



**Universidad de Concepción
Dirección de Postgrado
Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas
Programa de Magister en Ciencias c/m en Pesquerías**

Efectos genéticos y ecológicos de la presencia de pisciculturas sobre poblaciones asilvestradas de Trucha Arcoíris *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792) en el Sur de Chile.



Tesis para optar al grado de Magíster en Ciencias con Mención en
Pesquerías

DIEGO EDUARDO CAÑAS ROJAS

CONCEPCIÓN-CHILE

2019

**Profesor Guía: Daniel Gómez Uchida
Depto. de Zoología
Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas
Universidad de Concepción**

La presente tesis se realizó en el Departamento de Oceanografía de la Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas de la Universidad de Concepción y ha sido aprobada por la siguiente Comisión Evaluadora.

Profesor Guía

Dr. Daniel Gomez Uchida
Departamento de Zoología
Universidad de Concepción

Comisión Evaluadora



Dr. Cristian Canales Aguirre
Centro de Investigación y Desarrollo de Recursos y Ambientes Costeros
Universidad de los Lagos

Dr. Jose Manuel Yañez Lopez
Departamento de Medicina Preventiva Animal

Director de Programa

Dr. Luis Antonio Cubillos Santander
Departamento de Oceanografía
Universidad de Concepción

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo no hubiera sido realizado sin la colaboración del equipo del Laboratorio de Genómica en Evolución, Ecología, y Conservación (GEECLAB), por lo cual es necesario agradecer a todos los miembros de este equipo de trabajo, en especial al profesional Selim Musleh y al Dr. Daniel Gómez, por su gran disposición y apoyo constante durante la realización de este trabajo.

También es importante recalcar el apoyo brindado por los Biólogos Mauricio Cañas y Pablo Savaria, y por el Biólogo Marino Pablo Rivara, los cuales formaron parte importante en el equipo de muestreo en terreno, que permitió desarrollar esta investigación.

Incluyo en los agradecimientos a los Doctores Lisa y James Seeb, y a Carita Pascal, por su importante aporte en el área genética de este estudio, incluyendo tipificación de SNPs y manejo de bases de datos. Y también a todo el equipo del Laboratorio de Genética y Acuicultura (ACUIGEN), los cuales aportaron con excelentes instalaciones y equipos de laboratorio para realizar la extracción de ADN.

Agradezco también a los Doctores Cristian Canales y José Manuel Yañez por su buena disposición a formar parte de la comisión evaluadora, aportando con sugerencias importantes durante el desarrollo del Proyecto de tesis y de la Tesis de Magister.

Por último, es necesario agradecer a las fuentes de financiamiento, que incluyen al proyecto de la Corporación de los Ríos 23801.564.516, y al Núcleo Milenio de Salmónidos Invasores (INVASAL). Y también al programa de Evaluación y Seguimiento de la Situación Sanitaria de Especies Silvestres en agua dulce y mar, del Instituto de Fomento Pesquero (IFOP), por la facilitación de muestras que fueron utilizadas en este trabajo.

TABLA DE CONTENIDOS

RESUMEN.....	vii
ABSTRACT.....	viii
INTRODUCCION.....	1
HIPOTESIS.....	7
OBJETIVOS.....	8
- Objetivo General.....	8
- Objetivo Específicos.....	8
METODOLOGIA.....	9
Área de Estudio.....	9
Recolección de datos.....	10
Extracción de ADN y tipificación de SNPs.....	11
Análisis exploratorios y estructuración genética.....	11
Análisis de asignación genética individual.....	12
Identificación de híbridos escapados-naturalizados.....	12
Determinación efectos ecológicos y genéticos en relación a distancia geográfica de centros de cultivo.....	13
RESULTADOS.....	15
Análisis exploratorios y estructuración genética.....	15
Análisis de asignación genética individual.....	17
Identificación de híbridos escapados-naturalizados.....	19
Determinación efectos ecológicos y genéticos en relación a distancia geográfica de centros de cultivo.....	20
DISCUSION.....	26
Estructuración y diversidad genética.....	26
Asignación genética individual.....	26
Identificación de híbridos escapados-naturalizados.....	28
Determinación efectos ecológicos y genéticos en relación a distancia geográfica de centros de cultivo.....	29
CONCLUSIONES.....	31
BIBLIOGRAFIA.....	32

INDICE FIGURAS

Figura 1: Área de estudio, sitios de muestreo y ubicación de centros de cultivo.....	10
Figura 2: PCoA construido a partir de la matriz de distancia genética F_{st}	16
Figura 3: Resultados del DAPC que muestra el nivel de estructuración genética entre ambas cuencas analizadas.....	16
Figura 4: Grafico DAPC de base de datos de Genotipos y sus respectivos grupos de referencia.....	17
Figura 5. Resultados de análisis de asignación genética individual, los colores representan los porcentajes de asignación a los grupo de referencia.....	18
Figura 6: Regresión lineal entre distancia a centros de cultivo y abundancia relativa para las localidades de la Cuenca del Río Valdivia (a) y la Cuenca del Río Bueno (b)....	22
Figura7: Regresión lineal entre distancia a centros de cultivo y numero de híbridos detectados por localidad, para las localidades de la Cuenca del Río Valdivia (a) y la Cuenca del Río Bueno (b).....	23
Figura 8: Regresión lineal entre distancia a centros de cultivo y diversidad genética para las localidades de la Cuenca del Río Valdivia (a) y la Cuenca del Río Bueno (b).....	24
Figura 9: Regresión lineal entre distancia a centros de cultivo y el porcentaje de asignación genética a centros de cultivo, para las localidades de la Cuenca del Río Valdivia (a) y la Cuenca del Río Bueno (b).....	25

INDICE TABLAS

Tabla 1: Valores de diversidad genética (H_E) para cada localidad analizada.....	15
Tabla 2. Resumen de resultados de análisis de identificación de híbridos en individuos muestreados en ambas cuencas.....	20



RESUMEN

O. mykiss es probablemente la especie de salmónido introducido en Chile más exitosa. Introducida en diferentes ríos y lagos desde inicios del Siglo XX con fines recreativos, y luego reintroducida producto de la instalación de centros de cultivo en los años 70's en el Sur de Chile. Estas introducciones han generado que esta especie actualmente este establecida en la mayoría de los ríos del país generando diversos efectos en el ecosistema y también en las comunidades que aprovechan la existencia de esta especie como un recurso.

Los ríos de la Región de los Ríos en el sur de Chile sustentan actualmente poblaciones establecidas de *O. mykiss*, que a pesar de llevar décadas de haber sido introducidas con fines recreativos, probablemente siguen siendo alteradas debido al desarrollo de centros de cultivo, generando incerteza respecto al tamaño y la composición genética de las poblaciones.

Este trabajo evidencia del efecto que producen los centros de cultivo en las poblaciones establecidas de *O. mykiss*, mediante el uso de herramientas genéticas (SNPs) e información ecológica de las poblaciones, encontrando que los ríos cercanos a los centros presentan mayores valores de abundancia relativa de juveniles, que además son genéticamente similares a ejemplares de centros de cultivo, revelando incluso la presencia de hibridación entre individuos escapados e individuos asilvestrados en los diferentes ríos muestreados. La composición actual de estas poblaciones es bastante compleja y que la presencia de los centros de cultivos debe ser considerada en la elaboración de futuros planes de manejo.

ABSTRACT

O. mykiss is probably the most successful salmonid species introduced in Chile. Introduced in different rivers and lakes since the early 1900's for recreational purposes, and then reintroduced as a result of the installation of farming centers in the 70's in southern Chile. These introductions have generated that this species is currently established in most of the rivers of the country generating different effects on the ecosystem and also on the communities that take advantage of the existence of this species as a resource.

The rivers from Región de los Rios in southern Chile currently support established populations of *O. mykiss*, which despite having been introduced for recreational purposes for decades, probably continue to be altered due to the constant presence of aquaculture centers, generating uncertainty regarding the size and genetic composition of the populations.

This study shows evidence of the effect produced by the aquaculture centers in the established populations of *O. mykiss*, through the use of genetic tools (SNPs) and ecological information of the populations, finding that the rivers near the aquaculture centers have higher values of relative abundance of juveniles, which are also genetically similar to individuals from culture centers, revealing even the presence of hybridization between escaped individuals and wild individuals in the different rivers sampled. Showing that the current composition of these populations is quite complex and that the presence of the culture centers should be considered in the development of future management plans.

INTRODUCCIÓN

Entre los diferentes efectos producidos por la intervención humana en los ecosistemas, uno de los más estudiados es la introducción de especies exóticas a nuevos ambientes (Sakai *et al.* 2001). Estas introducciones pueden generar “invasiones biológicas”, término definido como el establecimiento, naturalización y propagación de una especie exótica, aumentando su rango de distribución, lo cual genera alteraciones significativas en el ecosistema colonizado (Falk-Petersen *et al.* 2006). Entre los efectos producidos por una especie invasora destacan la pérdida de biodiversidad, la alteración del funcionamiento del ecosistema invadido, problemas económicos y sociales (Consuegra *et al.* 2011a). A pesar de los efectos negativos de la introducción de especies exóticas muchas de estas se han convertido en parte importante del desarrollo económico de algunos países, como es el caso de los salmónidos en Chile (Arismendi & Nahuelhual 2007). Los salmónidos son un grupo de peces originarios del Hemisferio Norte introducidos desde hace más de un siglo en Chile con fines de pesca recreativa y para el desarrollo de la acuicultura (Pascual *et al.* 2002). Entre las especies introducidas destaca el Salmón Coho (*Oncorhynchus kisutch* Walbaum, 1792), el Salmón Chinook (*Oncorhynchus tshawytscha* Walbaum, 1792), la Trucha Café (*Salmo trutta* Linnaeus, 1758) y la Trucha Arcoíris (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792). Esta última considerada como el salmónido más abundante en los ríos y lagos de Chile, y una de las 100 especies invasoras más dañinas del mundo (Lowe *et al.* 2004).

La Trucha Arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) posee un tamaño corporal que normalmente varía desde los 40 cm hasta más de los 100 cm en estado adulto, y se distribuye naturalmente desde las costas y ríos de la península de Kamchatka en el Noroeste de Asia, y en las costas y ríos desde Alaska hasta México en el Noreste de América (Page *et al.* 1991). Esta especie a diferencia de otros salmónidos del Pacífico es iterópara, lo que significa que tiene más de un evento reproductivo a lo largo de su ciclo de vida (Quinn 2005). Además, al igual que los demás taxones de este grupo, esta especie presenta filopatría, es decir, los individuos de esta especie retornan al sitio donde nacieron para reproducirse (Arismendi *et al.* 2011). Esta especie presenta variación en su ciclo de vida conformada por dos diferentes ecotipos, el primero corresponde al

morfotipo “*Trucha Arcoíris*” (Rainbow Trout) correspondiente a los individuos residentes en cuerpos dulceacuícolas durante todo su ciclo de vida. Este tipo de historia de vida comienza con el nacimiento de individuos en esteros y ríos; luego de unos meses migran hacia cuerpos hidrográficos de mayor tamaño, como lagos o ríos principales, donde continúan su etapa de alimentación o engorda. Una vez alcanzada la madurez sexual los individuos retornan a los esteros donde nacieron para reproducirse, repitiendo este ciclo anualmente. El otro ecotipo denominado “*Steelhead*” se caracteriza por ser anádromo, es decir que parte de su ciclo de vida no solo se desarrolla en agua dulce si no también en zonas marinas. Al igual que en el morfotipo “*Trucha Arcoíris*” los alevines nacen en cuerpos dulceacuícolas, los cuales luego de algunos meses migran hacia el océano para comenzar su etapa de alimentación, una vez que maduran sexualmente migran de regreso a sus ríos de origen para reproducirse por única vez, ya que los adultos retornan a desovar y luego mueren (Quinn 2005).

Oncorhynchus mykiss se caracteriza por poseer una gran capacidad de adaptación a nuevos ambientes además de poseer una rápida tasa de crecimiento; esto sumado a intereses económicos explica por qué ha sido exitosamente introducida en numerosos cursos de agua a lo largo de todo el mundo (Gozlan 2008; Iriarte *et al.* 2005). Actualmente la Trucha Arcoíris ha logrado establecerse exitosamente en numerosos ríos en todos los continentes a excepción de la Antártida, generando significativas alteraciones ecosistémicas de los sitios que ha colonizado (Gozlan 2010; Simon & Townsend 2003). Entre estas consecuencias existen grandes cambios en la estructura comunitaria, y una disminución de la diversidad de especies nativas, alterando la distribución de estas (Arismendi & Soto 2012; Figueroa *et al.* 2010; Habit *et al.* 2010).

En Chile, uno de los países en los esta especie ha sido introducida, existen numerosas poblaciones asilvestradas de Trucha Arcoíris, las que abarcan prácticamente todo el territorio continental nacional. Estas poblaciones son el producto de numerosas introducciones que han sido realizadas desde hace ya más de un siglo (Habit *et al.* 2014). Los eventos de introducción comenzaron a finales del siglo XIX, los cuales al parecer no fueron realmente exitosos. En 1905, en una piscicultura ubicada en el Río Aconcagua, se logró introducir de forma exitosa ejemplares de Trucha Arcoíris provenientes de Hamburgo, Alemania, a partir de esta piscicultura se logró comenzar a poblar con éxito varios ríos de la Región Metropolitana, Región del Libertador General

Bernardo O'Higgins, Región del Maule, Región de Coquimbo y Región de los Ríos (Basulto 2003a; Cárcamo *et al.* 2015; Crawford & Muir 2008). Estas introducciones se realizaron con la finalidad de promover actividades de pesca recreativa, las cuales contaron con el apoyo del gobierno de la época (Basulto 2003a). En 1910 se estableció una piscicultura temporal en el Río Maullín (Región de Los Lagos) con la finalidad de poblar los ríos del Sur de Chile, y posteriormente, en 1916, comienza a funcionar la Piscicultura de Lautaro ubicada en el Río Cautín, Región de la Araucanía. Ambas pisciculturas utilizaron ejemplares provenientes de Alemania (Cárcamo *et al.* 2015). En los siguientes años se instauraron nuevas siembras y repoblamientos de Trucha Arcoíris en numerosos ríos de la zona centro y sur de Chile. En 1932 se realizaron las primeras introducciones en el Lago Todos Los Santos (Región de los Lagos) las cuales fueron realizadas por pescadores recreativos. Luego en 1952 se inauguró la piscicultura de Polcura establecida en el Río Ñuble, Región de Ñuble (Basulto 2003a). Durante el año 1969 se realiza el primer ensayo de piscicultura comercial del país, el cual fue realizado en el Lago Llanquihue, a partir de esto, el motivo principal de introducción de truchas arcoíris y de otros salmónidos fue establecer centros de cultivo (León-Muñoz *et al.* 2007). Entre 1984 y 1991, el gobierno otorgó alrededor de 32 concesiones para el cultivo de salmónidos en diferentes lagos de las regiones, de la Araucanía, de los Ríos y de los Lagos (Basulto 2003a; León-Muñoz *et al.* 2007). Esta actividad ha tenido un crecimiento exponencial, aumentando desde 10.000 toneladas en el año 1988 a 843 mil toneladas en el año 2018 (León-Muñoz *et al.* 2007). Estas cifras han transformado a Chile en uno de los países con mayor desarrollo de salmonicultura en América y en el segundo exportador de salmónidos a nivel mundial (Benavente 2016; SUBPESCA 2019). Trayendo consigo numerosos impactos ambientales en los ríos del Sur de Chile, uno de estos son los denominados escapes de centros de cultivo, definidos como eventos accidentales en el que numerosos individuos logran escapar de sus instalaciones de contención, liberándolos al ambiente (Sepulveda *et al.* 2013). La magnitud de estos eventos es tal, que ya desde el 2005, el Diálogo Internacional sobre Salmonicultura identificó a los escapes de salmónidos como uno de los impactos claves sobre los cuales se deben desarrollar los estándares globales para la certificación de la actividad. Así, el Comité Directivo del Diálogo encargó la elaboración de un estudio para conocer la situación de los escapes de salmónidos en los distintos países productores. Este estudio, publicado en 2008, determinó a Chile como uno de los países con menor información pública y disponible para poder avanzar en la reducción de los escapes y, por ende, en la

disminución de los impactos que estos peces causan sobre la biodiversidad marina y dulceacuícola (Sepúlveda *et al.* 2009).

Desde que comenzaron a instalarse pisciculturas hasta la actualidad, en Chile, se han registrado y cuantificado escapes de individuos desde centros de cultivo, todos enfocados principalmente en eventos ocurridos en zonas marinas costeras, dejando de lado los posibles escapes que pueden ocurrir en cuerpos de agua dulce, de los cuales no existen registros cuantitativos ni publicaciones relacionadas, a pesar de que los posibles efectos producidos son tan o más importante que los que ocurren en agua salada (Arismendi *et al.* 2009; Sepulveda *et al.* 2013). Además de los efectos ambientales de los escapes, estos también influyen notoriamente en las poblaciones ya asilvestradas de Trucha Arcoíris, ya que generan una mayor presión de propágulos, aumentando el número poblacional de las poblaciones cercanas, además de generar entrecruzamiento entre individuos asilvestrados y escapados, influyendo genotípica y fenotípicamente en las poblaciones que se han establecido desde hace décadas en los ríos y lagos cercanos (Benavente 2016; Benavente *et al.* 2015; Monzon-Arguello *et al.* 2014). Existen estudios recientes en los que se comparan poblaciones de Trucha Arcoíris con o sin interacción de centros de cultivo, revelando que las poblaciones expuestas a centros de cultivo, presentan mayor diversidad genética, menor estructuración genética y mayor número efectivo de reproductores (Canales-Aguirre *et al.* 2018b).

Si bien está comprobado el efecto negativo que generan la introducción de salmónidos en los ríos de Chile (Benavente 2016; Habit *et al.* 2012; Soto *et al.* 2006), actualmente las diferentes especies introducidas y establecidas sustentan importantes actividades económicas, ya que no solo existen numerosos centros de acuicultura establecidos en los ríos patagónicos, sino también, la presencia de poblaciones de salmónidos asilvestrados sustentan actividades de pesca recreativa en gran parte de los cuerpos hidrográficos de la Patagonia. Esta dualidad es prácticamente paradójica dificultando la elaboración de procedimientos de manejo ante la presencia de numerosas aristas a considerar (Pascual *et al.* 2007). Es por esto que estudiar los procesos que ocurren durante el establecimiento de las poblaciones de salmónidos, además del efecto de las pisciculturas sobre estas poblaciones es de utilidad no solo desde un punto de vista ecológico y de conservación de los ecosistemas acuáticos, sino también aplicable como información necesaria en la realización de planes de manejo de las poblaciones

establecidas, para ser administradas con la finalidad de sustentar las diferentes actividades que se abastecen de estas (Gomez Uchida *et al.* 2017).

Una de las herramientas que ha sido utilizada para estudiar a las poblaciones establecidas de salmónidos es mediante la aplicación de marcadores moleculares, los cuales no solo permiten estudiar estos procesos de un punto de vista evolutivo sino también son de gran utilidad para determinar el origen de las poblaciones de interés y si estas se han ido modificando con el paso de las generaciones (Cadiz 2014). Se ha reportado que al introducir una especie en un nuevo rango de distribución ocurren diferentes cambios genéticos en la población, de estos, destacan la pérdida de diversidad genética a través del efecto fundador (Novak & Mack 2005), lo cual reduce su potencial evolutivo generando que un menor número de individuos logre colonizar este nuevo ambiente. Sin embargo este proceso no siempre ocurre de esta manera como es el caso de los salmónidos introducidos en Chile, específicamente, en las poblaciones de Trucha Arcoíris; donde existe una mayor presión de propágulos y múltiples eventos de introducción intencionales y accidentales. En este caso la pérdida de diversidad genética puede revertirse (Hufbauer *et al.* 2013; Kolbe *et al.* 2004; Novak & Mack 2005), proporcionándoles mayor potencial de adaptación y/o divergencia, generando que un mayor número de individuos logre colonizar este nuevo ambiente. Consuegra *et al.* (2011a) sugiere que las poblaciones naturalizadas de salmónidos pueden beneficiarse de la hibridación con individuos escapados, ya que la mezcla entre estos dos grupos genéticos de diferente origen puede generar un aumento de la diversidad genética. Esto se encuentra íntimamente relacionado con una alta presión de propágulos, lo cual puede incrementar el fitness y facilitar la adaptación local (Reed & Frankham 2003).

Existen estudios recientes de la estructura genética en poblaciones asilvestradas de truchas arcoíris y el efecto de la pisciculturas, como es el caso de Cadiz (2014), trabajo enfocado en estudiar dos sistemas lacustres de la X región, uno de estos impactado por la presencia de pisciculturas (Lago Llanquihue), y otro ubicado en un parque nacional (Vicente Perez Rosales, Lago Todos Los Santos) con poblaciones de Trucha Arcoíris establecidas hace más de cien años. Este trabajo revela una evidente relación entre la actividad de pisciculturas y una mayor diversidad genética en comparación con ambientes libres de estas, sugiriendo que el efecto de los escapes de ejemplares genera efectos en las poblaciones asilvestradas. Otro trabajo de gran relevancia es de

Benavente (2016), el cual abarca un amplio rango geográfico recopilando datos de genotipos de Trucha Arcoíris de numerosas poblaciones a lo largo de casi todo el territorio de Chile, este trabajo descifró el posible origen de cada una de estas poblaciones utilizando diferentes marcadores moleculares, además de establecer patrones de estructuración genética, los cuales muestran estar ligados a su compleja historia de introducción (múltiples eventos de introducción con diferentes fines).

Entre las numerosos ríos de Chile donde existen poblaciones de Trucha Arcoíris establecidas, la Región de los Ríos ofrece un escenario interesante el cual aun no sido del todo estudiado. En esta región existe una fuerte presencia de especies salmónidas establecidas, como el Salmón Chinook, el Salmón Coho, la Trucha Café, y la Trucha Arcoíris (Soto *et al.* 2006). Todas estas especies son el principal sustento de las actividades de pesca recreativa de la región, siendo la Trucha Arcoíris la especie más abundante y ampliamente distribuida, estando presente en la mayoría de ríos pertenecientes a las dos grandes cuencas de la región; la cuenca del Río Valdivia y la cuenca del Río Bueno (Gomez Uchida *et al.* 2017). Investigaciones recientes en los ríos de esta región, han logrado cuantificar la abundancia relativa de juveniles de Trucha Arcoíris en numerosos ríos, de los cuales aún se desconoce el origen de estas poblaciones, y los posibles efectos ecológicos producidos por la interacción con los centros de cultivo cercanos.

HIPOTESIS

La influencia de los centros de cultivos de Trucha Arcoíris en las cuencas del Río Bueno y del Río Valdivia sobre las poblaciones ya asilvestradas, generan efectos que se pueden evaluar en dos niveles:

1. A nivel genético, debido a que la posible presencia de escapados genera entrecruzamiento e hibridación entre estos dos grupos diferentes, además de aumentar su diversidad genética.
2. A nivel ecológico, debido a que los centros de cultivo pueden introducir numerosos individuos nuevos a la población, los cuales aumentarían los valores de abundancia relativa en los sectores más cercanos a los centros de cultivo.



OBJETIVOS

Objetivo General

Evidenciar los efectos genéticos y ecológicos de la presencia de pisciculturas sobre la abundancia, la diversidad genética y el grado de mezcla o hibridación en poblaciones asilvestradas de Trucha Arcoíris, en las Cuencas del Río Bueno y Río Valdivia.

Objetivos Específicos

- 1- Evaluar el nivel de estructuración genética y la diversidad genética de las diferentes localidades en las Cuencas del Río Bueno y Río Valdivia.
- 2- Determinar el origen genético de los individuos de *O. mykiss* analizados (adultos y juveniles) e identificar si corresponden a individuos provenientes de pisciculturas o a individuos asilvestrados.
- 3- Identificar la presencia de híbridos producto del cruzamiento entre individuos asilvestrados y escapados de centros de cultivos.
- 4- Evaluar posibles efectos de los centros de cultivo sobre variables ecológicas y genéticas de la población de Trucha Arcoíris, y determinar la variación de estas con la distancia geográfica a los centros de cultivo.

METODOLOGIA

Área de Estudio:

Este trabajo se construye en base a información presente en dos grandes cuencas hidrográficas de la Región de los Ríos, La cuenca del Río Valdivia y la cuenca del Río Bueno.

La cuenca hidrográfica del Río Valdivia se extiende desde la latitud 39°20'S hasta la latitud 40°10'S. Según la información reportada en MOP-DGA (2004b), la hoya del Río Valdivia forma parte de la Región de Los Ríos y es la primera que se genera más allá de la línea de frontera con Argentina, constituyendo, por lo tanto, una hoya calificada como trasandina. Se caracteriza fundamentalmente por contener en su curso alto, una cadena de grandes lagos dispuestos en serie. La extensión total de la cuenca es de 10.275 km². Dos grandes ríos concurren a formar el Río Valdivia en la ciudad del mismo nombre, a 15 km del mar: el Río Calle-Calle, que es el más importante y proviene del oriente, y el Río Cruces, que se genera enteramente en territorio nacional y proviene del norte, constituyendo una subcuenca preandina.

Basados en la información recolectada por el MOP-DGA (2004a) el Río Bueno forma parte de la Región de los Ríos, con una extensión de 15.367 km², siendo la 5° cuenca más grande de Chile y extendiendo su cuenca hidrográfica desde los 39°50' hasta los 41°05' de latitud sur. En el tercio oriental existe una gran densidad de lagos de variadas dimensiones. Lagos destacados son: Ranco, Puyehue y Rupanco. El Río Bueno nace al oeste del Río Ranco y desemboca después de un recorrido de 130 km de este a oeste en el Océano Pacífico en punta Dehui. En su curso superior, la pendiente es fuerte y el río angosto y profundo, ubicado entre barrancos mayores a 50 m de altura. En el primer tramo del río se intercalan varios rápidos. En su curso medio, la corriente disminuye su velocidad y es menos escarpado. El curso inferior es lento y caudaloso pudiendo incluso ser navegado por pequeñas embarcaciones. El Río Bueno recibe sus más importantes tributarios desde el sur, donde alcanza mayor desarrollo.

Recolección de datos:

Los datos fueron obtenidos durante el año 2016 correspondientes a muestreos realizados durante la ejecución del proyecto de la Corporación de Desarrollo Productivo de la Región de los Ríos titulado “Identificación de zonas de desove y alevinaje de especies ícticas de interés para la pesca recreativa en la Región de los Ríos” (Proyecto FCNO-UDEC #23801.564.516). Durante este proyecto se realizaron alrededor 32 muestreos en 16 ríos en ambas cuencas. El método de captura fue mediante un equipo de pesca eléctrica, método utilizado para obtener ejemplares con tallas generalmente inferiores a 20 cm. Además se realizaron otras capturas de ejemplares de mayor tamaño a partir del uso de cañas de pesca con mosca y spinner, en los ríos con mayor tamaño y profundidad, en total se capturaron 190 individuos. Cada individuo muestreado fue medido (longitud total y horquilla) utilizando un ictiómetro, y pesado a partir con una balanza digital; luego a cada individuo se le extrajo un trozo de tejido de la aleta caudal y de la aleta adiposa, y preservados en etanol 96% en tubos criogénicos y transportados al laboratorio AcuiGen de la Universidad de Concepción, donde las muestras se encuentran preservadas a una temperatura de -20°C . Además de los muestreos realizados, cada sitio de muestreo fue georreferenciado utilizando gps (figura 1).

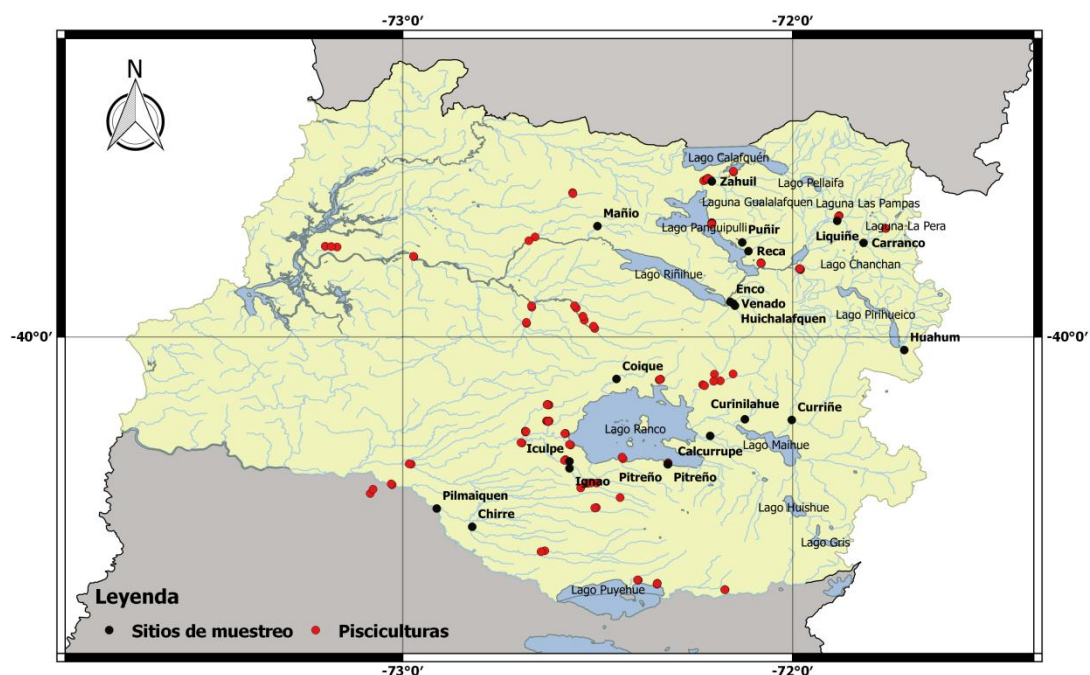


Figura 1: Área de estudio, sitios de muestreo y ubicación de centros de cultivo (fuente: Elaboración propia).

Extracción de ADN y tipificación de SNPs:

Se seleccionaron 190 individuos y a estos se les realizó una extracción de ADN en el laboratorio AcuiGen utilizando el Kit NucleoSpin Tissue (Macherey-Nagel). El ADN extraído fue cuantificado utilizando un espectrofotómetro NanoDrop 2000 en el Laboratorio de Genética y Biotecnología Acuícola del Centro de Biotecnología de la Universidad de Concepción. Luego se realizó la tipificación de las muestras en un panel de 96 SNPs utilizados por Benavente et al. (2015) mediante PCR masiva utilizando chips Fluidigm® 96.96, siguiendo las indicaciones de (Seeb *et al.* 2009). De los 96 SNPs, dos marcadores son utilizados para la identificación de otras especies salmonídeas (e.g. salmón Coho y salmón del Atlántico).

Los SNPs son marcadores moleculares muy utilizados en estudios genéticos para estudiar evolución (Seeb *et al.* 2011). Estos se definen como un cambio único de una base en una secuencia de ADN con una alternativa usual de dos nucleótidos posibles en una posición dada (Vignal *et al.* 2002). Estos pueden utilizarse para diversas aplicaciones tales como la construcción de mapas genéticos de alta resolución, rasgos de mapeo, diagnósticos genéticos, análisis de estructura genética en poblaciones, análisis filogenético, etc (Rafalski 2002). Una ventaja importante de los SNPs es su abundancia en el genoma, ya que se pueden obtener miles o millones de estos polimorfismos por secuencia disponibles para ser analizados (Jorde 2000). Además este marcador molecular posee bajas tasas de error y de mutación (Morin *et al.* 2004), mayor automatización en el proceso de toma de muestra (Olsen *et al.* 2011), y permiten la caracterización de loci afectados por selección neutral y estimar la divergencia adaptativa a una mayor escala que otros marcadores (Everett *et al.* 2011).

Análisis exploratorios y estructuración genética:

Una vez obtenido los genotipos, se realizó una revisión detallada de la información genética, detectando y eliminando de los análisis posteriores a los individuos con menos del 80% de información. Con los genotipos ya revisados se estimaron los valores de diversidad genética (H_E), análisis de distancia genética F_{st} y análisis de coordenadas principales (PCoA), en el programa GENALEX (Peakall & Smouse, 2006). Además se realizó un análisis discriminante de componentes principales (DAPC), este análisis

permite estimar el número más probable de grupos genéticos a partir de la distancia genética entre cada uno de los individuos, agrupando a los individuos en grupos o clusters genéticos (“ k ”) maximizando la diferencia genética entre grupos, mientras se minimiza la diferencia genética dentro de estos (Jombart 2008). Estos análisis forman parte del paquete ADEGENET en R (R.Core-Team 2018).

Análisis de Asignación genética individual:

Para poder identificar si los individuos muestreados corresponden a ejemplares asilvestrados o a escapados de centros de cultivos, se utilizó un análisis de asignación genética individual de las muestras a su posible origen utilizando el programa ONCOR (Kalinowski *et al.* 2008). Este programa permite asignar a cada individuo a su origen, calculando la probabilidad de cada individuo de pertenecer a un grupo genético de referencia bien delimitado (grupo genético de referencia). Para realizar esto se utilizó una base de datos de 1897 individuos de Trucha Arcoíris ya tipificados, incluyendo tanto individuos asilvestrados como provenientes de centros de cultivo. Basándose en análisis de asignación previos esta base de datos incorpora cuatro grupos genéticos de referencia bien delimitados con alto valor de autoasignación. De cada uno de estos grupos se seleccionaron al azar genotipos de 95 individuos por grupo de referencia, con la finalidad de que el tamaño muestral de cada grupo no influya en los análisis de asignación individual. Una vez terminada la selección se realizó un análisis de autoasignación genética de los grupos, calculando la probabilidad de cada individuo de pertenecer a su grupo de referencia respectivo, con la finalidad de cuantificar la probabilidad de error de asignación. Finalmente se realizó un análisis de asignación genética individual a todos los individuos muestreados en ambas cuencas de este estudio, en relación a los grupos genéticos de referencia.

Identificación de híbridos escapados-naturalizados:

Luego de detectar el origen de los individuos para cada una de las cuencas, se realizó un análisis de detección de híbridos, para esto fue necesario primero identificar dos grupos genéticos puros, utilizando el programa STRUCTURE v.2.3.4 (Pritchard *et al.* 2007), para identificar estos se seleccionaron individuos de dos grupos de referencia; el primero corresponde a individuos pertenecientes a centros de cultivo, y el segundo

contiene individuos obtenidos en diferentes ríos del Lago Todos Los Santos (Región de los Lagos), donde habita una población de Trucha Arcoíris extremadamente divergente y sin aportes de acuicultura (Canales-Aguirre *et al.* 2018a). Luego se realizó una selección de los individuos más puros (valores Q mayor a 0.90 o menor 0.10), con la finalidad de identificar los posibles grupos parentales. El siguiente paso fue realizar una simulación de individuos híbridos en el programa NEWHYBRIDS (Anderson & Thompson 2002), para luego realizar un análisis de detección de estos híbridos utilizando el programa HYBRIDDETECTIVE (Wringe *et al.* 2017) para evaluar la eficiencia de detección del programa. Finalmente con NEWHYBRIDS se estimó la probabilidad de cada individuo muestreado de ser asignado como un individuo parental puro, primera o segunda generación de híbridos (F1 y F2), o una retrocruza entre un parental puro y un F1. Este proceso entrega los valores necesarios para identificar híbridos, entregando los valores Q necesarios para identificar si un individuo es considerado un híbrido o no. Con estos resultados finalmente se realizó un análisis de estructuración genética en STRUCTURE utilizando un valor $K=2$, utilizando en este análisis a las clases parentales (PISC y TLS), además de incluir los individuos muestreados y genotipificados de ambas cuencas (183), con la finalidad de revisar los valores resultantes de Q, para así identificar la presencia y el nivel de hibridación de cada uno de los individuos analizados.

Determinación de efectos ecológicos y genéticos en relación a distancia geográfica de centros de cultivo:

Con la finalidad de evidenciar efectos ecológicos y genéticos producto de la presencia de centros de cultivo en ambas cuencas, se seleccionaron diferentes variables para establecer si están relacionadas con la distancia de cada sitio de muestreo al centro de cultivo más cercano.

Para esto se estimó la distancia geográfica utilizando la herramienta de medición de distancia del programa de Sistema de Información Geográfica (SIG) QGIS (Q.GIS-Development-Team 2018), este valor corresponde a la distancia que existe entre cada sitio de muestreo con el centro de cultivo más cercano, usando como recorrido el curso de los ríos y lagos conectados. Una vez estimado los valores de distancia geográfica, estos fueron asignados como una variable predictiva, con la finalidad de determinar si

existe alguna relación significativa entre las variables respuesta y la cercanía de los sitios de muestro con los centros de cultivo.

Como variables respuestas se utilizaron los valores de abundancia relativa (obtenido a partir de los muestreos realizados con pesca eléctrica, estimando la captura por unidad de esfuerzo o CPUE), diversidad genética (H_E), porcentaje de asignación de individuos por localidad a los centros de cultivo, y número de híbridos por localidad. Cada una de estas variables fue puesta a prueba a partir de un análisis de regresión lineal, determinando primero si las variables cumplen con los supuestos del análisis (homocedasticidad y normalidad). Cada uno de estos análisis fue realizando en el programa estadístico R (R Core Team 2018), evaluando de forma independiente cada una de las cuencas. Los valores de CPUE se obtuvieron a partir del tiempo de pesca realizado en cada sitio de muestreo, y el número de individuos capturados.



RESULTADOS

Análisis exploratorios y estructuración genética:

De los 190 individuos recolectados y utilizados en este trabajo, 7 individuos fueron descartados debido a no aportar suficiente información, dejando un total de 183 individuos para los siguientes análisis. Los valores estimados de H_E no presentan grandes diferencias entre cada localidad analizada (Tabla1). En la Cuenca del Río Valdivia los valores de diversidad genética varían entre 0.338 en el Río Huichalafquén y 0.244 en el Estero Venado. Por otro lado los valores de diversidad genética en la cuenca del Río Bueno varían entre 0.299 en el Río Calcurrepe y 0.260 en el Río Chirre.

Tabla 1: Valores de diversidad genética (H_E) para cada localidad analizada (fuente: Elaboración propia)..

Localidad	Cuenca	N	H_E
Carranco	Valdivia	5	0.289
Cua Cua	Valdivia	9	0.328
Enco	Valdivia	19	0.335
Esteros Blanco	Valdivia	4	0.284
Esteros Venado	Valdivia	10	0.244
HuaHum	Valdivia	19	0.298
Huichalafquen	Valdivia	10	0.338
Mañío	Valdivia	14	0.321
Ñiltre	Valdivia	12	0.324
Zahuil	Valdivia	10	0.325
Calcurrepe	Bueno	24	0.299
Chirre	Bueno	5	0.260
Curinilahue	Bueno	8	0.272
Ignao	Bueno	14	0.262
Curriñe	Bueno	10	0.281
Temuleufu	Bueno	10	0.275

Los análisis de estructuración genética preliminares muestran que existe una leve diferenciación, la cual según el PCoA existe aparentemente dos grupos genéticos (figura 2), explicando un 70.55% de la variación de los datos en los primeros 3 ejes. El primer grupo correspondiente a individuos muestreados en localidades pertenecientes al Río Bueno, mientras que el segundo está compuesto por individuos obtenidos en localidades del Río Valdivia. Es importante mencionar que las muestras analizadas del Estero

Venado presentan los mayores valores de diferenciación genética según la matriz de distancia genética F_{st} , siendo estas superiores a 0.104 al ser comparados con cada una de las otras localidades.

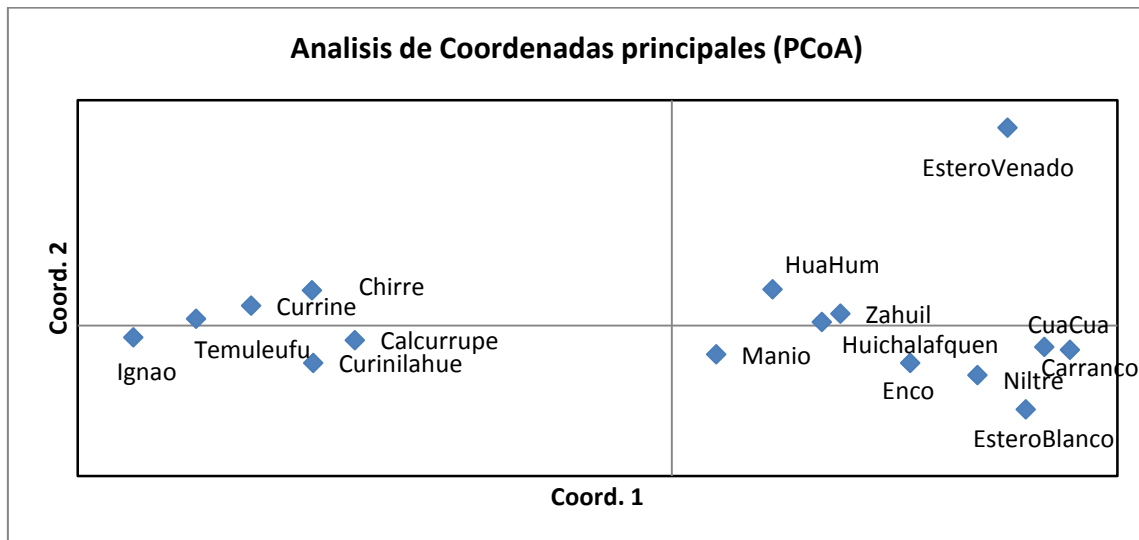


Figura 2: Resultados del PCoA construido a partir de la matriz de distancia genética F_{st} . (fuente: Elaboración propia).

El DAPC muestra que existe poca diferenciación entre los individuos analizados (Figura 3), aunque existe una ligera diferenciación entre los individuos de la Cuenca del Río Valdivia, y la Cuenca del Río Bueno. Sin embargo, este análisis revela que es difícil generar grupos genéticos definidos, ya que el número de clúster genéticos generados por este análisis (“k”) varía entre 2 y 4 grupos, por lo cual el nivel de estructuración genética entre ambas cuencas es significativamente bajo.

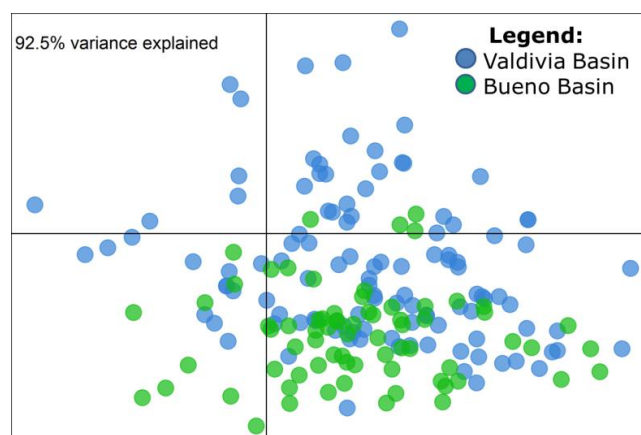


Figura 3: Resultados del DAPC que muestra el nivel de estructuración genética entre ambas cuencas analizadas (fuente: Elaboración propia).

Análisis de asignación genética individual:

Los análisis de estructuración genética de la base de datos de genotipos confirmo la existencia de cuatro grupos genéticos: uno compuesto principalmente por individuos procedentes de centros de cultivo, denominado Piscicultura (PISC), otro grupo compuesto por ejemplares obtenidos en diferentes ríos de la Zona Norte y Central de Chile, denominado Norte-Centro (NC), el tercer grupo incluye en su mayoría a individuos muestreados en el Lago Todos los Santos (Región de los Ríos), denominado grupo Todos Los Santos (TLS), y finalmente un grupo que incluye principalmente a individuos capturados en diferentes tributarios del Lago Llanquihue (Región de los Ríos), denominado Lago Llanquihue (LLAN).

De los cuatro grupos genéticos que conforman la base de datos de genotipos, el grupo genético perteneciente al del Lago Llanquihue fue eliminado de los análisis de asignación genética debido a que su procedencia está compuesta principalmente por individuos estrechamente relacionados con los centros de cultivos, además, según el análisis DAPC de estructuración genética, el grupo LLAN no posee un nivel de estructuración suficiente en comparación con los otros tres clúster genéticos (Figura 3).

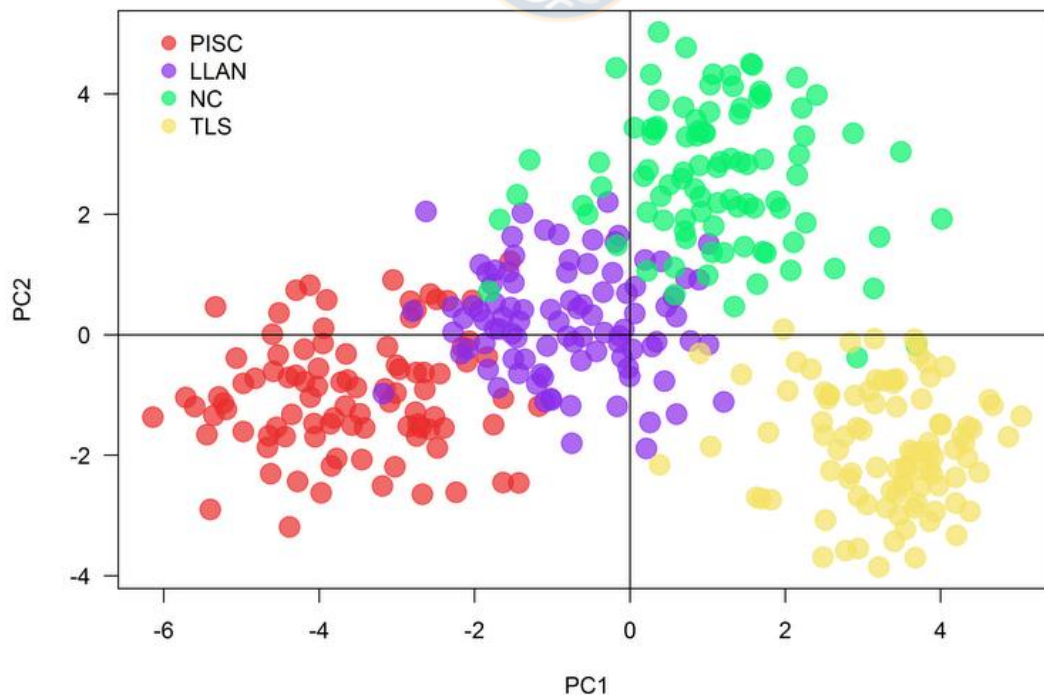


Figura 4: Grafico DAPC de base de datos de Genotipos y sus respectivos grupos de referencia (fuente: Elaboración propia).

Los análisis de autoasignación en el programa ONCOR realizados en los grupos genéticos, muestran que los tres grupos presentan altos valores de autoasignación; siendo el grupo Piscicultura (PISC) él con mayor valor (100%), seguido por los grupos Norte-Centro (NC) y Todos Los Santos (TLS) con valores de 98.3% y 98.8% respectivamente. Una vez confirmado que los grupos genéticos son estadísticamente diferenciables entre sí, se utilizaron como grupos de referencia en los análisis de asignación genética individual, con la finalidad de detectar el posible origen genético de los individuos muestreados en la Cuenca del Río Valdivia y del Río Bueno. Se realizaron diferentes análisis de asignación genética, con la finalidad de detectar diferencias entre las dos cuencas analizadas y también entre los diferentes estadios de los individuos (juvenil y adulto).

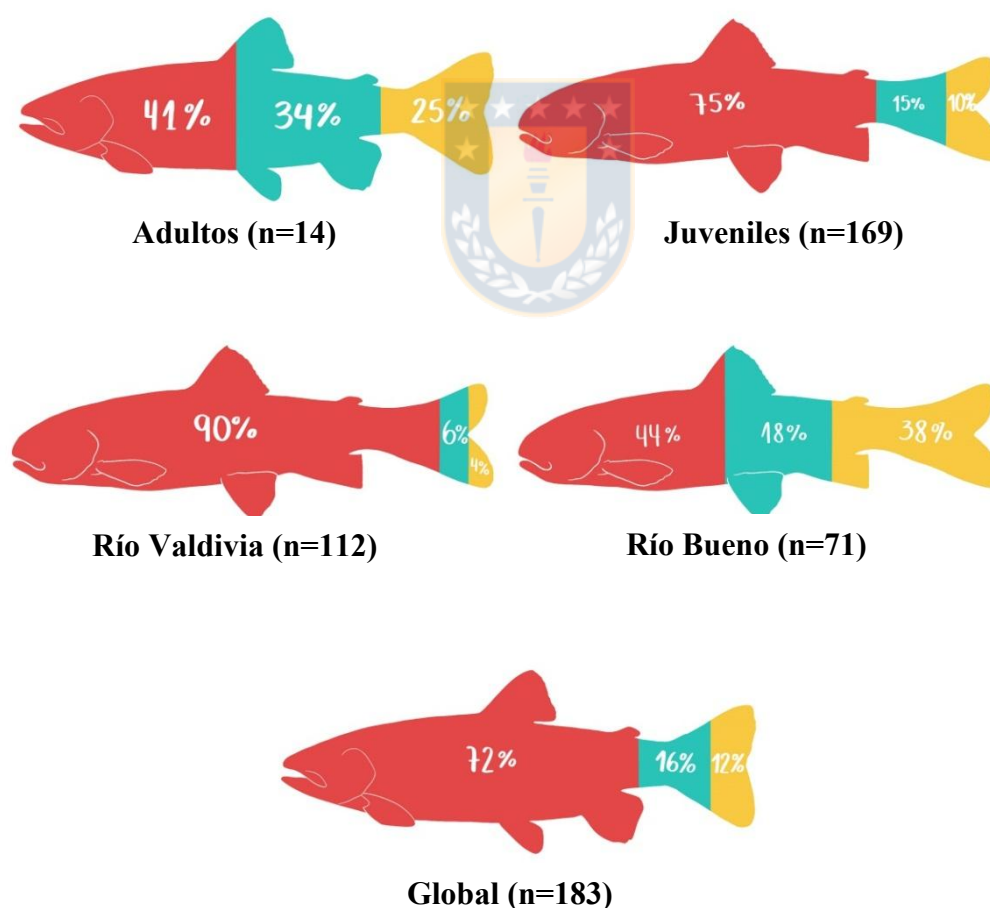
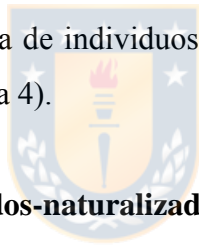


Figura 5. Resultados de análisis de asignación genética individual, los colores representan los porcentajes de asignación a los grupos de referencia (PISC=Rojo, NC=Cian, TLS=Amarillo) (fuente: Elaboración propia).

Los análisis de asignación genética individual muestran que de los 183 individuos analizados, el 72% fueron asignados al grupo piscicultura (PISC), mientras que un 28% de los individuos fueron asignados a los grupos correspondientes a poblaciones asilvestradas (con un 16% al grupo TLS y un 12% a NC). En relación a los juveniles (n=169) el 75% de los individuos fueron asignados al grupo genético PISC, mientras que 15% al grupo TLS y un 10% a NC. Por otro lado los individuos adultos analizados (n=14) muestran un patrón diferente, donde el 41% de los individuos es asignado al grupo PISC, mientras que un 69% de los individuos es asignado a los grupos de referencia de individuos asilvestrados (34% a TLS y 25% a NC).

En relación a los análisis de asignación en cada una de las cuencas, el 89.8% de los individuos del Río Valdivia (n=112) fueron asignados al grupo PISC, seguidos de un 6.5% y un 3.6% de los grupos NC y TLS respectivamente; mientras que los valores de asignación de los individuos muestreados en la cuenca del Río Bueno (n= 71), fueron un 43.7% asignados al grupo PISC mientras que un 56.3% de los individuos fueron asignados a los grupos de referencia de individuos asilvestrados, con un 18% al grupo NC y un 38.3% al grupo TLS (figura 4).



Identificación de híbridos escapados-naturalizados

La selección de las clases parentales utilizando STRUCTURE seleccionó a 100 individuos, los cuales se utilizaron para los posteriores análisis en NEWHYBRIDS y HYBRIDDETECTIVE. Una vez realizados los análisis de simulación en NEWHYBRIDS, se estimaron los valores de Q que permiten identificar si los individuos analizados pertenecen a las clases parentales (grupo PISC y TLS), F1, F2 y retrocruzas. Estos análisis muestran que es posible identificar individuos procedentes de centro de cultivo (PISC) a partir de un valor Q mayor a 0.86 (CI=0.83-0.88), mientras que los individuos pertenecientes al grupo genético asilvestrado (TLS) tienen un valor Q mayor a 0.84 (CI= 0.81-0.86). En cuanto a la identificación de individuos híbridos, los análisis permiten identificar solo individuos F1 (Q>0.55, CI=0.49-0.58), ya que los valores para identificar F2 de retrocruzas no fueron significativos.

Una vez estimado los valores de asignación de híbridos, se realizó un análisis genético en STRUCTURE con valor de K=2 de los individuos de ambas cuencas (n=183) para

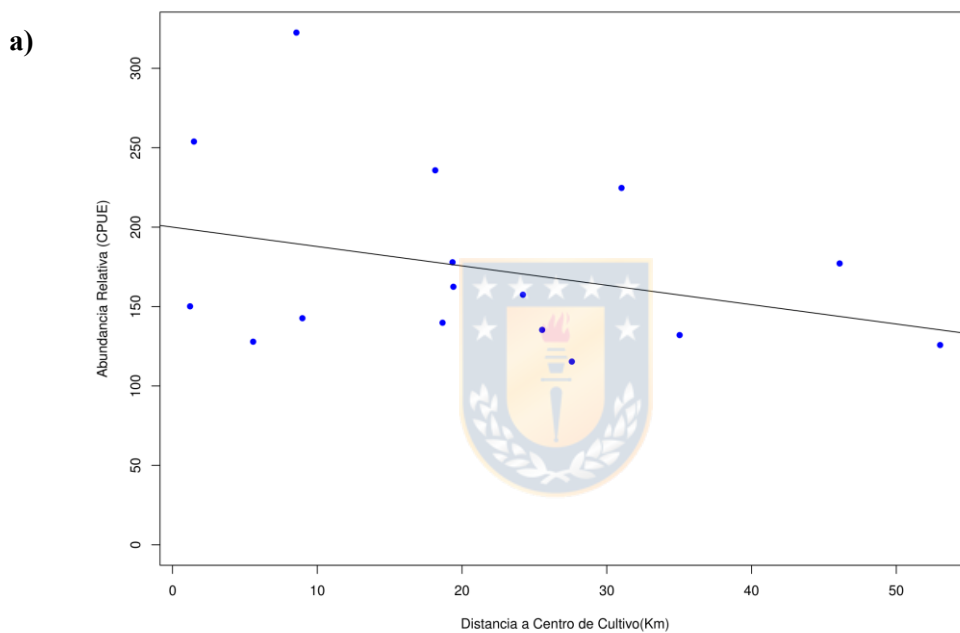
poder determinar la existencia de individuos híbridos, incluyendo en el análisis los individuos seleccionados como cada una de las clases parentales. El análisis muestra que gran parte de los individuos analizados son asignados a la clase parental de centro de cultivo (PISC) con 103 individuos asignados a este grupo (figura 5), siendo la mayor parte de estos pertenecientes a la cuenca del Río Valdivia (87). En relación a la presencia de híbridos, los resultados muestran presencia de un total de 25 individuos asignados como F1, estando mayormente presentes en la Cuenca del Río Bueno (17), el mayor número de F1 por localidad fue de 5 individuos en los ríos Calcurrupe (Cuenca Río Bueno) y HuaHum (Cuenca Río Valdivia). Por otro lado, 57 individuos que fueron asignados como F2 o retrocruza, siendo mayormente representado en la Cuenca del Río Bueno (39). En resumen del total de los 183 individuos analizados, 82 de estos fueron asignados como híbridos entre centros de cultivo e individuos asilvestrados. Es importante destacar que este análisis no mostró individuos asignados a la clase parental de asilvestrados (TLS) en ninguna localidad para ambas cuencas.

Tabla 2. Resumen de resultados de análisis de identificación de híbridos en individuos muestreados en ambas cuencas (fuente: Elaboración propia).

Localidad	Cuenca	N	PISC	TLS	F1	F2 o Retrocruza	Total Híbridos
Carranco	Valdivia	5	5	0	0	0	0
CuaCua	Valdivia	9	9	0	0	0	0
Enco	Valdivia	19	18	0	0	1	1
Estero Blanco	Valdivia	4	4	0	0	0	0
Estero Venado	Valdivia	10	8	0	0	2	2
HuaHum	Valdivia	19	5	0	5	9	14
Huichalafquen	Valdivia	10	7	0	2	1	3
Manio	Valdivia	14	12	0	1	1	2
Niltre	Valdivia	12	12	0	0	0	0
Zahuil	Valdivia	10	7	0	0	3	3
Calcurrupe	Bueno	24	8	0	5	11	16
Chirre	Bueno	5	0	0	2	3	5
Curinilahue	Bueno	8	2	0	1	6	7
Ignao	Bueno	14	2	0	3	9	12
Currine	Bueno	10	2	0	4	4	8
Temuleufu	Bueno	10	2	0	2	6	8
TOTAL		183	103	0	25	57	82

Determinación de efectos ecológicos en relación a distancia geográfica de centros de cultivo.

Una vez estimado los valores de distancia geográfica de cada uno de los sitios de muestreos, se puso a prueba la relación entre esta variable y los valores de abundancia relativa (CPUE). La regresión lineal nos muestra que en la Cuenca del Río Valdivia existe una relación negativa significativa entre ambas variables analizadas ($R^2=0.20$, $p=0.01$), mientras que en la Cuenca del Río Bueno la relación entre distancia y abundancia relativa no es significativa ($R^2=0.02$, $p=0.45$) (figura 6).



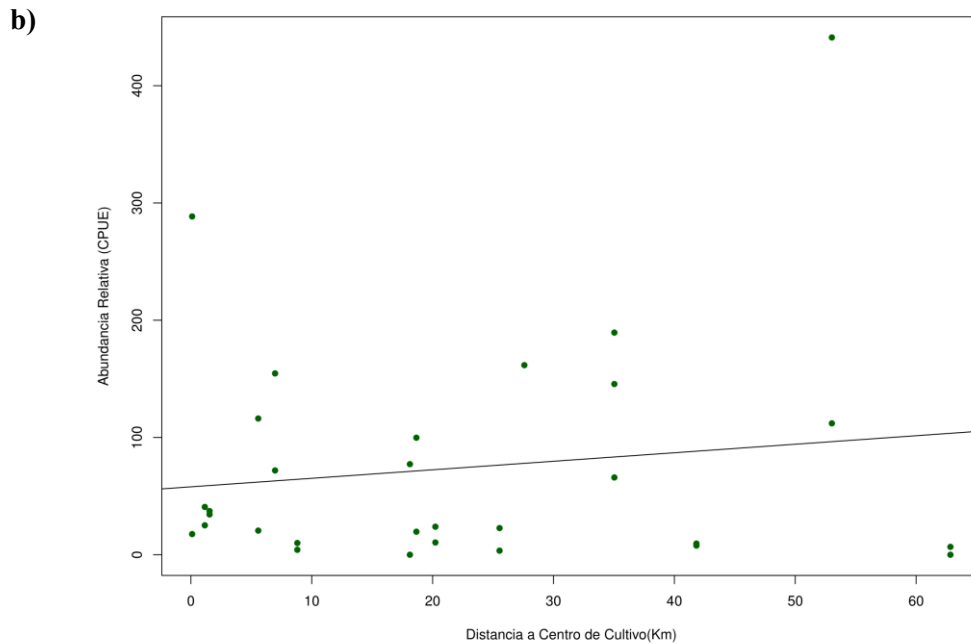


Figura 6: Regresión lineal entre distancia a centros de cultivo y abundancia relativa para las localidades de la Cuenca del Río Valdivia (a) y la Cuenca del Río Bueno (b) (fuente: Elaboración propia).

Por otro lado la regresión lineal realizada para comparar el número de híbridos detectados por localidad con la distancia de cada localidad con el centro de cultivo más cercano, no mostro tener alguna relación significativa para ambas cuencas, siendo esta relación positiva en la Cuenca del Río Valdivia ($R^2=0.43$, $p=0.13$) y negativa en la Cuenca del Río Bueno ($R^2=0.26$, $p=0.31$) (Figura 7). Un resultado similar se obtuvo al comparar los valores de distancia geográfica, con la diversidad genética y el porcentaje de asignación genético individual a centro de cultivo, en ambos casos el análisis no mostró alguna relación significativa entre las variables para ambas cuencas analizadas (Figura 8 y 9).

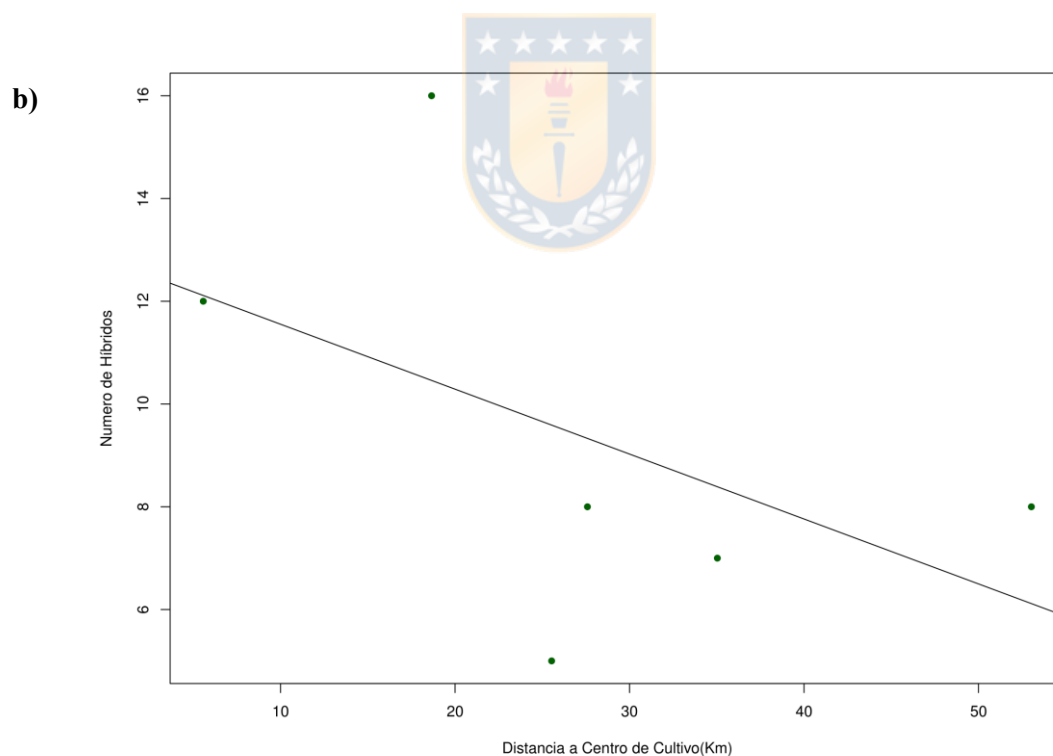
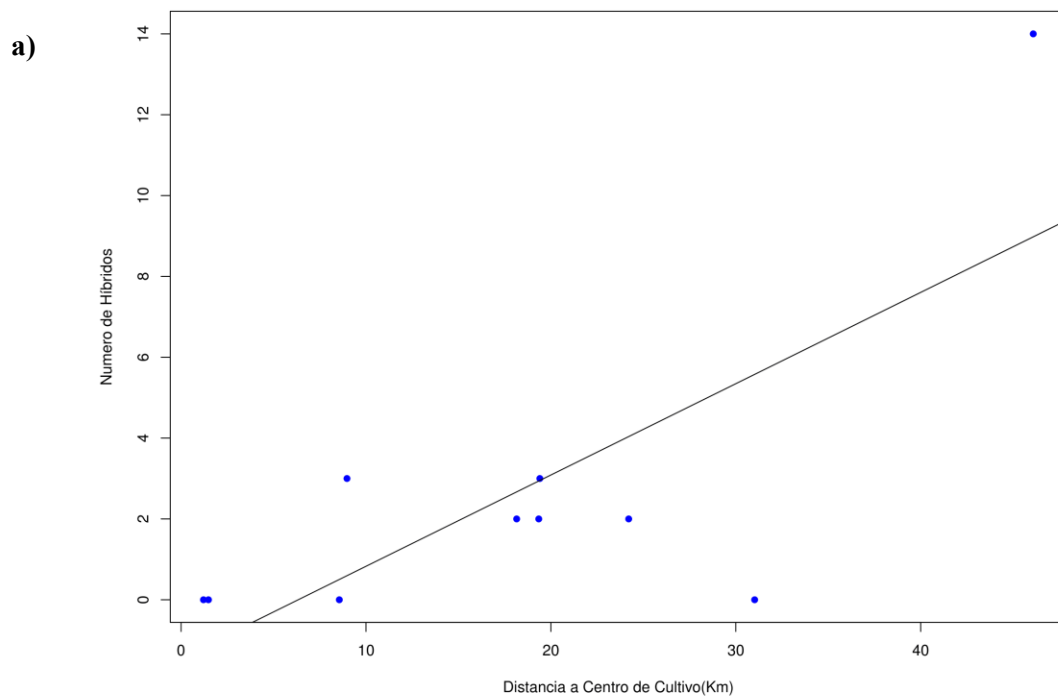


Figura7: Regresión lineal entre distancia a centros de cultivo y numero de híbridos detectados por localidad, para las localidades de la Cuenca del Río Valdivia (a) y la Cuenca del Río Bueno (b) (fuente: Elaboración propia).

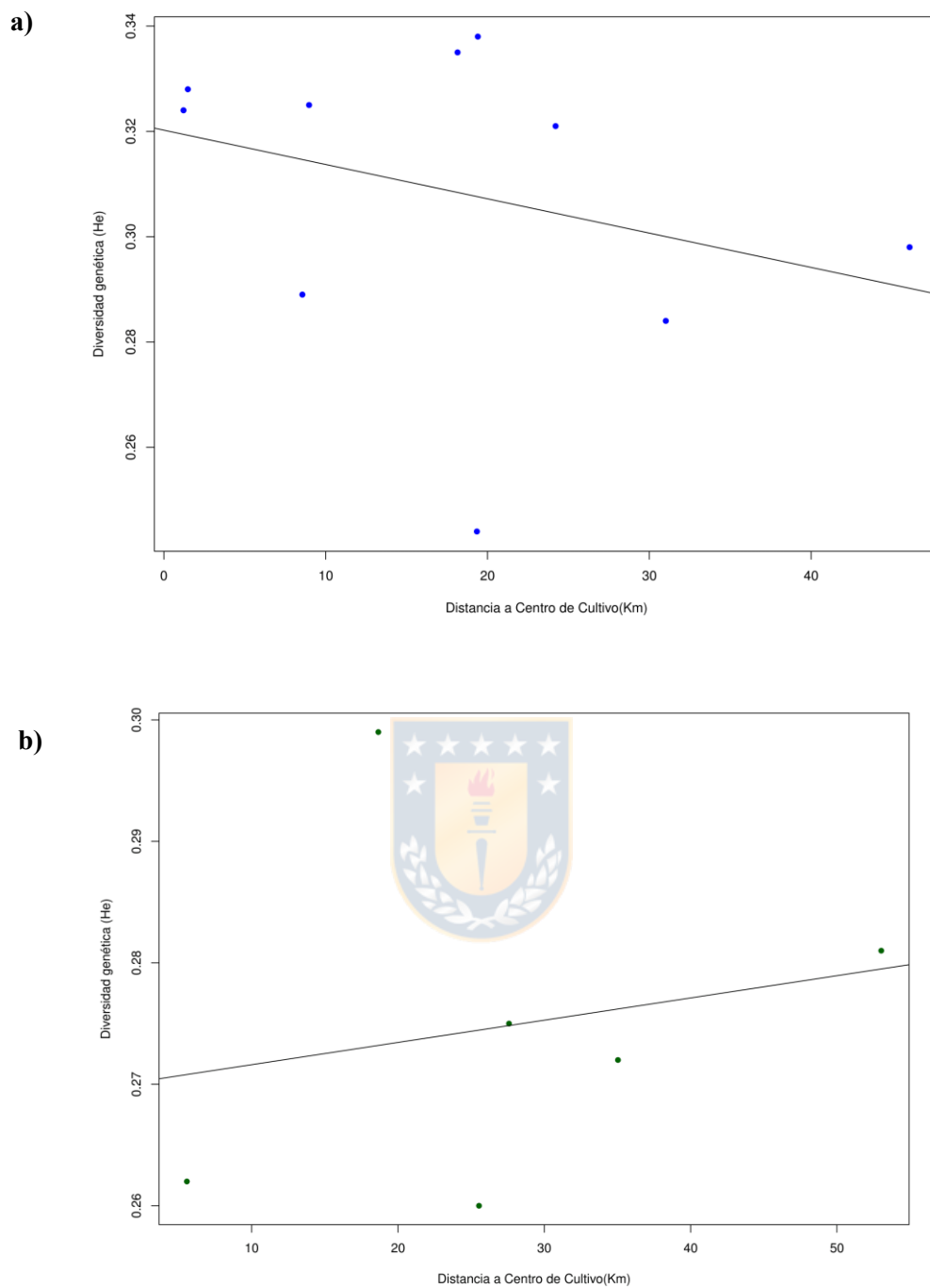


Figura 8: Regresión lineal entre distancia a centros de cultivo y diversidad genética para las localidades de la Cuenca del Río Valdivia (a) y la Cuenca del Río Bueno (b) (fuente: Elaboración propia).

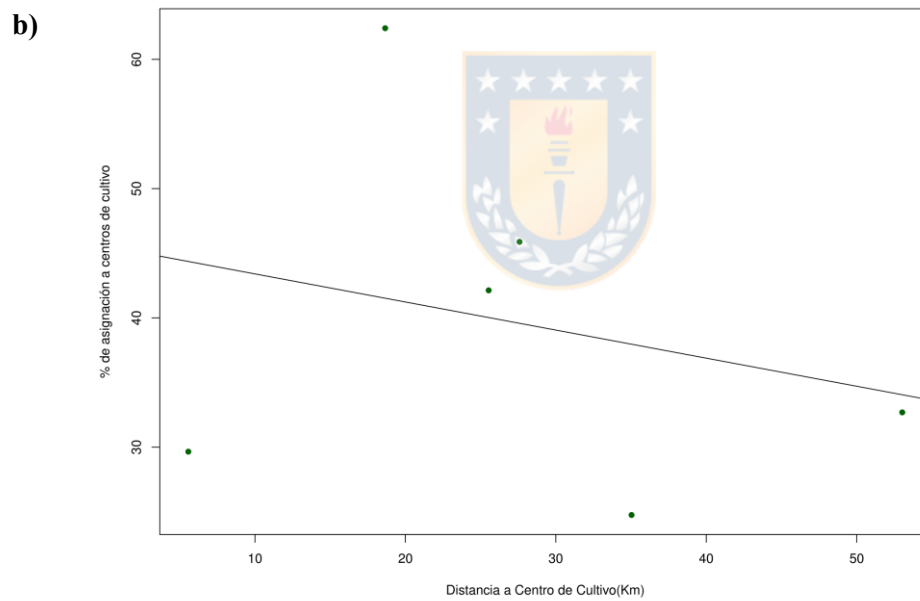
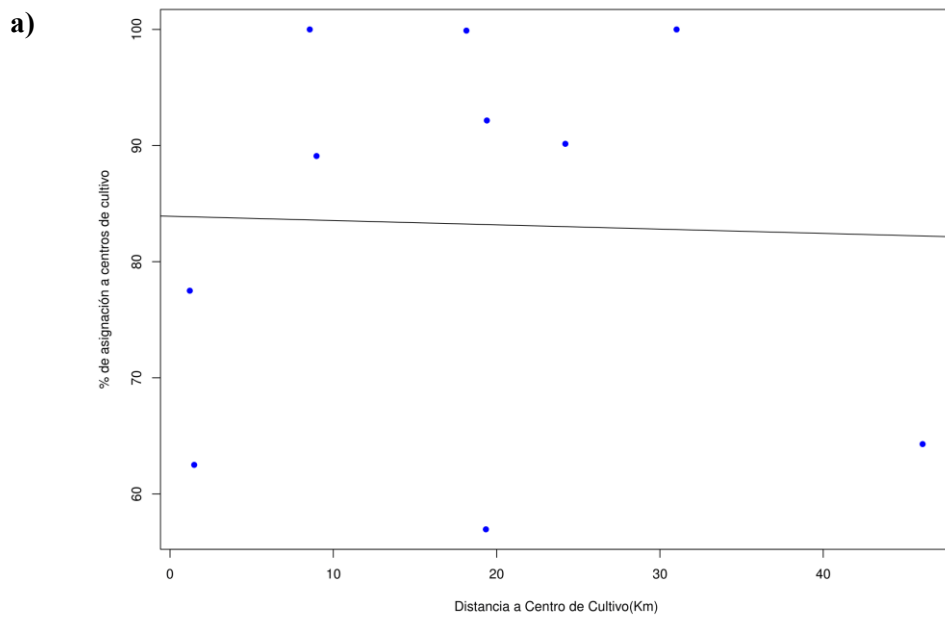


Figura 9: Regresión lineal entre distancia a centros de cultivo y el porcentaje de asignación genética a centros de cultivo, para las localidades de la Cuenca del Río Valdivia (a) y la Cuenca del Río Bueno (b) (fuente: Elaboración propia).

DISCUSION

Estructuración y diversidad genética:

Los análisis genéticos realizados en ambas cuencas de la Región de los Ríos muestran una leve estructuración genética, a pesar de la distancia geográfica existente entre cada uno de los sitios de muestro, y del tiempo transcurrido desde la introducción exitosa de esta especie en la Región de los Ríos. Estos análisis también revelan que no existe un alto grado de diferenciación a nivel de cuenca, lo cual podría explicarse debido a la fuerte presencia de los centros de cultivo, la cual estaría homogenizando la posible existencia de estructuración genética producto de las décadas transcurridas desde su introducción (Benavente 2016). En relación a los valores de diversidad genética (H_E) estos no presentaron algún grado de diferenciación con valores similares en la mayoría de las localidades analizadas. Estos valores son bastantes similares a los observados en otros estudios genéticos en poblaciones de Trucha Arcoíris en el Sur de Chile (Cadiz 2014; Canales-Aguirre *et al.* 2018a), donde los valores de heterocigocidad esperada eran bastante similares a los obtenidos en diferentes tributarios aledaños al Lago Llanquihue, los cuales a su vez son significativamente mayores que los obtenidos en tributarios del Lago Todos Los Santos, confirmando que la presencia de centros de cultivo si genera efectos en la diversidad genética de las poblaciones naturalizadas, y como los valores de diversidad son bastante similares, tanto en la cuenca del Río Bueno como en la del Río Valdivia, a los observados en el Lago Llanquihue, es posible concluir que es un escenario bastante similar producto de la presencia de centros de cultivos. Existen información de casos similares (Dlugosch & Parker 2008; Roman & Darling 2007), donde la liberación accidental de un gran número individuos no nativos, en uno o varios eventos de introducción, puede contrarrestar los fenómenos de efecto fundador de deriva génica, en las poblaciones ya establecidas.

Asignación genética individual:

En relación a los análisis de asignación individual, los grupos de referencia utilizados, provenientes de diferentes localidades, tanto naturalizadas como de centros cultivo a lo largo de todo Chile, presentan una alta estructuración genética, lo cual permitió generar tres grupos de referencia con un alto valor de autoasignación. Gracias a esto se puede

sostener que los análisis de asignación genética individual realizados durante este estudio son robustos. Entre los resultados obtenidos es importante mencionar que la mayoría de los individuos analizados fueron asignados al grupo genético de referencia de individuos de cultivo (72% de los individuos analizados), lo cual podría estar explicado producto de posibles escapes de los centros o de eventos de introducción no reportados, utilizando ovas o juveniles provenientes de hatchery de zonas cercanas. Ambas posibles explicaciones lamentablemente no presentan mucha información, ya que existen pocos reportes confirmados de escapes en centros de cultivo en cuerpos dulceacuícolas (Sepulveda *et al.* 2013) y los registros de eventos introducciones recientes son escasos o de dudosa procedencia, probablemente debido a la legislación actual del país (Habit *et al.* 2014). Sin embargo, es importante recalcar que aparentemente la mayor parte de las poblaciones actuales de *O. mykiss* presentes en la Región de los Ríos estaría compuesta principalmente por individuos con algún grado de relación con los centros de cultivo, ya que presentan una baja similitud genética con individuos de otras poblaciones asilvestradas con un origen de introducción similar (Región del Maule, Araucanía, de los Lagos, entre otras). Sin embargo, a pesar de los altos valores de asignación genético ligado a centros de cultivo, este análisis entregó resultados contrastantes al revisar los diferentes estadios de los individuos analizados, donde a diferencia de los juveniles, la mayoría de los ejemplares adultos fueron asignados al grupo de referencia de asilvestrados (69% de los individuos). Este resultado podría sugerir que a pesar de la gran presencia de posibles juveniles ligados a centros de cultivo, pocos de estos logran llegar a la adultez, debido a que no están bien adaptados para sobrevivir en el medio (Arismendi *et al.* 2014), disminuyendo el número de individuos de la población durante los primeros estadios, lo cual se vería reflejado en el bajo nivel de similitud genética que tienen los adultos con los centros de cultivo. Es importante también recalcar que el número de individuos adultos analizados es solo de catorce individuos, debido principalmente a que las metodologías de muestreo aplicadas no fueron las óptimas para este grupo etario, por lo cual es probable que el resultado obtenido de este análisis no sea representativo para las poblaciones estudiadas, ya que además no abarcan un amplio espacio geográfico (solo 4 localidades). Se sugiere que para futuros estudios relacionados con estas poblaciones, es necesario modificar e incluir nuevas metodologías de muestreo, con la finalidad de tener una mayor representatividad de los diferentes grupos etarios, para corroborar si efectivamente la disminución de similitud genética de los individuos disminuye con la edad

Los resultados de asignación genética mostraron también diferencias significativas en cada una de las cuencas, exponiendo que el nivel de interacción con los centros de cultivo es distinto en cada cuenca. La Cuenca del Río Valdivia presentó altos valores de asignación al grupo de referencia de cultivo, asignado al 89% de los individuos analizados a este grupo, mientras que en la Cuenca del Río Bueno el porcentaje de asignación a centros de cultivo fue del 56%. Esta diferenciación muestra que efectivamente los efectos de la presencia de centros de cultivo es diferentes en cada cuenca, lo cual podría estar ligado al nivel de interacción con los hatchery y centros de la zona que ambas cuencas poseen, el cual según información recogida es similar en relación al número y ubicación de los Centros en cada una de las Cuencas (Gomez Uchida *et al.* 2017).

Identificación de híbridos escapados-naturalizados

Cerca del 44% de los individuos analizados fueron identificados como híbridos entre centros de cultivo y asilvestrados, demostrando que parte importante de la población es producto de la interacción provocada recientemente por los centros de cultivo. Además, de que el resto de los individuos (56%) fueron identificados como la clase parental de individuos de cultivo, demostrado que todos los individuos analizados tienen alguna relación genética con los centros de cultivo. Si bien se obtuvo éxito en identificar con valores estadísticos significativos a que clase parental pertenece cada individuo, solo se lograron distinguir los individuos híbridos pertenecientes a la primera generación (F1), mientras que los híbridos de segunda generación (F2) y las retrocruzas no pudieron ser identificados. Un resultado similar se obtuvo en el trabajo de (Consuegra *et al.* 2011b), donde también realizaron análisis de detección de híbridos con una herramienta similar (NEWHYBRIDS y STRUCTURE), en poblaciones de *O. mykiss* en la Región de los Lagos. En este análisis también lograron identificar híbridos F1 exitosamente pero no lograron diferenciar las retrocruzas de los F2, entre las razones de este resultado, señalan el tamaño muestral utilizado, y la representatividad de las clases parentales. En el caso de este estudio, es probable que las clases parentales utilizadas no hayan sido del todo representativas, principalmente la clase parental correspondiente a individuos asilvestrados, conformada por individuos del Lago de Todos los Santos en la Región de los Ríos, estos individuos fueron utilizados debido a que según información de estudios anteriores (Benavente 2016; Canales-Aguirre *et al.* 2018a), es un grupo genético muy

diferente a los genotipos provenientes de centros de cultivo, además según la historia de introducción conocida (Basulto 2003b; León-Muñoz *et al.* 2007), su origen genético es similar al de otras poblaciones asilvestradas (incluyendo la Región de los Ríos). Es posible que este grupo genético no fuera el adecuado para este tipo de análisis, debido a la baja representatividad obtenida en el análisis de identificación de híbridos, donde de los 183 individuos analizados, ninguno fue identificado como clase parental del grupo del Lago Todos Los Santos (TLS). Sin embargo los análisis de asignación genética individual, también utilizaron individuos del Lago TLS como grupo de referencia, en este análisis cerca del 16% de los individuos fueron asignados al grupo TLS, mostrando que si bien este grupo genético está poco representado, forma parte de la composición genética de las poblaciones en ambas cuencas.

Determinación de efectos ecológicos en relación a distancia geográfica de centros de cultivo.

A partir de los análisis realizados se puede observar que efectivamente existe una relación significativa entre la abundancia relativa de individuos, y la distancia geográfica de cada localidad con el centro de cultivo más cercano, aunque esta relación solo fue significativa en la Cuenca del Río Valdivia. Donde los valores de CPUE observados disminuyen con la distancia al centro de cultivo. Este resultado muestra que efectivamente existe un efecto de los centros de cultivo sobre las poblaciones asilvestradas de *O. mykiss*, los cuales estarían afectando positivamente la abundancia de esta especie en los cuerpos de agua cercanos. Este efecto podría ser generado por los posibles escapes de centros de cultivo, los cuales entregarían un aporte importante de individuos a la población (ya que según los análisis genéticos la mayor parte de los individuos analizados están genéticamente relacionados con los centros de cultivo), producto de la presión de propágulos. Sin embargo este aumento de abundancia podría estar vinculado con otros efectos generados por los centros de cultivo sobre el ambiente. Existen estudios que señalan que la presencia de estos centros generan efectos en las condiciones ambientales en los sectores cercanos, producto del ingreso de desechos animales, y otros químicos que ingresan en el ecosistema local, generando eutricación en las aguas (Bustos *et al.* 2011; Fuentes Olmos 2014; Tovar *et al.* 2000), esto podría favorecer a los productores primarios, lo cual impactaría positivamente a la comunidad de invertebrados, generando condiciones favorables para la fauna íctica. Estas

condiciones explicarían una mayor abundancia de juveniles de *O. mykiss* en zonas cercanas a centros de cultivo ya que tendrían una mejor disponibilidad alimenticia. Sin embargo para poder evidenciar esto es necesario realizar estudios en mediciones de variables ambientales y de abundancia de macroinvertebrados, con la finalidad de evidenciar si el aporte de nutrientes de los centros de cultivo genera efectos en la comunidad de los cuerpos de hidrográficos.



Conclusiones

- 1- Este trabajo expone la existencia de una leve estructuración genética entre las Cuencas del Río Valdivia y del Río Bueno en las poblaciones de Trucha Arcoíris analizadas, esta baja estructuración solo fue observada en los análisis de coordenadas principales. Además los valores de diversidad genética (H_e) fueron similares en todas las localidades observadas.
- 2- Efectivamente existe una fuerte presencia de genotipos relacionados a centros de cultivos en los sitios de muestreo, encontrando que la mayor parte de los individuos analizados son asignados al grupo de referencia de centros de cultivo. Sin embargo los individuos analizados en la Cuenca del Río Valdivia presentan un mayor porcentaje de asignación a centros de cultivo (90%) que los de la Cuenca del Río Bueno (44%). Además el valor de asignación a centros de cultivo, varía significativamente entre individuos adultos y juveniles.
- 3- Existe una presencia importante de individuos identificados como híbridos de centros de cultivos y de naturalizados ($n=82$), demostrando que existe interacción entre estos grupos genéticos presentes en ambas cuencas. Sin embargo de los individuos híbridos solo 25 individuos fueron analizados F1, mientras que el resto no pudieron ser distinguidos como F2 o Retrocruzas.
- 4- Los resultados obtenidos en este estudio revelan que la presencia de centros de cultivo influye en los valores de abundancia relativa de las localidades estudiadas, aunque esto solo fue observado en la Cuenca del Río Valdivia. Este resultado si bien es importante, necesita ser corroborado en estudios futuros, utilizando una metodología similar, pero que incluya un mayor número de localidades, y un mayor esfuerzo de muestreo, además de recoger información de otras variables relevantes (sólidos disueltos, productividad primaria, estacionalidad, abundancia de comunidad de macroinvertebrados, etc.).

Bibliografía.

- Anderson EC, Thompson EA (2002) A model-based method for identifying species hybrids using multilocus genetic data. *Genetics* **160**, 1217-1229.
- 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.
- Arismendi I, Penaluna B, Soto D (2011) Body condition indices as a rapid assessment of the abundance of introduced salmonids in oligotrophic lakes of southern Chile. *Lake and Reservoir Management* **27**, 61-69.
- Arismendi I, Penaluna BE, Dunham JB, *et al.* (2014) Differential invasion success of salmonids in southern Chile: Patterns and hypotheses. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* **24**, 919-941.
- Arismendi I, Soto D (2012) Are salmon-derived nutrients being incorporated in food webs of invaded streams? Evidence from southern Chile. *Knowledge and Management of Aquatic Ecosystems*, 01-01.
- Arismendi I, Soto D, Penaluna B, *et al.* (2009) Aquaculture, non-native salmonid invasions and associated declines of native fishes in Northern Patagonian lakes. *Freshwater Biology* **54**, 1135-1147.
- Basulto S (2003a) *El largo viaje de los salmones. Una crónica olvidada. Propagación y cultivo de especies acuáticas en Chile.* Maval Ltd, Santiago.
- Basulto S (2003b) *El largo viaje de los salmones: una crónica olvidada, Propagación y cultivo de especies acuáticas en Chile* Editorial Maval, Ltda, Santiago de Chile.
- Benavente JN (2016) *ORIGEN Y ESTRUCTURA GENÉTICA DE LA ESPECIE INTRODUCIDA TRUCHA ARCOÍRIS *Oncorhynchus mykiss* (SALMONIFORMES: SALMONIDAE) EN CHILE*, Universidad de Chile.
- Benavente JN, Seeb LW, Seeb JE, *et al.* (2015) Temporal Genetic Variance and Propagule-Driven Genetic Structure Characterize Naturalized Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) from a Patagonian Lake Impacted by Trout Farming. *Plos One* **10**, e0142040.
- Bustos CA, Landaeta MF, Balbontin F (2011) Ichthyoplankton spatial distribution and its relation with water column stratification in fjords of southern Chile (46 degrees 48 '-50 degrees 09 ' S) in austral spring 1996 and 2008. *Continental Shelf Research* **31**, 293-303.

- Cadiz MI (2014) *Diversidad y divergencia genética de Oncorhynchus mykiss en los tributarios del Lago Todos los Santos y el Lago Llanquihue usando polimorfismos de único nucleótido (SNPs)*. Universidad de Concepción.
- Canales-Aguirre CB, Seeb LW, Seeb JE, *et al.* (2018a) Contrasting genetic metrics and patterns among naturalized rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in two Patagonian lakes differentially impacted by trout aquaculture. *Ecology and Evolution* **8**, 273-285.
- Canales-Aguirre CB, Seeb LW, Seeb JE, *et al.* (2018b) Contrasting genetic metrics and patterns among naturalized rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in two Patagonian lakes differentially impacted by trout aquaculture. *Ecology and Evolution* **2018**, 273-285.
- Cárcamo CB, Diaz NF, Winkler FM (2015) Genetic diversity in Chilean populations of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Latin American Journal of Aquatic Research* **43**, 59-70.
- Consuegra S, de Eyto E, McGinnity P, Stet RJM, Jordan WC (2011a) Contrasting responses to selection in class I and class II alpha major histocompatibility-linked markers in salmon. *Heredity* **107**, 143-154.
- Consuegra S, Phillips N, Gajardo G, de Leaniz CG (2011b) Winning the invasion roulette: escapes from fish farms increase admixture and facilitate establishment of non-native rainbow trout. *Evolutionary Applications* **4**, 660-671.
- Crawford SS, Muir AM (2008) Global introductions of salmon and trout in the genus *Oncorhynchus*: 1870-2007. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* **18**, 313-344.
- Dlugosch KM, Parker IM (2008) Founding events in species invasions: genetic variation, adaptive evolution, and the role of multiple introductions. *Molecular Ecology* **17**, 431-449.
- Everett MV, Grau ED, Seeb JE (2011) Short reads and nonmodel species: exploring the complexities of next-generation sequence assembly and SNP discovery in the absence of a reference genome. *Molecular Ecology Resources* **11**, 93-108.
- Falk-Petersen J, Bøhn T, Sandlund O (2006) On the Numerous Concepts in Invasion Biology. *Biological Invasions* **8**, 1409-1424.
- Figueroa R, Ruiz VH, Berríos P, *et al.* (2010) Trophic ecology of native and introduced fish species from the Chillán River, South-Central Chile. *Journal of Applied Ichthyology* **26**, 78-83.

- Fuentes Olmos J (2014) Evolución del régimen ambiental de la acuicultura en Chile. *Revista de derecho (Valparaíso)*, 441-477.
- Gomez Uchida D, Cañas Rojas D, Cañas M, Musleh SS (2017) Identificación de zonas de desove y alevinaje de especies ícticas de interés para la pesca recreativa en la Región de los Ríos, p. 218. Corporación de Desarrollo Productivo Región de los Ríos, Concepción, Chile.
- Gozlan RE (2008) Introduction of non-native freshwater fish: is it all bad? *Fish and Fisheries* **9**, 106-115.
- Gozlan RE (2010) The cost of non-native aquatic species introductions in Spain: fact or fiction? *Aquatic Invasions* **5**, 231-238.
- Habit E, González J, Ortiz-Sandoval J, Elgueta A, Sobenes C (2014) Effects of salmonid invasion in rivers and lakes of Chile. *Ecosistemas* **24**, 43-51.
- Habit E, Gonzalez J, Ruzzante DE, Walde SJ (2012) Native and introduced fish species richness in Chilean Patagonian lakes: inferences on invasion mechanisms using salmonid-free lakes. *Diversity and Distributions* **18**, 1153-1165.
- Habit E, Piedra P, Ruzzante DE, *et al.* (2010) Changes in the distribution of native fishes in response to introduced species and other anthropogenic effects. *Global Ecology and Biogeography* **19**, 697-710.
- Hufbauer RA, Rutschmann A, Serrate B, de Conchard HV, Facon B (2013) Role of propagule pressure in colonization success: disentangling the relative importance of demographic, genetic and habitat effects. *Journal of Evolutionary Biology* **26**, 1691-1699.
- Iriarte JA, Lobos GA, Jaksic FM (2005) Invasive vertebrate species in Chile and their control and monitoring by governmental agencies. *Revista Chilena De Historia Natural* **78**, 143-154.
- Jombart T (2008) adegenet: a R package for the multivariate analysis of genetic markers. *Bioinformatics* **24**, 1403-1405.
- Jorde LB (2000) Linkage Disequilibrium and the Search for Complex Disease Genes. *Genome Research* **10**, 1435-1444.
- Kalinowski ST, Meeuwig MH, Narum SR, Taper ML (2008) Stream trees: a statistical method for mapping genetic differences between populations of freshwater organisms to the sections of streams that connect them. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **65**, 2752-2760.

- Kolbe JJ, Glor RE, Schettino LRG, *et al.* (2004) Genetic variation increases during biological invasion by a Cuban lizard. *Nature* **431**, 177-181.
- León-Muñoz J, Teckin D, Farias A, Diaz S (2007) Salmon Farming in the Lakes of Southern Chile - Valdivian Ecoregion. WWF & Núcleo Científico Milenio Forecos, Universidad Austral de Chile.
- Lowe S, Browne M, Boudjelas S, De Poorter M (2004) *100 de las Especies Exóticas Invasoras más dañinas del mundo.*
- Monzon-Arguello C, Consuegra S, Gajardo G, *et al.* (2014) Contrasting patterns of genetic and phenotypic differentiation in two invasive salmonids in the southern hemisphere. *Evolutionary Applications* **7**, 921-936.
- Morin PA, Luikart G, Wayne RK, Grp SNPW (2004) SNPs in ecology, evolution and conservation. *Trends in Ecology & Evolution* **19**, 208-216.
- Novak S, Mack RN (2005) Genetic bottlenecks in alien plant species: influence of mating systems and introduction dynamics. In: *Species invasions: insights into ecology, evolution, and biogeography.* , pp. 201-228.
- Olsen JB, Crane PA, Flannery BG, *et al.* (2011) Comparative landscape genetic analysis of three Pacific salmon species from subarctic North America. *Conservation Genetics* **12**, 223-241.
- Page LM, Burr BM, Roger Tory Peterson I, National Wildlife F, National Audubon S (1991) *A field guide to freshwater fishes: North America, north of Mexico* Houghton Mifflin, Boston.
- Pascual M, Macchi P, Urbanski J, *et al.* (2002) Evaluating Potential Effects of Exotic Freshwater Fish From Incomplete Species Presence-absence Data. *Biological Invasions* **4**, 101-113.
- Pascual MA, Cussac V, Dyer B, *et al.* (2007) Freshwater fishes of Patagonia in the 21st Century after a hundred years of human settlement, species introductions, and environmental change. *Aquatic Ecosystem Health & Management* **10**, 212-227.
- Pritchard VL, Jones K, Cowley DE (2007) Estimation of introgression in cutthroat trout populations using microsatellites. *Conservation Genetics* **8**, 1311-1329.
- Q.GIS-Development-Team (2018) QGIS Geographic Information System. Open Source Geospatial Foundation Project.
- Quinn TP (2005) *The Behavior and Ecology of Pacific Salmon and Trout* University of Washington Press, Seattle.

- R Core Team (2018) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org>.
- Rafalski JA (2002) Novel genetic mapping tools in plants: SNPs and LD-based approaches. *Plant Science* **162**, 329-333.
- Reed DH, Frankham R (2003) Correlation between fitness and genetic diversity. *Conservation Biology* **17**, 230-237.
- Roman J, Darling JA (2007) Paradox lost: genetic diversity and the success of aquatic invasions. *Trends in Ecology & Evolution* **22**, 454-464.
- Sakai AK, Allendorf FW, Holt JS, *et al.* (2001) The Population Biology of Invasive Species. *Annual Review of Ecology and Systematics* **32**, 305-332.
- Seeb JE, Pascal CE, Ramakrishnan R, Seeb LW (2009) SNP Genotyping by the 5'-Nuclease Reaction: Advances in High-Throughput Genotyping with Nonmodel Organisms. In: *Single Nucleotide Polymorphisms, Methods in Molecular Biology* (ed. Komar AA).
- Seeb LW, Templin WD, Sato S, *et al.* (2011) Single nucleotide polymorphisms across a species' range: implications for conservation studies of Pacific salmon. *Molecular Ecology Resources* **11**, 195-217.
- Sepúlveda M, Arismendi I, Soto D, Jara F, Fariás F (2013) Escaped farmed salmon and trout in Chile: incidence, impacts, and the need for an ecosystem view. *Aquaculture Environment Interactions* **4**, 273-283.
- Sepúlveda M, Fariás F, Soto E (2009) Salmon escapes in Chile. WWF Chile, Valdivia.
- Simon KS, Townsend CR (2003) Impacts of freshwater invaders at different levels of ecological organisation, with emphasis on salmonids and ecosystem consequences. *Freshwater Biology* **48**, 982-994.
- Soto D, Arismendi I, Gonzalez J, *et al.* (2006) Southern Chile, trout and salmon country: invasion patterns and threats for native species. *Revista Chilena De Historia Natural* **79**, 97-117.
- SUBPESCA (2019) Informe Sectorial de Pesca y Agricultura (ed. sectorial DdA), p. 29.
- Tovar A, Moreno C, Manuel-Vez MP, García-Vargas M (2000) Environmental impacts of intensive aquaculture in marine waters. *Water Research* **34**, 334-342.
- Vignal A, Milan D, SanCristobal M, Eggen A (2002) A review on SNP and other types of molecular markers and their use in animal genetics. *Genet. Sel. Evol.* **34**, 275-305.

Wringe BF, Stanley RRE, Jeffery NW, Anderson EC, Bradbury IR (2017)

hybriddetective: A workflow and package to facilitate the detection of hybridization using genomic data in r. *Molecular Ecology Resources* **17**, e275-e284.

