmente (Soto et al., 2006; Pascual & Ciancio, 2007; Correa & Gross, 2008).

El salmón Chinook (*Oncorhynchus tshawytscha*) es una especie de salmónido introducido particularmente relevante. Este salmónido es una de las especies semélpara (que presenta un solo evento reproductivo durante su ciclo de vida) y anádroma (que nace en agua dulce pero pasa parte de su vida en agua de mar) que fue introducida desde el Hemisferio Norte por su potencial para generar

acuicultura en ríos. El gobierno del Chile apoyó iniciativas privadas para introducir individuos de salmón Chinook en ríos que drenan hacia la costa Pacífica de Sur América entre los años 1978 y 1990 (Correa & Gross, 2008). Actualmente es una de las especies más conspicuas en el sur de Chile, habitando ríos desde la Región de la Araucanía hasta la Región de Magallanes y de la Antártica Chilena (38°40' S - 55°50' S) (Correa & Gross, 2008; Gomez-Uchida et al., 2016, 2018). La abundancia poblacional de esta especie ha permitido el desarrollo de una pesquería artesanal legal desde el año 2018, cuando la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura autorizó el desarrollo de actividades de pesca extractivas sobre el salmón Chinook en el estuario del Río Toltén.

A lo largo de su ciclo de vida el salmón Chinook introducido interactúa con la biota nativa de agua dulce, donde habita por alrededor de un año, y con la biota de la zona oceánica, donde se alimenta y crece por un período de entre 2 y 3 años, al igual que en su distribución nativa (Niklitschek & Toledo, 2008; Gomez-Uchida et al., 2016; Quinn, 2018). La dieta del salmón Chinook en agua dulce ha sido bastante estudiada, y se conoce que en su estado juvenil se alimenta principalmente de insectos, crustáceos y peces pequeños (Palma et al., 2002; Buria et al., 2009; Ibarra et al., 2011; Bravo et al., 2021). La dieta de del salmón Chinook en la zona costera y oceánica ha sido menos estudiada por sus dificultades logísticas. Sin embargo, se cree que está restringida a peces de



pequeño tamaño y crustáceos de zonas costeras y fiordos, estando entre sus principales presas sardinas (*Strangomera bentincki*), anchovetas (*Engraulis ringens*) y eufáusidos (*Euphausia* spp.) (Niklitschek & Toledo, 2008; Gomez-Uchida et al., 2016). Por otra parte, se espera que el salmón Chinook también sea depredado por depredadores de la zona costera, como lobos marinos, como ha sido reportado para salmónidos asociados a centros de cultivo (Sepulveda et al., 2007, 2013, 2015; Soto et al., 2023).

Las interacciones tróficas del salmón Chinook y la fauna nativa oceánica costera aún están siendo estudiadas. El arribo de una nueva especie a un ecosistema requiere de estudios permanentes en cuanto a las relaciones interespecíficas que presenta con la fauna nativa. Dos de las principales aproximaciones utilizadas para describir las interacciones entre especies de peces son el análisis de contenido estomacal (ACE) y el análisis de isótopos estables (AIE) (Harrod & Stallings, 2021). El ACE permite conocer directamente los ítems que se encuentra consumiendo una especie. Esta técnica requiere la identificación taxonómica del contenido del estómago por taxónomos con experiencia, lo que puede ser complejo porque parte del contenido puede encontrarse parcial o completamente digerido (Buckland et al., 2017). El ACE entrega información de las presas que el pez consumió en las horas previas a ser capturado, por lo que entrega información de corto plazo (Vinson & Angradi, 2011). Por su parte, el AIE entrega información basada en las tasas

diferenciales de isótopos estables absorbidas mediante la alimentación, permitiendo identificar el origen de la energía (e.g., terrestre o marina) y las presas consumidas junto con su nivel trófico (Fry, 2006). El AIE utiliza generalmente tejido muscular y permite obtener información sobre la energía y materia asimilada a través de la alimentación promedio a lo largo de un año de crecimiento en peces (Thomas & Crowther, 2015). Ambas aproximaciones, ACE y AIE, son complementarias a la hora de conocer las relaciones tróficas entre especies, ya que el ACE nos entrega una información con mayor resolución taxonómica de la dieta de las especies analizadas, mientras que AIS entrega información que integra una escala temporal mayor sobre los orígenes de las fuentes de energía de las especies estudiadas (Hardy et al., 2010; Polito et al., 2011; Harrod & Stallings, 2021).

En este estudio se buscó conocer las interacciones que el salmón Chinook ha desarrollado con la fauna nativa, tomando como caso de estudio la población de salmón Chinook presente en el Río Toltén (Figura 1). Como objetivo general del presente estudio se buscó caracterizar las interacciones tróficas del salmón Chinook en su fase marina utilizando metodologías basadas en AIE y ACE. Se abordó este objetivo a través de dos preguntas de investigación: (i) Conocer la posición que ocupa el salmón Chinook en la trama trófica oceánica en relación a la fauna nativa, utilizando isótopos estables. Este objetivo tiene la finalidad de dilucidar las relaciones tróficas que presenta actualmente el salmón Chinook

con la. (ii) Comparar las dietas de individuos de salmón Chinook retornantes, capturados en la zona estuarina en su viaje de retorno a reproducirse al Río Toltén, e individuos capturados en la zona costera, que no estaban en proceso de migrar de vuelta al Río Toltén. Este objetivo busca identificar potenciales diferencias en alimentación entre individuos retornantes muestreados en la zona estuarina e individuos que aún se encuentran en su fase de crecimiento en la zona costera.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Las muestras utilizadas en este estudio provinieron de tres muestreos diferentes (Figura 1). El muestreo de salmón Chinook de las zonas costera y estuarina fue realizado con el objetivo de desarrollar la presente tesis, mientras que los muestreos de crucero y de lobos marinos corresponden a muestreos para otras investigaciones, y fueron facilitados para el desarrollo del presente capítulo. A continuación se caracteriza el área de estudio y detallan los procedimientos utilizados para generar las muestras utilizadas para AIE (Tabla 1) y ACE (Tabla 2).

### Área de estudio

La cuenca del Río Toltén (38°59' S 72°38' O) pertenece a la Región de la Araucanía y posee una superficie de 8.398 km<sup>2</sup>. La fauna íctica está compuesta

principalmente por peces nativos de las familias Galaxiidae, Nototheniidae, Percichthyidae, Geotridae, Trichomycteridae y Perciliidae. Además, este río cuenta con abundantes poblaciones asilvestradas de salmón Chinook, trucha café y trucha arcoíris (Sinia, 2004; Vargas et al., 2010; Gomez-Uchida et al., 2016). En esta localidad se han registrado avistamientos de salmón Chinook desde la última década, los que se han expandido en toda la superficie de la cuenca (Gomez-Uchida et al., 2016). Se estima que el salmón Chinook fue introducido en el Río Toltén entre los años 2000 y 2005 (Gomez-Uchida et al., 2016). Estudios genéticos han demostrado que esta población presenta un bajo grado de mezcla con poblaciones de salmón Chinook de ríos aledaños (Gomez-Uchida et al., 2018; Musleh et al., 2020). Esta especie presenta una gran población autosustentable para la cual se estimaron retornos anuales de alrededor de 13.000, 43.000 y 11.000 individuos de salmón Chinook en las temporadas 2014, 2015 y 2016, respectivamente (Gomez-Uchida et al., 2016, 2017). Durante su fase oceánica, el salmón Chinook es capturado en dos pesquerías: como especie objetivo en una pesquería artesanal en la zona estuarina y como especie by-catch en una pesquería costera adyacente al Río Toltén cuya especie objetivo es la corvina (Gomez-Uchida et al., 2016).

## Muestras

### Muestras en zonas costera y estuarina

Las muestras de salmón Chinook fueron recolectadas entre el 2015 y 2018 mediante sub-muestreos de individuos previamente capturados por pescadores de las zonas estuarinas y costera adyacente del Río Toltén (Tabla 1). Las muestras de la zona estuarina fueron capturados por pescadores locales de caleta La Barra, mientras que las muestras de la zona costera adyacente fueron capturadas por los pescadores de la caleta de Queule. Además, se muestreó tejido muscular de individuos puye y róbalo de la zona estuarina, especies nativas de la zona que también son capturadas por pescadores locales. Se extrajeron muestras de músculo para la obtención de composición isotópica del tejido muscular de los peces. Este tejido fue deshidratado en terreno utilizando un deshidratador portátil a 70 °C durante 48 horas. Adicionalmente se retiró y almacenó el estómago de los salmones muestreados y se conservó en etanol al 95% hasta que su contenido fue identificado y cuantificado.

Se recolectaron muestras de sardinas y anchovetas varadas en la playa de San Pedro de la Paz luego de una gran varazón ocurrida en febrero del 2019. Las muestras fueron recolectadas muertas desde la playa pocas horas después de que la varazón fue reportada. Las muestras recolectadas fueron almacenadas en coolers hasta llevarlas al laboratorio, donde se extrajo una porción de músculo que posteriormente fue deshidratada utilizando un deshidratador portátil a 70 °C durante 48 horas.

El tejido deshidratado de todas las especies de peces recolectadas fue homogenizado con un molinillo y luego pesado en cápsulas de estaño (masa típica de la muestra = 1.514 mg). Se midieron los porcentajes elementales de carbono y nitrógeno y las relaciones isotópicas estables ( $\delta^{13}\text{C}$ ,  $\delta^{15}\text{N}$ ) utilizando un analizador elemental Pyrocube (Elementar, Langensfeld, Alemania) conectado a un espectrómetro de masas de relación isotópica de flujo continuo VISION (Elementar, Langensfeld, Alemania) en la Instalación de Isótopos Estables de la Universidad de Antofagasta (UASIF), Chile. Las relaciones de isótopos estables se expresan en unidades  $\delta$  respecto a la Belemnita Pee Dee de Viena para el carbono y el  $\text{N}_2$  del aire para el nitrógeno como estándares isotópicos. Se utilizaron varios estándares internacionales en cada lote para calibrar y evaluar el error analítico utilizando el paquete de software ionOS v4.1.005 (Elementar, Langensfeld, Alemania). Se utilizaron materiales de referencia certificados USGS40 y USGS41a para el carbono y el nitrógeno. Los análisis repetidos de los estándares mostraron errores analíticos ( $\pm 1$  SD) de  $\pm 0.04$  ‰ para  $\delta^{13}\text{C}$  y  $\pm 0.06$  ‰ para  $\delta^{15}\text{N}$ . Utilizamos dos estándares de calibración, a) sulfonamida (Elementar, Alemania) y b) un estándar propio (músculo dorsal de trucha arco iris), para corregir la deriva de la máquina. Dada la posible influencia de los lípidos, corregimos aritméticamente los valores de  $\delta^{13}\text{C}$  del músculo de los peces (Kiljunen et al., 2006).

Muestras de cruceo

Las muestras de materia orgánica particulada (POM) y peces nativos presentes en la costa frente al Río Toltén fueron obtenidas a partir de un muestreo de oportunidad a bordo del crucero científico B/C Abate Molina, liderado por el Instituto de Fomento Pesquero (IFOP). El crucero realizó una serie de transectos paralelos a la línea de la costa a lo largo de Chile durante el verano del 2018 (Tabla 1). Se obtuvieron muestras de POM mediante el filtrado de agua obtenida utilizando botellas Niskin de 5L de capacidad. El agua fue filtrada dos veces. Primero se usó filtros de 200  $\mu\text{m}$  de diámetro para remover material correspondiente a zooplancton y otros residuos. A continuación, las muestras se filtraron al vacío usando filtros de fibra de vidrio de 0,7  $\mu\text{m}$  y 47 mm de diámetro de fibra de vidrio (Whatman GF/F; Sigma Aldrich, St. Louis, MO, E.E.U.U. Las muestras se congelaron a  $-20^{\circ}\text{C}$  inmediatamente después de la filtración. Antes del análisis, los filtros se secaron en el horno durante 24 horas a  $60^{\circ}\text{C}$ .

Se determinó la composición isotópica de carbono y nitrógeno mediante un espectrómetro de masas de relación isotópica de flujo continuo EA1110 elemental analyzer (ThermoQuest, Milan, Italy) conectado a un espectrómetro de masas de relación isotópica de flujo continuo Sercon 2020 (Sercon Ltd, Crewe, Reino Unido). Las proporciones de isótopos estables se expresaron en la unidad  $\delta$  con la Belemnita Pee Dee de Viena para el carbono y el  $\text{N}_2$  atmosférico para el nitrógeno como estándares. Las razones fueron expresadas

de la siguiente forma:  $\delta^{13}\text{C}/\delta^{15}\text{N} = [(R_{\text{sample}} - R_{\text{standard}})/R_{\text{standard}} - 1]$ , donde  $R_{\text{sample}}$  y  $R_{\text{standard}}$  son las relaciones  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  o  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$  de la muestra y el estándar, respectivamente. Se utilizó una serie de estándares internacionales e internos para calibrar los análisis y evaluar el error analítico. Se repitieron las mediciones de los estándares (USGS 40 y USGS 41A; USGS, Reston, VA, USA) y se observó que los errores analíticos eran  $\pm 0,1\%$  para los valores de  $\delta^{13}\text{C}$  y  $\pm 0,2\%$  para los de  $\delta^{15}\text{N}$ .

#### Muestras de lobos marinos

Las muestras de lobo marino provienen de dos salidas en botes de pesca (abril y julio 2018) a roqueríos y zonas donde se encontraban grupos de lobos marinos alrededor de la barra del Río Toltén (Tabla 1). Estos muestreos fueron conducidos y liderados por el equipo científico del Laboratorio de Ecología y Conservación de Mamíferos Marinos (LECMMAR). Las muestras de lobos marinos se obtuvieron utilizando un rifle calibre 0.22" Paxarms modificado (MK24C.745), usando dardos especialmente diseñados para obtener pequeñas muestras de piel sin dañar a los animales. Las muestras de tejidos se mantuvieron congeladas a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  hasta que fueron procesadas para la realización de los análisis de isótopos estables.

Para el análisis de isótopos estables de piel de lobos marinos, las muestras fueron secadas a  $60\text{ }^{\circ}\text{C}$  por 72h y posteriormente homogeneizadas con un



escarpelo o un mortero de porcelana. Se realizó una extracción de lípidos de la piel de los lobos marinos utilizando éter de petróleo en un extractor Soxhlet durante 2h (Sigma Aldrich, St Louis, MO, USA). Sub-muestras de 0.5 ( $\pm$  0.05) mg de piel de lobo marino fueron selladas en capsulas de estaño para la obtención de sus composiciones isotópicas para  $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{15}\text{N}$ . Se utilizó un analizador elemental Carlo-Erba NC 2500 (Milan, Italy) o Costech 4010 (Valencia, California, USA) conectado con un espectrómetro de masas de relación isotópica Thermo-Finnigan Delta Plus XL en el University of Wyoming Stable Isotope Facility (Laramie, WY, USA).

#### Análisis estadísticos

##### Análisis de isótopos estables

Se realizaron gráficas bivariadas utilizando los datos de isótopos estables de las muestras recolectadas para realizar una evaluación cualitativa de las relaciones tróficas de las especies estudiadas en el software estadístico R versión 4.2.1 (R Core Team, 2022) bajo RStudio IDE versión 2022.7.1.554 (RStudio Team, 2022). Se evaluó la ubicación relativa del salmón Chinook con respecto a las especies nativas muestreadas en un gráfico bivariado, donde el eje de las abscisas corresponde al valor de  $\delta^{13}\text{C}$  y el eje de las ordenadas corresponde al valor de  $\delta^{15}\text{N}$  presentado por cada individuo muestreado.

##### Análisis del contenido estomacal

Se realizó el análisis del contenido estomacal sólo para las especies de salmónidos. Se analizó todo el contenido presente en el tracto digestivo. El contenido fue identificado por un experto hasta el nivel taxonómico más bajo posible y utilizando literatura científica relevante. Luego de identificado, se registraron y contaron los individuos encontrados por especies. Los datos se agruparon en los distintos órdenes, dejando el grupo de peces no identificados en un grupo separado.

Se exploró visualmente la variación en el contenido estomacal de los salmónidos utilizando un escalamiento multidimensional no métrico (NMDS) basado en una disimilitud de Bray-Curtis sobre una matriz de datos transformada utilizando la función metaMDS disponible en el paquete R "vegan" (Oksanen et al., 2012). La función MetaMDS realiza una transformación heurística de los datos en función de los mismos. En este caso, el conjunto de datos de contenido estomacal se transformó utilizando una doble estandarización de Wisconsin en la matriz transformada en raíz cuadrada. A continuación, se utilizó un PERMANOVA de una vía para examinar en busca de diferencias entre los ejemplares capturados en la zona estuarina (Capturados por la flota de pescadores de la Barra del Río Toltén) y costera (Capturadas por la flota de pescadores de Queule) utilizando la función adonis2 del paquete "vegan" en el software estadístico R. Finalmente, realizamos un análisis SIMPER para cuantificar la similitud/disimilitud de la dieta entre las especies de

salmónidos de la zona costera y estuarina, y también para identificar las presas que más contribuyen a la similitud/disimilitud estimada para los ejemplares de ambas zonas utilizando a función `simper` del paquete “vegan” en el software estadístico R.

## RESULTADOS

Se analizaron 133 muestras para los isótopos estables de carbono  $\delta^{13}\text{C}$  y nitrógeno  $\delta^{15}\text{N}$  distribuidas en la zona costera adyacente, la Barra y zona estuarina del Río Toltén, tanto de salmón Chinook como de especies nativas (Tabla 1). La distribución de tallas de los individuos de salmón Chinook utilizados tuvo una media de 72.9 cm y una desviación estándar de 12.0 cm (Figura 2a). Además, se analizaron 334 estómagos de salmón Chinook provenientes de la zona costera adyacente y de la zona de la Barra fueron analizados (Tabla 2). De los estómagos analizados, solo 188 presentaron contenido para ser analizado y 144 se encontraron vacíos. La distribución de tallas de los individuos de salmón Chinook muestreados presentaron una media de 82.3 cm y una desviación estándar de 14.7 cm en el caso de los individuos capturados en la zona estuarina, y un promedio de 68.5 cm y una desviación estándar de 7.2 cm para los individuos capturados en la zona costera adyacente (Figura 2b).

## Análisis de isótopos estables

Los valores de isótopos estables variaron considerablemente entre las especies costeras y estuarinas (Figura 3). En el caso de las muestras de la zona estuarina, el robalo (*Eleginops maclovinus*) presentó valores de  $-17.1 \text{ ‰ } \delta^{13}\text{C}$  y  $16.3 \text{ ‰ } \delta^{15}\text{N}$ . En el caso del puye (Galaxiidae) presentó valores promedio de  $-17.9 \text{ ‰ } \delta^{13}\text{C}$  y  $16.4 \text{ ‰ } \delta^{15}\text{N}$ . Dentro de las muestras de la zona costeras, la materia orgánica particulada (POM) muestreada en la zona costera presentó un valor de  $-26.5 \text{ ‰ } \delta^{13}\text{C}$  y  $9.1 \text{ ‰ } \delta^{15}\text{N}$ . En el caso de los peces pelágicos pequeños, la sardina común (*Strangomera bentincki*) presentó valores promedio de  $-16.8 \text{ ‰ } \delta^{13}\text{C}$  y  $16.5 \text{ ‰ } \delta^{15}\text{N}$ , mientras que la anchoveta (*Engraulis ringens*) presentó valores promedio de  $-17.7 \text{ ‰ } \delta^{13}\text{C}$  y  $16.0 \text{ ‰ } \delta^{15}\text{N}$ . En el caso de la corvina (*Cilus gilberti*), esta presentó valores promedio de  $-14.8 \text{ ‰ } \delta^{13}\text{C}$  y  $18.9 \text{ ‰ } \delta^{15}\text{N}$ . El salmón Chinook (*Oncorhynchus tshawytscha*) presentó valores promedio de  $-15.3 \text{ ‰ } \delta^{13}\text{C}$  y  $17.2 \text{ ‰ } \delta^{15}\text{N}$ . El lobo marino (*Otaria byronia*) presentó valores promedio de  $-13.5 \text{ ‰ } \delta^{13}\text{C}$  y  $21.4 \text{ ‰ } \delta^{15}\text{N}$ .

El biplot carbono-nitrógeno (Figura 3), los menores valores los presentó la materia orgánica particulada, tanto de carbono con  $-26.5 \text{ ‰ } \delta^{13}\text{C}$  como nitrógeno  $9.14 \text{ ‰ } \delta^{15}\text{N}$  (POM), lo que es consistente con organismos autótrofos. En el eje del nitrógeno, la especie de pez que presentó el menor valor fue el robalo (*E. maclovinus*). Los individuos de robalo se distribuyeron entre  $10.6$  y  $17.6 \text{ ‰ } \delta^{15}\text{N}$ . Más arriba en el eje de nitrógeno se encontraron individuos de

peces pelágicos pequeños formando una nube de puntos. Los individuos de puye (*Galaxiidae*) presentaron valores entre 14 y 17.0 ‰  $\delta^{15}\text{N}$ ; seguido de individuos de sardina común (*S. bentincki*) con valores entre 15.0 y 21.3 ‰  $\delta^{15}\text{N}$ ; e individuos de anchoveta (*E. ringens*) con valores de nitrógeno entre 15.2 y 17.0 ‰  $\delta^{15}\text{N}$ . Sobrepuesto en cierta medida, pero sobrepasando a los peces pelágicos pequeños se encontraron los individuos de salmón Chinook (*O. tshawytscha*), con valores entre los 15.8 y 18.6 ‰  $\delta^{15}\text{N}$ . Los individuos de corvina (*C. gilberti*) presentaron valores de entre 18.9 y 19.0 ‰  $\delta^{15}\text{N}$ . La especie que presentó el valor más alto en el eje del nitrógeno fue el lobo marino, encontrándose a los individuos estudiados entre 19.8 y 23.0 ‰  $\delta^{15}\text{N}$ .

#### Análisis del contenido estomacal

El análisis de las muestras de estómago de salmón Chinook del Río Toltén reveló que su principal presa son los peces pelágicos pequeños, independiente si la muestra provenía de la zona costera o estuarina (Figura 4). Se encontró que el segundo ítem más frecuente fueron crustáceos, principalmente krill, pero sólo en estómagos de peces muestreados en la zona costera. Se encontró también un estómago que contenía un calamar en uno de los individuos de la zona estuarina.

El análisis de ordenamiento NDMS mostró dos grupos de puntos que separaban las muestras de la zona costera y estuarina (Figura 5). La

distribución de estos puntos está mayormente influenciada por las diferencias en el contenido de peces pelágicos pequeños no identificados, sardinas y crustáceos presentes en los estómagos analizados.

El análisis PERMANOVA de una vía que examinó la influencia de la zona donde la muestra fue capturada y el contenido estomacal reportó diferencias significativas en la composición del contenido estomacal entre los individuos muestreados en la zona costera y estuarina ( $F = 11.811$ ;  $P < 0.001$ ) (Tabla 3). El análisis SIMPER indicó que la dis-similaridad promedio entre las muestras de estómagos proveniente de la zona costera y estuarina fue de 0.15 (Tabla 4). Las principales presas que contribuyeron a esta diferencia significativa fueron sardinas, eufáusidos y crustáceos sin identificar, la presencia de mote y pejerrey ( $P < 0.001$ ). Los estómagos de individuos de la zona costera presentaron mayor número de eufáusidos y otros crustáceos no identificados, los que estuvieron ausentes en las muestra de estómagos estuarinas. También se encontró una mayor cantidad de peces sardinas y peces teleosteos sin identificar en los estómagos de la zona costera.

## DISCUSIÓN

El ciclo de vida anádromo del salmón Chinook conlleva que esta especie invasora desarrolle interacciones con especies nativas tanto en aguas continentales como en zonas costeras. Bastante se conoce de las interacciones del salmón Chinook en agua dulce (Ibarra et al., 2011; Di Prinzio & Arismendi, 2018; Bravo et al., 2019), pero sus interacciones en la zona costera han sido menos estudiadas. En este trabajo abordamos el objetivo principal de caracterizar las interacciones tróficas del salmón Chinook en su fase marina utilizando metodologías basadas en análisis de isótopos estables y análisis de contenido estomacal.

### Análisis de isótopos estables

El análisis de isótopos estables representado por el biplot carbono-nitrógeno (Figura 3) reveló, en el contexto de algunas especies nativas presentes en la zona costera, la ubicación en la trama trófica del salmón Chinook. Esta especie de salmónido introducido se encuentra ubicado por sobre peces pelágicos como sardinas y anchovetas en el eje del nitrógeno. Esto indicaría que el salmón Chinook está depredando y obteniendo energía desde estas especies de peces pelágicos. Otros estudios, como los realizados por Niklitschek y Toledo (2008) en la zona del Fiordo Aysén, y por Gomez-Uchida *et al.* (2016) en la zona de la

cuenca del Río Toltén, también reportaron que el salmón Chinook consumía frecuentemente peces pelágicos, entre ellos principalmente sardinas y anchovetas.

Sobre el salmón Chinook, en el eje del nitrógeno, se ubicó el lobo marino (Figura 3), lo que indicaría que este mamífero estaría depredando sobre individuos de salmón. El lobo marino ha sido reportado como un depredador de salmónidos tanto de vida libre como de cultivo (Sepulveda & Oliva, 2005; Vilata, Oliva & Sepulveda, 2010; Sanguinetti et al., 2021). Pescadores de la comunidad de La Barra, zona estuarina donde se captura legalmente salmón Chinook, reportan con frecuencia interacciones con el lobo marino durante sus operaciones de pesca (Sanguinetti et al., 2021).

#### Análisis del contenido estomacal

Las muestras de estómagos analizadas de salmón Chinook corresponden a un programa de muestreo que se repite anualmente en la caleta de La Barra. Las muestras de estómagos fueron recolectadas entre los años 2015 y 2018 (Tabla 2). A pesar de la diferencia temporal en las muestras recolectadas, estas presentaron una alta consistencia en la composición específica del contenido estomacal (Figura 4).



Los individuos de salmón Chinook muestreados en la zona costera presentaron un menor tamaño promedio que aquellos de la zona estuarina (Figura 2). Estas diferencias en talla podrían estar relacionadas a la edad de los individuos, ya que los individuos costeros muestreados tienden a ser más jóvenes (edad 2+ y 3+) que aquellos muestreados en la zona estuarina (edades 3+ y 4+) (Gomez-Uchida et al., 2016). Los individuos muestreados en el estuario corresponden a individuos adultos que lograron alcanzar su tamaño máximo y se encuentran realizando su migración reproductiva (Gomez-Uchida et al., 2016). Por otro lado, individuos de la zona costera podrían aún estar en fase de alimentación y crecimiento para alcanzar su talla reproductiva al momento que fueron muestreados (Gomez-Uchida et al., 2016).

El contenido estomacal de los individuos de salmón Chinook muestreados en las zonas costera y estuarina mostraron diferencias significativas en su composición taxonómica (Figuras 4 y 5) evaluadas mediante PERMANOVA (Tabla 3). A nivel de taxa, individuos de la zona costera mostraron mayor presencia de crustáceos, los que estuvieron ausentes en individuos de la zona estuarina. A nivel de abundancia, el análisis SIMPER reveló estómagos con más presas en individuos de la zona costera, encontrando diferencias significativas en la abundancia de eufáusidos, sardinas y peces sin identificar (Tabla 4). Según lo que se conoce de la biología del salmón del Hemisferio Norte, el salmón Chinook deja de alimentarse al comenzar su migración

reproductiva hacia su río de origen (Quinn, 2018). Esto explicaría las diferencias en cantidad de presas entre los estómagos de salmones provenientes de las zonas costera y estuarina, además del alto número de estómagos vacíos encontrados en el presente trabajo. En este sentido, se podría inferir que los individuos de la zona costera estarían aun alimentándose activamente, mientras que individuos de la zona estuarina habrían dejado de hacerlo. Cabe destacar que la talla de los individuos de salmón Chinook está relacionada la zona que habita y la etapa del ciclo de vida en la que se encuentran, ya que los factores talla y zona se encuentran íntimamente relacionados.

Los resultados de este trabajo, tanto la información proveniente de los AIS como la de ACE, indican que durante su fase de vida en zonas oceánicas el salmón Chinook introducido en Chile se alimenta principalmente de peces pelágicos pequeños, mayoritariamente sardinas y anchovetas. Esto es consistente con lo que se ha descrito en el hemisferio norte, donde las principales presas del salmón Chinook en su fase oceánica son peces y cefalópodos (mayormente de la familia Gonatidae), seguidos por eufáusidos (Beamish, 2018). En su fase oceánica en el hemisferio norte, el salmón Chinook realiza grandes migraciones, y se distribuye entre las costas pacíficas de Estados Unidos y Rusia (Beamish, 2018). El salmón Chinook presenta una amplia distribución en profundidad en la zona pelágica, encontrándose entre los 0 y 110 m de profundidad (Healey, 1991), lo que acompañado de su gran

capacidad natatoria le permitiría moverse activamente en busca de sus presas. Se ha reportado que individuos de salmón Chinook pueden recorrer entre 100 y 2500 km durante su migración y estadía en el océano (Beamish, 2018; Liotta, 2019). En el caso del presente estudio sólo se contó con muestras de salmón Chinook que provinieron de la pesquería artesanal que ocurre en la zona costera adyacente al Río Toltén, por lo que las muestras capturadas son más bien costeras y poco profundas. Un muestreo enfocado en capturar individuos de salmón Chinook a mayor profundidad y distancia de la costa podría dar cuenta de un espectro trófico más amplio del que pudo ser reportado en este estudio.

Para el caso de las muestras de salmón Chinook de la zona estuarina, estas presentaron también una alta presencia de especies de peces pelágicos pequeños y una menor presencia de crustáceos que la encontrada para individuos de la zona costera. Esto se condice con los resultados encontrados por Soto y colaboradores (2001) para el salmón Coho (*Oncorhynchus kisutch*) en la zona de mar interior de Chiloé. El salmón Coho es una especie cercanamente emparentada y con una historia de vida similar a la que presenta el salmón Chinook, lo que podría explicar la similitud en sus dietas (Quinn, 2018).

La dieta del salmón Chinook, así como la de otras especies de salmones del pacífico puede variar ampliamente dependiendo de la zona del océano, la

profundidad y/o de las condiciones ambientales (Kaeriyama et al., 2004; Beamish, 2018). El salmón Chinook también se encuentra introducido en Nueva Zelanda, donde estudios de su dieta en su fase oceánica indican que estos individuos se alimentaba principalmente de la sardina *Sprattus muelleri*, seguido por juveniles del crustáceo *Munida gregaria*, y juveniles del hoki *Macruronus novaezelandiae* (James & Unwin, 1996). Es por esto que para lograr una mejor definición de la dieta del salmón Chinook en la zona costera y oceánica es necesario aumentar los esfuerzos de muestreo sobre otras potenciales especies presa que no fueron abordadas durante el presente estudio.

La costa de Chile presenta una alta productividad biológica debido a la presencia de zonas de surgencia costera (Escribano & Schneider, 2007). Esta alta productividad genera que tanto organismos del zooplancton presenten grandes abundancias en zonas cercanas a la costa (Manríquez, Escribano & Hidalgo, 2009). Las evaluaciones hidroacústicas periódicas realizadas por el Instituto de Fomento pesquero demuestran que tanto sardinas como anchovetas se distribuyen de manera abundante en la zona costera de las cercanías del Río Toltén (Saavedra-Godoy, 2021). La disponibilidad de peces pelágicos pequeños en zonas cercanas a la costa explicaría la importancia de este ítem en la dieta del salmón Chinook. Para la población de Salmón Chinook del río Toltén se han reportado que en los remotes de esta especie (migraciones reproductivas de adultos a zonas de desove en ríos) alcanzaron

abundancias de entre 11 000 y 43 000 individuos entre los años 2014 y 2016 (Gomez-Uchida et al., 2016, 2017). Es por esto que se cree que el tamaño de la población de esta especie invasora no contribuiría a poner en riesgo las poblaciones de los peces pelágicos pequeños por el momento. Además, la población de salmón Chinook del Río Toltén se encuentra actualmente bajo un régimen de explotación regulado, lo que ejerce una disminución en el tamaño poblacional de esta especie, contribuyendo a limitar la abundancia de los reproductores y, consecuentemente, las cohortes futuras que esta población produzca. Por otra parte, como se observó en este estudio, el salmón Chinook es depredado por el lobo de mar, lo que también contribuiría a controlar su abundancia de este pez durante su fase oceánica.

## CONCLUSIONES

El presente estudio desarrolló mediante análisis de contenido estomacal e isótopos estables la identificación de las interacciones tróficas del salmón Chinook y la fauna nativa costera y oceánica. Se encontró que el salmón Chinook presenta una dieta consistente con lo observado en otras poblaciones nativas e introducidas de esta especie, alimentándose principalmente de peces pelágicos pequeños. Además, se comprobó que la alimentación del salmón Chinook durante su fase oceánica podría variar, en cantidad y diversidad, dependiendo de la zona donde se encuentre, cambiando principalmente la

proporción de crustáceos presentes en su dieta. Por otra parte, el salmón Chinook también resultó ser presa de especies nativas, como lo son los lobos marinos. La presencia del salmón Chinook en el océano chileno pareciera no conllevar un gran riesgo para la fauna nativa, ya que la población de salmón Chinook introducida en el Río Toltén i) presenta un tamaño relativamente pequeño, ii) se alimenta de especies pelágicas sin riesgo de conservación, y iii) su población se encuentra regulada por un régimen de pesca y por depredadores nativos naturales. Sin embargo, aún son necesarios estudios para conocer con mayor exactitud tanto la abundancia de del salmón Chinook y sus tasas de consumo sobre la fauna nativa y así desarrollar modelos que permitan estimar el impacto de esta especie introducida sobre la biota nativa.

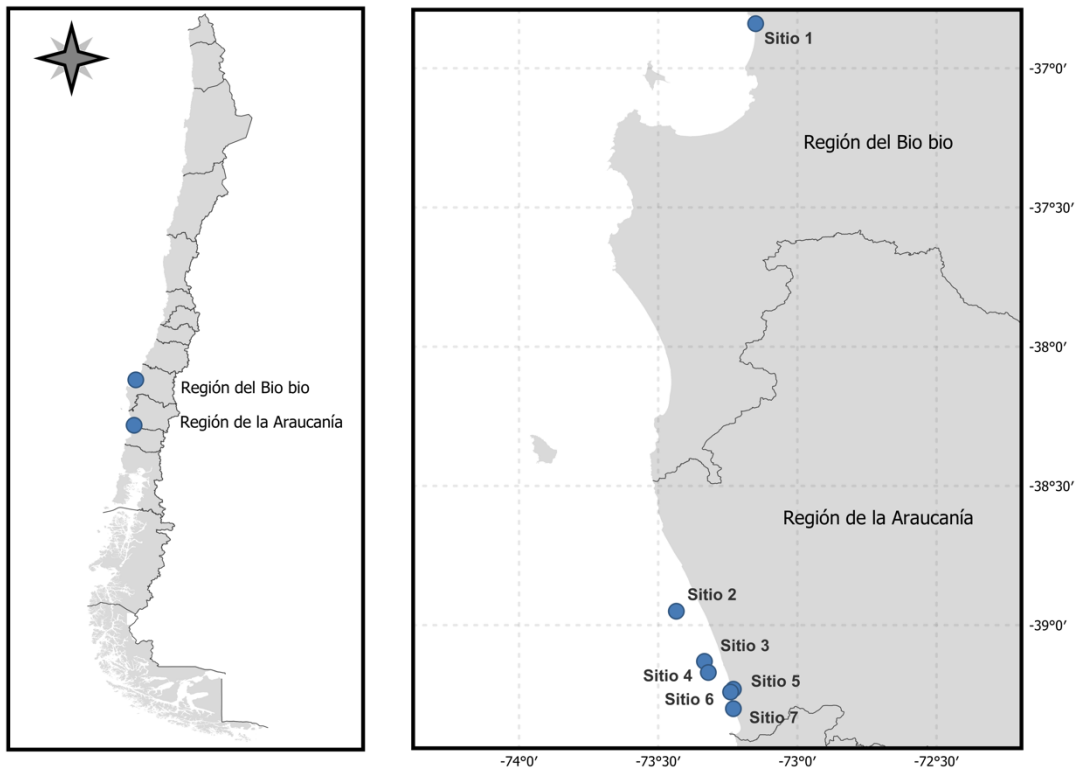


Figura 1: Sitios de muestreo. Los puntos azules representan los lugares desde los cuales se recolectaron muestras para este estudio. El detalle de las muestras recolectadas por sitios se encuentra en la tabla 1.

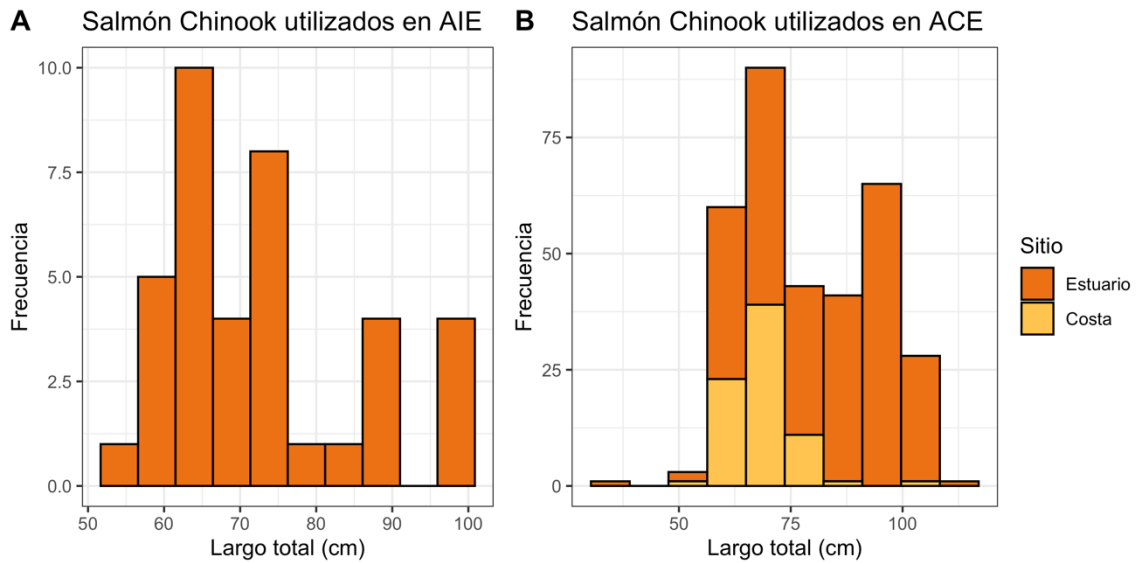


Figura 2: Histogramas de la longitud total de individuos de salmón Chinook muestreados en el estuario (n= 123) y zona costera adyacente (n= 65) del Río Toltén entre los años 2015 y 2018. Panel A presenta las longitudes de los individuos muestreados en la zona estuarina utilizados para los análisis de isótopos estables. Panel B presenta los individuos muestreados tanto en la zona costera como en la zona estuarina utilizados en los análisis de contenido estomacal.



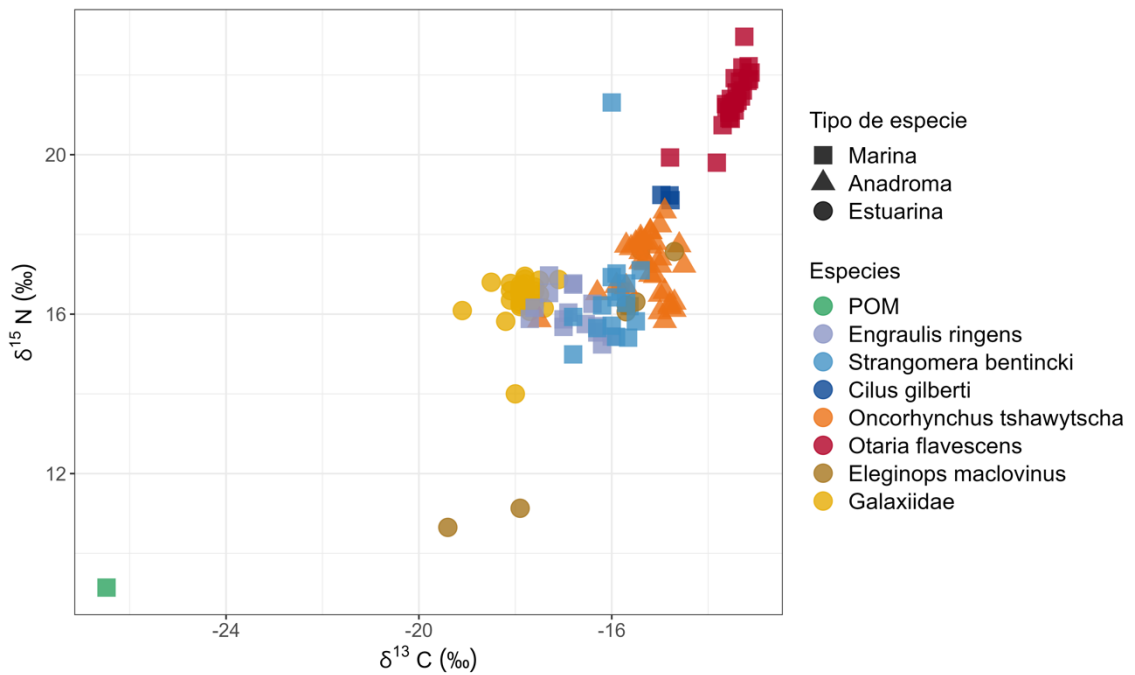


Figura 3: Biplot con valores de isótopos estables carbono y nitrógeno de las muestras recolectadas en zonas costeras (Tabla 1). En esta figura se presentan los individuos analizados separando con formas tipo de especie según dónde desarrolla su ciclo de vida, y con colores las especies.

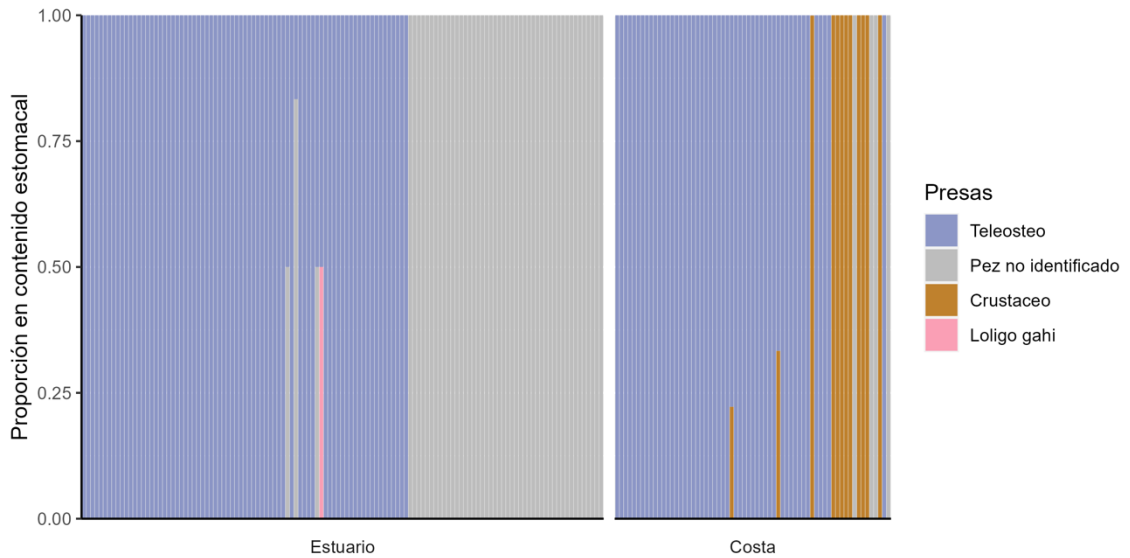


Figura 4: Gráfico de barras apiladas con composición relativa del contenido estomacal del salmón Chinook capturado en el estuario del Río Toltén y la zona costera adyacente entre los años 2015 - 2018. Se presentan tanto los individuos de salmón Chinook de la zona estuarina y costera. Los colores en las barras representan los taxa encontrados en los estómagos.

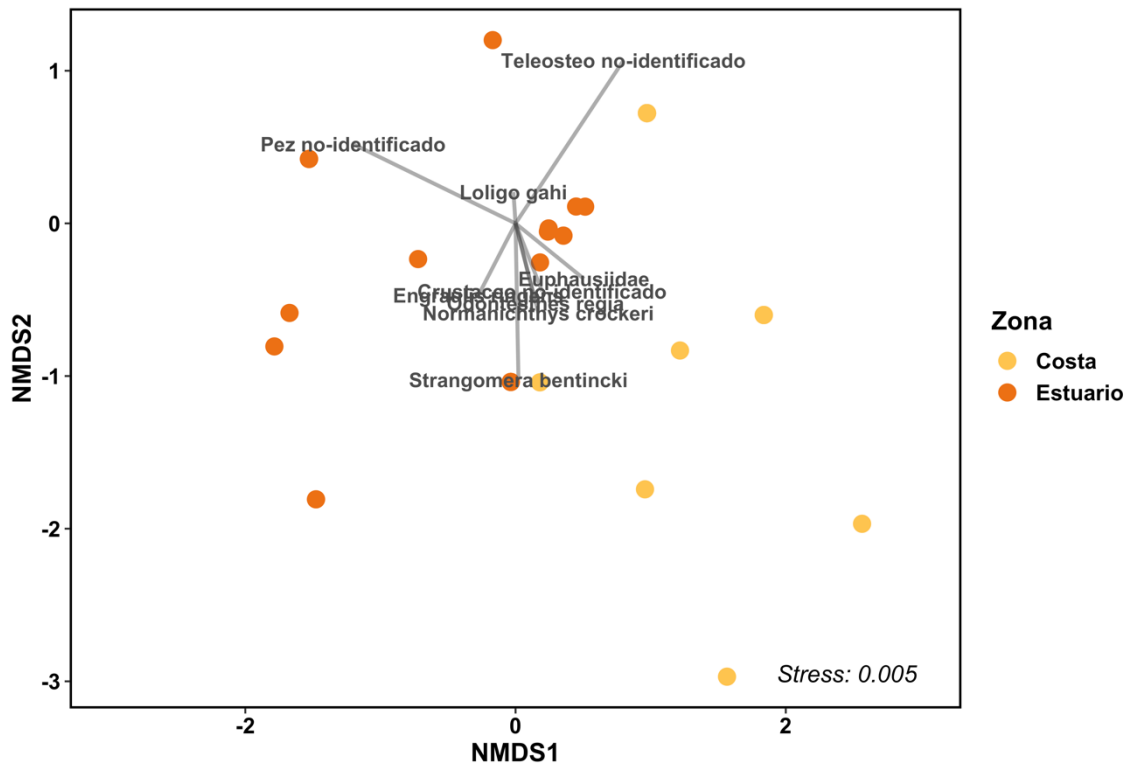


Figura 5: Escalamiento multi-dimensional no-métrico NMDS de los individuos de salmón Chinook basado en su contenido estomacal. En la figura se presentan separados por colores tanto individuos de las zonas estuarina y costa adyacente al Río Toltén muestreados entre 2015 y 2018. Las líneas representan ejes en los cuáles las muestras de estómagos se segregan dependiendo de la contribución relativa de individuos del taxa identificado en la etiqueta.

Tabla 1: Información sobre la recolección de tejido utilizadas para análisis de isótopos estables. Las muestras fueron recolectadas en distintos eventos y localidades. N, número de muestras; Lat, latitud del muestreo; Lon, Longitud del muestreo; Sitio, corresponde a las localidades del mapa (Fig. 1);  $\delta^{13}\text{C}$ , promedio y desviación estándar de la muestra para sus valores de  $\delta^{13}\text{C}$ ;  $\delta^{15}\text{N}$ , promedio y desviación estándar de la muestra para sus valores de  $\delta^{15}\text{N}$ .

<b>Especie</b>	<b>N</b>	<b>Lat</b>	<b>Lon</b>	<b>Sitio</b>	<b>Fecha</b>	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{15}\text{N}$
<i>Engraulis ringens</i> (anchoveta)	10	-36.84	-73.15	Sitio 1	feb-19	-17.1 ± 0.4	16.3 ± 0.4
<i>Strangomera bentincki</i> (sardina)	12	-36.84	-73.15	Sitio 1	feb-19	-16 ± 0.4	16.7 ± 1.6
<i>Engraulis ringens</i> (anchoveta)	5	-38.95	-73.435	Sitio 2	ene-18	-16.3 ± 0.2	15.5 ± 0.2
<i>Strangomera bentincki</i> (sardina)	5	-38.95	-73.435	Sitio 2	ene-18	-15.8 ± 0.2	15.9 ± 0.5
<i>Cilus gilberti</i> (corvina)	3	-39.13	-73.334	Sitio 3	ene-18	-14.8 ± 0.1	18.9 ± 0.1
<i>POM</i>	1	-39.17	-73.32	Sitio 4	ene-18	-26.5	9.1
<i>Eleginops maclovinus</i> (robalo)	7	-39.23	-73.23	Sitio 5	ene-18	-16.3 ± 1.7	15.1 ± 2.9
<i>Galaxiidae</i> (puye)	30	-39.23	-73.23	Sitio 5	ene-18	-17.9 ± 0.4	16.4 ± 0.5
<i>Oncorhynchus tshawytscha</i> (salmón Chinook)	35	-39.24	-73.24	Sitio 6	ene-18	-15.3 ± 0.5	17.2 ± 0.7
<i>Otaria byronia</i> (lobo marino)	4	-39.3	-73.23	Sitio 7	abr-18	-13.5 ± 0.2	21.2 ± 0.4
<i>Otaria byronia</i> (lobo marino)	21	-39.3	-73.23	Sitio 7	jul-18	-13.5 ± 0.4	21.4 ± 0.7

Tabla 2: Información sobre el muestreo de estómagos de salmón Chinook muestreadas en las zonas estuarina y costera adyacente al Río Toltén. En la tabla se presentan las fechas de muestre, las zonas de muestreo y el número de estómagos analizados por fecha y zona.

<b>Fechas</b>	<b>Zona estuarina</b>	<b>Zona costera</b>
Enero 2015	46	53
Febrero 2015	52	
Enero 2016	83	
Febrero 2016	46	
Enero 2018	31	23

Tabla 3: Tabla con resultado PERMANOVA sobre contenido estomacal de salmón Chinook donde se comparan contenidos de individuos presentes en las zonas estuarina y costera adyacente del Río Toltén. La tabla muestra el resultado de la comparación entre los contenidos estomacales de las zonas estuarina y costera. El análisis se realizó con 9999 permutaciones sobre una matriz de distancia multivariada de Bray-Curtis sobre los datos de contenido estomacal. G.L., grados de libertad; SumCuad, suma de cuadrados; Pr(>F), probabilidad de encontrar diferencias significativas. Código de niveles de significancia: 0 ‘\*\*\*’, 0.001 ‘\*\*’, 0.01 ‘\*’, 0.05 ‘.’, 0.1 ‘ ’ 1.

	<i>G.L.</i>	<i>SumCuad</i>	<i>R<sup>2</sup></i>	<i>F</i>	<i>Pr(&gt;F)</i>
<i>Site</i>	1	4.131	0.05971	11.811	1.00E-04 ***
<i>Residual</i>	186	65.053	0.94029		
<i>Total</i>	187	69.183	1		

Tabla 4: Tabla resultados análisis SIMPER sobre contenido estomacal de salmones Chinook capturados en las zonas estuarinas y costera adyacente del Río Toltén entre los años 2015 y 2018. Análisis destaca las presas donde las muestras de las zonas costeras y estuarinas tuvieron diferencias significativas en su abundancia. Promedio, promedio; desv est, desviación estándar; ratio, relación promedio y desviación estándar; ava, abundancia promedio muestras estuarinas; avb, abundancia promedio muestras costeras; sum acum, contribución acumulada ordenada; p, probabilidad de encontrar diferencias significativas. Código de niveles de significancia: 0 '\*\*\*', 0.001 '\*\*', 0.01 '\*', 0.05 '.', 0.1 ' ' 1.



Ítem presa	media	desv est	ratio	ava	avb	sum acum	p
Strangomera bentincki	0.2658	0.291	0.914	1.3	0.797	0.31	<2e-16 ***
Teleosteo no identificado	0.2657	0.295	0.899	1.3	0.943	0.63	0.49
Eufáusidos	0.1408	0.343	0.41	112.4	0	0.8	<2e-16 ***
Pez no identificado	0.1393	0.212	0.658	0.1	0.789	0.96	1
Normanichthys crockeri	0.0141	0.082	0.171	0.1	0	0.98	<2e-16 ***
Crustáceo no identificado	0.0081	0.051	0.159	0	0	0.99	<2e-16 ***
Engraulis ringens	0.0078	0.055	0.142	0	0.049	1	1
Odontesthes regia	0.0022	0.018	0.122	0	0	1	<2e-16 ***
Loligo gahi	0.0015	0.019	0.079	0	0.008	1	1

## REFERENCIAS

- Arismendi I, Gonzalez J, Soto D, Penaluna B. 2012. Piscivory and diet overlap between two non-native fishes in southern Chilean streams. *Austral Ecology* 37:346–354.
- Beamish RJ (ed.). 2018. *The Ocean Ecology of Pacific Salmon and Trout*. Canada: American Fisheries Society. DOI: 10.47886/9781934874455.
- Bravo S, Whelan K, Silva MT, Bravo S, Whelan K, Silva MT. 2021. Assessment of trout populations inhabiting the Palena River, southern Chile. *Latin american journal of aquatic research* 49:29–39. DOI: 10.3856/vol49-issue1-fulltext-2577.
- Buckland A, Baker R, Loneragan N, Sheaves M. 2017. Standardising fish stomach content analysis: The importance of prey condition. *Fisheries Research* 196:126–140. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fishres.2017.08.003>.
- Buria LM, Albariño RJ, Modenutti BE, Balseiro EG. 2009. Variación temporal en la dieta de la trucha exótica arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) en un arroyo forestado de los Andes patagónicos. *Revista chilena de historia natural* 82:3–15. DOI: 10.4067/S0716-078X2009000100001.
- Correa C, Gross MR. 2008. Chinook salmon invade southern South America. *Biological Invasions* 10:615–639. DOI: 10.1007/s10530-007-9157-2.
- Escribano R, Schneider W. 2007. The structure and functioning of the coastal upwelling system off central/southern Chile. *Progress in Oceanography* 75:343–347. DOI: 10.1016/j.pocean.2007.08.020.
- Fry B. 2006. *Stable isotope ecology*. Springer.
- Gomez-Uchida D, Cañas-Rojas D, Riva-Rossi CM, Ciancio JE, Pascual MA, Ernst B, Aedo E, Musleh SS, Valenzuela-Aguayo F, Quinn TP, Seeb JE, Seeb LW. 2018. Genetic signals of artificial and natural dispersal linked to colonization of South America by non-native Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). *Ecol Evol* 8:6192–6209.
- Gomez-Uchida D, Ernst B, Aedo G, Canales-Aguirre CB, Ferrada S, Musleh SS, Rivara PE, Santelices A. 2016. Informe Final FIP 2014-87: Estudio biológico pesquero y sanitario de la población de Salmón Chinook en la cuenca del Río Toltén. [http://www.subpesca.cl/fipa/613/articles-89445\\_informe\\_final.pdf](http://www.subpesca.cl/fipa/613/articles-89445_informe_final.pdf): Subsecretaría de Pesca y Acuicultura; Fondo de Investigación Pesquera y Acuicultura.

Gomez-Uchida D, Tapia B, Espinoza J, Musleh SS, Cañas D, Cañas M, Rivara P, Savaria P, Riffo C, Canales-Aguirre CB, Gonzales A, Ernst B. 2017. El salmón chinook (*Oncorhynchus tshawytscha*, Walbaum 1792) en la cuenca del Río Toltén: origen, demografía y perspectivas de explotación en pesquerías emergentes

Hardy CM, Krull ES, Hartley DM, Oliver RL. 2010. Carbon source accounting for fish using combined DNA and stable isotope analyses in a regulated lowland river weir pool. *Molecular Ecology* 19:197–212. DOI: 10.1111/j.1365-294X.2009.04411.x.

Harrod C, Stallings CD. 2021. Trophodynamics. In: S. Midway, C. Hasler, P. Chakrabarty eds. *Methods in Fish Biology*. Bethesda, MD: American Fisheries Society,.

Healey MC. 1991. Life history of chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). In: Groot C, Margolis L eds. *Pacific salmon life histories*. Vancouver, Canada: UBC press, 311–394.

Heinis JJ. 2012. Review of Biological Invasions: Economic and Environmental Costs of Alien Plant, Animal, and Microbe Species. *Journal of Agricultural & Food Information* 13:202–203. DOI: 10.1080/10496505.2012.667689.

Ibarra J, Habit E, Barra R, Solis K. 2011. Chinook salmon juveniles (*Oncorhynchus tshawytscha* Walbaum, 1792) in rivers and lakes of the Chilean patagonia. *Gayana* 75:17–25.

James GD, Unwin MJ. 1996. Diet of Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) in Canterbury coastal waters, New Zealand. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research* 30:69–78. DOI: 10.1080/00288330.1996.9516697.

Kaeriyama M, Nakamura M, Edpalina R, Bower JR, Yamaguchi H, Walker RV, Myers KW. 2004. Change in feeding ecology and trophic dynamics of Pacific salmon (*Oncorhynchus* spp.) in the central Gulf of Alaska in relation to climate events. *Fisheries Oceanography* 13:197–207. DOI: 10.1111/j.1365-2419.2004.00286.x.

Kiljunen M, Grey J, Sinisalo T, Harrod C, Immonen H, Jones RI. 2006. A revised model for lipid-normalizing  $\delta^{13}\text{C}$  values from aquatic organisms, with implications for isotope mixing models. *Journal of Applied Ecology* 43:1213–1222. DOI: 10.1111/j.1365-2664.2006.01224.x.

Liotta J. 2019. Surprising record of a Chinook Salmon *Oncorhynchus tshawytscha* (Walbaum, 1792) from the Paraná river delta in San Pedro, Buenos Aires, Argentina. *Ichthyological Contributions of Peces Criollos* 63:1–4.

Lowry E, Rollinson EJ, Laybourn AJ, Scott TE, Aiello-Lammens ME, Gray SM, Mickley J, Gurevitch J. 2013. Biological invasions: a field synopsis, systematic review, and database of the literature. *Ecology and Evolution* 3:182–196. DOI: 10.1002/ece3.431.

Manríquez K, Escribano R, Hidalgo P. 2009. The influence of coastal upwelling on the mesozooplankton community structure in the coastal zone off Central/Southern Chile as assessed by automated image analysis. *Journal of Plankton Research* 31:1075–1088. DOI: 10.1093/plankt/fbp053.

Meyerson LA, Mooney HA. 2007. Invasive Alien Species in an Era of Globalization. *Frontiers in Ecology and the Environment* 5:199–208.

Musleh SS, Seeb LW, Seeb JE, Ernst B, Neira S, Harrod C, Gomez-Uchida D. 2020. Mixed-stock analyses of migratory, non-native Chinook salmon at sea and assignment to natal sites in fresh water at their introduced range in South America. *Biological Invasions* 22:3175–3182. DOI: 10.1007/s10530-020-02319-0.

Niklitschek EJ, Toledo P. 2008. Evaluación cuantitativa de estado trófico de salmónidos de vida libre en el fiordo de Aysén, XI región. Informe final proyecto FIP 2008-30. Universidad Austral de Chile. 240 pp.

Oksanen J, Blanchet G, Kindt R, Legendre P, Minchin P, O'Hara RB, Simpson G, Solymos P, Stevens H, Wagner H. 2012. *vegan: Community ecology package*. R package version 2.0-4. <http://cran.r-project.org/web/packages/vegan/index.html>.

Palma A, Figueroa R, Ruiz VH, Araya E, Berríos P. 2002. Composición de la dieta de *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum 1792) (Pisces: Salmonidae) en un sistema fluvial de baja intervención antrópica: Estero Nonguen, VIII Región, Chile. *Gayana (Concepción)* 66:129–139. DOI: 10.4067/10.4067/S0717-65382002000200007.

Pascual MA, Ciancio JE. 2007. Introduced anadromous salmonids in Patagonia: risks, uses and a conservation paradox. In: Bert TM ed. *Ecological and Genetic Implications of Aquaculture Activities*. The Netherlands: Springer, 545.

Polito MJ, Trivelpiece WZ, Karnovsky NJ, Ng E, Patterson WP, Emslie SD. 2011. Integrating Stomach Content and Stable Isotope Analyses to Quantify the

Diets of Pygoscelid Penguins. Plos One 6:e26642. DOI: 10.1371/journal.pone.0026642.

Quinn TP. 2018. The behavior and ecology of Pacific salmon and trout. University of Washington press.

R Core Team. 2022. R: A Language and Environment for Statistical Computing.

RStudio Team. 2022. RStudio: Integrated Development Environment for R.

Saavedra-Godoy Á. 2021. Evaluación hidroacústica de los stocks de anchoveta y sardina común entre las Regiones de Valparaíso y Los Lagos, año 2021. Valparaíso: Instituto de Fomento Pesquero.

Sanguinetti M, Cid-Aguayo B, Guerrero A, Durán M, Gomez-Uchida D, Sepúlveda M. 2021. Fishers' perception of the interaction between the South American sea lions and the Chinook salmon fishery in southern Chile. Scientific Reports 11:14463. DOI: 10.1038/s41598-021-93675-x.

Sepulveda M, Oliva D. 2005. Interactions between South American sea lions *Otaria byronia* (Shaw) and salmon farms in southern Chile. Aquaculture Research 36:1062–1068. DOI: 10.1111/j.1365-2109.2005.01320.x.

Simberloff D. 2001. Biological invasions—how are they affecting us, and what can we do about them? Western North American Naturalist 61:308–315.

Sinia. 2004. Cuenca del Rio Tolten: Diagnóstico y clasificación de los cursos y cuerpos de agua según objetivos de calidad. Dirección General de Aguas.

Soto D, Arismendi I, Gonzalez J, Sanzana J, Jara F, Jara C, Guzman E, Lara A. 2006. Southern Chile, trout and salmon country: invasion patterns and threats for native species. Revista Chilena De Historia Natural 79:97–117.

Stachowicz JJ, Terwin JR, Whitlatch RB, Osman RW. 2002. Linking climate change and biological invasions: Ocean warming facilitates nonindigenous species invasions. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 99:15497–500. DOI: 10.1073/pnas.242437499.

Thomas SM, Crowther TW. 2015. Predicting rates of isotopic turnover across the animal kingdom: a synthesis of existing data. Journal of Animal Ecology 84:861–870. DOI: 10.1111/1365-2656.12326.

Vargas PV, Arismendi I, Lara G, Millar J, Peredo S. 2010. Evidence of microhabitat overlap between juvenile of introduced salmon *Oncorhynchus*

tshawytscha and the native fish *Trichomycterus areolatus* in the Allipen River, Chile. *Revista De Biología Marina Y Oceanografía* 45:285–292.

Vilata J, Oliva D, Sepulveda M. 2010. The predation of farmed salmon by South American sea lions (*Otaria byronia*) in southern Chile. *ICES J Mar Sci* 67:475–482. DOI: 10.1093/icesjms/fsp250.

Vinson MR, Angradi TR. 2011. Stomach Emptiness in Fishes: Sources of Variation and Study Design Implications. *Reviews in Fisheries Science* 19:63–73. DOI: 10.1080/10641262.2010.536856.

Walther G-R, Roques A, Hulme PE, Sykes MT, Pyšek P, Kühn I, Zobel M, Bacher S, Botta-Dukát Z, Bugmann H, Czúcz B, Dauber J, Hickler T, Jarošík V, Kenis M, Klotz S, Minchin D, Moora M, Nentwig W, Ott J, Panov VE, Reineking B, Robinet C, Semchenko V, Solarz W, Thuiller W, Vilà M, Vohland K, Settele J. 2009. Alien species in a warmer world: risks and opportunities. *Trends in Ecology & Evolution* 24:686–693. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tree.2009.06.008>.

## CONCLUSIONES

En la presente tesis se estudiaron poblaciones asilvestradas de salmónidos en Chile, se conocieron algunos de los patrones genéticos y espaciales del salmón Chinook en la zona sur del país, así como también las principales interacciones tróficas que han desarrollado las tres especies de salmónidos con la fauna nativa marina y de agua dulce.

En el primer capítulo se caracterizó genéticamente individuos de salmón Chinook de los ríos Toltén y Petrohué y sus zonas costeras adyacentes. Se encontró que los peces adultos que se encontraban en la zona costera se mantenían en la zona costera aledaña a su río de origen. Esto llevó a concluir que el salmón Chinook en Chile durante su fase oceánica permanece cerca de su río de origen y no realiza grandes migraciones como se ha reportado en su rango nativo en el hemisferio norte. Una explicación para este patrón sería la disponibilidad de peces pelágicos pequeños, principalmente sardinas y anchovetas, que resultaron ser el principal alimento de este salmónido naturalizado durante su fase oceánica.

En el segundo capítulo se estudió la relación entre los salmónidos naturalizados y entre salmónidos y la fauna nativa de las comunidades del Río Toltén. Los análisis mostraron que la trucha residente presenta una dieta más diversa y un nicho más amplio que el salmón Chinook y los peces autóctonos. Esto sugiere la presencia de diferentes niveles de impacto entre los salmónidos y la fauna nativa, tanto como competidores, depredadores o ambos, dependiendo de la especie de salmónido.

En el tercer capítulo se caracterizaron las relaciones tróficas del salmón Chinook durante su fase oceánica estudiando individuos retornantes capturados en la zona estuarina, y no retornantes capturados en la zona costera de la localidad de Toltén. Se logró identificar las principales presas del salmón Chinook en su fase oceánica, los que resultaron ser los peces pelágicos pequeños como la sardina y anchoveta. En segundo lugar se encontró que los crustáceos representaban un ítem relevante para esta especie de salmónido en los individuos no retornantes de la zona costera. Los individuos de la zona costera y estuarina de salmón Chinook presentaron diferencias en sus dietas, las que fueron principalmente explicadas por el contenido de crustáceos y peces pelágicos. En general se encontró que los individuos costeros de salmón Chinook tuvieron estómagos con un mayor número y diversidad de presas.



Como conclusión general, los salmónidos asilvestrados en Chile han desarrollado interacciones interespecíficas con especies de las comunidades que los recibieron. Dentro de estas interacciones, la depredación de especies nativas y la competencia con las mismas son algunas de las más relevantes de estudiar para conocer y monitorear los impactos de los salmónidos sobre la fauna nativa. La fauna nativa se ve afectada en distintas medidas por los efectos de la depredación y competencia, dependiendo principalmente de la especie de salmónido, sus rasgos de historia de vida y el ambiente en el cual interactúan. En agua dulce, especies de salmónidos residentes—como la truchas café y la trucha arcoíris—no presentan depredadores naturales y tienen el potencial de generar mayores efectos negativos sobre la fauna nativa, porque que interactúan con especies más vulnerables y en estados de conservación de preocupación. En la zona marina, el salmón Chinook no parecieran ser grandes amenazas para la comunidad marina, debido a que esta especie se alimenta particularmente de especies que no se encuentran en estados de conservación de cuidado, y sus poblaciones presentan remociones de individuos adultos por parte de la pesca artesanal y depredadores naturales, como los lobos marinos.

## REFERENCIAS

- Arismendi I, Gonzalez J, Soto D, Penaluna B. 2012. Piscivory and diet overlap between two non-native fishes in southern Chilean streams. *Austral Ecology* 37:346–354.
- Arismendi I, Nahuelhual L. 2007. Non-native salmon and trout recreational fishing in Lake Llanquihue, Southern Chile: Economic benefits and management implications. *Reviews in Fisheries Science* 15:311–325. DOI: 10.1080/10641260701484655.
- Arismendi I, Penaluna BE, Dunham JB, de Leaniz CG, Soto D, Fleming IA, Gomez-Uchida D, Gajardo G, Vargas PV, Leon-Munoz J. 2014. Differential invasion success of salmonids in southern Chile: patterns and hypotheses. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 24:919–941. DOI: DOI 10.1007/s11160-014-9351-0.
- Basulto S. 2003. *El largo viaje de los salmones: Una crónica olvidada: propagación y cultivo de especies acuáticas en Chile*. Santiago, Chile: Editorial Marval, Ltda.
- Berrios P, Ruiz VH, Figueroa R, Araya E, Palma A. 2002. Hábitos Alimentarios de *Salmo trutta* (Linneo, 1758) y *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792), en el Río Chillán (Chile). *Boletín de la Sociedad de Biología de Concepción* 73:103–114.
- Blackburn TM, Pyšek P, Bacher S, Carlton JT, Duncan RP, Jarošík V, Wilson JRU, Richardson DM. 2011. A proposed unified framework for biological invasions. *Trends in Ecology & Evolution* 26:333–339. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tree.2011.03.023>.
- Bravo S, Silva MT, Ciancio J, Whelan K. 2019. Size structure, age, and diets of introduced Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) inhabiting the Palena River, Chilean Patagonia. *Latin American Journal of Aquatic Research* 47:129–137. DOI: 10.3856/vol47-issue1-fulltext-14.
- Cid-Aguayo B, Ramirez A, Sepúlveda M, Gomez-Uchida D. 2021. Invasive Chinook Salmon in Chile: Stakeholder Perceptions and Management Conflicts around a New Common-use Resource. *Environmental Management* 68:814–823. DOI: 10.1007/s00267-021-01528-0.
- Correa C, Gross MR. 2008. Chinook salmon invade southern South America. *Biological Invasions* 10:615–639. DOI: 10.1007/s10530-007-9157-2.
- Di Prinzio CY, Arismendi I. 2018. Early development and diets of non-native juvenile Chinook Salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) in an invaded river of Patagonia, southern

South America. *Austral Ecology* 43:732–741. DOI: 10.1111/aec.12597.

Di Prinzio CY, Pascual M a. 2008. The establishment of exotic Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) in Pacific rivers of Chubut, Patagonia, Argentina. *Annales de Limnologie - International Journal of Limnology* 44:25–32. DOI: 10.1051/limn:2008020.

Falk-Petersen J, Bøhn T, Sandlund OT. 2006. On the Numerous Concepts in Invasion Biology. *Biological Invasions* 8:1409–1424. DOI: 10.1007/s10530-005-0710-6.

Froese R, Pauly D. 2022. Family Salmonidae - Salmonids. Available at [https://www.fishbase.se/summary/FamilySummary.php?ID=76#famList\\_tab](https://www.fishbase.se/summary/FamilySummary.php?ID=76#famList_tab) (accessed November 2, 2022).

Garcia-Berthou E. 2007. The characteristics of invasive fishes: what has been learned so far? *Journal of Fish Biology* 71:33–55. DOI: 10.1111/j.1095-8649.2007.01668.x.

Gomez-Uchida D, Cañas-Rojas D, Riva-Rossi CM, Ciancio JE, Pascual MA, Ernst B, Aedo E, Musleh SS, Valenzuela-Aguayo F, Quinn TP, Seeb JE, Seeb LW. 2018. Genetic signals of artificial and natural dispersal linked to colonization of South America by non-native Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). *Ecol Evol* 8:6192–6209.

Gomez-Uchida D, Ernst B, Aedo G, Canales-Aguirre CB, Ferrada S, Musleh SS, Rivara PE, Santelices A. 2016. *Informe Final FIP 2014-87: Estudio biológico pesquero y sanitario de la población de Salmón Chinook en la cuenca del Río Toltén*. [http://www.subpesca.cl/fipa/613/articulos-89445\\_informe\\_final.pdf](http://www.subpesca.cl/fipa/613/articulos-89445_informe_final.pdf): Subsecretaría de Pesca y Acuicultura; Fondo de Investigación Pesquera y Acuicultura.

Gomez-Uchida D, Tapia B, Espinoza J, Musleh SS, Cañas D, Cañas M, Rivara P, Savaria P, Riffo C, Canales-Aguirre CB, Gonzales A, Ernst B. 2017. El salmón chinook (*Oncorhynchus tshawytscha*, Walbaum 1792) en la cuenca del Río Toltén: origen, demografía y perspectivas de explotación en pesquerías emergentes

Habit E, Dyer B, Vila I. 2006. Estado de conocimiento de los peces dulceacuícolas de Chile. *Gayana (Concepción)* 70:100–113.

Habit E, González J, Ortiz-Sandoval J, Elgueta A, Sobenes C. 2015. Efectos de la invasión de salmónidos en ríos y lagos de Chile. *Ecosistemas* 24:43–51. DOI: 10.7818/ECOS.2015.24-1.08.

Heinis JJ. 2012. Review of Biological Invasions: Economic and Environmental Costs of

Alien Plant, Animal, and Microbe Species. *Journal of Agricultural & Food Information* 13:202–203. DOI: 10.1080/10496505.2012.667689.

Ibarra J, Habit E, Barra R, Solis K. 2011. Chinook salmon juveniles (*Oncorhynchus tshawytscha* Walbaum, 1792) in rivers and lakes of the Chilean patagonia. *Gayana* 75:17–25.

Iizuka M, Roje P, Vera V. 2016. The Development of Salmon Aquaculture in Chile into an Internationally Competitive Industry: 1985–2007. In: Hosono A, Iizuka M, Katz J eds. *Chile's Salmon Industry: Policy Challenges in Managing Public Goods*. Tokyo: Springer Japan, 75–107. DOI: 10.1007/978-4-431-55766-1\_4.

Leprieur F, Brosse S, Garcia-Berthou E, Oberdorff T, Olden JD, Townsend CR. 2009. Scientific uncertainty and the assessment of risks posed by non-native freshwater fishes. *Fish Fish* 10:88–97. DOI: DOI 10.1111/j.1467-2979.2008.00314.x.

Lowry E, Rollinson EJ, Laybourn AJ, Scott TE, Aiello-Lammens ME, Gray SM, Mickley J, Gurevitch J. 2013. Biological invasions: a field synopsis, systematic review, and database of the literature. *Ecology and Evolution* 3:182–196. DOI: 10.1002/ece3.431.

Marr SM, Marchetti MP, Olden JD, Garcia-Berthou E, Morgan DL, Arismendi I, Day JA, Griffiths CL, Skelton PH. 2010. Freshwater fish introductions in mediterranean-climate regions: are there commonalities in the conservation problem? *Diversity and Distributions* 16:606–619. DOI: 10.1111/j.1472-4642.2010.00669.x.

Meyerson LA, Mooney HA. 2007. Invasive Alien Species in an Era of Globalization. *Frontiers in Ecology and the Environment* 5:199–208.

Ministerio del Medio Ambiente. 2018. Inventario nacional de especies de Chile

Niklitschek EJ, Toledo P. 2008. Evaluación cuantitativa de estado trófico de salmónidos de vida libre en el fiordo de Aysén, XI región. Informe final proyecto FIP 2008-30. Universidad Austral de Chile. 240 pp.

Ortiz-Sandoval JJ. 2014. Interferencia trófica de salmónidos sobre peces ictiófagos nativos en lagos patagónicos de Chile. Concepción, Chile: Universidad de Concepción.

Ortiz-Sandoval JJ, Górski K, González-Díaz A, Habit E. 2015. Trophic scaling of *Percichthys trucha* (*Percichthyidae*) in monospecific and multispecific lakes in western Patagonia. *Limnologia* 53:50–59. DOI: 10.1016/j.limno.2015.05.006.

- Palma A, Figueroa R, Ruiz VH, Araya E, Berríos P. 2002. Composición de la dieta de *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum 1792) (Pisces: Salmonidae) en un sistema fluvial de baja intervención antrópica: Estero Nonguen , VIII Región, Chile. *Gayana (Concepción)* 66:129–139. DOI: 10.4067/10.4067/S0717-65382002000200007.
- Pardo R, Vila I, Capella JJ. 2009. Competitive interaction between introduced rainbow trout and native silverside in a Chilean stream. *Environmental Biology of Fishes* 86:353–359. DOI: 10.1007/s10641-009-9532-1.
- Pascual M, Bentzen P, Rossi CR, Mackey G, Kinnison MT, Walker R. 2001. First documented case of anadromy in a population of introduced rainbow trout in Patagonia, Argentina. *Transactions of the American Fisheries Society* 130:53–67. DOI: 10.1577/1548-8659(2001)130<0053:fdcoai>2.0.co;2.
- Pascual MA, Ciancio JE. 2007. Introduced anadromous salmonids in Patagonia: risks, uses and a conservation paradox. In: Bert TM ed. *Ecological and Genetic Implications of Aquaculture Activities*. The Netherlands: Springer, 545.
- Pascual MA, Lancelotti JL, Ernst B, Ciancio JE, Aedo E, García-Asorey M. 2009. Scale, connectivity, and incentives in the introduction and management of non-native species: The case of exotic salmonids in Patagonia. *Frontiers in Ecology and the Environment* 7:533–540. DOI: 10.1890/070127.
- Quinn TP. 2018. *The behavior and ecology of Pacific salmon and trout*. University of Washington press.
- Rivera Escobar LP. 2014. Caracterización biológica del salmón chinook (*Oncorhynchus tshawytscha* , walbaum , 1792 ), capturado en el Río Palena X Región de Chile. Tesis para Optar al Título de Ingeniero en Acuicultura. Universidad Austral de Chile.
- Sepulveda M, Arismendi I, Soto D, Jara F, Farias F. 2013. Escaped farmed salmon and trout in Chile: incidence, impacts, and the need for an ecosystem view. *Aquaculture Environment Interactions* 4:273–283.
- Sepulveda M, Newsome SD, Pavez G, Oliva D, Costa DP, Huckstadt LA. 2015. Using Satellite Tracking and Isotopic Information to Characterize the Impact of South American Sea Lions on Salmonid Aquaculture in Southern Chile. *Plos One* 10. DOI: ARTN e0134926 10.1371/journal.pone.0134926.
- Sepulveda M, Perez MJ, Sielfeld W, Oliva D, Duran LR, Rodriguez L, Araos V, Buscaglia M. 2007. Operational interaction between South American sea lions *Otaria*

flavescens and artisanal (small-scale) fishing in Chile: Results from interview surveys and on-board observations. *Fish Res* 83:332–340. DOI: 10.1016/j.fishres.2006.10.009.

Shepard BB, Arismendi I, David B, Caudron A, Dedual M, Draper M, Hogan Z, Impson D, Penaluna BE, Vermilion D, Young K. 2019. Global Perspectives on the Management of Trout and Char. In: *Trout and Char of the World*. Bethesda: American Fisheries Society, 777.

Simberloff D. 2001. Biological invasions—how are they affecting us, and what can we do about them? *Western North American Naturalist* 61:308–315.

Soto D, Arismendi I, Di Prinzio C, Jara F. 2007. Establishment of Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) in Pacific basins of southern South America and its potential ecosystem implications. *Revista Chilena De Historia Natural* 80:81–98.

Soto D, Arismendi I, Gonzalez J, Sanzana J, Jara F, Jara C, Guzman E, Lara A. 2006. Southern Chile, trout and salmon country: invasion patterns and threats for native species. *Revista Chilena De Historia Natural* 79:97–117.

Soto D, Arismendi I, Olivos JA, Canales-Aguirre CB, Leon-Muñoz J, Niklitschek EJ, Sepúlveda M, Paredes F, Gomez-Uchida D, Soria-Galvarro Y. 2023. Environmental risk assessment of non-native salmonid escapes from net pens in the Chilean Patagonia. *Reviews in Aquaculture* 15:198–219. DOI: 10.1111/raq.12711.

Soto D, Jara F, Moreno C. 2001. Escaped salmon in the inner seas, southern Chile: Facing ecological and social conflicts. *Ecological Applications* 11:1750–1762. DOI: 10.2307/3061093.

Stachowicz JJ, Terwin JR, Whitlatch RB, Osman RW. 2002. Linking climate change and biological invasions: Ocean warming facilitates nonindigenous species invasions. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 99:15497–500. DOI: 10.1073/pnas.242437499.

Vargas PV, Arismendi I, Lara G, Millar J, Peredo S. 2010. Evidence of microhabitat overlap between juvenile of introduced salmon *Oncorhynchus tshawytscha* and the native fish *Trichomycterus areolatus* in the Allipen River, Chile. *Revista De Biología Marina Y Oceanografía* 45:285–292.

Walther G-R, Roques A, Hulme PE, Sykes MT, Pyšek P, Kühn I, Zobel M, Bacher S, Botta-Dukát Z, Bugmann H, Czúcz B, Dauber J, Hickler T, Jarošík V, Kenis M, Klotz S, Minchin D, Moora M, Nentwig W, Ott J, Panov VE, Reineking B, Robinet C,

Semenchenko V, Solarz W, Thuiller W, Vilà M, Vohland K, Settele J. 2009. Alien species in a warmer world: risks and opportunities. *Trends in Ecology & Evolution* 24:686–693. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tree.2009.06.008>.