

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE
VALPARAÍSO

FACULTAD DE CIENCIAS DEL MAR Y GEOGRAFÍA
ESCUELA CIENCIAS DEL MAR

Evaluación de la presencia de patógenos en peces nativos asociados
al cultivo de truchas arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*), en Río
Pichico, Región de Los Ríos, Chile.

**Proyecto para optar al título de Ingeniero Pesquero
por
María Angélica Rojas Hernández**

Valparaíso, 2018.

Comisión del Proyecto de Título:

Profesora Guía: Dra. Mariel Campalans Barnier.

Profesora: Dra. Jacqueline Campalans Barnier.

Profesora: Dra. María Isabel Toledo Donoso.

ACTA COMISION EVALUACIÓN DE PROYECTO DE TITULO

“Evaluación de la presencia de patógenos en peces nativos asociados al cultivo de trucha arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*) en Río Pichico, Región de Los Lagos, Chile”

De

María Angélica Rojas Hernández

El proyecto de título de *María Angélica Rojas Hernández*, para optar al título de Ingeniero Pesquero, es un trabajo original que describe el estado sanitario de los peces silvestres capturados en los alrededores de la piscicultura de trucha *pan size* “Pichico” perteneciente la empresa *Piscícola Entre Ríos Ltda.* que se ubica en un costado del Río del mismo nombre en la ciudad de Los Lagos.

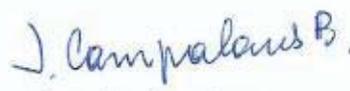
Para la realización de este proyecto la alumna ha debido desarrollar un análisis de los principales patógenos de salmónidos en los peces capturados en las dos estaciones de muestreo, arriba y abajo del punto de descarga de la piscicultura “Pichico”, durante los meses de abril, julio y septiembre del año 2015, que se ha traducido en resultados técnicamente bien desarrollados en el informe. Los principales hallazgos de su trabajo dicen relación con la presencia del patógeno IPNV y complementariamente con la constatación de la poca ictiofauna nativa presente en los alrededores de la descarga del centro de cultivo estudiado

Se realiza una adecuada discusión en la que plantea la relación de los peces de la piscicultura con el estado sanitario de los peces silvestres capturados.

En base al trabajo realizado y al informe escrito la comisión aprueba con correcciones menores el informe con una calificación final de 6.0 y se autoriza el examen público.


María Isabel Toledo.
Comisión


Mariel Campalans B.
Profesora Guía


Jacqueline Campalans B.
Comisión

VALPARAÍSO 29 de agosto de 2018

AUTORIZACIÓN DEL USO

Al presentar este Proyecto como último requisito para la obtención del título de Ingeniero Pesquero, autorizo a la biblioteca de la Escuela de Ciencias del Mar de la Universidad Católica de Valparaíso, para que se disponga libremente de ella. Autorizo además reproducciones parciales o totales de este proyecto sólo con fines académicos.



María Angélica Rojas Hernandez.

AGRADECIMIENTOS

Quisiera agradecer en primer lugar a mi profesora guía Mariel Campalans, por su continuo apoyo en la realización de este proyecto de título, dado que, sin su colaboración y orientaciones, no hubiese sido posible finalizar esta tesis.

Asimismo, agradecer a todos los profesores de la carrera de Ingeniería Pesquera por sus valiosas enseñanzas, las que me han entregado los pilares para mi desarrollo profesional.

Quiero también agradecer a mi familia, principalmente a mi madre María, quien me dio su apoyo total e incondicional, en especial al tomar a su cargo el cuidado de mi pequeña hija durante todo el periodo académico, gracias a lo cual me fue posible dedicarme completamente a la obtención de esta formación profesional.

Contenido

1.	INTRODUCCIÓN	1
2.	ANTECEDENTES GENERALES	2
2.1	Crecimiento y estado actual de la salmonicultura	2
2.2	Cultivos “Pan Size”	2
2.3	Especies nativas.....	3
2.4	Manejo de enfermedades en la acuicultura	6
2.5	Patógenos.....	6
2.6	Enfermedades de Alto Riesgo (EAR).....	7
2.7	Fundamentación y formulación del problema.....	9
3.	OBJETIVOS	10
3.1	Objetivo general.....	10
3.2	Objetivo específico.....	10
4.	METODOLOGÍA.....	11
4.1.	Especies objetivo.....	11
4.2.	Muestreo	12
4.3.	Método procesamiento de la muestra	14
5.	RESULTADOS	17
5.1	Objetivo 1: Catastro de patógenos encontrados en peces asociados al cultivo de truchas arcoíris en aguas del Río Pichico.	17
5.2	Objetivo 2: Relacionar los patógenos encontrados en las truchas arcoíris del centro de cultivo de Río Pichico, con los patógenos de las especies nativas asociadas al mismo centro. ...	24
5.2.1	Datos históricos de informes sanitarios, Piscícola Entre Ríos.	24
5.2.1.1	Presencia históricos de patógenos, centro de cultivo Río Pichico.	24
5.2.1.2	Presencia de patógenos en centro de cultivo Río Pichico año 2015.....	25
5.2.3	Método estadístico	25
6.	DISCUSIÓN.....	28
6.1.	Ausencia de especies nativas	28
6.2.	Patógenos encontrados	29
6.3.	Comparación	31
7.	CONCLUSIÓN	32
8.	REFERENCIAS.....	33

1. INTRODUCCIÓN

La fauna íctica de agua dulce en Chile está representada por 46 especies nativas, este bajo número de especies se debe principalmente a los accidentes geográficos en el país (ríos estrechos y caudalosos, segmentación por cordillera y océano, etc.). En la actualidad el fenómeno antrópico ha afectado aún más la condición de escasez de especies nativas, deteriorando el ambiente, modificando cuencas hidrológicas e introduciendo especies exóticas al sistema (**Hooper et al. 2005, Lundber & Moberg 2003**).

La mayoría de las invasiones biológicas son o han sido provocadas por el hombre, debido al transporte o introducción, intencional o accidental, de especies exóticas a ecosistemas locales. Dependiendo del éxito de las especies, han terminado convirtiéndose en agentes invasores, interfiriendo directamente con especies nativas y a su vez induciendo cambios en el medio. **Crowl et al., 1992** define un agente invasor como una especie introducida, que es capaz de auto sustentarse por sí misma sin intervención humana.

En las últimas décadas se ha acrecentado la fauna introducida en ambientes continentales de Chile, siendo representada en la actualidad por un total de 22 especies, de las cuales 20, pertenecen a familias no-nativas (**Dyer, 2000**). De las especies que han tenido un mayor impacto negativo sobre la trama trófica, se considera a los salmónidos, de los cuales la trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) y la Trucha Café (*Salmo trutta*), han sido las que han tenido un mayor éxito en desplazar especies nativas y conformar especies asilvestradas permanentes (**Palma et al. 2002**).

En el sur de Chile, la actividad productiva de la acuicultura se ha masificado, y con esto las implicancias sobre el medio natural. **Soto et al., 2006** concluye que hoy en día casi no es posible encontrar especies nativas en los sectores donde predominan las pisciculturas. Es claro que uno de los factores importantes es la voracidad de las especies cultivadas, pero también existen otros factores que no son considerados a la hora de evaluar la reducción en las poblaciones de especies nativas. Por lo que en este trabajo se pretende evaluar la presencia de patógenos en peces nativos asociados al cultivo de truchas arcoíris, en Río Pichico, Región de los Ríos, Chile.

2. ANTECEDENTES GENERALES

2.1 Crecimiento y estado actual de la salmonicultura

La Acuicultura a nivel mundial se ha transformado en el sector productivo de alimentos con el mayor crecimiento en las últimas décadas, con una tasa anual de alrededor de 5.8% por año, pasando de 44.3 millones de toneladas obtenidas en el 2005 a 73.8 millones de toneladas para el 2014. La Organización Mundial para la Alimentación y la Agricultura (FAO), estima que hacia fines del año 2030 la mayor cantidad de proteína animal que consumirá el hombre provendrá de la acuicultura (FAOa, 2014; FAO, 2016).

Durante el 2014 los mayores productores acuícolas fueron China e India, en un puesto más alejado Noruega y Chile (FAOb, 2014), y las especies que tuvieron el mayor desarrollo económico con respecto a su producción, fue el salmón del atlántico (*Salmon salar*) y trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) (FAO, 2016). Sin embargo, en la industria del salmón, se experimentan pérdidas económicas cuantiosas todos los años, lo anterior debido, a las numerosas enfermedades que presentan las especies en los centros de cultivo, las cuales se estiman a nivel mundial en pérdidas económicas de alrededor de 800.000 millones de dólares al año (Smith, 2015).

2.2 Cultivos “Pan Size”

La acuicultura ha desarrollado diferentes sistemas de cultivo para la diversa variedad de organismos acuáticos, ya sea en ambientes salobres o dulces. Uno de los que ha tenido un mayor desarrollo económico, es el cultivo de trucha tipo “*pan size*”, debido a su eficiencia y versatilidad en la producción (FAOa, 2014).

El cultivo “*pan size*” es entendido como “un sistema productivo exclusivo de la trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*), desde la incubación de ovas hasta la cosecha de los ejemplares que hayan alcanzado un tamaño máximo de 500 gramos, estos son llevados a cabo en pisciculturas que se abastecen sólo de agua dulce, y en el que el destino final de los ejemplares cosechados es el procesamiento y posterior comercialización” (Vásquez, 2006). Además, en ningún caso los centros de cultivo *pan size* poseen reproductores de ninguna especie, tampoco pueden destinar ejemplares a otras pisciculturas, salvo a las que sean de tipo *pan size*, y finalmente en ningún caso los ejemplares pueden ser destinados al mar (D.S. N° 319 de 2001).

2.3 Especies nativas

La distribución geográfica de Chile, conformada por la cordillera, el océano y el desierto han generado una biodiversidad única de las especies ictiofaunísticas. La cual se caracteriza por presentar poca diversidad, tamaño reducido de especies, retener caracteres primitivos presentando un alto endemismo de las mismas y estar adaptadas a ríos con altas pendientes y caudales fluctuantes (**Vila et al., 1999a & Dyer, 2000a**).

Actualmente la fauna íctica de Chile se conforma de un total de 11 familias, 17 géneros y alrededor de 44 especies nativas de peces estrictamente límnicos y diadromicos, incluyendo dos especies de lampreas, lo anterior descrito en la **tabla I de Campos et al., 1998**.

De las especies disponibles en nuestras aguas chilenas, un grupo importantes de las mismas presentan problema de conservación, permaneciendo tan solo dos especies fuera de peligro. Entre las principales amenazas asociadas a las mismas se encuentran la alteración del hábitad: contaminación, alteración de los cauces naturales, canalización, etc. (**Habit & Parra 2001**), pero también se observan amenazas biológicas, la de mayor impacto negativo corresponde a las especies introducidas en el país (**Habit & Rosenberger, 2004**), sin embargo, en la mayoría de los casos todavía se desconoce su real efecto sobre la ictiofauna nativa.

Una mención especial tiene la introducción de especies como *Oncorhynchus* y *Salmo*, cuyos efectos en el ecosistema límnic de Chile aún es desconocido, tanto en la depredación de especies nativas (**Vila et al., 1999b; Soto et al. 2006**), como en la transmisión de patógenos asociados a los cultivos (**Dyer, 2000a, Gajardo & Laikre 2002**).

Tabla 1. Lista de especies de peces y lampreas presentes en las aguas dulces de Chile (Campos et al., 1998).

ORDEN	FAMILIA	ESPECIE CONSERVACIÓN	ENDEMICO	CATEGORIA DE
PETROMYZONTIFORMES	Petromyzontidae	<i>Geotria australis</i> Gray 1851	No	Vulnerable
		<i>Mordacia lapicida</i> Gray 1851	Sí	Indeterminado
CHARACIFORMES	Characidae	<i>Cheirodon pisciculus</i> Girard 1855	Sí	Vulnerable
		<i>Cheirodon australe</i> Eigenmann 1928	Sí	Fuera Peligro
		<i>Cheirodon kiliani</i> Campos 1982	Sí	Rara
		<i>Cheirodon galusdae</i> Eigenmann 1928	Sí	Vulnerable
		<i>Nematogenys inermis</i> (Guichenot 1848)	Sí	Peligro Extinción
SILURIFORMES	Trichomycteridae	<i>Bullockia maldonadoi</i> (Eigenmann 1928)	Sí	Peligro Extinción
		<i>Trichomycterus areolaus</i> (Valenciennes 1840)	No	Vulnerable
		<i>Trichomycterus chiltoni</i> (Eigenmann 1928)	Sí	Peligro Extinción
	Diplomystidae	<i>Trichomycterus rivulatus</i> (Valenciennes 1840)	Sí	Rara
		<i>Trichomycterus chungaraensis</i> Arratia 1983	Sí	Peligro Extinción
		<i>Trichomycterus laucaensis</i> Arratia 1983	Sí	Peligro Extinción
		<i>Hatcheria macraei</i> (Girard 1855)	No	Rara
		<i>Diplomystes chilensis</i> Molina 1782	Sí	Peligro Extinción
		<i>Diplomystes nahuelbutaensis</i> Arratia 1987	Sí	Peligro Extinción
		<i>Diplomystes camposensis</i> Arratia 1987	Sí	Vulnerable
OSMERIFORMES	Galaxiidae	<i>Galaxias maculatus</i> (Jenyns 1842)	No	Vulnerable
		<i>Galaxias globiceps</i> Eigenmann 1928	Sí	Rara
		<i>Galaxias alpinus</i> ? (Jenyns 1842)	Sí	No clasificada
		<i>Galaxias platei</i> Steindachner 1898	Sí	Vulnerable
		<i>Brachygalaxias bullocki</i> (Regan 1908)	Sí	Indeterminado
		<i>Brachygalaxias gothei</i> Busse 1982	Sí	Vulnerable
		<i>Aplochiton zebra</i> Jenyns 1842	Sí	Peligro Extinción
		<i>Aplochiton marinus</i> ? Eigenmann 1928	Sí	Indeterminado
		<i>Aplochiton taeniatus</i> Jenyns 1842	Sí	Peligro Extinción
		<i>Mugil cephalus</i> Linnaeus 1758	No	Fuera Peligro
MUGILIFORMES	Mugilidae			

Continuación Tabla I.

CYPRINODONTIFORMES	Cyprinodontidae	<i>Orestias agassii</i> Valenciennes 1846	No	Indeterminado
		<i>Orestias chungarensis</i> Vila & Pinto 1986	Si	Peligro Extinción
		<i>Orestias laucaensis</i> Arratia 1982	Si	Peligro Extinción
		<i>Orestias ascotanensis</i> Parenti 1984	Si	Peligro Extinción
		<i>Orestias parinacotensis</i> Arratia 1982	Si	Peligro Extinción
		<i>Orestias</i> sp.n. Vila, en prensa	Si	No clasificada
		ATHERINIFORMES	Atherinopsidae	<i>Basilichthys australis</i> Eigenmann 1928
<i>Basilichthys microlepidotus</i> (Jenyns 1841)	Si			Peligro Extinción
<i>Basilichthys</i> cf. <i>semotilus</i> (Cope 1874)	Si			Peligro Extinción
<i>Odontesthes hatcheri</i> (Eigenmann 1909)	No			Insuf. conocida
<i>Odontesthes (Cauque) mauleanum</i> (Steindachne 1896)	Si			Vulnerable
<i>Odontesthes (Cauque) brevianalis</i> (Günther 1880)	Si			Vulnerable
<i>Odontesthes (Cauque) itatanum</i> ? (Steindachner 1896)	Si			Insuf. conocida
PERCIFORMES	Percichthyidae	<i>Percichthys trucha</i> (Valenciennes 1833)	No	Vulnerable
		<i>Percichthys melanops</i> Girard 1855	Si	Peligro Extinción
	Perciliidae	<i>Percilia irwini</i> Eigenmann 1928	Si	Peligro Extinción
		<i>Percilia gillissi</i> Girard 1855	Si	Vulnerable

2.4 Manejo de enfermedades en la acuicultura

La producción acuícola del mundo es limitada por la presencia de enfermedades, que en la mayoría de los casos se debe a la alta densidad poblacional, por lo que se facilitan la proliferación de los patógenos en y entre los cultivos (**Toledo *et al.*, 2004**).

Debido a lo anterior, y para mantener el control a los patógenos responsables de las enfermedades que se presentan en los cultivos, la industria acuícola ha presentado un crecimiento importante de los fármacos suministrados (**Alegría, 2010**). La aplicación de los fármacos en los centros de cultivo también ha tenido un desarrollo acelerado, en cuanto a la forma y la recepción del mismo medicamento. El suministro vía oral, por medio del alimento es uno de los más aceptados en la industria (**SAG, 2006**).

En la actualidad, se utilizan dos formas simples de incorporar la medicina en el alimento; mezclando la medicina durante la elaboración, o bien, recubriendo el alimento con el fármaco, mediante una técnica de aceitado conocida como “*Top Dressing*” que consiste principalmente en elaborar primero el alimento y luego añadir la medicina en una mezcladora, posteriormente se forma un recubrimiento del pellet con la misma medicina (**Sernapesca, 2011**).

Los antecedentes históricos en la acuicultura mundial y la chilena muestran que el uso excesivo de antibióticos en los cultivos, tiene implicancias negativas en la salud, especies y medio ambiente (**Cabello, 2004; Buschmann *et al.*, 2006; Cabello, 2006**). Los patógenos se hacen cada vez más resistentes e incluso inmunes a los tratamientos habituales, presentando además una rápida expansión en el medio, que puede perjudicar a las especies nativas circundantes.

2.5 Patógenos

Se considera que el traslado de peces, o sus gametos, es uno de los principales métodos por el cual los patógenos son transportados a diferentes lugares en el mundo (**Smith *et al.*, 2003**). Dado la rápida expansión que la industria chilena ha tenido en los últimos años con el fin de poder cubrir las necesidades del mercado, Chile ha exportado e importado más de mil millones de ovas y con ellos ha traído una gran cantidad de patógenos al país (**Alegría, 2010**).

Con respecto al rol de las especies silvestres aún no está definido por la literatura científica. Probablemente algunos agentes patógenos desconocidos hayan estado en forma endémica en las especies nativas, sin causar daño aparente y posteriormente se hayan adaptado a las especies introducidas, las que a su vez, poseerían condiciones particulares que permitirían un mejor desarrollo de las enfermedades. Estas condiciones pueden estar dadas por la constitución genética, o la nula memoria inmunológica, que estaría provocando que las especies de cultivo no respondieran de forma natural y efectiva a los

microorganismos circundantes (**Smith et al., 2003**). También existe la posibilidad que algunas especies silvestres actúen como reservorio para múltiples agentes patógenos y de esta forma, sea más difícil erradicarlos (**Alegría, 2010**).

2.6 Enfermedades de Alto Riesgo (EAR)

Los métodos moleculares, se han transformado en importantes herramientas en el diagnóstico y estudio de la diversidad de agentes patógenos (**Hungnes et al. 2000; Raynard et al. 2001; Johansen, 2011**). Actualmente, se encuentran descritas las técnicas de PCR para todos los patógenos presentes en la lista 1, 2 y 3 (**tabla 2, 3 y 4**) de enfermedades de alto riesgo (EAR), definida por la Subsecretaria de pesca en el Reglamento RESA D.S. 319 de 2001.

Tabla 2. Lista 1 de peces. Clasificación de enfermedades de alto riesgo, en conformidad a lo prescrito en la **Resolución N° 1741 del 2013** en base al artículo 3° del **D.S. N° 319 de 2001** y sus modificaciones del Ministerio de Economía, Fomento y Reconstrucción.

Enfermedad	Agente etiológico
Necrosis hematopoyética epizoótica	Virus de la necrosis hematopoyética epizoótica
Necrosis hematopoyética infecciosa	Virus de la necrosis hematopoyética infecciosa
Septicemia hemorrágica viral	Virus de la septicemia hemorrágica viral
Viremia primaveral de la carpa	Virus de la viremia primaveral de la carpa
Infección por Gyrodactylus salaris	<i>Gyrodactylus salaris</i>
Iridovirus de la dorada japonesa	Iridovirus de la dorada japonesa
Infección por alfa virus de los salmónidos	Alfa virus de los salmónidos (SAV)
Herpesvirosis de la Carpa Koi	Herpesvirus de la Carpa Koi
Síndrome Ulcerante Epizoótico	<i>Aphanomyces invadans</i> oomiceto
Infección por Totivirus	Virus de la familia Totiviridae

Tabla 3. Lista 2 de peces. Clasificación de enfermedades de alto riesgo, en conformidad a lo prescrito en la **Resolución N° 1741 del 2013** en base al artículo 3° del **D.S. N° 319 de 2001** y sus modificaciones del Ministerio de Economía, Fomento y Reconstrucción.

Enfermedad	Agente Etiológico
Infección por las variantes HPR0 y otros HPR del virus de la anemia infecciosa del salmón	Orthomyxovirus Virus ISA
Necrosis pancreática infecciosa	Virus de la necrosis pancreática infecciosa IPN
Piscirickettsiosis	<i>Piscirickettsia salmonis</i>
Renibacteriosis	<i>Renibacterium salmoninarum</i>
Caligidosis	<i>Caligus rogercresseyi</i>

Tabla 4. Lista 3 de peces. Clasificación de enfermedades de alto riesgo, en conformidad a lo prescrito en la **Resolución N° 1741 del 2013** en base al artículo 3° del **D.S. N° 319 de 2001** y sus modificaciones del Ministerio de Economía, Fomento y Reconstrucción.

Enfermedad	Agente etiológico
Streptococosis	<i>Streptococcus phocae</i>
Flavobacteriosis	<i>Flavobacterium psychrophilum</i>
Furunculosis atípica	<i>Aeromonas salmonicida atípica</i>
Vibriosis	<i>Vibrio ordalii</i> ; <i>Listonella anguillarum</i>
Enfermedad ameboide branquial	<i>Neoparamoeba perurans</i>
Síndrome hemorrágico del smolt	(No identificado en investigación)
Infección por Piscine reovirus	<i>Piscine reovirus</i>

En consecuencia, se ha considerado de gran valor estudios que permitan ir despejando incógnitas y especulaciones para finalmente establecer cuál es la relación existente entre las especies salmonídeas de confinamiento y los peces nativos circundantes a las estructuras flotantes que las contienen.

2.7 Fundamentación y formulación del problema

En la actualidad, la industria de la acuicultura ha tenido un crecimiento extraordinario, con ello, también el uso de los medicamentos para prevenir enfermedades en los cultivos. Los antibióticos cada vez se utilizan en forma más frecuente, lo que radica en patógenos cada vez más resistentes, que logran trascender las barreras de los cultivos y expandirse al medio, por lo que no solo se ven perjudicados los cultivos, sino que también existe un daño ambiental, salud del consumidor y con ello muchas veces a las especies nativas del sector.

Debido a lo anterior, se requieren llevar exhaustivos trabajos para conocer las características de los patógenos y su impacto en el medio. Las primeras preguntas a responder son; ¿los patógenos de cultivo son transmisibles al medio?; ¿las especies cultivo/nativas/asilvestradas se ven afectadas?; ¿Que daños producen los patógenos?

En el presente trabajo, se llevó a cabo un estudio de monitoreo de los patógenos encontrados en un centro de cultivo de escala comercial (“*pan size*”) de truchas arcoíris en río Pichico, décimo cuarta región. Además, se realizaron controles con especies nativas ubicadas en puntos específicos antes y después del centro de cultivo. Todo lo anterior, con el fin de determinar el real impacto de los patógenos generados en los centros de cultivos y su influencia en ambiente natural.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo general

Evaluar la presencia de patógenos en peces nativos, asociados al cultivo de truchas arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*), en Río Pichico, Región de los Ríos, Chile.

3.2 Objetivo específico

1. Realizar un catastro de patógenos encontrados en peces nativos asociados al cultivo de truchas arcoíris en aguas del Río Pichico.
2. Relacionar los patógenos encontrados en las truchas arcoíris del centro de cultivo de Río Pichico con los patógenos de las especies nativas asociadas al mismo centro.

4. METODOLOGÍA

La metodología utilizada en el presente trabajo se detalla de acuerdo a los objetivos específicos establecidos:

Objetivo 1: Catastro de patógenos encontrados en peces nativos asociados al cultivo de truchas arcoíris en aguas del Río Pichico.

4.1. Especies objetivo

Mediante la captura de peces en aguas del río Pichico, se proyectó obtener peces nativos del sector, de acuerdo a lo autorizado por la pesca de investigación emitida por la Subsecretaría de Pesca en el 2015 (Resolución exenta N° 1494) (**tabla 5**).

Tabla 5. Especies a capturar en muestreos de agua dulce por nombre común y científico.

Especies nativas	Nombre común
<i>Gestria australis</i>	Lamprea de bolsa
<i>Mordacia lapicida</i>	Lamprea de agua dulce
<i>Cheirodon australe</i>	Pocha del sur
<i>Cheirodon killiani</i>	Pocha del sur
<i>Diplomystes camposensis</i>	Bagre/tollo
<i>Trichomycterus areolatus</i>	Bagrecito
<i>Nematogenys inermis</i>	Bagre grande
<i>Galaxias maculatus</i>	Puye/Truchita/coltrao
<i>Galaxis platei</i>	Puye
<i>Galaxis globiceps</i>	Puye
<i>Brachygalaxias bullocki</i>	Puye
<i>Aplochiton marinus</i>	Peladilla
<i>Aplochiton taeniatus</i>	Farionela/Peladilla
<i>Aplochiton zebra</i>	Farionela listada
<i>Odontesthes mauleanum</i>	Cauque/Pejerrey
<i>odontesthes wiebrichi</i>	Cauque de valdivia
<i>Odontesthes brevianalis</i>	Cauque del norte
<i>Basilichthys australis</i>	Pejerrey chileno
<i>Percichthys trucha</i>	Perca trucha o trucha criolla
<i>Percilia gillissi</i>	Carmelita o colorada

Especies introducidas	Nombre común
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	Trucha arcoíris
<i>Oncorhynchus tshawytscha</i>	Salmon Rey o Chinook

4.2. Muestreo

En el 2015, se tomaron muestras mediante pesca de investigación en Río Pichico, a través de Enmalle, pesca con anzuelos y chinguillo en lugares donde la geomorfología del río lo permitió (**Figura 1**). La zona de estudio se ubicó al sur de la Comuna de Los Lagos, Región de los Ríos (XIV), en los perímetros de las Pisciculturas Pichico cuyas coordenadas son 39° 55' 24,32"S; 72° 40' 08,42"O y 39° 55' 11,35"S; 72° 40' 10,95"O Long (**Figura 4**).

Se realizaron 3 muestreos independientes y en cada uno se capturaron 40 ejemplares, totalizando 120 ejemplares. El muestreo se realizó en abril, julio y septiembre del 2015, con la finalidad cubrir el mayor espectro de condiciones climáticas posibles.

La necropsia de los peces fue realizada bajo condiciones asépticas, donde previo a la disección se tomaron registros fotográficos y se realizaron mediciones biométricas (**Tabla 6**), lo anterior para evidenciar la proporción de adultos de las zonas de muestreo. En la disección se obtuvo un inóculo desde el riñón y se sembró en una placa petri, la cual fue previamente preparada en un medio de cultivo bacterial. Posteriormente se extrajo un trozo de riñón, disponiéndose en un tubo "Ependorf" con una solución de alcohol absoluto, se repitió el procedimiento hasta completar 5 ejemplares, luego se cambió todo el instrumental y las bandejas, repitiendo una vez más el procedimiento, y así hasta completar los 40 ejemplares de las muestras.

Las muestras se mantuvieron a una temperatura inferior a los 10°C, en cajas apropiadas y con hielo, siendo enviadas al laboratorio ADL Diagnostic Chile Ltda. Antes de las 24 horas de su obtención.

En cada oportunidad se realizaron los mismos procedimientos, muestreando en sitios con y sin influencia del centro de cultivo. De esta forma poder obtener una comparación entre ambas zonas (**Figura 2 y 3**).

Tabla 6. Longitud de los peces muestreados.

Muestreo	Longitud	Lugar	
		Sector 1	sector 2
1° ABRIL	Máxima	27,0	32,4
	Mínima	12,1	14,6
	Promedio	18,8	22,6
	Desviación	4,9	5,8
2° JULIO	Máxima	34,0	40,1
	Mínima	15,2	20,7
	Promedio	20,9	29,2
	Desviación	12,6	6,5
3° SEPTIEMBRE	Máxima	31,0	29,7
	Mínima	14,8	14,0
	Promedio	23,1	22,1
	Desviación	5,0	5,4



Figura 1. Red de enmalle.



Figura 2. toma de muestras sector 1.



Figura 3. toma de muestras sector 2.

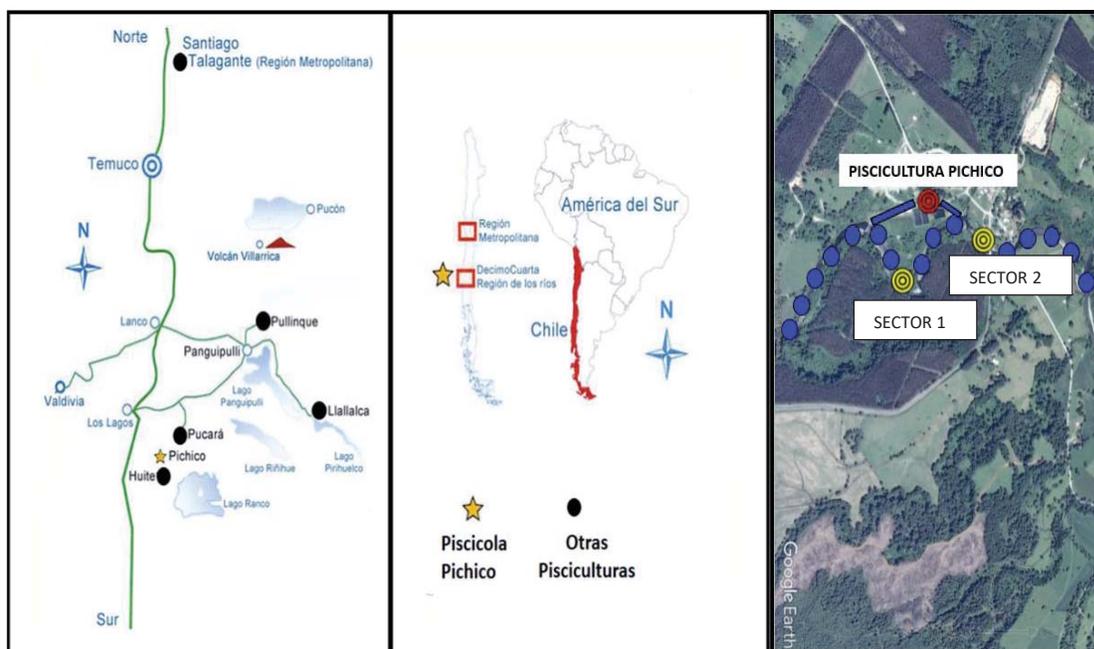


Figura 4. Ubicación de la zona de estudio y del muestreo realizado.

4.3. Método procesamiento de la muestra

Se llevaron a cabo en las dependencias del laboratorio (ADL, Puerto Montt), donde se utilizó el método Molecular PCR para cada uno de los patógenos estudiados de acuerdo a los procedimientos descritos en el Manual de diagnóstico para organismos acuáticos para las enfermedades de alto riesgo (**Manual OIE, 2003**), las cuales fueron estandarizadas para el tipo de muestra y las condiciones del laboratorio.

Con respecto a la selección de patógenos para el análisis en laboratorio, se tomó en cuenta el listado de patógenos EAR presentes en el país (**Resolución N° 1741 del 2013**). En base a lo anterior, se hizo una evaluación de los patógenos que presentan una mayor probabilidad de encontrarse en centros de cultivo *pan size*. Lo anterior, por medio de una revisión bibliográfica de trabajos de investigación realizados para la industria acuícola chilena, principalmente para sur de Chile (**Campalans et al., 2017**)

Los patógenos analizados fueron: IPN, ISA, *Flavobacteria pisciphylum*, *Piscirickettsia salmonis*, *Renibacterium salmoninarum*.

Objetivo 2: Relacionar los patógenos encontrados en las truchas arcoíris del centro de cultivo de Río Pichico, con los patógenos de las especies nativas asociadas al mismo centro.

Para realizar la comparación de patógenos entre las especies nativas y el centro de cultivo, el método que se aplicará para la data, será estadística no paramétrica, a través de la prueba estadística ji-cuadrado (χ^2) que permite determinar dependencia entre procesos.

En donde las hipótesis propuestas son las siguientes:

H0: “La presencia de patógeno “IPN” es independiente del origen de los peces”

H1: “La presencia de patógeno “IPN” depende del origen de los peces”.

Se procedió a analizar el patógeno “IPN” de acuerdo a la presencia y recurrencia histórica del patógeno en particular, en el centro de cultivo de Pichico.

Se utilizará un nivel de significancia de $\alpha = 0,05$, considerado como error estándar. A su vez, se construirá una nueva tabla de datos, donde se indique si la muestra de patógenos encontrados “IPN” es positiva o negativa en la zona de muestreo en el centro de cultivo de Río Pichico. Posteriormente se calculará las frecuencias esperadas en base a la tabla antes descrita, mediante el cálculo de los totales.

Posteriormente, aplicando:

$$\chi^2 = \sum \frac{(o_i - e_i)^2}{e_i}$$

Se obtendrá el estadístico de prueba para cada valor de patógeno “IPN”, posteriormente se sumarán. Obteniendo el estadístico de prueba final.

Se calculará los grados de libertad mediante:

$$G.L. = (n^\circ \text{ de filas} - 1) \times (n^\circ \text{ de columnas} - 1)$$

Usando la tabla de gráficos de Ji - cuadrado (**tabla 7**), y una vez determinado los grados de libertad y el α , se procederá a buscar el valor ji-cuadrado referencial, para dar paso a la aceptación o rechazo de la prueba estadística.

Tabla 7. Distribución paramétrica de de Ji - cuadrado

Grados de libertad	$\alpha=.995$	$\alpha=.99$	$\alpha=.975$	$\alpha=.95$	$\alpha=.90$	$\alpha=.10$	$\alpha=.05$	$\alpha=.025$	$\alpha=.01$	$\alpha=.005$
1	0.0000	0.0002	0.0010	0.0039	0.0158	2.7055	3.8415	5.0239	6.6349	7.8794
2	0.0100	0.0201	0.0506	0.1026	0.2107	4.6052	5.9915	7.3778	9.2103	10.597
3	0.0717	0.1148	0.2158	0.3518	0.5844	6.2514	7.8147	9.3484	11.345	12.838
4	0.2070	0.2971	0.4844	0.7107	1.0636	7.7794	9.4877	11.143	13.277	14.860
5	0.4117	0.5543	0.8312	1.1455	1.6103	9.2364	11.070	12.833	15.086	16.750
6	0.6757	0.8721	1.2373	1.6354	2.2041	10.645	12.592	14.449	16.812	18.548
7	0.9893	1.2390	1.6899	2.1673	2.8331	12.017	14.067	16.013	18.475	20.278
8	1.3444	1.6465	2.1797	2.7326	3.4895	13.362	15.507	17.535	20.090	21.955
9	1.7349	2.0879	2.7004	3.3251	4.1682	14.684	16.919	19.023	21.666	23.589

Si el valor del estadístico de prueba es menor al encontrado en la tabla, entonces se procederá en la aceptación de la hipótesis nula, de ser mayor al valor encontrado en la tabla entonces se procederá a la aceptación de la hipótesis H1.

5. RESULTADOS

Los resultados obtenidos en el presente trabajo se detallan de acuerdo a los objetivos específicos establecidos:

5.1 Objetivo 1: Catastro de patógenos encontrados en peces asociados al cultivo de truchas arcoíris en aguas del Río Pichico.

La pesca de investigación llevada a cabo en abril, julio y septiembre logró abarcar la totalidad del área prospectada para el proyecto, con un total de 120 especímenes, 40 muestras por muestreo, de las cuales se dispusieron en contenedores aislados, con 5 muestras de riñón cada contenedor, analizando los patógenos seleccionados para el estudio, lo anterior por medio de la extracción y amplificación del ADN.

Del total de peces muestreados en las distintas zonas del Río Pichico, el 96,5% (116 ejemplares) corresponden a trucha arcoíris "*O. mykiss*", y los 4 ejemplares restantes pertenecían a otras especies, tres fueron peces nativos (peladilla listada "*Aplochiton sp.*" Y peladilla común "*Aplochiton taeniatus*") y uno asilvestrado (trucha fario "*Salmo trutta*") (Figura 5).

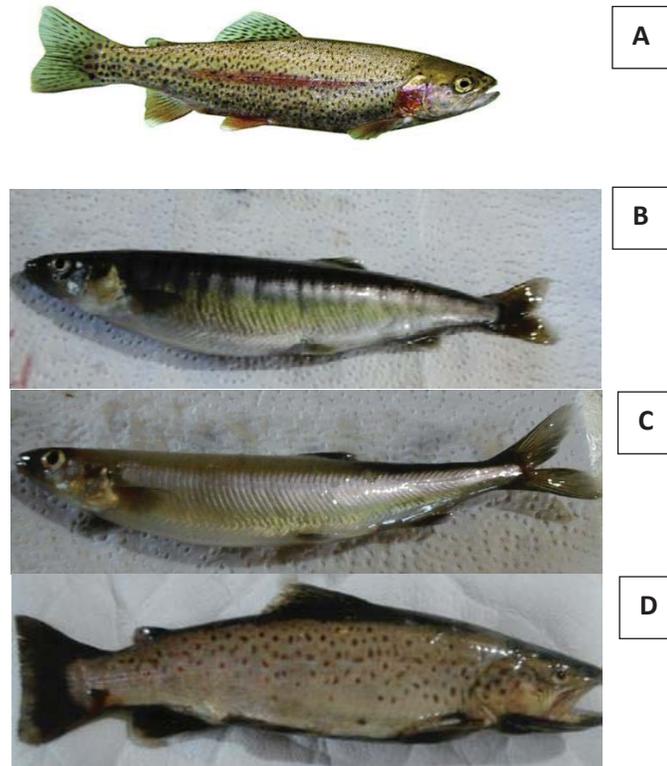


Figura 5. Ejemplares capturados: A) Trucha arcoíris B) peladilla listada C) peladilla común D) trucha fario.

A continuación, se presentan el análisis del laboratorio de la presencia de patógenos encontrados en las especies capturadas antes y después del centro de cultivo “pan size”, durante el periodo de muestreo respectivo.

Tabla 8. Análisis del patógeno (IPN) encontrado en muestras de riñón de los especímenes capturados.

PATOGENO: IPN	Río arriba (SECTOR 1)		Río abajo (SECTOR 2)		Total
	MUESTREOS	Negativo	Positivo	Negativo	
Abril	4	0	3	1	8
Julio	4	0	4	0	8
Septiembre	3	1	3	1	8
total	11	1	10	2	24

Tabla 9. Análisis del patógeno (ISA) encontrado en las muestras de riñón de los especímenes capturados.

PATOGENO:ISA	Río arriba (SECTOR 1)		Río abajo (SECTOR 2)		Total
	MUESTREOS	Negativo	Positivo	negativo	
Abril	4	0	4	0	8
Julio	4	0	4	0	8
Septiembre	4	0	4	0	8
total	12	0	12	0	24

Tabla 10. Análisis del patógenos (*Flavobacteria psychrophylum*) encontrado en las muestras de riñón de los especímenes capturados.

PATOGENO: Flavobacteria psychrophylum	Río arriba (SECTOR 1)		Río abajo (SECTOR 2)		Total
	MUESTREOS	Negativo	Positivo	negativo	
Abril	4	0	4	0	8
Julio	4	0	4	0	8
Septiembre	4	0	4	0	8
Total	12	0	12	0	24

Tabla 11. Análisis del patógeno (*Piscirickettsia salmonis*) encontrado en las muestras de riñón de los especímenes capturados.

PATOGENO: Piscirickettsia salmonis	Río arriba (SECTOR 1)		Río abajo (SECTOR 2)		Total
	MUESTREOS	Negativo	Positivo	negativo	
Abril	4	0	4	0	8
Julio	4	0	4	0	8
Septiembre	4	0	4	0	8
Total	12	0	12	0	24

Tabla 12. Análisis del patógeno (*Renibacterium salmoninarum*) encontrado en las muestras de riñón de los especímenes capturados.

PATOGENO: Renibacterium salmoninarum	Río arriba (SECTOR 1)		Río abajo (SECTOR 2)		total
	MUESTREOS	Negativo	Positivo	negativo	
Abril	4	0	4	0	8
Julio	4	0	4	0	8
Septiembre	4	0	4	0	8
Total	12	0	12	0	24

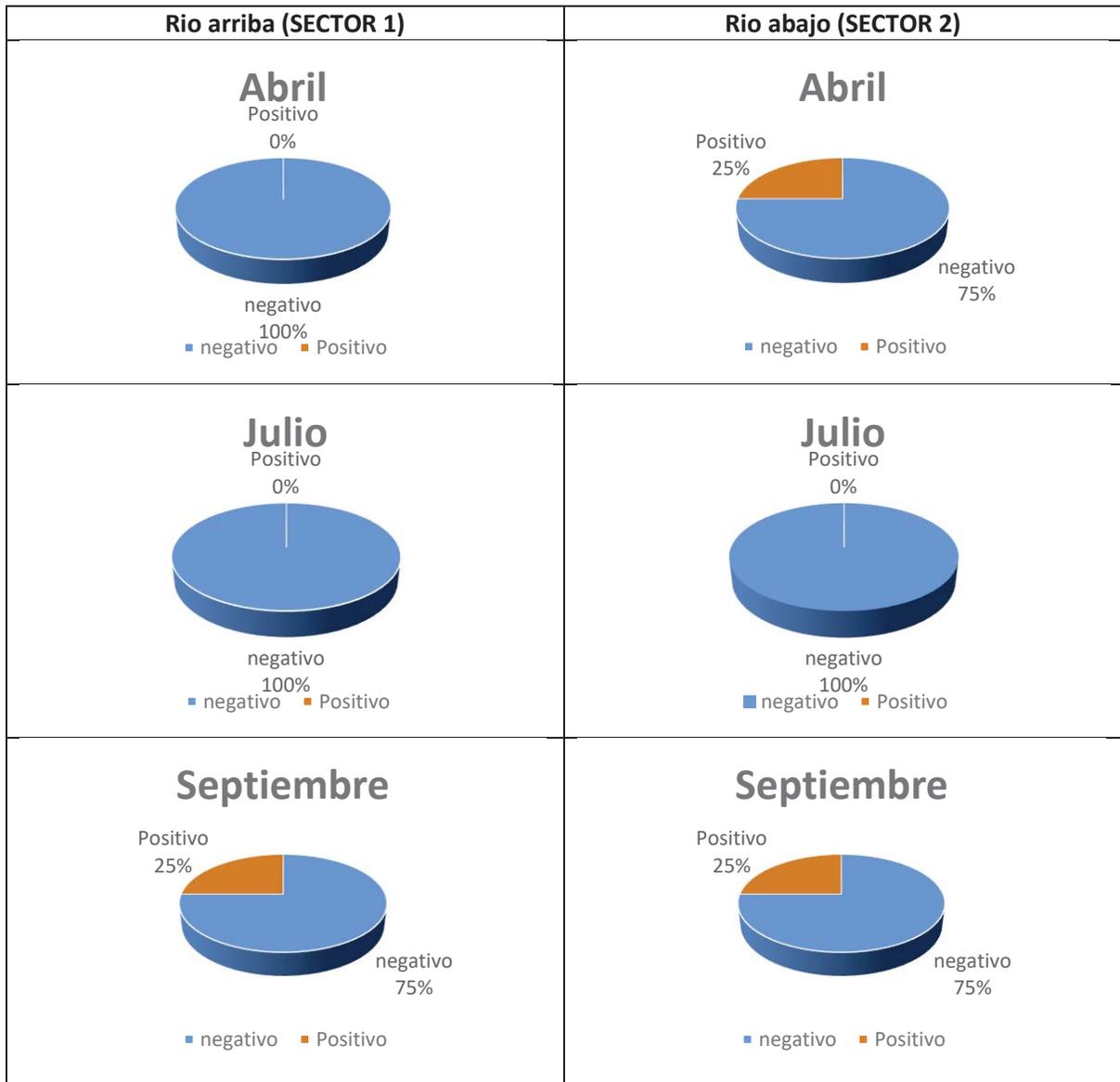


Figura 6. Análisis porcentual de los contenedores con muestras de riñón de las especies analizadas por mes, obtenidos para el patógeno “IPN”, antes y después de la Piscicultura en Río Pichico.

Los resultados obtenidos en los especímenes analizados para los demás patógenos; “ISA, *Flavobacteria psychrophylum*, *Piscirickettsia salmonis*, *Renibacterium salmoninarum*” resultaron negativos.

Del total de especies muestreadas (120) tanto antes (río arriba) como después (río abajo) de la piscicultura, se observó que tan solo 3 contenedores presentaron resultados positivos al contagio de un patógeno, resultando las demás muestras negativas. De esos 3 contenedores positivos, el 100% correspondió al virus del IPN detectado en abril y septiembre, totalizando una posible contaminación de 15 individuos (**figura 6 y 7**).

La variabilidad en la detección de tal virus fue amplia, pues se detectó el IPN en el mes de abril, río abajo (resultando positiva la muestra, totalizando una posible contaminación de 5 ejemplares) y también en el mes de septiembre tanto río arriba como río abajo (muestras positivas, totalizando una posible contaminación de 10 ejemplares) (**figura 7**).

Tabla 13. Análisis cuantitativo de los contenedores de las muestras de riñón de las especies analizadas, obtenidas antes y después de la piscicultura.

TOTAL	Río arriba (SECTOR 1)			Río abajo (SECTOR 2)		
	Muestras	Contenedores Negativos	Contenedores positivas	Muestras	Contenedores negativos	Contenedores positivos
	60	11	1	60	10	2

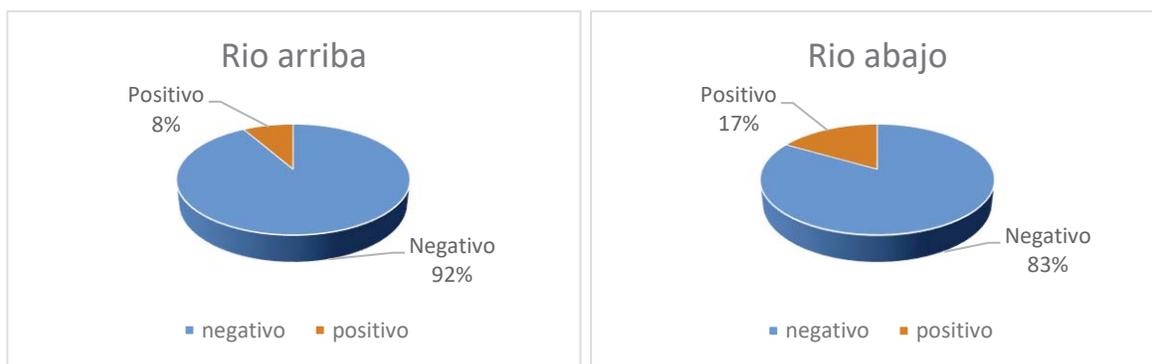


Figura 7. Análisis porcentual de los contenedores con muestras de riñón de las especies analizadas que resultaron positivos y negativos al IPN, antes y después de la piscicultura (río abajo).

Se detectó que del total de las muestras antes de la piscicultura (río arriba), el 8% presentó positivo a un patógeno, mientras que del total de la muestra después de la piscicultura (río abajo), 17% de las muestras presentó positivo a un patógeno.

Tabla 14. Análisis cuantitativo de los contenedores de las muestras de riñón de las especies analizadas, obtenidas por mes tanto antes como después de la piscicultura.

PATOGENOS	ABRIL	JULIO	SEPTIEMBRE	TOTAL
TOTAL MUESTRAS	40	40	40	120
CONTENEDORES NEGATIVOS	7	8	6	21
CONTENDORES POSITIVOS	1	0	2	3

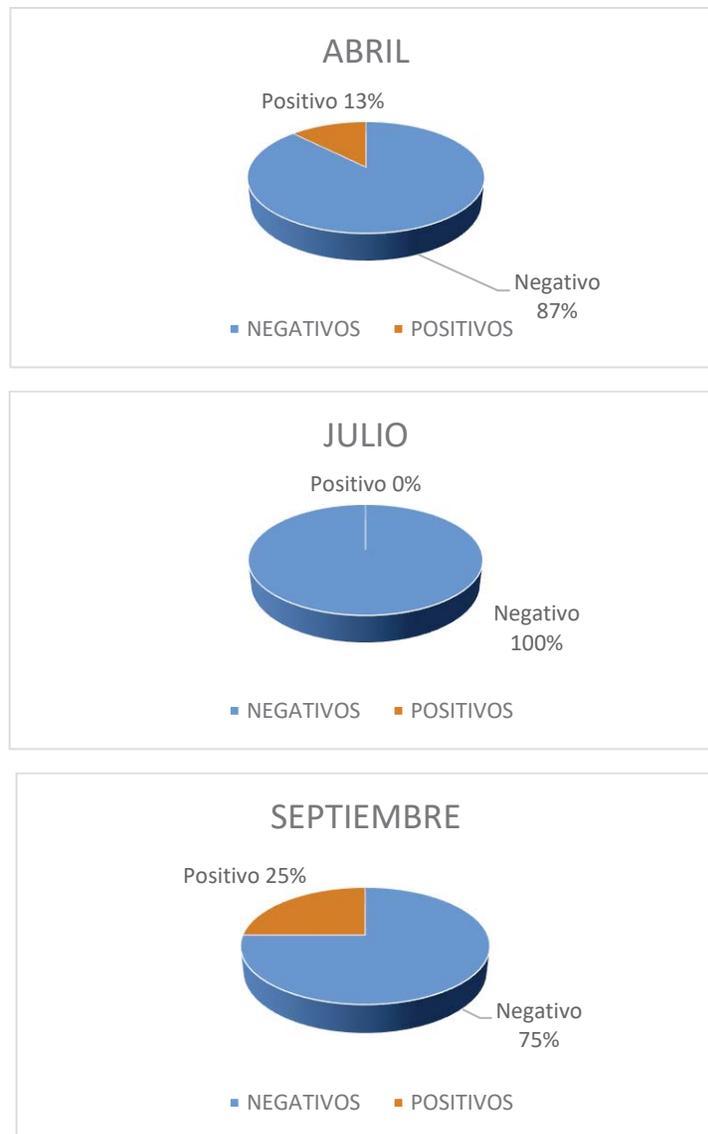


Figura 8. Total, de contenedores detectados con el patógeno de IPN en los meses de muestreo.

Del total de la muestra, el 13% (1 contenedor) presentó infección en el mes de abril, en julio no se presentaron infectados y finalmente en septiembre se presentó un 25 % del total de infectados (2 contenedores) (**Figura 8**).

5.2 Objetivo 2: Relacionar los patógenos encontrados en las truchas arcoíris del centro de cultivo de Río Pichico, con los patógenos de las especies nativas asociadas al mismo centro.

5.2.1 Datos históricos de informes sanitarios, Piscícola Entre Ríos.

Para el objetivo ya mencionado, es necesario en primer lugar revisar los resultados históricos de la Piscícola Entre Ríos en cuanto a detección de Enfermedades de Alto Riesgo (EAR), para lo cual, se utilizaron los informes de laboratorio proporcionados por la piscicultura, efectuados frente al Plan Anual de Vigilancia Epidemiológica, y posibles problemas sanitarios específicos de los centros, presentados a lo largo de cinco años (2011 al 2015) (Tabla 15).

Tabla 15. Número de informes de laboratorio revisados por los diferentes centros de cultivo de la empresa Entre Ríos Ltda., desde el 2011 al 2015.

Nombre del Centro	Frecuencia	Porcentaje
HUITE	70	18,18%
LLALLALCA	27	7,01%
PICHICO	120	31,16%
PUCARA	87	22,60%
PULLINQUE	23	5,97%
TREBULCO	58	15,06%
Sumatoria	385	100%

En tabla 15 se observan en el centro de cultivo Río Pichico un total de 120 informes sanitarios revisados para detección de patógenos en el sector, lo cual corresponde a un 31,16% de los problemas sanitarios registrados de entre todas las pisciculturas pertenecientes a la empresa Entre Ríos.

5.2.1.1 Presencia históricos de patógenos, centro de cultivo Río Pichico.

Es importante destacar que el Programa de Vigilancia Epidemiológica, a través de su Plan Anual de Vigilancia Epidemiológica llevado a cabo por el Servicio Nacional de Pesca, define el número de visitas inspectivas anuales a realizar a los centros de cultivos (2 veces al año), y define igualmente el número de muestras de ejemplares (60 individuos, conformando pooles con un máximo de 5 peces), las cuales se deben reportar a través de informes emanados de laboratorios autorizados, para la detección de Enfermedades de Alto Riesgo (EAR).

En base a lo anterior la siguiente tabla 16, muestra el número de informes realizados por el centro Río Pichico, por año y con identificación de algunos patógenos clasificados en el listado 2 y 3 de Enfermedades de Alto Riesgo (EAR), indicando el número de diagnósticos positivos (pooles positivos) para cada uno de ellos.

Tabla 16. Número de informes de laboratorio del centro de cultivo Rio Pichico por año y con diagnósticos positivos (pooles positivos) según patógeno.

Años	Nº informes	Virus IPN	Virus ISA	<i>Flavobacterium sp.</i>	<i>Flavobacterium Psychrophilum</i>	<i>Renibacterium salmoninarum</i>	<i>Piscirickettsia salmonis</i>
		Diagnostico +	Diagnostico +	Diagnostico +	Diagnostico +	Diagnostico +	Diagnostico +
2011	10	1	0	0	0	0	0
2012	20	0	0	8	0	1	0
2013	47	1	0	11	0	4	0
2014	28	2	0	0	0	1	0
2015	15	9	0	0	0	0	0
Total	120	13	0	19	0	6	0

5.2.1.2 Presencia de patógenos en centro de cultivo Río Pichico año 2015.

En relación a la presencia de patógenos en el centro de cultivo Rio Pichico, y así como se observa en tabla 16, se puede indicar que el único patógeno presente para este año, fue el virus IPN con una ocurrencia de 9 pooles positivos y 7 pooles negativos.

5.2.3 Método estadístico

En base a los muestreos realizados para este estudio durante el año 2015 en las afueras del centro de cultivo Río Pichico y la presencia de patógenos en el mismo centro de cultivo para el mismo año, es que se pretenden relacionar a través de la prueba estadística no paramétrica, dado que para ambos casos (dentro del centro y fuera del centro río arriba (SECTOR 1) y río abajo (SECTOR 2)), la única presencia de patógeno detectada fue el virus IPN. Mayor detalle en tabla 17.

Tabla 17. Número de pools analizados, con resultados positivos y negativos respecto al virus IPN.

diagnósticos	Virus IPN año 2015 Centro Cultivo	Virus IPN año 2015 Sector 1 Rio arriba	Virus IPN año 2015 Sector 2 Rio abajo	Total
POSITIVO	9	1	2	12
NEGATIVO	7	11	10	28
TOTAL	16	12	12	40

Para esta prueba estadística no paramétrica, se utilizó el método Ji-Cuadrado, con un nivel de significancia de alfa = 0,05 (margen de error estándar).

En donde las hipótesis propuestas son las siguientes:

H0: “La presencia de patógenos IPN es independiente del origen de los peces”

H1: “La presencia de patógenos IPN depende del origen de los peces”.

Se calculó las frecuencias esperadas en base al registro de IPN.

Tabla 18. Calculo de frecuencias esperadas para el número de informes de laboratorio del Centro de Cultivo Rio Pichico que resultaron positivos y negativos con respecto al virus IPN.

PATOGENOS	Virus IPN año 2015 Centro Cultivo	Virus IPN año 2015 Sector 1 Rio arriba	Virus IPN año 2015 Sector 2 Rio abajo	TOTAL
POSITIVO	4,80	3,60	3,60	12
NEGATIVO	11,20	8,40	8,40	28
TOTAL	16	12	12	40

De acuerdo a:

$$\chi^2 = \sum \frac{(oi - ei)^2}{ei}$$

Se obtuvo los valores del estadístico de prueba.

Tabla 19. Valor de estadístico de prueba, para cada valor de IPN.

PATOGENOS	Virus IPN año 2015 Centro Cultivo	Virus IPN año 2015 Sector 1 Rio arriba	Virus IPN año 2015 Sector 2 Rio abajo
POSITIVO	0,77	0,52	0,20
NEGATIVO	0,14	0,10	0,04

Se obtuvo el resultado del estadístico de prueba:

$$\chi^2 = 1,76$$

Posteriormente se calculó los grados de libertad

$$\begin{aligned}
 G1 &= (n^\circ \text{ de filas } -1) \times (n^\circ \text{ de columnas } -1) \\
 &= (2-1) \times (3-1)
 \end{aligned}$$

$$G1 = 2$$

Usando la tabla de gráficos de Ji-cuadrado, con grados de libertad igual a 2 y el alfa standart de 0,05, se procedió a buscar el valor de χ^2 por tabla.

Tabla 20. Distribución paramétrica de de Ji-cuadrado

Grados de libertad	$\alpha=.995$	$\alpha=.99$	$\alpha=.975$	$\alpha=.95$	$\alpha=.90$	$\alpha=.10$	$\alpha=.05$	$\alpha=.025$	$\alpha=.01$	$\alpha=.005$
1	0.0000	0.0002	0.0010	0.0039	0.0158	2.7055	3.8415	5.0239	6.6349	7.8794
2	0.0100	0.0201	0.0506	0.1026	0.2107	4.6052	5.9915	7.3778	9.2103	10.597
3	0.0717	0.1148	0.2158	0.3518	0.5844	6.2514	7.8147	9.3484	11.345	12.838
4	0.2070	0.2971	0.4844	0.7107	1.0636	7.7794	9.4877	11.143	13.277	14.860
5	0.4117	0.5543	0.8312	1.1455	1.6103	9.2364	11.070	12.833	15.086	16.750
6	0.6757	0.8721	1.2373	1.6354	2.2041	10.645	12.592	14.449	16.812	18.548
7	0.9893	1.2390	1.6899	2.1673	2.8331	12.017	14.067	16.013	18.475	20.278
8	1.3444	1.6465	2.1797	2.7326	3.4895	13.362	15.507	17.535	20.090	21.955
9	1.7349	2.0879	2.7004	3.3251	4.1682	14.684	16.919	19.023	21.666	23.589

Posteriormente se obtuvo el valor por tabla para Ji cuadrado 5,9915, y de acuerdo a lo calculado para el estadístico de prueba en la **tabla 20**, $\chi^2 = 1,76$. Se observó que el valor de χ^2 es inferior a 5,9915, por lo tanto, se acepta la hipótesis nula que indica que “La presencia del patógeno IPN es independiente del origen de los peces”.

6. DISCUSIÓN

6.1. Ausencia de especies nativas

El hecho de que se hayan encontrado cuatro especies nativas en la zona de estudio, indica que, la introducción de grandes depredadores salmónidos (*O. mykiss*) han tenido un efecto adverso en los peces nativos. Estudios realizados en América Latina (**Arizmendi et al., 2009; Ortiz, 2015**), muestran que las poblaciones de truchas arcoíris han extendido su distribución latitudinal y altitudinalmente, principalmente en el sur de Chile.

Consecuentemente con lo anterior, las especies nativas ejercen poca o nula resistencia a la invasión de nuevos depredadores (**Ortiz, 2015**), por lo que en la actualidad se estarían estableciendo nuevas y desconocidas relaciones tróficas en el ecosistema.

Confirmando la escasa presencia de especies nativas en el sector, **Basualto, 2003**, establece que en la actualidad existe un avance exitoso de las especies foráneas por sobre las nativas en el sur de Chile. Además, evidencia que la presencia de centros de cultivo *pan size*, es la principal responsable de tal pobreza de especies nativas.

El comportamiento natural de las especies nativas contribuye a la ausencia de las mismas. En general las especies autóctonas del país son incapaces de remontar río arriba, limitando la distribución de las mismas y con ello, aumentando eventualmente el riesgo de adquirir un agente patógeno mortal (**Vila et al., 2006, Habbit et al., 2006**).

Para fines del 2006 se observó que la trucha arcoíris constituyó alrededor del 60% de las especies dominantes en los ríos del sur de Chile y más del 80% de la biomasa total (**Soto et al., 2006**).

En resumen, en la actualidad, la literatura ofrece mayor información de las especies invasoras que de las especies nativas del país, dificultando mucho la identificación del comportamiento de la cadena trófica natural.

6.2. Patógenos encontrados

De acuerdo a las 5 pruebas diagnósticas aplicadas en laboratorio (para los patógenos de: IPN, ISA, *Flavobacterium psychrophylum*, *Piscirickettsia salmonis*, *Renibacterium salmoninarum*), solo se detectó el patógeno de la Necrosis Pancreática Infecciosa (IPN). Sin embargo, su ocurrencia fue baja.

Una observación no menor que puede limitar este estudio es la especificidad de la prueba diagnóstica realizada en laboratorio, que permite una pequeña probabilidad de concluir erróneamente la presencia de una enfermedad, ausente en la muestra (**Dohoo et al., 2003**).

En relación al único hallazgo de IPN, se puede indicar que fue registrado durante abril y septiembre, antes y después de la piscicultura. La ocurrencia del patógeno en cuestión fue mínima, lo cual, es congruente con la estimación realizada para la acuicultura en la zona sur de Chile por **Bustos et al., 1999**, indicando que, en aguas dulces, debido al flujo caudaloso de los ríos y la rápida tasa de recambio de agua, se evita la proliferación y extensión de los patógenos en centros de cultivo de aguas abiertas.

Sin embargo, la naturaleza del patógeno en cuestión (IPN), presentan las mayores posibilidades de infección que los demás patógenos estudiados, principalmente en etapas juveniles de las especies. Además, la rápida dispersión que presenta el agente patógeno, tanto vertical como horizontal lo hace aún más riesgoso (**Leong et al., 2002; León et al., 2009**). Por tanto, los peces que se encuentran en las primeras semanas de vida (crías y alevines), son los más propensos a ser afectados. Mientras que a las truchas de 6 meses de edad se les considera resistente al virus con una mayor oportunidad de sobrevivencia (**Bootland et al., 1995**). En vista de lo anterior, la captura de las muestras, debería ser orientada a estadios más tempranos de la trucha arcoíris. De esta manera se evita el posible sesgo de especies infectadas no detectadas.

En el momento de la reproducción, el virus se dispersa a través del agua, lo cual es un excelente medio de transporte y difusión, aumentando el riesgo de la diseminación de la enfermedad hacia otras unidades de producción o bien hacia el medio. La diferencia es que en un medio de cultivo la probabilidad de infección es mayor a la registrada en un medio natural, esto debido a la densidad poblacional en un mismo sector de cultivo (**Yao y Vakharia, 1998**).

La vacunación de las especies para el caso del IPN no previene una transmisión de tipo vertical (**Bootland et al, 1990**). En consideración de lo anterior, la alta mortalidad de las especies juveniles portadoras del virus, nos entrega información de que no alcanzarían etapas adultas y por lo tanto no se encontrarían en el medio, como portadoras (**Leon et al., 2009**).

Con respecto a la dependencia entre la presencia de patógenos IPN y el origen de las especies capturadas, quedo demostrado mediante el método estadístico Ji cuadrado, que no

existe una relación entre ellos, es decir la presencia del patógeno IPN es independiente del sector de captura de los peces (agua arriba, agua abajo o en el centro de cultivo), resultando una variable aleatoria en el muestreo. Lo anterior, se representa por las características biológicas de las especies capturadas, y la capacidad de adaptarse al medio, cubriendo grandes extensiones de terreno (**Basualto, 2003**).

Quizás un análisis más complejo, en donde se separen las especies capturadas nativas y las especies capturadas asilvestradas, pueda establecer las bases para una dependencia entre el patógeno IPN y las especies capturadas. Esto, apoyado en el conocimiento biológico de especies nativas, las cuales son incapaces de remontar río arriba, y por ende terminan estableciéndose en lugares determinados que son favorables alimentariamente para las mismas, como las pisciculturas (**Vila et al., 2006, Habbit et al., 2006**).

6.3. Comparación

En la Piscícola Entre Ríos Ltda, los principales patógenos reportados por el centro de cultivo Rio Pichico son el virus del IPN, *Renibacterium salmoninarum* y el complejo de flavobacteria. Sin embargo, durante el estudio no se detectó ningún caso de Renibacterias ni Flavobacterias. Estos resultados coinciden con los estudios que indican que el virus IPN, está ampliamente distribuido y ha sido detectado en peces marinos, estuarinos y dulceacuícolas, siendo prácticamente endémico del país (**Campalans et al., 2017; Bang & Kristoffersen 2015**). Se suma a ello, que no es posible eliminarlo de las aguas efluentes de las pisciculturas que han presentado el brote tiempo atrás (**Campalans et al., 2017**).

Con respecto a las Flavobacterias, se encuentran presentes como patógenos en organismos como: plantas, invertebrados, anfibios, reptiles, aves y mamíferos, incluso seres humanos, por esta razón es alta la probabilidad de ser transportada por peces migratorios y pescadores deportivos, principalmente en los ríos de Chile. Pero tampoco es extraña su ausencia ya que posee la particularidad de ser un patógeno oportunista, que prolifera en momentos determinados (**Loch & Faisal 2015**).

La enfermedad flavobacteriosis se considera un agente propio del ambiente y parte importante de los ciclos biogeoquímicos, por lo cual no es causada por patógenos peligrosos, de acuerdo a la clasificación OIE y a lo descrito por otros autores (**Kirchman 2002, Bernardet & Bowman 2006**).

Por otra parte, la bacteria *Renibacterium salmoninarum* es un agente patógeno causante de graves problemas en la fase marina de los cultivos de salmónidos, no siendo una amenaza para los cultivos de trucha en agua dulce (**Campalans et al., 2017**), lo que responde a la ausencia en las muestras y en los informes históricos PVA de la empresa.

La comparación de la presencia de patógenos, entre los peces de la piscicultura y el medio, indicaría que no existe diferencia significativa respecto al patógeno IPN, y además la ausencia de los demás patógenos estudiados, indicaría una situación sanitaria buena. La baja presencia de patógenos podría ser explicada por los beneficios del emplazamiento de la piscícola, ya que el sistema de cultivo es de “flujo abierto”, y por lo tanto las tasas de cambio de agua que presenta el centro de cultivo son muy altas, es decir, la residencia del agua es acotada, lo que eventualmente no estaría permitiendo la permanencia prolongada de patógenos y por otra parte la estadía de las especies en el centro de cultivo es corta.

Si se realiza una comparación de la Piscícola Entre Ríos emplazada en Pichico, con piscícolas emplazadas en otros Países que son grandes productores de truchas en el mundo a pequeña escala (Turquía y Perú), se observa que en general, los cultivos “*pan size*” presentan bajas probabilidades de adquirir enfermedades de riesgo clasificadas por la OIE. (**Campalans et al., 2017**)

7. CONCLUSIÓN

1. Los peces nativos capturados no presentaron los patógenos estudiados.
2. La presencia de IPN solo se observó en truchas asilvestradas y es independiente del sector de captura de los peces. Lo cual concuerda con la capacidad de la trucha arcoíris para desplazarse y cubrir territorio.
3. El virus IPN fue el único agente patógeno identificado en los alrededores de la piscicultura del Centro de Cultivo Río Pichico, lo que concuerda con los informes emanados del mismo centro para el año 2015, reflejando una mayor presencia de este patógeno en comparación a los demás años.
4. La situación sanitaria de los peces capturados y analizados durante este estudio respecto a la situación sanitaria de los peces de la piscicultura emplazada en Río Pichico, se podría indicar en general que es buena, dado que el único patógeno presente es el virus de IPN, el cual tiene una mayor recurrencia a través del tiempo.
5. La principal limitante de este estudio, ha sido el número de ejemplares nativos capturados, a pesar de los diferentes artes de pesca y el esfuerzo empleado.
6. De acuerdo a los resultados obtenidos durante la investigación se concluye que la presencia de patógenos es independiente del origen de los peces, atribuyéndosele características del evento particulares en el tiempo y espacio determinados.

8. REFERENCIAS

- **Alegría, R. (2010).** Detección de la presencia del virus de la enfermedad del Páncreas del Salmón (SPDV), en poblaciones de peces silvestres y asilvestrados y asilvestrados, región de Los Lagos. Tesis de pregrado. Universidad de Chile.
- **Arismendi, I., Soto, D., Penaluna, B., Jara, C., Leal, C. & León-Muñoz, J. (2009).** Aquaculture, non-native salmonid invasions, and associated declines of native fishes in lakes of the northern Chilean Patagonia. *Freshwater Biology* 54:1135- 1147.
- **Basualto, S. (2003).** El largo viaje de los salmones: una crónica olvidada, propagación y cultivo de especies acuáticas en Chile. Editorial Maval, Santiago de Chile.
- **Bernardet, J. & J. Browman. (2006).** The genus *Flavobacterium*. The prokaryotes: a handbook on the biology of bacteria. Vol 7. New York, NY. Springer-Verlag: 481-531.
- **Bootland, L., P. Dobos & M. Stevenson (1995).** Immunization of Adult Brooks Trout, *Salvelinus fontinalis*, fails to prevent the infectious pancreatic necrosis virus carrier state, *Journal of fish diseases*, 18: 449-458.
- **Boyle J. & Blackwell, J. (1991).** Use of polymerase chain reaction to detect latent channel catfish virus. *American Journal of Veterinary Research*. 52:1965-1968.
- **Bravo, S., Dolz, H., Silva, M.T., Lagos, C., Millanao, A., Urbina, M. (2005).** Diagnóstico del uso de fármacos y otros productos químicos en la acuicultura. Proyecto FIP No. 2003-28.
- **Bushmann, A., Riquelme, V., Hernández-González, M., Varela, D., Jiménez, Jaime., Henríquez, L., Vergara, P., Guíñez, R. and Filún, L., (2006).** A review of the impacts of salmonid farming on marine coastal ecosystem in the southeast Pacific. *Journal of Marine Science*. 63, 1338-1345 pp.
- **Bustin S. (2002).** Quantification of mRNA using real-time reverse transcription PCR (RT-PCR): trends and problems. *Journal of Molecular Endocrinology* 29, 23-39.
- **Bustos, P.; Midtlyng, P. & Maira C. (1999).** IPN: un enorme desafío para la industria salmonera. *Aquanoticias Internacional* 48: 48-51.

- **Cabello, F. (2004).** Antibiotics and aquaculture in Chile: Implications for human and animal health. *Rev. Méd. Chile* 2004; 132: 1001-1006 pp
- **Cabello, F. (2006).** Heavy use of prophylactic antibiotics in aquaculture: a growing problem for human and animal health and for the environment. *Environmental Microbiology* 8 (7): 1137-1144 pp.
- **Cameron, A., Gardner, I., Doherr, M., Wagner, B. (2003).** Chapter 4: Sampling Considerations in Surveys and Monitoring Systems. En: SALMAN, M. D. *Animal Disease Surveillance and Survey Systems*. Iowa State Press, USA. 222 pp.
- **Campalans M. (2017).** Evaluación de riesgo de los sistemas de producción de trucha Pan Size. Informe Final, Proyecto FIP, N° 2014-89.
- **Campos, H., G. Dazarola, B. Dyer, L. Fuentes, J.F. Gavilán, L. Huaquín, G. Martínez, R. Meléndez, G. Pequeño, F. Ponce, V.H. Ruiz, W. Siefeld, D. Soto, R. Vega & I. Vila. 1998.** Categorías de Conservación de peces nativos de aguas continentales de Chile. *Boletín del Museo Nacional de Historia Natural, Santiago de Chile* 47: 101-122
- **Costa J. 2004.** Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) a tiempo real. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 22(5): 299-305.
- **Crowl T., C. Townsend & A. Mcintosh. 1992.** The impact of the introduced brown and rainbow trout on native fish: the case of Australasia. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*. 2: 217-241.
- **Dohoo, I.; Martin, W.; Stryhn, H. (2003).** *Veterinary Epidemiologic Research*. Atlantic Veterinary College. 1st edition. Charlottetown, Prince Edward Island, Canada. 706 pp.
- **Dopaso, C. & J. Barja (2002).** “Diagnostic and Identification of IPNV in Salmonids by Molecular Methods”, Kluwer Academic Publishers, 23-48.
- **Dorak, T. (2006).** *Real Time PCR (Advanced Methods Series)*. Oxford: Taylor & Francis. Disponible en:

<http://dorakmt.tripod.com/genetics/realtime.html>

(Visitado el 5 de septiembre del 2017)

- **D.S. N° 319. (2001).** Reglamento de Medidas de Protección, Control y Erradicación de Enfermedades de Alto Riesgo para las Especies Hidrobiológicas. (Última modificación D.S. N° 74-2016) (F.D.O. 23-08-2016).
- **Dyer, B. (2000)a.** Systematic review and biogeography of the freshwater fishes of Chile. *Estudios Oceanológicos, Chile* 19: 77-98.
- **FAO a. (2014).** El Estado Mundial de la Pesca y la Acuicultura
- **FAO b. (2014).** Fisheries and Aquaculture Statistics.
- **FAO (2016).** El Estado Mundial de la Pesca y la Acuicultura.
- **Gajardo, G. & L. Laikre. 2002.** Chilean aquaculture boom is based on exotic Salmon resources: a conservation paradox. *Conservation Biology* 17(4): 1173-1174
- **Habit, E., Dyer, B., Vila, I. (2006).** Estado de conocimiento de los peces dulceacuicolas de Chile, *Gayana* 70: 100-112.
- **Habit, E. & O. Parra. 2001.** Impactos ambientales de los canales de riego sobre la fauna de peces. *Ambiente y Desarrollo* 17(3): 50 – 56.
- **Habit, E. & A. Rosenberger. 2004.** Introduced species in Chile's freshwaters-the need for research. *Newsletter of the Introduced Fish Section American Fisheries Society* 21(1):3-4.
- **Hooper D., Chapin F., Ewel J., Hector A., Inchesti P., Lavorel S., Lawton J., Lodge D. Loreu M., Naeem S., Schmid B., Satela H., Symstad A., Vandermeer J. & Wardle D. (2005).** Effects of biodiversity on ecological functioning: A consensus of current knowledge. *Ecological Monograph*. 71(1): 3-35.
- **Hungnes O, T. Jonassen. C. Jonassen & B. Grinde (2000).** Molecular epidemiology of viral infections: how sequence information helps us understand the evolution and dissemination of viruses. *APMIS* 108: 81-97.
- **Informe Sanitario de Salmonicultura en centros marinos (2016).** Departamento de Salud animal. Subdirección de acuicultura. Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura. Chile
- **Johansen L., Jensen I, Mikkelsen H, Bjorn P, Jansen P., Bergh O. (2011).** Disease interaction and pathogens exchange between wild and farmed fish populations with special reference to Norway. *Aquaculture* 315 (2011) 167-186.

- **Kirchman, D. (2002).** "The ecology of Cytophaga–Flavobacteria in aquatic environments." FEMS Microbiology Ecology, 2002. Volume 39 Issue 2. p. 91-100.
- **León, J., R. Ávalos & M. Ponce. (2009).** Flavobacterium psychrophilum y su patología en alevines Onchorhynchus mykiss del centro piscícola El Ingenio, Huancayo. Facultad de Ciencias Biológicas UNMSM. Rev. Perú. Biolo. 15(2): 177-124.
- **Leong, J., M. Alonso, D. Leisy, T. L. Robertsen, B. Simon, C. Song y E. Thomann. (2002):** "Genetic Vaccines for Acuaculture", Tecnología Acuacultura Interfase.
- **Loch, T. & M. Faisal. (2015).** Emerging flavobacterial infections in fish: A review. Journal of Advanced Research, 6(3), 283-300.
- **Lumdbert J. & Moberg F. 2003.** Mobile link organism and ecosystem function: Implications for ecosystem resilience and management. Ecosystems. 6: 87-98.
- **Morris, T., Robertson, B. & Gallagher M. (1996).** Rapid reverse transcription-PCR detection of hepatitis C virus RNA in serum by using the TaqMan fluorescent detection system. Journal of Clinical Microbiology 34:2933-2936.
- **Miranda P., Matus, V, Olmos P & Schulze F. (2012).** Evaluación y seguimiento de la situación sanitaria de especies silvestres en agua dulce y mar. Instituto de Fomento Pesquero, 257 pp.
- **OIE Manual of Diagnostic Tests for Aquatic Animals. Fourth Edition (2003).** ISBN 92-9044-563-7.
- **Ortiz, J. (2014).** Interferencia Trófica de salmónidos sobre peces ictiófagos nativos en lagos patagónicos de Chile. Tesis para optar el título de doctor en Ciencias ambientales con mención en sistemas acuáticos continentales. Universidad de Concepción, Chile.
- **Palma A., Figueroa R. Ruiz V., Araya E. & Berrios P. 2002.** Composición de la dieta de *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum 1792) (Pisces: Salmonidae) en un sistema fluvial de baja intervención antrópica: Estero Nonguén, VIII región, Chile. Gayana 66(2): 129-139.
- **Raynard R., A. Murray & A. Gregory (2001).** Infectious salmon anaemia virus in wild fish from Scotland. Dis Aquat Org 46: 93-100.

- **Resolución N° 1741 del 2013.** Clasificación de enfermedades de alto riesgo. Ministerio de Economía, Fomento y Turismo. Subsecretaría de pesca y acuicultura.
- **Rychlik W., Spencer W., Rhoads R. (1990).** Optimization of the annealing temperature for DNA amplification in vitro. Nucl. Acids Res., 18(21): 6409-6412.
- **SAG. (2006).** Reglamento de Alimentos para Animales. En línea: <http://www.sag.gob.cl/common/asp/pagAtachadorVisualizador.asp?argCryptedData=GP%201TkTXdhRJAS2Wp3v88hESLmm8otH7V&argModo=&argOrigen=BD&argFlagYaGrabad%20os=&argArchivoId=1244>. Visitado el 20 Diciembre del 2016.
- **Salgado, C. (2006).** “Necrosis pancreática infecciosa: una enfermedad emergente en la truticultura de Mexico”, Veterinaria Mexico, vol. 37, n. 004, pp 467-477.
- **Servicio Nacional De Pesca (SERNASPESCA). (2011).** Pesca recreativa en Chile.
- **SERNAPESCA. (2011).** Informe sanitario de la acuicultura, período enero-septiembre, 2011. Gobierno de Chile.
- **Smith, P. (2003).** Towards rational decision making in antimicrobial therapy. Proceedings of the Seminar of the CIHEAM Network TECAM, Izmir 21– 23 May 2003. Options Mediterraneennes. Serie Cahiers. Zaragoza: CIHEAM, FAO, MARA, TFF. Under preparation.
- **Smith, P. (2015).** Patogenia de piscirickettsiosis: estudio sobre la infectividad de *Piscirickettsia salmonis* y el efecto de sus productos extracelulares. Tesis Doctoral. Universidad de Cordova.
- **Soto, D., Arismendi, I., González, J., Santana, J., Jara, F., Jara, C., Gúzman, E., Lara, A. (2006).** Sur de Chile, país de truchas y salmons: patrones de invasion y amenazas para las especies nativas. Revista Chile de Historia Natural 79: 97-117.
- **Toledo, N., Melo, C., Ferrer, J., Bórquez, R. (2004).** Secado y estabilidad de lactobacilos probióticos empleados en la formulación de un alimento para uso en acuicultura. Chile. En línea: http://dpi.eq.ufrj.br/ciaiq_22/22/CD/formCrCongreso/papers/13a/13a_132.pdf. Visitado el 12 de abril del 2017.

- **Vasquez, S. (2006).** Factibilidad de la implementación de una piscicultura de trucha arco iris (*Oncorhynchus mikiss*) en la comuna de Loncoche. Tesis: Licenciado en Agronomía. Universidad Austral de Chile. Valdivia, Chile.
- **Vergara, M. (2003).** La acuicultura en Chile. Comercialización. Especies de cultivo en Chile. Santiago, Chile. 67 pp.
- **Vila, I., L. Fuentes & M. Contreras. (1999)a.** Peces Límnicos de Chile. Boletín del Museo Nacional de Historia Natural, Chile 48: 61-75.
- **Vila, I., L. Fuentes & M. Saavedra. 1999b.** Ictiofauna en los sistemas límnicos de la Isla Grande, Tierra del Fuego, Chile. Revista Chilena de Historia Natural 72: 273-284.
- **Vila, I., Pardo, R., Dyer, B., Habit, E. (2006).** Peces limnicos; diversidad, origen y estado de conservación, En: Vila, I., Veloso, A., Schlatter, R., Ramirez, C.(eds.), Macrófitas y vertebrados de los sistemas limnicos de Chile, pp. 73-102. Editorial Universitaria. Santiago de Chile.
- **Yao K. & N. Vikram (1998).** “Generation of Infectious Pancreatic Necrosis Virus from Cloned cDNA”, Journal of Virology, vol. 72, n. 11, 8913-8920.