

INFORME FINAL

PROYECTO FIPA 2023 – 01

“Caracterización y evaluación ecológica y genética de los bancos naturales de mitílidos y su aporte a la disponibilidad de larvas para la actividad de colecta de semillas. Etapa 1: Fiordo Reloncaví y comunas de Hualaihué y Castro”

PROPONENTE



Subcontrato IFOP



Febrero 2025

DIRECTOR DEL PROYECTO

Carlos Molinet Flores

AUTORES

Cristian Gallardo Escárate

Marcela Astorga Opazo

Jorge Henríquez Moreira

Manuel Díaz Gómez

Katherine Espinoza Cea

Cristian Segura Rivera

David Opazo Vega

RESUMEN EJECUTIVO

El presente documento constituye el Informe Final del proyecto FIPA 2023-01 “Caracterización y evaluación ecológica y genética de los bancos naturales de mitílidos y su aporte a la disponibilidad de larvas para la actividad de colecta de semillas, etapa 1: Fiordo Reloncaví y comunas de Hualaihué y Castro”, informe que contiene todos los resultados de los objetivos específicos 1, 2, 3 y 4 consignados en las Bases Técnicas del proyecto.

Como primera actividad se presentó el proyecto a la contraparte técnica de la Subsecretaría de Pesca, con la finalidad de presentar el plan de trabajo, metodologías y procedimientos para el desarrollo del proyecto.

Para el cumplimiento del objetivo específico N°1 Identificar los principales bancos naturales del fiordo Reloncaví y comunas de Hualaihué y Castro, se realizó una revisión bibliográfica de la especie, estado del arte, y se obtuvo información para evaluar los factores que afectan la persistencia de los bancos naturales que abastecen a la mitilicultura, especialmente su renovación a través del asentamiento y el reclutamiento en bancos naturales, complementando la búsqueda de artículos científicos con la recopilación de información de las bases de datos de los programas de, Seguimiento de Pesquerías Bentónicas, b) Seguimiento Pesquerías Bajo Régimen de Áreas de Manejo (AMERB), c) Monitoreo y vigilancia sobre la disponibilidad larval de mitílidos para la sustentabilidad de la actividad de acuicultura en la zona sur austral de Chile, d) Tesis y otros reportes. Esta información fue complementada con datos de abastecimiento de semillas de *M. chilensis* reportada por los productores a Sernapesca, lo que permitió elaborar un gráfico de las principales comunas que aportan con semillas y mapas que indican el flujo de semillas entre las comunas de la región de Los Lagos entre 1995 y 2024. Este flujo sugiere una alta mezcla de las poblaciones de *M. chilensis* en los últimos 30 años.

A partir de las estructuras de tallas de AMERB y evaluaciones directas, se realizó un estudio de cohortes para la identificación de reclutas y se evaluó un modelo de crecimiento de *Mytilus chilensis* para el Fiordo Reloncaví y Hualaihué. Estos resultados indican que las curvas de crecimiento de *M. chilensis* en bancos naturales del Fiordo Reloncaví y Hualaihué son distintas. Aunque en ambos sitios se identificaron un total de 6 clases de edad. En el Fiordo Reloncaví los choritos alcanzarían tamaños levemente mayores que en Hualaihué, lo que podría estar asociado a la presencia del caracol carnívoro *Acathina monodon*. *M. chilensis* en bancos naturales alcanzarían talla reproductiva entre 2 y 3 años de edad.

Para la selección de sitios de muestreo del objetivo 2, en el objetivo 1 se elaboró un resumen con la disponibilidad de información de bancos, para la identificación y caracterización de áreas de mayor y menor concentración de mitílidos en el área de estudio. Esto fue presentado a la contraparte técnica y se propuso: i) Fiordo Reloncaví, 16 estaciones posibles, doce de los cuales han sido muestreados en 2003, 2013, 2015, 2020 y 2022 por distintos proyectos; ii) comuna de Hualaihué, se propusieron 16 estaciones posibles de muestreo, distribuidas en base a una campaña de muestreo realizada en 2020 en la zona e información del proyecto FIPA 2005-18; iii) comuna de Castro (donde no se poseía información), se realizó una prospección en el Estero Castro y Canal Lemuy, identificando los sectores de Rauco, Nercón, Chañihué y Yutui.

Para el desarrollo del objetivo específico N°2, como primera actividad se efectuó un taller para la discusión de la metodología propuesta y utilizada para la recolección de imágenes, recibiendo las recomendaciones y sugerencias, y adaptándolas para la obtención de las muestras. Las campañas de monitoreo para la recolección de información fueron realizadas durante los meses de agosto, septiembre y octubre en el Fiordo Reloncaví, en las comunas de Hualaihué y en Estero Castro respectivamente. Para la evaluación del estado general de los bancos naturales en Fiordo Reloncaví se muestrearon 15 estaciones de 5 transectos cada una, mientras que en la comuna de Hualaihué, se monitorearon 16 estaciones con un total de 79 transectos. Finalmente, en la comuna de Castro se realizó un total de 53 transectos en 5 estaciones de muestreo. El procesamiento de todos los videos fue logrado y toda la información fue digitalizada. De esta forma, se presentan los principales resultados relativos a la distribución y abundancia de especies de mitílicos y fauna acompañante en las tres zonas de estudio. Aunque la densidad promedio de *M. chilensis* fue menor en fiordo Reloncaví que en la comuna de Hualaihué, dado el estrecho rango de distribución (restringido al intermareal en Hualaihué), la biomasa promedio y la biomasa desovante por estación es más del doble en fiordo Reloncaví. La restricción de la distribución en el intermareal de *M. chilensis* en Hualaihué y Castro está asociada a la profundidad de la haloclina, que en Hualaihué tiene sólo alrededor de 1-2 m, mientras en Castro no es perceptible.

A lo largo de la mayor parte del fiordo Reloncaví (excepto en playas) se observó *M. chilensis* y *A. atra*, con escasa presencia de *P. purpuratus*. Los cinturones de *M. chilensis* se distribuyeron entre el intermareal y entre 4 a 5 m del submareal. Además, se identificaron y cuantificaron individuos de la clase Equinodermata, Mollusca, Actiniaria y Cirripedia, donde destacan erizos, crepipatella y estrellas de mar. Se destaca la distribución de la anemona invasora *Metridium senile*, en la mayor parte de las estaciones.

En Hualaihué el cinturón de *M. chilensis* sólo se registró en el intermareal, con tendencia a ser escasos en el límite intermareal inferior. *Aulacomya atra* se registró desde el intermareal inferior hasta 10 m de profundidad. *Perumytilus purpuratus* estuvo presente en la mayor parte de las estaciones, más predominante en el intermareal superior. En Hualaihué *M. senile* fue frecuente en prácticamente todas las estaciones desde el intermareal inferior hacia mayor profundidad. Finalmente, en Estero Castro, predominaron las especies *C. chorus*, *M. chilensis* y *P. purpuratus*, sin registro de *M. senile*.

En el objetivo específico 3, los morfos identificados en las tres zonas estudiadas (desde el muestreo en el objetivo 2) (f. Reloncaví, Hualaihué y Castro), siguiendo el patrón morfológico de *Mytilus edulis*, *M. galloprovincialis*, *M. trosulus* y *M. chilensis*, fueron analizados a través de análisis de ADN Mitocondrial y mediante PCR-High resolution Melting (HRM). A partir del análisis HRM para el gen de la proteína de adhesión (FP) y de secuenciación de ADN del gen mitocondrial Citocromo Oxidasa I (COI) fue posible identificar de forma adecuada las eventuales especies del género *Mytilus* presentes en los bancos naturales de diferentes estaciones en tres zonas estudiadas. Sólo se encontró la presencia de *M. chilensis*, sin registro de otras especies del género *Mytilus* y tampoco la presencia de híbridos entre especies.

Se puede indicar que el uso del marcador universal, ya utilizado en el DNA barcoding de las especies marinas, el gen mitocondrial Citocromo oxidasa I (COI) es el marcador adecuado para corroborar la identificación de la especie *Mytilus chilensis*.

Por otro lado, al comparar los individuos de las diferentes zonas mareales estudiadas en el Fiordo Reloncaví, se observó diferencias entre ellas, la que es explicada por la diferenciación de la zona intermareal, con relación a las otras dos zonas analizadas. Este patrón se mantiene igual cuando además se agrega los datos de las muestras (sólo intermareales) de Estero Castro y Hualaihué. Esta mayor diferenciación debe ser explicada principalmente por la mayor diversidad genética observada en las muestras submareales. Estudios preliminares que comparan zonas mareales han establecido diferenciación genética entre zonas mareales, lo cual fue explicado por un posible proceso de selección diferencial entre intermareal y submareal.

Para el cumplimiento del objetivo específico 4 se realizó el primer estudio en evaluar la variabilidad genómica de poblaciones de *M. chilensis* utilizando una aproximación de resecuenciación de genoma completo. Los análisis estadísticos implementados para estimar estructura poblacional en *M. chilensis* no permitieron diferenciar claramente agrupaciones según la distribución geográfica de las estaciones de recolección identificadas como bancos naturales. Es probable que la alta homogeneidad genética a nivel poblacional derivado de la traslocación de semillas entre Reloncaví, Castro y Hualaihué, consistente con lo descrito en el objetivo específico 1, genera dificultad en los modelos implementados como Admixture. Esto especialmente, cuando los análisis son realizados sobre el genoma completo de *M. chilensis*, incluyendo regiones tanto intrónicas como exónicas.

La estrategia generada para identificar y analizar la estructura genética de *M. chilensis* utilizando solo las variantes polimórficas en regiones exónicas, permitió evidenciar un patrón de agrupación poblacional entre Castro-Chañihué-Yutuy con Reloncaví-Llaguepe. Por otra parte, los datos sugieren que Hualaihué (Puntilla Quillón-Llancahué) estaría más relacionado con el sector de Reloncaví-Rollizo. Asimismo, los datos sugieren que existiría un flujo genético entre Hualaihué y Castro.

Los datos de estimación funcional utilizando el genoma de *M. chilensis* evidencian que los SNPs identificados diferencialmente entre las poblaciones, anotan para procesos biológicos y funciones moleculares distintas. Este hecho permite sugerir la existencia de SNPs fijados a nivel local, lo que permitiría hipotetizar asociaciones genómicas de adaptación local. Proponiendo un nuevo panel de SNPs mediante HRM para su evaluación en la identificación de semillas de *M. chilensis* con fines de trazabilidad genética.

Finalmente, en coordinación con el FIPA y la contraparte técnica de la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura, se llevó a cabo el Taller Final de Presentación de Resultados d. Este evento se realizó el 4 de diciembre de 2024 en un formato híbrido: de manera presencial en la ciudad de Castro y con transmisión en vivo a través de la plataforma Zoom. Las principales conclusiones, nómina de participantes y el acta correspondiente se encuentran disponibles en el Anexo N°5, mientras que el registro audiovisual completo del taller puede ser consultado en YouTube en el canal del Programa de Investigación Pesquera de la Universidad Austral de Chile (UACH) Sede Puerto Montt (<http://www.youtube.com/@ProgramaInvestigaciónPesquera>) a través de los siguientes enlaces <https://youtu.be/A5Pt1LITeAg> y <https://youtu.be/ZBF2IVME-f8>.

EXECUTIVE SUMMARY

This document constitutes the Final Report for the FIPA 2023-01 project "Characterization and ecological and genetic evaluation of natural mussel beds and their contribution to larval availability for seed collection activities, Phase 1: Reloncaví Fjord and the municipalities of Hualaihué and Castro." The report includes all results corresponding to specific objectives 1, 2, 3, and 4 as outlined in the project's Technical Specifications.

The first activity involved presenting the project to the technical counterpart at the Subsecretary of Fisheries to share the work plan, methodologies, and procedures for project development.

To meet Specific Objective 1, "Identify the main natural mussel beds in Reloncaví Fjord and the municipalities of Hualaihué and Castro," a literature review was conducted on the species and the state of the art, and information was gathered to evaluate factors affecting the persistence of the natural beds that supply mussel farming, particularly their renewal through settlement and recruitment. This search was supplemented by data from various monitoring programs, including a) Benthic Fisheries Monitoring, b) Fisheries Monitoring Under Management Area Regimes (AMERB), c) Monitoring and Surveillance of Larval Availability for Sustainable Aquaculture in Southern Chile, d) theses and other reports. This information was complemented with seed supply data for *M. chilensis* reported by producers to Sernapesca, allowing the creation of a chart showing the main municipalities contributing seeds and maps depicting seed flows between municipalities in the Los Lagos region from 1995 to 2024. This flow suggests a high degree of mixing among *M. chilensis* populations over the past 30 years.

Using AMERB size structure data and direct evaluations, a cohort study was conducted to identify recruits and evaluate a growth model for *Mytilus chilensis* in Reloncaví Fjord and Hualaihué. Results show that growth curves for *M. chilensis* in natural beds at both locations differ, although six age classes were identified at both sites. Mussels in Reloncaví Fjord are expected to grow slightly larger than in Hualaihué, possibly due to the presence of the carnivorous snail *Acathina monodon*. Natural mussel beds in both areas reach reproductive size between 2 and 3 years of age.

For the selection of sampling sites under Objective 2, a summary was prepared based on available information about mussel beds to identify and characterize areas of higher and lower mussel concentrations within the study area. This was presented to the technical counterpart, and the following proposal was made: i) Reloncaví Fjord, with 16 potential stations, twelve of which were sampled in 2003, 2013, 2015, 2020, and 2022 by different projects; ii) Hualaihué, with 16 proposed sampling stations based on a 2020 sampling campaign and data from the FIPA 2005-18 project; iii) Castro, where no prior information existed, a survey was conducted in Estero Castro and Canal Lemuy, identifying sectors in Rauco, Nercón, Chañihué, and Yutui.

For Specific Objective 2, the first activity involved holding a workshop to discuss the proposed methodology for image collection, incorporating recommendations and suggestions, and adapting them to the sampling process. Monitoring campaigns to collect data were conducted in August, September, and October in Reloncaví Fjord, Hualaihué, and Estero Castro. In Reloncaví Fjord, 15 stations were sampled with 5 transects per station, while in Hualaihué, 16 stations with 79 transects were monitored. In Castro, a total of 53 transects were conducted at 5 sampling stations. All video footage was processed and digitalized. The main results regarding the distribution and abundance of mussel species and associated fauna in the three study areas are presented. Although the average density of

M. chilensis was lower in Reloncaví Fjord than in Hualaihué (due to the narrow distribution range restricted to the intertidal zone in Hualaihué), the average biomass and spawning biomass per station were more than double in Reloncaví Fjord. The restricted distribution of *M. chilensis* in the intertidal zones of Hualaihué and Castro is associated with the depth of the halocline, which is only about 1-2 meters in Hualaihué, while it is not perceptible in Castro.

Throughout most of Reloncaví Fjord (except in beaches), *M. chilensis* and *A. atra* were observed, with minimal presence of *P. purpuratus*. Mussel beds were distributed from the intertidal zone to about 4-5 meters subtidally. Additionally, individuals from the classes Echinodermata, Mollusca, Actiniaria, and Cirripedia were identified and quantified, including sea urchins, *Crepidatella*, and starfish. The invasive anemone *Metridium senile* was distributed in most stations.

In Hualaihué, *M. chilensis* was only found in the intertidal zone, with lower densities at the lower intertidal limit. *Aulacomya atra* was found from the lower intertidal to 10 meters deep. *Perumytilus purpuratus* was present at most stations, being more prevalent in the upper intertidal zone. In Hualaihué, *M. senile* was common in nearly all stations from the lower intertidal to greater depths. In Estero Castro, the dominant species were *C. chorus*, *M. chilensis*, and *P. purpuratus*, with no records of *M. senile*.

For Specific Objective 3, the morphotypes identified in the three study areas (Reloncaví Fjord, Hualaihué, and Castro) were analyzed through mitochondrial DNA analysis and PCR-High Resolution Melting (HRM). From HRM analysis of the adhesion protein gene (FP) and mitochondrial Cytochrome Oxidase I (COI) sequencing, it was possible to accurately identify the species of *Mytilus* present in natural beds across various stations. Only *M. chilensis* was identified, with no other *Mytilus* species or hybrids present.

The use of the universal marker, COI, widely employed in DNA barcoding of marine species, was confirmed as the appropriate marker for identifying *Mytilus chilensis*.

Additionally, when comparing individuals from different intertidal zones in Reloncaví Fjord, differences were observed, likely due to the intertidal zone's differentiation compared to the other two analyzed zones. This pattern remained when only intertidal samples from Estero Castro and Hualaihué were added. The greater differentiation is attributed to the higher genetic diversity observed in subtidal samples. Preliminary studies comparing intertidal zones have shown genetic differentiation, likely due to differential selection between intertidal and subtidal zones.

For Specific Objective 4, the first study evaluating genomic variability in *M. chilensis* populations using whole-genome resequencing was conducted. Statistical analyses to estimate population structure in *M. chilensis* did not clearly distinguish groupings based on the geographic distribution of the sampling stations identified as natural mussel beds. High genetic homogeneity across populations, likely resulting from the translocation of seeds between Reloncaví, Castro, and Hualaihué (as described in Objective 1), may have contributed to challenges in differentiation models, such as Admixture, especially when analyses were based on the entire *M. chilensis* genome, including both intronic and exonic regions.

The strategy of focusing only on polymorphic variants in exonic regions of the genome enabled the identification of a population clustering pattern between Castro-Chañihué-Yutuy and Reloncaví-Llaguape. Furthermore, the data suggest that Hualaihué (Puntilla Quillón-Llancahué) is more closely related to the Reloncaví-Rollizo sector, and that there may be gene flow between Hualaihué and Castro.

Functional estimation data using the *M. chilensis* genome reveal that differentially identified SNPs between populations are linked to distinct biological processes and molecular functions. This supports the hypothesis of locally fixed SNPs, suggesting possible genomic associations for local adaptation. A new SNP panel is proposed for HRM-based evaluation to assist in the genetic traceability of *M. chilensis* seeds.

Finally, in coordination with the FIPA and the technical counterpart from the Undersecretariat of Fisheries and Aquaculture, the Final Workshop for the Presentation of Results was held. This event took place on December 4, 2024, in a hybrid format: in-person in the city of Castro and with a live broadcast via the Zoom platform. The main conclusions, participant list, and the corresponding minutes are available in Annex No. 5, while the complete audiovisual recording of the workshop can be accessed on YouTube on the channel of the Fisheries Research Program at the Universidad Austral de Chile (UACH) Puerto Montt Campus (<http://www.youtube.com/@ProgramaInvestigaciónPesquera>) through the following links: <https://youtu.be/A5Pt1LITeAg> and <https://youtu.be/ZBF2IVME-f8>."

INDICE GENERAL

RESUMEN EJECUTIVO	2
EXECUTIVE SUMMARY	5
INDICE GENERAL	8
INDICE DE TABLAS	12
INDICE DE FIGURAS	15
INDICE DE ANEXOS	24
1. ANTECEDENTES	25
2. OBJETIVOS	27
2.1. Objetivo General.....	27
2.2. Objetivos Específicos	27
3. Objetivo Específico N°1. Identificar los principales bancos naturales de mitílidos en el Fiordo Reloncaví y comuna de Hualaihué y Castro.	28
3.1. Antecedentes.....	28
3.2. Metodología	28
3.2.1. Revisión Bibliográfica.....	28
3.2.1.1. Fuentes primarias: Publicaciones científicas.....	28
3.2.1.2. Fuentes secundarias: Proyectos, Informes, Tesis.....	29
3.2.2. Revisión de reportes con datos	30
3.2.2.1. Estadísticas de desembarque y acuicultura	30
3.2.2.2. Programa de Seguimiento de Pesquerías Bentónicas en el Fiordo Reloncaví y las comunas de Hualaihué y Castro.....	30
3.2.2.3. Programa de Seguimiento Pesquerías Bajo Régimen de Áreas de Manejo en el Fiordo Reloncaví y las comunas de Hualaihué y Castro.....	30
3.2.2.4. Programa de monitoreo y vigilancia sobre la disponibilidad larval de mitílidos para la sustentabilidad de la actividad de acuicultura en la zona sur austral de Chile en el Fiordo Reloncaví y las comunas de Hualaihué y Castro	31
3.2.2.5. Sistematización de la información	31
3.2.3. Recopilar, analizar y sistematizar la información oceanográfica y ambiental disponible, sobre el Fiordo Reloncaví y las comunas de Hualaihué y Castro.....	31
3.2.3.1. Recopilación de información ambiental.....	32
3.2.3.2. Catastro de las actividades que se realizan en el borde costero	32
3.2.3.3. Recopilación de información oceanográfica	32
3.2.3.4. Generación de sistema de información geográfico	35
3.2.4. Análisis de crecimiento de <i>Mytilus chilensis</i> en bancos naturales	35
3.2.4.1. Estudio de cohortes.....	36
3.2.4.2. Asignación de edad	37
3.2.4.3. Modelo de crecimiento	37
3.2.5. Identificación y caracterización de áreas de mayor y menor concentración de mitílidos en el Fiordo Reloncaví y las comunas de Hualaihué y Castro	37
3.2.5.1. Identificación y caracterización.....	37

3.2.5.2.	Selección de sitios de muestreo.....	38
3.3.	Resultados.....	39
3.3.1.	Revisión Bibliográfica.....	39
3.3.1.1.	Desove y desarrollo larval	39
3.3.1.2.	Reclutamiento.....	45
3.3.1.3.	Estado de los bancos	48
3.3.2.	Revisión de reportes con datos	49
3.3.2.1.	Estadísticas de Desembarque y acuicultura	49
3.3.2.2.	Estadística de abastecimiento de semillas.....	52
3.3.2.3.	Programa de Seguimiento de Pesquerías Bentónicas en el Fiordo Reloncaví y las comunas de Hualaihué y Castro.....	54
3.3.2.4.	Programa de Seguimiento Pesquerías Bajo Régimen de Áreas de Manejo	68
3.3.2.5.	Programa de monitoreo y vigilancia sobre la disponibilidad larval de mitílicos para la sustentabilidad de la actividad de acuicultura en la zona sur austral de Chile	71
3.3.2.6.	Sistematización de la información	82
3.3.3.	Recopilar, analizar y sistematizar la información oceanográfica y ambiental disponible, sobre el Fiordo Reloncaví y las comunas de Hualaihué y Castro.....	87
3.3.3.1.	Programa de observación del ambiente litoral (POAL)	87
3.3.3.2.	Catastro de las actividades que se realizan en el borde costero	93
3.3.4.	Análisis de crecimiento de <i>Mytilus chilensis</i> en bancos naturales	97
3.3.4.1.	Estudio de cohortes.....	97
3.3.4.2.	Asignación de edad	103
3.3.4.3.	Modelo de crecimiento	105
3.3.5.	Identificación y caracterización de áreas de mayor y menor concentración de mitílicos.	107
3.3.5.1.	Identificación y caracterización.....	107
3.3.5.2.	Selección de sitios de muestreo.....	115
4.	Objetivo Específico N°2. Realizar una evaluación del estado general de los bancos naturales, considerando abundancia, cobertura, densidad, biomasa, distribución vertical, sexo, estructura de tallas y comunidad asociada, con énfasis en las diferentes especies que pudieran afectar los bancos de mitílicos.	119
4.1.	Antecedentes.....	119
4.2.	Metodología	119
4.2.1.	Recolección de muestras y registro de video transectos.....	119
4.2.1.1.	Taller metodológico	119
4.2.1.2.	Obtención de muestras y video transectos	120
4.2.2.	Distribución y abundancia de especies en las zonas de estudio	120
4.2.2.1.	Procesamiento de muestras y videos, estimación de abundancia, densidad, cobertura y distribución de mitílicos	120
4.2.2.2.	Identificación de especies de mitílicos	121

4.2.2.3.	Distribución vertical y densidad de las especies de mitílidos registradas	121
4.2.2.4.	Estimación de densidad, abundancia y biomasa de <i>Mytilus chilensis</i>	121
4.2.2.5.	Identificar, cuantificar y establecer la distribución de fauna y flora acompañante	122
4.2.3.	Muestreos de estado de salud de <i>Mytilus chilensis</i>	122
4.2.3.1.	Distribución de tamaños	123
4.2.3.2.	Relación talla peso e índice de condición	123
4.2.3.3.	Proporción sexual e índice gonádico.....	124
4.2.4.	Seguimiento bimestral de bancos.....	124
4.2.4.1.	Taller de trabajo para consensuar bancos	124
4.2.4.2.	Muestreo bimestral de bancos	124
4.3.	Resultados.....	125
4.3.1.	Registro de muestras con video transectos.....	125
4.3.1.1.	Taller metodológico	125
4.3.1.2.	Recolección de video transectos.....	127
4.3.2.	Distribución y abundancia de especies en las zonas de estudio.....	129
4.3.2.1.	Distribución vertical y densidad de las principales especies de mitílidos registradas en video transectos	129
4.3.2.2.	Identificación de morfos y/o especies.....	131
4.3.2.3.	Distribución de mitílidos por estrato desde cuadrantes de 0,25 x 0,25 m	132
4.3.2.4.	Estimación de densidad, abundancia y biomasa de <i>Mytilus chilensis</i>	134
4.3.2.5.	Identificar, cuantificar y establecer la distribución de fauna y flora acompañante	135
4.3.3.	Muestreos de estado de salud de <i>Mytilus chilensis</i>	138
4.3.3.1.	Distribución de tamaños	138
4.3.3.2.	Relación talla peso e índice de condición	146
4.3.3.3.	Proporción sexual e índice gonádico.....	149
4.3.4.	Seguimiento bimestral de bancos.....	150
4.3.4.1.	Selección de bancos	150
4.3.4.2.	Muestreo bimestral de bancos	151
5.	Objetivo Específico N°3. Caracterizar genéticamente los bancos naturales, considerando el gradiente vertical, mediante marcadores SNP, para apoyar la trazabilidad de las diferentes especies del género <i>Mytilus</i> presentes en el área de estudio e identificar posibles bancos con poblaciones o individuos de especies exóticas.	162
5.1.	Antecedentes.....	162
5.2.	Metodología	165
5.2.1.	Recolección de muestras.....	165
5.2.2.	Identificación de mitílidos e híbridos en bancos naturales.....	167
5.2.2.1.	Identificación de especies e híbridos mediante técnica HRM	168
5.2.2.2.	Método de secuenciación de ADN mitocondrial.....	172
5.2.3.	Análisis de Datos	173
5.3.	Resultados.....	174

5.3.1.	Identificación de especies e híbridos mediante técnica HRM.....	175
5.3.2.	Identificación de especies e híbridos mediante secuenciación de ADN	176
5.3.3.	Diferencias entre submareal e intermareal	180
5.3.4.	Diferencias poblaciones entre fiordo Reloncaví, Hualaihué y Castro	182
6.	Objetivo Específico N°4. Generar una herramienta de secuenciación masiva que permita establecer y relacionar el origen geográfico de los nuevos reclutas en los bancos naturales y de las semillas captadas en los colectores, respecto de los bancos naturales previamente identificados.....	184
6.1.	Antecedentes.....	184
6.2.	Metodología	187
6.2.1.	Recolección de muestras y extracción de ADN	187
6.2.2.	Preparación de librerías de secuenciación y generación de datos WGS	193
6.2.3.	Estadísticas de datos sin procesar (Raw Data)	196
6.2.4.	Resecuenciación de genoma completo (WGRS) en <i>Mytilus chilensis</i>	199
6.2.5.	Alineamiento de lecturas e identificación de variantes (Variant calling)	199
6.2.6.	Validación de SNP mediante análisis de HRM identificados a nivel poblacional para la identificación del origen de semillas de <i>Mytilus chilensis</i>	202
6.3.	Resultados.....	204
6.3.1.	Análisis genómico poblacional utilizando WGRS entre ejemplares de <i>Mytilus chilensis</i> recolectados en las zonas Reloncaví, Castro y Hualaihué.....	204
6.3.2.	Análisis de variantes nucleotídicas y zigocidad en las tres poblaciones de <i>Mytilus chilensis</i> del estudio.	210
6.3.3.	Análisis funcional de SNPs anotados en regiones codificantes del genoma de <i>Mytilus chilensis</i> diferencialmente asociados a nivel poblacional.	222
6.3.4.	Análisis del origen de la semilla y Conectividad	225
7.	DISCUSION.....	228
8.	CONCLUSIONES.....	232
9.	BIBLIOGRAFÍA.....	234
10.	ANEXOS.....	250

INDICE DE TABLAS

Tabla 1.1. Tamaño de muestra y fuente de procedencia por temporada para el análisis de crecimiento de <i>Mytilus chilensis</i> en bancos naturales. En paréntesis se muestra el número de AMERB con datos disponibles y el número de estaciones monitoreadas por el Programa de Investigación Pesquera de la Universidad Austral de Chile (UACH).	35
Tabla 1.2. Procesos clave para el éxito del asentamiento y reclutamiento de larvas de mitílicos en bancos naturales y su distribución en el ciclo de vida.	48
Tabla 1.3. Captura muestreada (toneladas) de <i>Mytilus chilensis</i> en procedencias de pesca reportadas en el Seguimiento Bentónico de IFOP entre 1997 y 2022 en la Región de Los Lagos.	57
Tabla 1.4. Captura muestreada (toneladas) de <i>Aulacomya atra</i> en procedencias de pesca reportadas en el Seguimiento Bentónico de IFOP entre 1997 y 2022 en la Región de Los Lagos.	60
Tabla 1.5. Captura muestreada (toneladas) de <i>Choromytilus chorus</i> en procedencias de pesca reportadas en el Seguimiento Bentónico de IFOP entre los años 1999 y 2022 en la Región de Los Lagos.	64
Tabla 1.6. Número de evaluaciones directas para los recursos chorito, cholga y choro zapato, en las AMERB de las comunas de Cochamó y Puerto Varas (Fiordo Reloncaví), Hualaihué y Castro entre los años 2006 y 2019 registradas en el Seguimiento de Pesquerías Bajo Régimen de Áreas de Manejo.	68
Tabla 1.7. Tabla resumen de información de publicaciones y proyectos para los sectores Fiordo Reloncaví y comuna de Hualaihué, densidad media estimada y su evolución en el tiempo.	82
Tabla 1.8. Resumen de parámetros según su tipo y matriz para los cuerpos de agua Seno Reloncaví y Castro en el marco del Programa de Observación del ambiente litoral (POAL).	88
Tabla 1.9. Sectores de muestreo y serie de tiempo de monitoreo en los cuerpos de agua Seno Reloncaví y Castro en el marco del Programa de Observación del ambiente litoral (POAL).	91
Tabla 1.10. Serie de tiempo de monitoreo según tipo de análisis y matriz en los cuerpos de agua Seno Reloncaví y Castro en el marco del Programa de Observación del ambiente litoral (POAL).	92
Tablas 1.11. Número y superficie utilizada por actividades según tipo de uso en el borde costero de las zonas de Fiordo Reloncaví, Hualaihué y Estero Castro.	93
Tabla 1.12. Estimados de los parámetros del modelo de cohortes seleccionado en el análisis de la distribución de la frecuencia de tallas del recurso <i>Mytilus chilensis</i> para la zona del Fiordo Reloncaví, entre las temporadas 2009 a 2023. Ee, error estándar.	97
Tabla 1.13. Parámetros estimados del modelo de cohortes seleccionado para el recurso <i>Mytilus chilensis</i> para la zona de Hualaihué entre las temporadas 2009 a 2020. Ee, error estándar.	100
Tabla 1.14. Resumen estadístico de tallas medias obtenidas a través del análisis de cohortes de <i>Mytilus chilensis</i> para las temporadas comprendida los años 2009 y 2023, en las zonas Fiordo Reloncaví y Comuna de Hualaihué.	103
Tabla 1.15. Parámetros estimados, error estándar (Ee) e índice AIC para los Modelos de crecimiento Von Bertalanfy, Gompertz, Schnute y Tanaka para datos de frecuencia de talla de <i>Mytilus chilensis</i> de las zonas Fiordo Reloncaví y Hualaihué.	105

Tabla 1.16. Resumen de muestreos realizados en bancos de mitílicos en el Fiordo Reloncaví y comuna de Hualaihué. * Transectos para definir la posición de cuadrantes en intermareal y submareal (tres cuadrantes). ** Video transectos desde 0 a 15 m aproximadamente.	107
Tabla 2.1. Ubicación de las estaciones muestreadas y número de video transecto, durante la evaluación del estado general de los bancos naturales de mitílicos en las zonas Fiordo Reloncaví, comuna de Hualaihué y Estero Castro.	128
Tabla 2.2. Número de individuos identificados como tipos de morfos (relativos a las especies que se muestran en Figura 2.1) que se recolectaron en las estaciones y zonas de muestreo en el submareal e intermareal. Sólo en fiordo Reloncaví se registró <i>M. chilensis</i> y morfos asociados en el submareal. Cf indica en referencia con.	131
Tabla 2.3. Densidad (individuos/m ²), abundancia, biomasa total y biomasa reproductiva de <i>Mytilus chilensis</i> en las estaciones de fiordo Reloncaví, comuna de Hualaihué y Estero Castro.	134
Tabla 2.4. Resumen de muestras recolectadas de <i>Mytilus chilensis</i> por estrato de profundidad para la estimación de la estructura tallas en las zonas de Fiordo Reloncaví, Hualaihué y Castro.	138
Tabla 2.5. Número de ejemplares obtenidos por zona, estación, transecto y estrato de profundidad para la estructura de talla, peso y sexo de <i>Mytilus chilensis</i> . Las muestras fueron recolectadas usando cuadrantes de 0,25x0,25 m.	139
Tabla 2.6. Estimados de los parámetros del modelo de cohortes seleccionado en el análisis de la distribución de la frecuencia de tallas de <i>Mytilus chilensis</i> en las zonas Fiordo Reloncaví, Hualaihué y Estero Castro.	145
Tabla 2.7. Muestreos bimestrales realizados y tipo de muestras recolectadas en 3 sitios de cada zona.	151
Tabla 2.8. Número de ejemplares de <i>Mytilus chilensis</i> recolectados para la estructura talla desde transectos en banco natural y colector, por nivel de profundidad inferior, medio y superior, durante los monitoreos de diciembre 2023, marzo y mayo de 2024, en las zonas Fiordo Reloncaví, Hualaihué y Estero Castro.	152
Tabla 3.1. Número de mitílicos de bancos naturales muestreados y analizados para la secuenciación del gen mitocondrial Citocromo Oxidasa I por zona, sector y zona mareal.	167
Tabla 3.2. Nombre, tamaño Amplicon, polimorfismos y referencia.	168
Tabla 3.3. Muestras para análisis de morfotipos para identificación de especie mediante análisis de High Resolution Melting (HRM).	168
Table 3.4. Análisis genómico de genes identificados en el genoma de <i>Mytilus chilensis</i> como proteínas de adherencia del pie (foot proteins, FPs).	169
Table 3.5. Análisis de HRM sobre genes de adherencia del pie (foot proteins, FPs) en ejemplares de <i>Mytilus chilensis</i> recolectados desde las 3 zonas y 15 estaciones del estudio.	175
Tabla 3.6. Indicadores de diversidad genética del Gen COI en las tres zonas mareales analizadas del fiordo de Reloncaví.	180
Tabla 3.7. Estimadores de diversidad genética del Gen COI para las diferentes estaciones separadas por sus zonas mareales muestreadas del Fiordo de Reloncaví.	181
Tabla 3.8. Matriz de significancia de los valores de probabilidad (p) de la comparación de los valores de Fst entre las localidades, obtenido usando Genepop. Se indican los valores de	

diferencias significativas (+) y no significativas (-) entre todas las estaciones y zonas mareales analizadas.....	181
Table 3.9. Análisis de Varianza molecular de las secuencias de COI entre estaciones y entre zonas mareales por estación, indicando el valor de significancia de la probabilidad.....	182
Tabla 3.10. Indicadores de diversidad genética de las tres zonas analizadas: Fiordo Reloncaví, Hualaihué y Estero Castro.....	183
Tabla 3.11. Matriz de diferenciación genética entre zonas de estudio que muestra los valores de diferenciación mediante el indicador Fst bajo la diagonal y el Valor de significancia de p sobre la diagonal.	183
Tabla 4.1. Lista de partidores diseñados para la identificación semillas en bancos naturales de <i>Mytilus chilensis</i>	203
Tabla 4.2. Genotipificación de marcadores SNPs desarrollados para la identificación de semillas en bancos naturales de <i>Mytilus chilensis</i>	227
Tabla 4.3. Análisis de zigocidad de marcadores SNPs desarrollados para la identificación de semillas en bancos naturales de <i>Mytilus chilensis</i>	227

INDICE DE FIGURAS

Figura 1.1. Área de estudio de las estaciones donde se monitorean larvas de mitílicos y además se realiza el monitoreo de variables ambientales (perfiles CTD). Los puntos geográficos en rojo indican estaciones que se muestrean en frecuencia de ~ 10 días (primavera- verano) y mensual (otoño-invierno), mientras que las áreas con puntos azules representan las áreas que sólo se muestrean en frecuencia mensual.	33
Figura 1.2. Región de Los Lagos: sitios de muestreo del Programa de manejo y monitoreo de las mareas rojas. Círculos verdes indican los puntos en que se recolectan muestras de plancton y perfiles de CTD. Círculo verde/rojo y amarillo/rojo indican estaciones donde además se recolectan muestras para análisis de nutrientes de forma mensual y quincenal respectivamente.	34
Figura 1.3. A) Efecto de la fecundidad y de la tasa de mortalidad instantánea larval sobre el tiempo de desarrollo necesario para alcanzar la competencia con abundancias que garanticen que una larva llegue a la adultez. B) Efecto de la temperatura y la disponibilidad de alimento sobre el tiempo de desarrollo (calculado con tasas de crecimiento) y abundancia de larvas competentes sobrevivientes de 10 millones de huevos (modificado de Widdows, 1991).	44
Figura 1.4. A) Esquema conceptual de la relación entre el éxito de reclutamiento de <i>Mytilus edulis</i> en función de la densidad de individuos en el banco natural receptor (modificado de Dolmer & Stenalt, 2010). B) Esquema conceptual de la dinámica poblacional de <i>Mytilus edulis</i> considerando un efecto negativo de la filtración de altas densidades de adultos sobre la abundancia de larvas competentes para el asentamiento y, por lo tanto, sobre el reclutamiento (modificado de Khaitov & Lentsman, 2016).	47
Figura 1.5. Cosecha anual de mitílicos cultivados en la Región de Los Lagos entre 1990 y 2022. A) <i>Mytilus chilensis</i> , B) <i>Aulacomya atra</i> y <i>Choromytilus chorus</i> . Fuente: Sernapesca.	51
Figura 1.6. Desembarque artesanal anual de mitílicos registrado en bancos naturales de la Región de Los Lagos y a nivel nacional entre los años 1998 y 2022. A) <i>Mytilus chilensis</i> , B) <i>Aulacomya atra</i> y C) <i>Choromytilus chorus</i> . Fuente: Sernapesca.	52
Figura 1.7a. Origen y magnitud del abastecimiento de semillas de <i>Mytilus chilensis</i> en las comunas de la Región de Los Lagos entre 1995 y 2024. El asterisco señala que la data está incompleta. Fuente: Sernapesca.	53
Figura 1.7b. Flujo del abastecimiento de semillas de <i>Mytilus chilensis</i> entre las principales comunas de la Región de Los Lagos. Datos obtenidos del Servicio Nacional de Pesca.	54
Figura 1.8. Mapa de procedencias y captura muestreada registrada entre los años 1997 y 2022 a través del programa de Seguimiento de Pesquerías Bentónicas en la Región de Los Lagos para los recursos A) <i>Mytilus chilensis</i> , B) <i>Aulacomya atra</i> y C) <i>Choromytilus chorus</i>	56
Figura 1.9a. Densidad media y abundancia estimada para <i>Mytilus chilensis</i> (A, B) y <i>Aulacomya atra</i> (C, D) de las evaluaciones directas en AMERB en las comunas de Cochamó y Puerto Varas en la zona Fiordo Reloncaví.	70
Figura 1.9b. Densidad media y abundancia estimada para <i>Mytilus chilensis</i> (A, B) y <i>Aulacomya atra</i> (C, D) de las evaluaciones directas en AMERB de la comuna de Hualaihué.	71

- Figura 1.10. Ubicación geográfica de las estaciones de muestreo del programa de monitoreo de larvas de mitílidos ejecutado por el IFOP, ubicadas en el Fiordo Reloncaví (Cochamó y Yates), comuna de Hualaihué (Hornopirén y Pichicolo) y comuna de Castro (Estero Castro). 72
- Figura 1.11. Series de tiempo de temperatura y salinidad de los 20 m superficiales de la columna de agua, abundancia y biomasa fitoplanctónica, grupos dominantes de la biomasa fitoplanctónica, y abundancia de larvas de mitílidos pre-competentes y competentes, obtenidas en la estación de monitoreo Cochamó, ubicada en el Fiordo Reloncaví. Ejes de biomasa fitoplanctónica y abundancia de larvas de mitílidos en escala logarítmica. Líneas punteadas verticales indican la transición entre estaciones del año (celeste: otoño, azul: invierno, naranja: primavera, rojo: verano). Fuente: programa de monitoreo de larvas de mitílidos ejecutado por el IFOP. 75
- Figura 1.12. Series de tiempo de temperatura y salinidad de los 20 m superficiales de la columna de agua, abundancia y biomasa fitoplanctónica, grupos dominantes de la biomasa fitoplanctónica, y abundancia de larvas de mitílidos pre-competentes y competentes, obtenidas en la estación de monitoreo Yates, ubicada en el Fiordo Reloncaví. Ejes de biomasa fitoplanctónica y abundancia de larvas de mitílidos en escala logarítmica. Líneas punteadas verticales indican la transición entre estaciones del año (celeste: otoño, azul: invierno, naranja: primavera, rojo: verano). Fuente: programa de monitoreo de larvas de mitílidos ejecutado por el IFOP. 76
- Figura 1.13. Series de tiempo de temperatura y salinidad de los 20 m superficiales de la columna de agua, abundancia y biomasa fitoplanctónica, grupos dominantes de la biomasa fitoplanctónica, y abundancia de larvas de mitílidos pre-competentes y competentes, obtenidas en la estación de monitoreo Hornopirén, ubicada en la comuna de Hualaihué. Ejes de biomasa fitoplanctónica y abundancia de larvas de mitílidos en escala logarítmica. Líneas punteadas verticales indican la transición entre estaciones del año (celeste: otoño, azul: invierno, naranja: primavera, rojo: verano). Fuente: programa de monitoreo de larvas de mitílidos ejecutado por el IFOP. 78
- Figura 1.14. Series de tiempo de temperatura y salinidad de los 20 m superficiales de la columna de agua, abundancia y biomasa fitoplanctónica, grupos dominantes de la biomasa fitoplanctónica, y abundancia de larvas de mitílidos pre-competentes y competentes, obtenidas en la estación de monitoreo Pichicolo, ubicada en la comuna de Hualaihué. Ejes de biomasa fitoplanctónica y abundancia de larvas de mitílidos en escala logarítmica. Líneas punteadas verticales indican la transición entre estaciones del año (celeste: otoño, azul: invierno, naranja: primavera, rojo: verano). Fuente: programa de monitoreo de larvas de mitílidos ejecutado por el IFOP. 79
- Figura 1.15. Series de tiempo de temperatura y salinidad de los 20 m superficiales de la columna de agua, abundancia y biomasa fitoplanctónica, grupos dominantes de la biomasa fitoplanctónica, y abundancia de larvas de mitílidos pre-competentes y competentes, obtenidas en la estación de monitoreo Estero Castro, ubicada en la comuna de Castro. Ejes de biomasa fitoplanctónica y abundancia de larvas de mitílidos en escala logarítmica. Líneas punteadas verticales indican la transición entre estaciones del año (celeste: otoño, azul:

invierno, naranjo: primavera, rojo: verano. Fuente: programa de monitoreo de larvas de mitílidos ejecutado por el IFOP.	81
Figura 1.16. Mapa del catastro de las actividades realizadas en el borde costero de Fiordo Reloncaví.....	94
Figura 1.17. Mapa del catastro de las actividades realizadas en el borde costero de Hualaihué.....	95
Figura 1.18. Mapa del catastro de las actividades realizadas en el borde costero de Castro.	96
Figura 1.19. Distribución de tamaños y resultados del análisis de cohortes de <i>Mytilus chilensis</i> para la zona Fiordo Reloncaví para los años 2009 y 2023, mostrando el modelo más informativo para cada una de las temporadas analizadas. Líneas azules muestran la distribución de la proporción de cada una de las cohortes. Línea roja muestra la distribución acumulada. AIC es el criterio de información de Akaike.	99
Figura 1.20. Distribución de tamaños y resultados del análisis de cohortes de <i>Mytilus chilensis</i> para la zona de Hualaihué para los años 2009 a 2020, mostrando el modelo más informativo para cada una de las temporadas analizadas. Líneas azules muestran la distribución de la proporción de cada una de las cohortes. Línea roja muestra la distribución acumulada. AIC es el criterio de información de Akaike.	102
Figura 1.21. Asignación de clases de edades de <i>Mytilus chilensis</i> para las tallas medias obtenidas para cada una de las temporadas a través del análisis de cohortes entre los años 2009 y 2023 para las zonas A) Fiordo Reloncaví y B) Hualaihué. El cambio de color desde blanco a gris indica un cambio en la asignación de edad.	104
Figura 1.22. Curva de crecimiento y parámetros del modelo de Schnute para <i>Mytilus chilensis</i> de las zonas A) Fiordo Reloncaví y B) Hualaihué, se originan a partir de la Longitud Media (mm) y Edad (Años) obtenidos del modelo de distribución de cohortes.	106
Figura 1.23. Resumen de las 47 estaciones de muestreo realizadas en el año 2015 (cada una consideró 6 transectos de 35 m de largo) en el marco del proyecto FIPA 2014-57.	108
Figura 1.24. Perfil batimétrico de densidad de <i>Mytilus chilensis</i> en borde noroeste del Fiordo Reloncaví en el año 2015. Tomado del Informe Final de FIPA 2014-57.	108
Figura 1.25. Presencia (círculos rojos) ausencia (círculos amarillos) de cinturones intermareales de <i>Mytilus chilensis</i> registrados en muestreo financiado por INCAR en febrero de 2020.	109
Figura 1.26. Configuración vuelo y parámetros de captura de imágenes. A) Track de vuelo recorrido por el dron, B) Configuración del vuelo, duración (23 minutos y 49 segundos) y área recorrida (6 ha), parámetros de superposición de las fotografías (70% frontal y 60% lateral), y C) Altura del vuelo (34 m) y resolución (1 cm por pixel en cada fotografía).	110
Figura 1.27. A) Ubicación general del área de estudio, B) Bahía Hualaihué y C) Ortofoto sector Este de Bahía Hualaihué, donde se observan parches con choritos delimitados por línea roja.	111
Figura 1.28. Estero Castro y canal Lemuy, que muestra el detalle de la geografía y los principales ríos del área de estudio mencionada.	113
Figura 1.29. Mapa de la prospección de bancos de <i>Mytilus chilensis</i> en los sectores Estero Castro y Canal Lemuy. Símbolos verdes indican presencia, y símbolos rojos la ausencia de bancos, respectivamente.	114
Figura 1.30. Propuesta de sitios en Fiordo Reloncaví. Números indican estaciones muestreadas previamente, cruces verdes muestra las estaciones nuevas.	116

Figura 1.31. Propuesta de sitios en Hualaihué. En cruces blancas son estaciones muestreadas en 2020. Cruces verdes muestran nuevas estaciones sugeridas para muestreo 2023.....	117
Figura 1.32. Estaciones de muestreo para el Estero Castro y Canal Lemuy.....	118
Figura 2.1. Imagen de las diferencias morfológicas externas entre las especies de <i>Mytilus</i> más probables de encontrar. La especie nativa en Chile corresponde a la última imagen. Imágenes extraídas de WorMs.....	121
Figura 2.2. Registro fotográfico de los participantes del Taller Metodológico.....	126
Figura 2.3. A) Área de estudio mostrando las 3 zonas de trabajo. B), C) y D) detalle de las estaciones muestreadas y principales derechos de uso del borde costero en el Fiordo Reloncaví, Comuna de Hualaihué y Estero Castro, respectivamente.....	127
Figura 2.4. Estaciones de muestreo y distribución vertical de <i>Mytilus chilensis</i> , <i>Aulacomya atra</i> y <i>Perumytilus purpuratus</i> a lo largo de zona Fiordo Reloncaví (A y B), y zona de Hualaihué (C y D.) Los números indican las estaciones en ambas zonas de muestreo.....	130
Figura 2.5. A y B), Estaciones de muestreo y distribución vertical de <i>Mytilus chilensis</i> , <i>Choromytilus. chorus</i> y <i>Perumytilus purpuratus</i> en las estaciones muestreadas en Estero Castro. Los números indican las estaciones en ambas zonas de muestreo.....	131
Figura 2.6. Proporción de mitílidos registrados a través de muestreo con cuadrantes de 0,25x0,25 m en las zonas Fiordo Reloncaví, Hualaihué y Estero Castro, en tres estratos de profundidad (Superior (A, D, G), Medio (B, E, H), e Inferior (C, F, I)).	133
Figura 2.7. Distribución vertical de la proporción de abundancia para las especies de mitílidos y fauna acompañante y de la cobertura de Cirripedios en las zonas Fiordo Reloncaví (A, D), Hualaihué (B, E) y Estero Castro (C, F).	137
Figura 2.8. Estructura de talla de <i>Mytilus chilensis</i> para los estratos de profundidad superior, medio e inferior en las zonas de Fiordo Reloncaví, Hualaihué y Castro.	141
Figura 2.9. Izquierda: Análisis de cohortes para la distribución de tamaño de <i>Mytilus chilensis</i> recolectada en el fiordo Reloncaví. Líneas azules muestran la distribución de la proporción de cada una de las cohortes analizadas (3 a 7). Línea roja muestra la distribución acumulada. Modelo seleccionado de 5 cohortes, AIC= 51791. Derecha: Distribución de la matriz de correlación para los diferentes ajustes (por cohorte).....	142
Figura 2.10. Izquierda: Análisis de cohortes para la distribución de tamaño de <i>Mytilus chilensis</i> recolectada en la comuna de Hualaihué. Líneas azules muestran la distribución de la proporción de cada una de las cohortes analizadas (3 a 7). Línea roja muestra la distribución acumulada. Modelo seleccionado de 5 cohortes, AIC= 65953. Derecha: Distribución de la matriz de correlación para los diferentes ajustes (por cohorte).....	143
Figura 2.11. Izquierda: Análisis de cohortes para la distribución de tamaño de <i>Mytilus chilensis</i> recolectada en Estero Castro. Líneas azules muestran la distribución de la proporción de cada una de las cohortes analizadas (3 a 7). Línea roja muestra la distribución acumulada. Modelo seleccionado de 5 cohortes, AIC= 7716. Derecha: Distribución de la matriz de correlación para los diferentes ajustes (por cohorte).	144
Figura 2.12. Relación Longitud peso de <i>Mytilus chilensis</i> para las zonas A) Fiordo Reloncaví, B) Hualaihué, y C) Estero Castro.	146
Figura 2.13. Índice de condición para el peso total e índice de Condición para el peso de la carne húmeda de <i>Mytilus chilensis</i> recolectados en el Fiordo Reloncaví (A, D), Hualaihué (B, E) y	

Castro (C, F). Línea negra indica la mediana, rectángulo gris muestra el rango intercuartil (Q1 y Q3), barras de error muestran los valores mínimos y máximos.	148
Figura 2.14. Proporción sexual de <i>Mytilus chilensis</i> en las zonas de A) Fiordo Reloncaví, B) Hualaihué, y C) Estero Castro.	149
Figura 2.15. Índice Gonádico (IG) de <i>Mytilus chilensis</i> en las zonas A) Fiordo Reloncaví, B) Hualaihué y C) Estero Castro.	150
Figura 2.16. Proporción de especies de <i>Mitilidae</i> registradas en los muestreos bimestrales en bancos seleccionados de las zonas Fiordo Reloncaví, Hualaihué y Estero Castro.	154
Figura 2.17. Distribución de tamaños de <i>Mytilus chilensis</i> desde cuadrantes de 0,25 x 0,25 m en bancos naturales y colectores en la zona Fiordo Reloncaví, en los muestreos de diciembre de 2023, marzo y mayo de 2024, en los niveles de profundidad superior, medio e inferior. ...	155
Figura 2.18. Distribución de tamaños de <i>Mytilus chilensis</i> desde cuadrantes de 0,25 x 0,25 m en bancos naturales y colectores en la zona Hualaihué, en los muestreos de diciembre de 2023, marzo y mayo de 2024, en los niveles de profundidad superior, medio e inferior.	156
Figura 2.19. Distribución de tamaños de <i>Mytilus chilensis</i> desde cuadrantes de 0,25 x 0,25 m en bancos naturales y colectores en la zona Estero Castro, en los muestreos de diciembre de 2023, marzo y mayo de 2024, en los niveles de profundidad superior, medio e inferior.	157
Figura 2.20. Análisis de cohortes de semillas de <i>Mytilus chilensis</i> obtenidas desde colectores, A) en el mes de marzo de 2024 en fiordo Reloncaví; B) en el mes de mayo de 2024 en la zona Fiordo Reloncaví. Líneas azules muestras la distribución de la proporción de cada una de las cohortes. Línea roja muestra la distribución acumulada. AIC es el criterio de información de Akaike. Encerrado en rectángulo los modelos más informativos.	159
Figura 2.21. Análisis de cohortes de semillas de <i>Mytilus chilensis</i> obtenidas desde colectores, A) en el mes de marzo de 2024 en fiordo Reloncaví; B) en el mes de mayo de 2024 en la zona Estero Castro. Líneas azules muestras la distribución de la proporción de cada una de las cohortes. Línea roja muestra la distribución acumulada. AIC es el criterio de información de Akaike. Encerrado en rectángulo los modelos más informativos.	160
Figura 2.22. Fotografía de colectores en el sector de Pichicolo (Hualaihué) que muestra la ausencia de semillas en esa zona en marzo de 2024.	161
Figura 3.1. Análisis de coordenadas principales usando el genotipo completo de los individuos de la especie <i>Mytilus chilensis</i> , <i>Mytilus galloprovincialis</i> y los híbridos entre ambas especies (obtenidos de cruces en laboratorio). Extraído de Valenzuela et al. (2016).	163
Figura 3.2. Red de haplotipos de las muestras de <i>Mytilus chilensis</i> y muestras de la costa Atlántica, en base a datos de secuenciación de ADN mitocondrial del gen COI. (Extraído de Astorga et al., 2015).	163
Figura 3.3. Red de haplotipos de muestras de <i>Mytilus chilensis</i> de la costa chilena, para evaluar su estructura genética poblacional en base a secuenciación de ADN mitocondrial. (Extraído de Astorga et al., 2020).	164
Figura 3.4. Mapa de ubicación de las estaciones donde se recolectaron las muestras para la caracterización genética de <i>Mytilus chilensis</i> , objetivo 4 (rojo), análisis morfológico (verde) e intermareal y submareal (azul) en las zonas Fiordo Reloncaví (A), Hualaihué (B) y Estero Castro (C).	166

Figura 3.5. Arreglo genómico de genes anotados para proteínas de adhesión del pie (Foot proteins, FP) identificadas en el genoma de <i>Mytilus chilensis</i> . En la imagen se observan la localización de los genes FP en los cromosomas 4, 5, 6 y 7.	171
Figura 3.6. Representación de la diversidad de morfotipos de <i>M. chilensis</i> encontrados en las estaciones de muestreo, basados en las características de las especies de Mitílidos de la Figura 2.1 (Objetivo específico N°2).	174
Figura 3.7. Gel de agarosa al 1% bajo luz UV que muestra los resultados de extracción de ADN total para 10 muestras de <i>Mytilus chilensis</i> provenientes de la zona de Castro (CH1 –CH5) y Llaguepe (305-309).	176
Figura 3.8. Gel de agarosa al 2% bajo luz UV que muestra los resultados de amplificación del gen COI, por medio de PCR. PM (marcador de peso molecular 100 pb), (-) (control negativo).	177
Figura 3.9. Reconstrucción filogenética de los morfotipos de las estaciones analizadas, para identificación de especie, comparando con grupos externos (especies de mitílidos de diferentes géneros).....	178
Figura 3.10. Árbol filogenético que compara los morfotipos de algunas estaciones, con la imagen de sus valvas, las muestras se compararon con muestras conocidas de las diferentes especies del género <i>Mytilus</i> obtenidas desde bases de datos de Genbank, en las cuales se indica el nombre de la especie y el código de ingreso en Genbank.	179
Figura 3.11. Gráfico del análisis de componentes principales de las muestras en las tres zonas mareales analizadas, Submareal, zona Media e Intermareal.	180
Figura 4.1. Ensamble de genoma completo de <i>Mytilus chilensis</i> . (A) Mapa de calor de la intensidad de la interacción cromosómica en el ensamblaje Hi-C de <i>Mytilus chilensis</i> . Los ejes x e y representan la longitud de los cromosomas. La barra de color representa la densidad de contacto Hi-C. (B) Gráfico de circos muestra las características genómicas de los 14 cromosomas. Del círculo exterior al interior: densidad de genes, densidad de repetición, contenido de GC, localización de rRNA y ncRNA. La expresión del transcriptoma para el manto (Ma), las branquias (Gi), los hemocitos (He) y la glándula digestiva (DG) se muestran como perfiles de luz azul. Las sintenias cromosómicas se representan en diferentes colores según cada ideograma. El tamaño del cromosoma se muestra en la escala Mb. (C) Cromosomas metafásicos de muestras de larvas de chorito y mapeo de 28S-rDNA por hibridación fluorescente in situ.	186
Figura 4.2. El resumen de las zonas y estaciones para el muestreo de <i>Mytilus chilensis</i>	188
Figura 4.3. Análisis preliminar de muestras de choritos para extracción de DNA y posterior secuenciación por NGS.	189
Figura 4.4. Evaluación por electroforesis capilar digital en equipo TapeStation 2200 para muestras de DNA genómico purificadas con método Fenol-Cloroformo.	190
Figura 4.5. Evaluación por electroforesis capilar digital en equipo TapeStation 2200 para muestras de DNA genómico purificadas con Kit de extracción DNeasy Blood & Tissue Kits Qiagen.	191
Figura 4.6. Evaluación por electroforesis capilar digital en equipo TapeStation 2200 para muestras de DNA genómico purificadas con Kit de purificación de DNA Short Read Eliminator, Circulomics.	192

Figura 4.7. Evaluación por electroforesis capilar digital en equipo TapeStation 2200 para muestras de DNA genómico purificadas manualmente desde geles de agarosa al 2%.	193
Figura 4.8. Flujo de trabajo de preparación de librerías NGS y secuenciación en Illumina.....	194
Figura 4.9. Informe de Quality Check (QC) para librerías de choritos en el marco del estudio genético poblacional.....	195
Figura 4.10. Figura esquemática del proceso de secuenciación e informe de calidad de datos estimados como Q20/Q30 (%) para librerías de choritos en el marco del estudio genético poblacional.	196
Figura 4.11. Identificación de variantes nucleotídicas únicas (SNPs o SVN) utilizando dos estrategias para la caracterización genética de las poblaciones en estudio. A) Identificación y análisis de SNPs en todo el genoma utilizando tanto regiones intrónicas como exónicas. B) Identificación y análisis de SNPs en todo el genoma utilizando regiones solo exónicas. ...	200
Figura 4.12. Flujo de trabajo del pipeline PAPIpe. Las lecturas de WGRS de la población de <i>Mytilus chilensis</i> y los datos del genoma de referencia se procesan en serie en cinco pasos: recorte de lecturas, mapeo de lecturas, identificación de variantes genéticas, filtrado de datos y conversión de formato, y generación de resultados de análisis (Park et al., 2024).....	201
Figura 4.13. Análisis de Componentes Principales (PCA) entre PC1 y PC2 (derecha) y PC1 y PC3 (Izquierda) para 60 individuos de las poblaciones evaluadas de <i>Mytilus chilensis</i> . La grafica muestra ejemplares de estaciones Reloncaví-Llaguepe (RL), Reloncaví- Rollizo (RR), Castro-Chañihué (CC), Castro-Yutuy (CY). Hualaihué-Llancahué (HL) y Hualaihué-Puntilla Quillón (HP).	204
Figura 4.14. Análisis de Admixture generado para 4 diferentes valores de K (del 2 al 5). Las gráficas muestran los datos de NGS generados para 60 individuos de las poblaciones evaluadas de <i>Mytilus chilensis</i> . La grafica muestra ejemplares de estaciones Reloncaví-Llaguepe (RL), Reloncaví- Rollizo (RR), Castro-Chañihué (CC), Castro-Yutuy (CY). Hualaihué-Llancahué (HL) y Hualaihué-Puntilla Quillón (HP).	206
Figura 4.15. Análisis de índice de fijación (Fst) a partir de datos generados para 60 individuos de las poblaciones evaluadas de <i>Mytilus chilensis</i> . Las gráficas muestran la comparación de las variantes nucleotídicas identificadas utilizando los datos de NGS generados para cada zona y estación. Para cada zona/estación se comparó con la variación total poblacional. Reloncaví- Rollizo (RR), Castro-Chañihué (CC), Castro-Yutuy (CY). Hualaihué-Llancahué (HL) y Hualaihué-Puntilla Quillón (HP).	208
Figura 4.16. Análisis de (A) LD decay con máximo de distancia de 300 pb. (B) Análisis filogenético a partir de datos generados para 60 individuos de las poblaciones evaluadas de <i>Mytilus chilensis</i> . Las gráficas muestran los datos de NGS generados para cada zona y estación. ...	209
Figura 4.17. (A) Análisis de Admixture generado para 4 diferentes valores de K (del 2 al 5). Las gráficas muestran los datos de NGS generados para 60 individuos utilizando solo SNPs anotados en regiones exónicas de las poblaciones evaluadas de <i>Mytilus chilensis</i> . (B) Análisis de PSMC para la estimación demográfica de las poblaciones de <i>Mytilus chilensis</i> estudiadas. La grafica muestra ejemplares de las estaciones Reloncaví- Rollizo (RR), Castro-Chañihué (CC), y Hualaihué-Llancahué (HL).	210
Figura 4.18. Comparación de 5 tipos de variantes polimórficas desde datos entre poblaciones de <i>Mytilus chilensis</i> . La comparación entre los ejemplares de estaciones Reloncaví-Llaguepe	

(RL), Reloncaví- Rollizo (RR), Castro-Chañihué (CC), Castro-Yutuy (CY). Hualaihué-Llancahué (HL) y Hualaihué-Puntilla Quillón (HP).	211
Figura 4.19. Comparación estadística de variantes polimórficas únicas (SNV) desde datos entre poblaciones de <i>Mytilus chilensis</i> . La comparación fue realizada entre los ejemplares de estaciones Reloncaví-Llaguepe (RL), Reloncaví- Rollizo (RR), Castro-Chañihué (CC), Castro-Yutuy (CY). Hualaihué-Llancahué (HL) y Hualaihué-Puntilla Quillón (HP).	212
Figura 4.20. Análisis de Componentes Principales (PCA) para los factores de población y variantes polimórficas. El PCA fue realizado entre los ejemplares de estaciones Reloncaví-Llaguepe (RL), Reloncaví- Rollizo (RR), Castro-Chañihué (CC), Castro-Yutuy (CY). Hualaihué-Llancahué (HL) y Hualaihué-Puntilla Quillón (HP).	213
Figura 4.21. Análisis de Componentes Principales (Biplot) para los factores de población y variantes polimórficas. El PCA fue realizado entre los ejemplares de las estaciones Reloncaví-Llaguepe (RL), Reloncaví- Rollizo (RR), Castro-Chañihué (CC), Castro-Yutuy (CY). Hualaihué-Llancahué (HL) y Hualaihué-Puntilla Quillón (HP).	214
Figura 4.22. Prueba de comparación múltiple mediante test de ANOVA de 2-vías para identificar posibles asociaciones estadísticas de SNVs entre los ejemplares de las estaciones Reloncaví-Llaguepe (RL), Reloncaví- Rollizo (RR), Castro-Chañihué (CC), Castro-Yutuy (CY). Hualaihué-Llancahué (HL) y Hualaihué-Puntilla Quillón (HP).	215
Figura 4.23. Proporción de zigocidad, heterocigotos (He) y homocigotos (Ho), entre ejemplares de las estaciones Reloncaví-Llaguepe (RL), Reloncaví- Rollizo (RR), Castro-Chañihué (CC), Castro-Yutuy (CY), Hualaihué-Llancahué (HL) y Hualaihué-Puntilla Quillón (HP).	216
Figura 4.24. Comparación estadística de zigocidad entre poblaciones de <i>Mytilus chilensis</i> . La comparación fue realizada entre los ejemplares de las estaciones Reloncaví-Llaguepe (RL), Reloncaví- Rollizo (RR), Castro-Chañihué (CC), Castro-Yutuy (CY). Hualaihué-Llancahué (HL) y Hualaihué-Puntilla Quillón (HP).	217
Figura 4.25. Prueba de comparación múltiple mediante test de ANOVA de 2-vías para identificar posibles asociaciones estadísticas de zigocidad entre los ejemplares de las estaciones Reloncaví-Llaguepe (RL), Reloncaví- Rollizo (RR), Castro-Chañihué (CC), Castro-Yutuy (CY). Hualaihué-Llancahué (HL) y Hualaihué-Puntilla Quillón (HP).	218
Figura 4.26. Análisis de Componentes Principales (PCA) para los factores de población y zigocidad. El PCA fue realizado entre los ejemplares de las estaciones Reloncaví-Llaguepe (RL), Reloncaví- Rollizo (RR), Castro-Chañihué (CC), Castro-Yutuy (CY). Hualaihué-Llancahué (HL) y Hualaihué-Puntilla Quillón (HP).	220
Figura 4.27. Análisis de Componentes Principales (PCA) para los factores de población y zigocidad. El PCA fue realizado entre los ejemplares de las estaciones Reloncaví-Llaguepe (RL), Reloncaví- Rollizo (RR), Castro-Chañihué (CC), Castro-Yutuy (CY). Hualaihué-Llancahué (HL) y Hualaihué-Puntilla Quillón (HP).	221
Figura 4.28. Grafica de Venn para SNPs anotados sobre genes exclusivos y compartidos entre las agrupaciones de las estaciones de CCY_RL (Castro-Chañihué/Castro-Yutuy/Reloncaví-Llaguepe/Reloncaví-Llaguepe y HPL_RR (Hualaihué-Puntilla Quillón/Hualaihué-Llancahué/Reloncaví- Rollizo).	222
Figura 4.29. Análisis de enriquecimiento funcional para categorías de procesos biológicos función molecular (A y C), así como vías de señalización mediante herramienta gráfica ShinyGO (B	

y D). A y B representan las agrupaciones poblacionales de HPL_RR, mientras que C y D representan las estaciones de CCY_RL.	224
Figura 4.30. Ilustración referencial de conectividad genética para las poblaciones en estudio de <i>Mytilus chilensis</i> de Reloncaví, Castro y Hualaihué.	226

INDICE DE ANEXOS

10.1.	Anexo 1. Personal participante por actividad.....	250
10.2.	Anexo 1.1. Procedencias de pesca mitílicos del Programa el Seguimiento Bentónico de IFOP	252
10.3.	Anexo 1.2. Cartografía SIG.....	256
10.4.	Anexo 1.3. Presentación para la selección de sitios de muestreo	257
10.5.	Anexo 1.4. Acta de taller para la selección de sitios de muestreos.....	268
10.6.	Anexo 2.1. Taller metodológico de recolección de video transectos	273
10.7.	Anexo 2.2. Metodología procesamiento de videos	294
10.8.	Anexo 2.3. Imágenes de fauna y flora acompañante en bancos de <i>Mytilus chilensis</i>	298
10.9.	Anexo 2.4. Estructura de talla de <i>Mytilus chilensis</i> en las distintas estaciones	304
10.10.	Anexo 2.5. Presentación y acta taller de consenso de bancos naturales para seguimiento FIPA 2023-01	311
10.11.	Anexo 4.1. Diseño y estandarización de partidores HRM para trazabilidad de semillas de <i>Mytilus chilensis</i>	320
10.12.	Anexo 5. Taller Final de Resultados FIPA 2023-01	347

1. ANTECEDENTES

La mitilicultura, es una de las actividades acuícolas más antiguas en Chile, la evaluación para el cultivo se inició a mediados de los años 40. Sin embargo, el desarrollo industrial de la actividad se inició a fines de los años 90. Desde entonces, esta actividad ha crecido rápidamente, pasando de 43.213 toneladas el año 2002 a 332.725 toneladas el año 2019, posicionando a Chile como el segundo productor mundial de choritos, después de China, y el primer exportador de este recurso, con más de 60 mercados de destino.

Gracias a este fuerte crecimiento, la mitilicultura se ha transformado en un importante polo de desarrollo económico y social, principalmente en la Región de Los Lagos, que concentra el 99% de la producción. En términos financieros el año 2019 se exportaron cerca de 76.676 toneladas de choritos por un valor de US\$ 202 millones y se estima que hay alrededor de 600 empresas dedicadas a la mitilicultura, de las cuáles el 89% son PYMES.

El cultivo se basa en 3 especies: el chorito (*Mytilus chilensis*), que es el de mayor desarrollo, el choro (*Choromytilus chorus*) y la cholga (*Aulacomya atra*).

Sin embargo, los mitílicos poseen un ciclo de vida complejo que alterna una fase larval planctónica y una fase adulta bentónica, presentan sexos separados que expulsan sus gametos al medio, donde se produce la fertilización, producto de lo cual surge un organismo microscópico nadador de vida planctónica, que posteriormente se fija a un sustrato donde metamorfosea y pasa a la vida bentónica. Por este motivo, el proceso de cultivo requiere de dos fases bien distintas: la producción de semillas y la engorda.

El proceso de cultivo se inicia con la captación de semillas desde el medio natural, a partir de la oferta ambiental de larvas en sectores en los cuales existe una elevada cantidad de larvas en la columna de agua, principalmente durante el período estival, de octubre a abril. Es decir, que la producción de mitílicos se sustenta casi exclusivamente en la captación de larvas desde el medio natural.

JUSTIFICACION

La captación de semillas del medio natural no ha estado exenta de problemas. Durante la década de los 80 y 90, la captación de semillas se realizaba en el mar interior de Chiloé, pero coincidente con el crecimiento de la mitilicultura la captación de semillas fue disminuyendo en los sectores tradicionales y debieron buscarse nuevos sectores. La captación de semillas comenzó a desarrollarse en los fiordos cordilleranos de la Región de Los Lagos, especialmente en el estuario del Reloncaví. No obstante, en 2011 hubo una importante disminución de la captación de semillas de mitílicos en estos sectores, lo cual se tradujo en una reducción de los volúmenes cosechados por la industria.

La ausencia de una explicación científica para esta merma en la captación puso en evidencia las brechas en el conocimiento respecto a los factores naturales que condicionan la actividad, por lo que la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura encomendó al Instituto de Fomento Pesquero (IFOP), En el marco del Título VII de la Ley General de Pesca y Acuicultura ejecutar el Programa de monitoreo y vigilancia sobre la disponibilidad larval de mitílicos para la sustentabilidad de la actividad de acuicultura en la zona sur austral de Chile. Desde su implementación en el año 2013, el programa de monitoreo

ha entregado información sobre la disponibilidad de larvas de mitílicos, dando cuenta de una gran variabilidad interanual y por sectores de presencia de larvas (Opazo et al., 2020).

Las causas de esta variabilidad en la disponibilidad de larvas no están claras, pero una de las principales interrogantes es el estado de los bancos naturales y si estos tienen un adecuado reclutamiento, que les permita la sustentabilidad en el tiempo.

Mytilus chilensis, la especie más cultivada, es una especie endémica (Larraín et al., 2018), que forma bancos naturales en un estrecho hábitat o “cinturones” entre el intermareal y submareal de los fiordos. Por un lado, el ambiente intermareal se caracteriza por fuerte variación de temperatura y desecación, y, por otra parte, en el caso particular de los fiordos existe un fuerte gradiente de salinidad, con una capa superficial de agua dulce, más o menos profunda dependiendo de la marea y las descargas de los ríos.

En este sentido, los bancos de choritos están limitados por el gradiente salino y la desecación en la parte superior y con interacciones como la competencia y la depredación hacia la parte inferior de su distribución. A pesar de la envergadura de la mitilicultura en Chile y de la dependencia de esta actividad del medio natural, se cuenta con muy poca información sobre el estado de los bancos naturales de mitílicos, el reclutamiento y la renovación de los mismos, las relaciones de competencia con otras especies y de la depredación por otras especies que habitan el intermareal (Molinet et al., 2015).

Un elemento adicional es la presencia de otras especies del género *Mytilus*, como *M. galloprovincialis* en la región del Golfo de Arauco-Bío-Bío (Astorga et al., 2015) y *M. edulis* (Oyarzún et al., 2016), también denominado *M. platensis* (Gaitán-Espitia et al., 2016) en el estrecho de Magallanes. La hibridación entre especies del género *Mytilus* es común cuando coexisten dos o más especies debido a la similitud genética entre taxones (Larraín et al., 2019), lo que puede causar efectos no deseados o perjudiciales para la industria y/o las poblaciones de mejillones nativos.

Ante la inquietud de la industria mitilicultura por la sustentabilidad y desarrollo a largo plazo del sector, en 2020 se creó una mesa de trabajo público-privada denominada “Comité para la sustentabilidad de las semillas de mitílicos”. Este Comité se reunió periódicamente durante el 2020 y 2021 para identificar las principales brechas de conocimiento y dificultades del sector.

Las principales preocupaciones, en miras de la sustentabilidad de las semillas, son por una parte la escasa información sobre el estado actual de los bancos de mitílicos en las principales áreas de captación de semillas, cuyos únicos antecedentes se remontan al proyecto FIPA 2014-57 “Prospección y evaluación de la condición de bancos naturales de mitílicos en la zona sur-austral”, versus el esfuerzo de captación constante desde el medio natural, especialmente considerando que en la década de los 90 colapsó la captación que se realizaba en la comuna de Quellón.

Por otra parte, la presencia de *Mytilus galloprovincialis* en los productos que llegan a plantas de proceso desde la Región de Los Lagos hace suponer la presencia de esta especie exótica invasora en los bancos naturales de la región.

A todo lo anterior, se suma una drástica disminución en la colecta de semillas en la comuna de Castro, sector tradicional de colecta desde los inicios de esta actividad. Durante la temporada de colecta 2021-2022, en la comuna de Castro hubo una reducción del 99% de captación de semilla en comparación al ciclo de captación 2020-2021 (Segura et al., 2023). Lo que generó que los captadores de semillas

se reunieran con diferentes autoridades regionales y sectoriales para solicitar que se evalué el estado de los bancos naturales en ese sector.

En este contexto, el presente proyecto busca, por una parte, conocer el estado de los bancos naturales de *Mytilus chilensis* mediante una caracterización ecológica y genética, que permita identificar las diferentes especies de mitílidos presente en los bancos, así como de los elementos que pudieran estar afectando la renovación y sustentabilidad de los mismos, para así resguardar el capital genético de la especie endémica *Mytilus chilensis*, en el fiordo Reloncaví y comuna de Hualaihué que son las principales zonas de colecta y en el estero Castro, que es una de las zonas más antiguas y tradicional de colecta de semillas de mitílidos.

Adicionalmente, se busca desarrollar una herramienta molecular que permita determinar el origen de las semillas captadas en los sustratos artificiales, con el objeto de tomar medidas que aseguren la permanencia de estos bancos naturales en el tiempo, de modo de garantizar la sustentabilidad de la captación de semillas y la extracción de este recurso.

Finalmente, este proyecto aporta a los compromisos adquiridos por Chile en el marco de la FAO de generar información para el Plan de acción mundial para la conservación, la utilización sostenible y el desarrollo de los recursos genéticos acuáticos para la alimentación y la agricultura y que busca proteger la diversidad de los recursos genéticos acuáticos (RGA).

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo General

Realizar una evaluación ecológica y genética de los principales bancos naturales de mitílidos en el Estuario de Reloncaví y comunas de Hualaihué y Castro, y determinar su aporte a la disponibilidad larval para la actividad de colecta de semillas.

2.2. Objetivos Específicos

1. Identificar los principales bancos naturales de mitílidos en el Fiordo Reloncaví y comunas de Hualaihué y Castro.
2. Realizar una evaluación de estado general de los bancos naturales, considerando abundancia, cobertura, densidad, biomasa, distribución vertical, sexos, estructura de tallas y comunidad asociada, con énfasis en las diferentes especies que pudieran afectar los bancos de mitílidos.
3. Caracterizar genéticamente los bancos naturales, considerando el gradiente vertical, mediante marcadores SNP, para apoyar la trazabilidad de las diferentes especies del género *Mytilus* presentes en el área de estudio e identificar posibles bancos con poblaciones o individuos de especies exóticas.
4. Generar una herramienta de secuenciación masiva que permita establecer y relacionar el origen geográfico de los nuevos reclutas en los bancos naturales y de las semillas captadas en los colectores, respecto de los bancos naturales previamente identificados.

3. Objetivo Específico N°1. Identificar los principales bancos naturales de mitílidos en el Fiordo Reloncaví y comuna de Hualaihué y Castro.

3.1. Antecedentes

El mejillón chileno *Mytilus chilensis* es la segunda especie más importante en la acuicultura chilena con una producción aproximada de 400.000 t anuales (Molinet et al., 2021a; <http://www.sernapesca.cl/informes/estadisticas>), que constituye la mayor exportación mundial de mejillón de cultivo (<https://amichile.com/quienes-somos-cloned-2635/>). La provisión de semillas para esta producción se obtiene aprovechando el ciclo de vida de esta especie que alterna entre una fase larvaria planctónica y una fase adulta bentónica (Buzeta et al., 1988; Chaparro y Winter, 1983; Ramorino y Campos, 1983). Así, las semillas se capturan en cuerdas de captación instaladas aledañas a bancos naturales de *M. chilensis*, para su posterior traslado a centros de engorda. Esta práctica de cultivo se conoce como acuicultura basada en la captura (Lovatelli y Holthus, 2008)

Las características de algunos sistemas estuarinos permiten la distribución y “aislamiento vertical” del asentamiento de larvas de *M. chilensis* en las cuerdas suspendidas (respecto a competidores como *Aulacomya atra*), permitiendo a los productores acceder a casi el 100% de semilla de mejillón chileno en sus cuerdas (Molinet et al., 2021a; Segura et al., 2022). Las poblaciones adultas de mejillón están, espacialmente estructuradas en subpoblaciones según el tipo de hábitat y ocupan espacios definidos en el fondo marino de los estuarios entre el intermareal medio y ~3-20 m de profundidad en la zona submareal (Viviani, 1979; Molinet et al., 2015; Molinet et al., 2016).

Teniendo en cuenta la distribución verticalmente estratificada de *M. chilensis* en los sistemas estuarinos, Molinet et al. (2015) propusieron este atributo para estudiar los factores que influyen en la dinámica de contracción y expansión de las poblaciones y subpoblaciones de mejillones a través del gradiente batimétrico y/o intermareal (siguiendo a Orensanz y Jamieson, 1998; Orensanz et al., 2006).

3.2. Metodología

3.2.1. Revisión Bibliográfica

Requerimiento metodológico 5.1.1. de las bases técnicas, “Recopilar, analizar y sistematizar información sobre factores que afectan el desove, reclutamiento y estado de los bancos naturales de mitílidos”, se aplicaron distintos métodos de recopilación, considerando las distintas fuentes y motores de búsqueda disponibles.

3.2.1.1. Fuentes primarias: Publicaciones científicas

La sistematización y clasificación de la literatura científica nacional e internacional sobre factores que afectan el desove, reclutamiento y estado de bancos naturales de mitílidos implicó compilar información desde artículos científicos publicados en revistas de amplia circulación, el primer acceso fue la base de datos de la biblioteca de la Universidad Austral de Chile, la cual tiene acceso a 39.000 títulos de revistas en línea. Entre los que se destaca el acceso consorciado a la BEIC (Biblioteca Electrónica Científica Chilena) con más 5.500 revistas de corriente principal (ACS, Annual Reviews, NPG, Springer, Wiley Interscience, Oxford University Press, Science Direct), los 771 títulos suscritos en forma directa que corresponden principalmente a: IEEE, Emerald, American Medical Association,

American Society for Microbiology Journals, Bioone, Ecological Society of America Journals, Federation of Animal Science Societies, Biblioteca del Fondo de Investigación Pesquera y Acuicultura, etc.

Para el desarrollo metodológico de este objetivo se recopilaron antecedentes consultando diversas fuentes especializadas en ciencias marinas, por ejemplo:

- ASFA Aquatic Sciences and Fisheries Abstracts. ASFA posee una cobertura temática en Acuicultura, Organismos acuáticos, contaminación acuática, medioambiente.
- Oceanic Abstracts. Posee una cobertura temática en oceanografía biológica, ecología, oceanografía física y química, geoquímica, contaminación marina, recursos marinos, navegación y comunicaciones, derecho marítimo y biología marina.
- Science Direct. Posee una cobertura temática en las áreas científicas, médicas y técnicas. Science Direct es un servicio electrónico de información de texto completo, exclusivamente institucional.
- Scopus. Posee una cobertura temática en química, física, matemáticas, ingeniería, ciencias de la vida, ciencia social, psicología y economía.
- Biblioteca FIPA
- Biblioteca IFOP

Para facilitar la búsqueda se eligieron descriptores de inclusión tales como; mitílicos, desove, reclutamiento y bancos naturales; que se aplicaron automáticamente en el título, resumen, palabras claves y texto en general de las publicaciones contenidas en las bases de datos que se consultaron. Los descriptores se aplicaron en inglés y español, los que fueron modificados según los resultados de la búsqueda.

3.2.1.2. Fuentes secundarias: Proyectos, Informes, Tesis

Este motor de búsqueda se refiere a publicaciones sin comité editorial o que no se encuentren anexadas a bases de datos de revistas científicas, informes ambientales, resultados de proyectos de investigación, tesis, así como libros recientes sobre la materia y documentos de talleres de trabajo por parte de grupos de expertos a nivel nacional o internacional. Se utilizaron los mismos descriptores mencionados anteriormente.

- Scholar Google. Buscador de bibliografía especializada de la investigación académica para un gran número de disciplinas y fuentes como tesis, libros, resúmenes y artículos de editoriales académicas, sociedades profesionales y universidades.

Para cumplir con el Requerimiento metodológico 5.1.2 se recopiló, analizó y sistematizó la información de bancos naturales de mitílicos en el Fiordo Reloncaví y las comunas de Hualaihué y Castro, considerando tanto publicaciones en revistas científicas, como informes de proyectos, informes de seguimiento de AMERB, informes del programa de seguimiento de las principales pesquerías bentónicas e Informes de banco natural en el contexto de las solicitudes de concesión de acuicultura, y programa de Monitoreo de larvas de mitílicos.

Para la actualización, recopilación, análisis y sistematización de la información histórica sobre la ubicación y estado de bancos naturales de mitilidos en el Fiordo Reloncaví y las comunas de Hualaihué y Castro, se actualizó la revisión bibliográfica realizada en el FIPA 2014-57, considerando informes de proyectos de investigación y de informes elaborados en el contexto de concesiones de acuicultura.

Adicionalmente, se realizó una recopilación, análisis y sistematización de la información disponible de los programas de seguimiento bentónico, de pesquerías bajo régimen de áreas de manejo y de monitoreo de larvas de mitilidos desarrollado por el Instituto de Fomento Pesquero, solicitando y realizando un análisis de sus bases de datos.

3.2.2. Revisión de reportes con datos

3.2.2.1. Estadísticas de desembarque y acuicultura

Para la recopilación de la serie de datos de desembarque artesanal y de cosechas desde centros de cultivos de los principales mitilidos de importancia comercial se descargó y/o digitalizó la información de los anuarios estadísticos de pesca del Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura entre los años 1990 y 2022 (Anuario Estadístico de Pesca), a nivel nacional y de la Región de Los Lagos. Además, se solicitó información sobre abastecimiento de semillas por comuna desde 1998 al 2024 al Sistema Integral de Información y Atención Ciudadana (SIAC) de Sernapesca (<https://www.sernapesca.cl/tramites/sistema-integral-de-informacion-y-atencion-ciudadana-siac/>).

3.2.2.2. Programa de Seguimiento de Pesquerías Bentónicas en el Fiordo Reloncaví y las comunas de Hualaihué y Castro

En el proyecto FIPA 2014-57 se solicitó la información disponible hasta 2013 de las bases de datos de IFOP y recolectada a través del Programa de Seguimiento Bentónico, la cual entrega información biológica pesquera asociada al viaje de pesca, en la cual se registra información de captura, esfuerzo, procedencia y tallas asociadas a la captura, además de información biológica que corresponde a muestreos dirigidos de longitud y peso. En este proyecto se actualizó la información considerando la disponibilidad de información hasta el año 2022, la que fue solicitada vía transparencia a través de la página web <https://www.ifop.cl/ley-20-285/>.

3.2.2.3. Programa de Seguimiento Pesquerías Bajo Régimen de Áreas de Manejo en el Fiordo Reloncaví y las comunas de Hualaihué y Castro

De la misma forma que para pesquerías bentónicas se actualizó la información de Áreas de Manejo y Explotación de Recursos Bentónicos (AMERB) hasta el año más recientes de la base de datos de pesquerías en áreas de manejo, en el marco del Programa de Seguimiento de Pesquerías Bajo Régimen de Áreas de Manejo, la cual contiene información biológica de las evaluaciones directas de los Estudios de situación base (ESBA) e informes de seguimientos de las áreas de manejo, además de la estructura de talla de la población de cada monitoreo. Esta información estuvo disponible hasta

2011 para el proyecto FIPA 2014-57, por lo que se actualizó la información hasta el año 2019, considerando que existe un desfase entre la realización de los ESBAS y Seguimientos y su ingreso al sistema, la que fue solicitada vía transparencia a través de la página web <https://www.ifop.cl/ley-20-285/>.

3.2.2.4. Programa de monitoreo y vigilancia sobre la disponibilidad larval de mitílidos para la sustentabilidad de la actividad de acuicultura en la zona sur austral de Chile en el Fiordo Reloncaví y las comunas de Hualaihué y Castro

Finalmente se analizó la base de datos sobre el monitoreo de la captación de semillas de mitílidos en la zona sur austral de Chile, y en donde se realizan muestreos estacionales con un periodo de frecuencia alta en primavera verano y de frecuencia baja en otoño invierno, de zooplancton para la estimación de la abundancia de larvas y de fitoplancton para la estimación de biomasa microfitoplanctónica.

3.2.2.5. Sistematización de la información

Requerimiento metodológico 5.1.3, *“Sistematizar la información para cada uno de los sectores muestreados en los estudios previos, indicando objetivo del proyecto, metodología utilizada y resultados, incluyendo evolución en el tiempo en el caso que hubiera más de un muestreo”*.

Se elaboró una tabla resumen que sistematiza la información de publicaciones y proyectos en cada uno de los sectores muestreados, y en donde se incluye el nombre del proyecto, objetivos, metodología utilizada, principales resultados y su evolución en el tiempo en el caso que hubiera más de un muestreo. Los artículos o informes en formato PDF fueron almacenados y entregados como resultado en este informe.

3.2.3. Recopilar, analizar y sistematizar la información oceanográfica y ambiental disponible, sobre el Fiordo Reloncaví y las comunas de Hualaihué y Castro.

Requerimiento metodológico 5.1.4. *“Recopilar, analizar y sistematizar la información oceanográfica y ambiental disponible, sobre el Fiordo Reloncaví y las comuna de Hualaihué y Castro, de manera de caracterizar detalladamente cada uno de estos sectores y completar una serie de tiempo de parámetros oceanográficos y meteorológicos, de al menos 10 años, considerando publicaciones en revistas científicas, informes de proyectos y programas de monitoreos permanentes como: Monitoreo de Marea Roja, Monitoreo de larvas de mitílidos, Programa de observación del ambiente litoral (POAL) y datos meteorológicos y de precipitaciones de la DMC”*.

3.2.3.1. Recopilación de información ambiental

La información ambiental, meteorológica y de precipitaciones se recopiló y analizó la información disponible a través del Programa de observación del ambiente litoral (POAL). La información fue recopilada y sistematizada en cuanto al tipo de parámetro analizado temporal y espacialmente.

3.2.3.2. Catastro de las actividades que se realizan en el borde costero

Requerimiento metodológico 5.1.6. *“Identificar e inventariar las actividades que se desarrollan en el borde costero y que pudieran afectar el buen desempeño de los bancos naturales de mitílidos”.*

Se realizó un catastro de las actividades que se desarrollan en el borde costero del Fiordo de Reloncaví y las comunas de Hualaihué y Castro, y que pudieran afectar la permanencia del banco natural. Se identificaron e inventariaron las actividades que se desarrollan en el borde costero y que se encuentran autorizadas por la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura, la cual incluye Concesiones de Acuicultura, Áreas de Manejo, Espacios Marinos Costeros de Pueblos Originarios (EMCPO) y otras concesiones del uso del borde costero aprobadas por la Autoridad Marítima. También se incluyó la presencia de cuerpos de agua dulce, la existencia de riles y otras actividades que pudieran tener impacto sobre los bancos naturales.

3.2.3.3. Recopilación de información oceanográfica

Para la recopilación de información oceanográfica se analizó las bases de datos del Programa de monitoreo y vigilancia sobre la disponibilidad larval de mitílidos de IFOP y que cuenta con un total de 12 estaciones en la Región de Los Lagos (estaciones de Cochamó y Yates en la zona fiordo Reloncaví, Hornopirén y Pichicolo, en la comuna de Hualaihué y Estero Castro en la comuna de Castro) (Figura 1.1), y del Programa de manejo y monitoreo de las mareas rojas en el sistema de fiordos y canales de Chile (Figura 1.2).



Figura 1.1. Área de estudio de las estaciones donde se monitorean larvas de mitílidos y además se realiza el monitoreo de variables ambientales (perfiles CTD). Los puntos geográficos en rojo indican estaciones que se muestrean en frecuencia de ~ 10 días (primavera- verano) y mensual (otoño-invierno), mientras que las áreas con puntos azules representan las áreas que sólo se muestrean en frecuencia mensual.

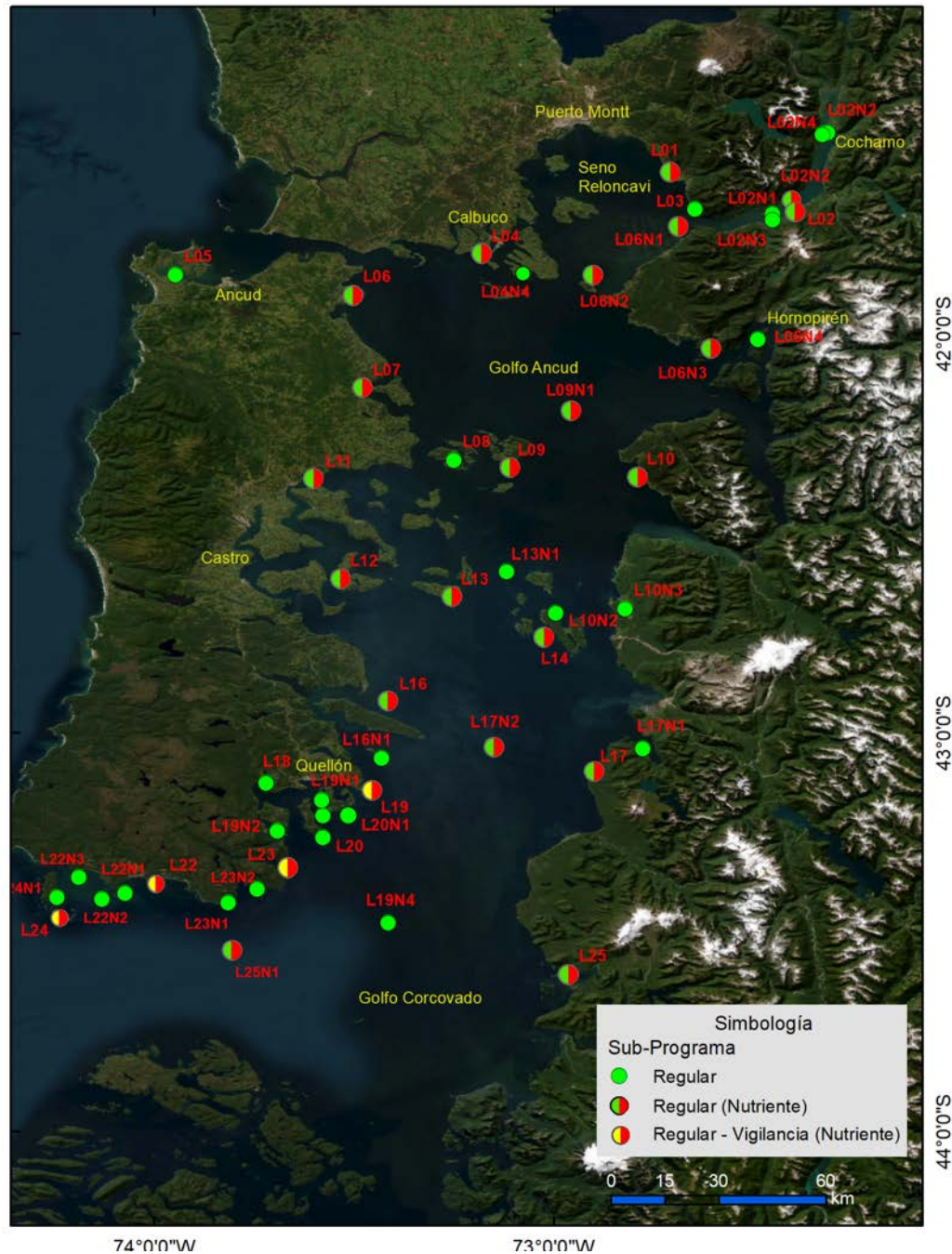


Figura 1.2. Región de Los Lagos: sitios de muestreo del Programa de manejo y monitoreo de las mareas rojas. Círculos verdes indican los puntos en que se recolectan muestras de plancton y perfiles de CTD. Círculo verde/rojo y amarillo/rojo indican estaciones donde además se recolectan muestras para análisis de nutrientes de forma mensual y quincenal respectivamente.

3.2.3.4. Generación de sistema de información geográfico

Requerimiento metodológico 5.1.7. “En base a la información recopilada en terreno elaborar mapas de distribución de mitílicos para ambas áreas geográficas, así como mapas comparados con la información previa” y requerimiento metodológico 5.1.8. “Generar capas, con la información de los puntos anteriores, compatibles con el SIG de la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura, de manera que permita visualizar todos los aspectos antes señalados”.

Basados en la información obtenida del catastro de actividades que se realizan en el borde costero y la información recopilada en terreno, para la caracterización del borde costero del Fiordo Reloncaví y las comunas de Hualaihué y Castro se elaboró un proyecto en la plataforma de trabajo ArcGis 9.3 compatible con el SIG de la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura. El SIG es un conjunto de algoritmos que permiten ingresar, almacenar, analizar y desplegar datos geográficos. La diferencia con otros softwares radica en SIG maneja variables en las cuales la localización geográfica es fundamental, asimismo, brindan facilidades para mezclar información proveniente de fuentes diversas (datum, proyecciones, sistemas de referencia) y distintas escalas. El despliegue de esta información se realizó espacialmente.

3.2.4. Análisis de crecimiento de *Mytilus chilensis* en bancos naturales

Se analizaron los registros de frecuencias de talla de *Mytilus chilensis* del área de estudio obtenidas desde las evaluaciones directas de los Estudios de Situación Base (ESBA) y seguimientos de AMERB entre los años 2009 y 2020, y los muestreos realizados por el Programa de Investigación Pesquera de la Universidad Austral de Chile en los años 2013, 2014, 2015, 2020 y 2022 a través de los proyectos FONDECYT 1130716, FIPA 2014-57 y financiamiento INCAR, (Tabla 1.1). Por el bajo número de muestra para la estructura de talla en la base de datos de AMERB no se analizaron las temporadas 2012-2013 y 2017-2018 en el fiordo Reloncaví y la temporada 2017-2018 en la zona de Hualaihué. En la comuna de Castro durante el periodo analizado no se registran muestreos de estructura de tallas que permitan realizar un análisis de crecimiento.

Para el análisis de seguimiento de cohortes y posterior estimación de crecimiento en bancos naturales, los datos de frecuencia de talla fueron agrupados anualmente entre mayo y abril de cada año. Lo anterior considerando la época de desove e ingreso de reclutas a la población (Tabla 1.1).

Tabla 1.1. Tamaño de muestra y fuente de procedencia por temporada para el análisis de crecimiento de *Mytilus chilensis* en bancos naturales. En paréntesis se muestra el número de AMERB con datos disponibles y el número de estaciones monitoreadas por el Programa de Investigación Pesquera de la Universidad Austral de Chile (UACH).

Zona	Temporada	Tamaño de Muestra		
		AMERB		UACH
		ESBA	Seguimiento	
Fiordo Reloncaví	2009-2010		2366 (11)	
	2010-2011	458 (2)	1773 (7)	
	2011-2012		1263 (5)	

Zona	Temporada	Tamaño de Muestra		
		AMERB		UACH
		ESBA	Seguimiento	
	2013-2014		1510 (7)	1166 (12)
	2014-2015	252 (1)	2137 (10)	1538 (10)
	2015-2016		591 (2)	10890 (37)
	2016-2017		1232 (6)	
	2018-2019	690 (4)	1250 (8)	
	2019-2020		528 (3)	3726 (12)
	2022-2023			5149 (12)
	2009-2010		2428 (8)	
Hualaihué	2010-2011	309 (1)	2021 (7)	
	2011-2012		2975 (10)	
	2012-2013		3065 (10)	
	2013-2014		1747 (7)	
	2014-2015	278 (1)	2090 (9)	
	2015-2016	1457 (3)	1540 (4)	
	2016-2017		3228 (16)	
	2018-2019	297 (1)	2357 (14)	
	2019-2020		1223 (7)	

3.2.4.1. Estudio de cohortes

Se estimó el número de cohortes a través de modelos de mezcla de distribuciones normales, para determinar la estructura de edad a partir de la estructura de talla. Los datos de frecuencia de talla fueron agrupados en categorías de 1 mm, se les ajustó un modelo de mezcla de distribuciones normales, cada una de ellas correspondiendo a una clase de edad anual o cohorte (Roa-Ureta, 2010; Roa-Ureta et al., 2015). El supuesto que las distribuciones componentes son clases de edad anual es apoyado por el conocimiento sobre la biología del stock, que indican que el stock está compuesto de cohortes anuales (Molinet et al., 2017; Oyarzún et al., 2011).

Puesto que los datos corresponden a conteos en cada una de múltiples categorías de diámetro de 1 mm, la distribución de los datos se modeló como una distribución multinomial, y por lo tanto la función de log-verosimilitud a maximizar en función de los parámetros es:

$$L = n \sum_{i=1}^D P_i \log(H(l, \delta))$$

donde D es el número total de categorías de diámetro y P es la proporción observada en la categoría de diámetro l. Puesto que el número de clases anuales J es desconocido, para cada set de datos de frecuencia de diámetros se ajustaron varios modelos, con un número mínimo de 3 cohortes y un número máximo de 7 cohortes.

Para determinar cuál de todos los modelos ajustados que convergen para cada frecuencia de longitudes examinada es el más informativo, se evaluó el criterio de información de Akaike (Akaike, 1974; Burnham and Anderson, 2004), la matriz de correlación y el gradiente. El ajuste estadístico fue

realizado en el ambiente de programación ADMB (Fournier et al., 2012), mientras que los datos y los resultados de los ajustes se procesaron en el ambiente de programación R (R Core Team, 2023).

3.2.4.2. Asignación de edad

Las tallas medias de cada cohorte obtenida desde los modelos de mezcla de distribuciones normales fueron asignadas a una clase de edad siguiendo la metodología utilizada por Roa-Ureta (2010), y en donde para la asignación de edad asume dos premisas. La primera premisa corresponde a que los individuos tienden a crecer con la edad, mientras que la segunda premisa, para especies con una época reproductiva anual, no puede existir más de una cohorte por año. De esta forma, y utilizando la temporada como índice, las tallas medias fueron ordenadas de forma ascendente, se les fue asignada la edad. Por ejemplo, como no es posible que 2 tallas medias de la misma temporada permanezcan a la misma cohorte y por tanto tengan la misma edad, la talla media mayor corresponde a una nueva cohorte, asignando la edad correspondiente.

3.2.4.3. Modelo de crecimiento

El crecimiento de *M. chilensis* fue ajustado utilizando los modelos de Gompertz (1825), von Bertalanffy (1938), Schnute (1981) y Tanaka (Ebert et al., 1999). Las funciones antes mencionadas se ajustaron mediante regresión no lineal (Gallant, 1975) utilizando el paquete nls en R 4.3 (R Core Team, 2023).

3.2.5. Identificación y caracterización de áreas de mayor y menor concentración de mitílidos en el Fiordo Reloncaví y las comunas de Hualaihué y Castro

Requerimiento metodológico 5.1.5. “Realizar un recorrido marítimo durante marea baja por todo el borde costero del área de estudio, identificando y caracterizando las áreas de mayor o menor concentración de mitílidos, georreferenciando y tomando fotografías y videos de los sectores de interés”.

3.2.5.1. Identificación y caracterización

- Fiordo Reloncaví y Hualaihué

Para este requerimiento se consideró el conocimiento disponible sobre mitílidos y la información existente en los casos del Fiordo Reloncaví y Comuna de Hualaihué, según lo planteado en la propuesta técnica:

- Los choritos *M. chilensis* se distribuyen principalmente en el intermareal inferior, cuando están presentes, asociados a zonas de baja salinidad y ambientes rocosos y/o compuestos de grava y a veces fango.
- Existe información de 6 campañas de muestreo (Lizama, 2003; Molinet et al., 2015; Molinet et al., 2016; Molinet et al., 2021a) en el Fiordo Reloncaví las que dan cuenta de la presencia de bancos en esta zona. En la comuna de Hualaihué existe información de 1 campaña en 2020 en la que se recorrieron 7 estaciones.

- iii) Con estos antecedentes se realizó una reunión de coordinación con el FIPA y Subpesca (contraparte técnica), para discutir la información disponible y proponer estaciones de muestreo.

- Estero Castro y canal Lemuy

En el caso de Estero Castro se realizó un recorrido marítimo durante marea baja por todo el borde costero del área de estudio, identificando y caracterizando las áreas de mayor o menor concentración de mitílidos, georreferenciando y tomando fotografías y videos de los sectores de interés. Todas las navegaciones fueron georreferenciadas, mientras que los videos y fotografías se grabaron en formatos de alta definición.

3.2.5.2. Selección de sitios de muestreo.

Para responder al requerimiento metodológico 5.1.9. *“En base a la información recolectada en los puntos anteriores, el consultor deberá proponer a la contraparte técnica una selección de sitios de muestreo, en base a criterios fundados y presentar una propuesta ajustada con todas las actividades que se llevarán a cabo para el cumplimiento de los objetivos 4.2 y 4.3 de las bases de la licitación”, se realizaron las siguientes actividades:*

- Elaboración de resumen de la información: Para la selección de los sitios de muestreo en el Fiordo Reloncaví y las comunas de Hualaihué y Castro se preparó una presentación (en PowerPoint) y tabla resumen con la disponibilidad de información desde i) la información histórica sobre la ubicación y el estado de los bancos naturales y ii) el recorrido marítimo del borde costero, en donde se identificaron las áreas con presencia de bancos de mitílidos. Junto con la tabla resumen se identificó la serie de tiempo (años de registro), así como la resolución espacial y temporal de la recolección de información.
- Taller de trabajo con la contraparte técnica: El resumen elaborado fue presentado a la contraparte técnica con una propuesta de sitios de muestreo. Esto se realizó en formato taller de trabajo con la contraparte técnica (Subsecretaría de Pesca), donde se consensuó la selección de los sitios de estudio.

3.3. Resultados

3.3.1. Revisión Bibliográfica

La literatura recopilada fue ingresada al gestor de referencias electrónico MENDELEY (www.mendeley.com) que contiene 207 referencias, el cual permite compartir la biblioteca con otros usuarios, y al cual es posible acceder a través del usuario mytilidos@uach.cl y contraseña: FIPA2023-01.

La literatura relativa a mitílicos es abundante en el contexto mundial, registrándose alrededor de 86.000 resultados al buscar con la palabra “mussel beds”. Esos resultados disminuyen a 882 cuando la búsqueda se realiza en español bancos de mitílicos. Sin embargo, la literatura disponible sobre reclutamiento y estado de los bancos de mitílicos chilenos es escasa.

Los principales mitílicos chilenos de importancia económica corresponden al chorito (*Mytilus chilensis*, Hupe 1854), cholga (*Aulacomya atra*, Molina 1782) y choro zapato (*Choromytilus chorus*, Molina 1782). Las tres especies de mitílicos mencionados previamente forman densos bancos en fondos duros y blandos hasta 25 m de profundidad (Lorenzen et al., 1979; Viviani, 1979), con interacciones ecológicas que no han sido profundamente estudiadas en Chile.

3.3.1.1. Desove y desarrollo larval

Mytilus chilensis al igual que las otras dos especies de mitílicos (*A. atra* y *C. chorus*), tiene sexos separados y sus huevos son fecundados en la columna de agua. Información acerca de estadios planctónicos, alimentación larval, asentamiento y reclutamiento ha sido publicada por varios autores (Navarro & Winter, 1982; Chaparro & Winter, 1983; Buzeta et al., 1988; Leiva et al., 2007; Avendaño et al., 2011). Una importante contribución fue hecha por Ramorino and Campos (1983), que publicó una descripción detallada de la morfología de los estadios larvales de varias especies de bivalvos y que constituye un texto obligado para identificación de larvas. El tamaño de los huevos es de aproximadamente 70 micras y se producen alrededor de 8×10^6 huevos / hembra. En Yaldad (Chiloé) se ha observado hasta $10,9 \times 10^6$ huevos / hembra, y el desove ocurre en la primavera y el verano (Chaparro & Winter, 1983). *M. chilensis* - al igual que *A. atra* y *C. chorus* - tiene un ciclo de vida complejo que alterna una fase de desarrollo temprana planctónica con una fase de desarrollo adulta bentónica (Chaparro and Winter, 1983; Toro et al., 2004). Las larvas son frecuentes en el plancton durante primavera y verano (Buzeta et al., 1988), por lo que su diferenciación desde huevo hasta 300 μm es compleja (Ramorino & Campos, 1983).

Asentamiento y reclutamiento en invertebrados marinos con ciclo de vida complejo

La persistencia poblacional en invertebrados marinos con ciclo de vida complejo depende del éxito del asentamiento y reclutamiento de sus estadios tempranos de desarrollo (Underwood & Fairweather, 1989; Caley et al., 1996; Hixon et al., 2002). En algunas especies, estos estadios tempranos son larvas planctónicas (Marshall et al., 2012) con tiempos de desarrollo que pueden variar desde minutos a meses, y distancias de dispersión de menos de un metro a cientos de kilómetros (Shanks, 2009). La existencia de esta fase larval dispersiva en el ciclo de vida de especies sésiles tiene una serie de

ventajas ecológicas para la persistencia poblacional (Pechenik, 1999). Sin embargo, estas ventajas están condicionadas por el retorno de las larvas a una población local y de su sobrevivencia hasta la madurez sexual (Pineda et al., 2007). Por lo tanto, para entender la dinámica poblacional de estos organismos es necesario entender los factores que determinan el éxito del asentamiento y el reclutamiento de sus larvas (Pineda, 2000; Pineda et al., 2009).

Asentamiento larval es el término utilizado para describir una serie de eventos asociados a la transición entra la vida planctónica y bentónica (Rodríguez et al., 1993). Una vez que las larvas son competentes para el asentamiento, buscan activamente un sustrato adecuado, pudiendo retomar periodos planctónicos hasta encontrarlo y metamorfosear para iniciar la vida bentónica (Rodríguez et al., 1993; Jenkins et al., 2009). El reclutamiento, por otra parte, es el proceso de colonización exitosa tras un tiempo arbitrario luego del asentamiento (Jenkins et al., 2009), que generalmente se asocia a una alta mortalidad (i.e., mortalidad post-asentamiento; Gosselin & Qian, 1997; Hunt & Schaibling, 1997). Debido a la dificultad para estimar el asentamiento y a la arbitrariedad para definir el reclutamiento, ambos términos suelen confundirse o utilizarse indistintamente (Jenkins et al., 2009). Por este motivo, en esta revisión el asentamiento es definido como la fijación de una larva competente en un sustrato adecuado, mientras que el reclutamiento es definido como la cantidad de sobrevivientes tras un año del asentamiento en una población local.

Al habitar mares templados donde la temperatura y la producción primaria varían estacionalmente, los mitílicos del género *Mytilus* también suelen presentar un ciclo reproductivo estacional (Gosling, 2021). Además, este ciclo reproductivo se puede dividir en dos periodos, un periodo reproductivo y un periodo de reposo. El periodo reproductivo inicia con la activación de la gónada, sigue con la gametogénesis y finaliza con la emisión de los gametos (i.e., desoves). En el periodo de reposo los reproductores acumulan las reservas requeridas para llevar a cabo la gametogénesis.

En general, la acumulación de reservas suele realizarse en los periodos de mayor disponibilidad de alimento (e.g., primavera a otoño) y la gametogénesis en invierno (Gosling, 2021). La gametogénesis invernal suele finalizar en primavera, con la emisión de los gametos maduros producidos durante el invierno. Esta emisión de gametos puede concentrarse en un periodo corto de tiempo en primavera, o prolongarse por un periodo mayor en primavera y verano. Además, si la disponibilidad de alimento es muy alta durante verano, en ocasiones puede darse un nuevo periodo de gametogénesis que finaliza con la emisión de gametos en otoño. Este patrón general puede variar interanualmente, entre bancos naturales y dentro de los bancos naturales (e.g., por diferencias entre años, entre localidades, y entre intermareal/submareal en la disponibilidad de alimento; Gosling, 2021).

Al ser la gametogénesis un proceso que demanda energía, el factor más importante para su éxito es la disponibilidad y calidad de alimento en los periodos de acumulación de reservas (Gosling, 2021). Además, cualquier factor ambiental que afecte la ingesta de alimento en los periodos de alta disponibilidad (e.g., exposición a aire o agua dulce), puede afectar la gametogénesis. Por su parte, la temperatura se ha asociado a la producción de gametos a través de una relación lineal entre la tasa de cambio de ambas variables (Bayne, 1975).

Además de la posibilidad de generar una cantidad menor de gametos por los factores mencionados, la gametogénesis en su totalidad puede no llegar a la emisión de gametos por eventos de atresia. La atresia se define como una ruptura y reabsorción de gametos que puede ocurrir en cualquier momento

de la gametogénesis, y es relativamente común en bivalvos (Beninger, 2017). Con respecto a sus causas, se ha asociado a factores estresantes como temperaturas extremas, desecación, bajos niveles nutricionales o contaminantes (Gosling, 2021). De igual forma, se ha demostrado que productos de la ruptura de gametos participan en la producción de energía cuando las reservas están en niveles bajos (Beninger, 2017).

Si la gametogénesis es un proceso que se extiende por meses y es controlada a escalas temporales similares, la emisión de gametos responde a cambios ambientales de corta duración (Gosling, 2021). Debido a que los mitílidos tienen sexos separados y la fecundación es externa, la emisión de gametos debe ser relativamente sincrónica para garantizar el éxito de fecundación. La emisión masiva de gametos tras una gametogénesis exitosa (i.e., gónada con gametos maduros) se ha asociado a una serie de factores ambientales. Uno de los más reconocidos es la exposición a floraciones fitoplanctónicas y a sus metabolitos disueltos (Smith and Strehlow, 1983; Starr et al., 1990). Este inductor natural de los desoves garantiza además una alta disponibilidad de alimento para las larvas y para los reproductores tras la emisión de gametos. Una vez que aumenta la concentración de gametos en el agua, estos mismos pueden inducir la emisión de gametos de otros individuos (Gosling, 2021). Cambios relativamente rápidos de temperatura, por ejemplo, asociado a ciclos mareales en primavera y verano, también se han identificado como inductor de desoves (Gosling, 2021). En general, cambios ambientales como disminuciones en la salinidad, o aumento en el oleaje también se han asociado a la ocurrencia de desoves (Gosling, 2021).

Una vez en la columna de agua, los gametos tienen un periodo de viabilidad para la fecundación, lo que realza la importancia de los desoves masivos (Gosling, 2021). El éxito de la fecundación dependerá de la hidrodinámica local al momento de la emisión de los gametos, la que puede alterar las tasas de encuentro. Las condiciones ambientales a las que se exponen los gametos también pueden afectar a la fecundación, así como la calidad de los gametos.

Tras la fecundación, los huevos fertilizados (60-65 μm) se dividen rápidamente dando lugar a una blástula nadadora tras 10-12 horas (Gosling, 2021). Tras 24 horas después de la fecundación, se produce una larva trocófora (70-75 μm) que es móvil pero aún no se alimenta. Finalmente, tras 48 horas después de la fecundación se comienza a secretar la primera concha de carbonato de calcio, dando lugar a una larva velígera de charnela recta (70-100 μm). Desde la fecundación hasta la secreción de la concha, el éxito del desarrollo depende de las reservas energéticas del huevo invertidas por la madre. Esta inversión por huevo suele ser baja y variable en mitílidos (Widdows, 1991; Phillips, 2007), probablemente debido a la gran cantidad de huevos producidos por hembra (i.e., 7 a 40 millones dependiendo del tamaño en *M. edulis*; Gosling, 2021). Por su parte, al momento de la formación de la primera concha las variables ambientales asociadas al sistema de carbonatos (e.g., pH, pCO₂, alcalinidad, estado de saturación de aragonita) suelen ser de gran importancia. En general, existe evidencia que bajo condiciones de acidificación la formación de la primera concha puede fallar completamente o puede producir larvas con deformidades que afectarán posteriormente su desarrollo (e.g., Gazeau et al., 2010; Waldbusser et al., 2015; Ventura et al., 2016; Kapsenberg et al., 2018).

Factores que determinan la sobrevivencia y ubicación de larvas de mitílidos hasta la competencia para el asentamiento

Una vez formada la primera concha, las larvas velígeras recién formadas deben pasar un periodo de 20 a 40 días hasta alcanzar la competencia para el asentamiento (Gosling, 2021). En ese periodo, deben sobrevivir y crecer hasta alcanzar una longitud de ca. 250 μm , tamaño en el que suele aparecer la mancha ocular que se asocia a la competencia para el asentamiento (Gosling, 2021). Sin embargo, en ausencia de sustrato adecuado, se ha demostrado que larvas de *M. edulis* pueden postergar el asentamiento hasta completar un periodo larval de 80 días en laboratorio (Pechenik et al., 1990).

En general, la mortalidad de larvas de invertebrados marinos se considera relevante para su dinámica poblacional, con tasas de mortalidad instantáneas 5 a 8 veces mayores que las de especies con desarrollo bentónico (Rumrill, 1990). Sin embargo, la dificultad de estimar la mortalidad de estos pequeños organismos en el océano ha obligado a realizar varias simplificaciones y supuestos (Rumrill, 1990; Vaughn & Allen, 2010). Para las estimaciones basadas en cambios de abundancia natural en un periodo de tiempo, la tasa de mortalidad instantánea se asume constante a lo largo de ese periodo y no es posible segregar por diferentes fuentes de mortalidad. Por el lado de las estimaciones de mortalidad realizadas en condiciones de laboratorio, es posible estudiar fuentes de mortalidad específicas pero las condiciones son muy distintas a las naturales. Con estas limitaciones, las estimaciones de tasas de mortalidad instantánea en larvas de invertebrados marinos son sumamente variables, con un promedio de $-0,247 \text{ d}^{-1}$ (Rumrill, 1990; Vaughn & Allen, 2010). En sistemas estuarinos, se han estimado tasas de mortalidad instantánea de $-0,10 \text{ d}^{-1}$ a $-0,32 \text{ d}^{-1}$ para larvas de bivalvos (Pedersen et al., 2008), y de $-0,13 \text{ d}^{-1}$ en larvas de *M. edulis* (Jørgensen et al., 1981).

A pesar de la incertidumbre con respecto a la mortalidad natural en larvas de invertebrados, es claro que la mortalidad acumulada durante el periodo larval se correlaciona con su duración (Rumrill, 1990). Como se mencionó previamente, las larvas de mitílidos suelen alcanzar la competencia para el asentamiento entre 20 y 40 días, extendiendo el periodo hasta 80 días en ausencia de sustrato adecuado (Gosling, 2021). Por lo tanto, los factores que determinan la duración del periodo larval planctónico determinarán también la mortalidad acumulada durante ese periodo (Widdows, 1991). Los efectos de distintas variables ambientales sobre las tasas de crecimiento, tiempos de desarrollo y fisiología general de larvas de mitílidos han sido determinados en estudios de laboratorio (e.g., Sprung 1984a, b, c, d; Pechenik et al., 1990; Wang & Widdows, 1991; Qiu et al., 2002; Rayssac et al., 2010). Entre los factores ambientales más reconocidos, están la disponibilidad de alimento y la temperatura, debido al efecto sobre las tasas de crecimiento larval (Widdows, 1991). Sin embargo, también se ha demostrado que condiciones de hipoxia (Wang & Widdows, 1991) y bajas salinidades (Qiu et al., 2002) pueden afectar negativamente la sobrevivencia y crecimiento en larvas de *M. edulis*.

Si bien la temperatura y la disponibilidad de alimento no parecen causar mortalidad directa en larvas de mitílidos, si pueden alterar sus tasas de crecimiento y su tiempo de desarrollo (Widdows, 1991). Las larvas de mitílidos se alimentan sobre plancton $< 25 \mu\text{m}$ (Raby et al., 1997), pero preferentemente sobre picoplancton de $\sim 3 \mu\text{m}$ (Sprung, 1984b), y existe evidencia de que las larvas están limitadas por alimento en la naturaleza (i.e., concentraciones disponibles son menores a las óptimas identificadas en laboratorio; Fotel et al., 1999; Bos et al., 2006). Los efectos de distintos factores sobre el desarrollo son presentados en la Figura 1.3 (Widdows, 1991), tomando información de fecundidad, tasas de mortalidad de larvas y post-larvas y efectos de distintas temperaturas y concentraciones de

alimento. El efecto de la fecundidad y de la tasa de mortalidad instantánea sobre el tiempo de desarrollo se puede evidenciar en la Figura 1.3A. Para que un asentado por hembra sobreviva hasta la adultez, se estimó que del total de huevos producidos 1.000 deben lograr asentarse como larvas. De este modo, considerando una hembra con una fecundidad de 10 millones de huevos, el tiempo necesario para que 1.000 lleguen a asentarse como larvas dependerá de la tasa de mortalidad instantánea. Por ejemplo, con una tasa de mortalidad instantánea de $-0,10 \text{ d}^{-1}$ se dispone de 13 semanas para asentarse, mientras que con tasas de mortalidad de $-0,15$ y $-0,20 \text{ d}^{-1}$ se dispone de 9 y 6 semanas, respectivamente (Figura 1.3A). De igual forma, si la fecundidad de la hembra es de 100.000 huevos, estos cuentan con un periodo de 4,5 semanas para asentarse como larvas en una densidad que permita que un asentado llegue a la adultez (Figura 1.3A). Estos periodos disponibles para el asentamiento toman mayor relevancia cuando se considera el efecto de la temperatura y la disponibilidad de alimento sobre el crecimiento y el desarrollo larval (Figura 1.3B). En términos generales, menores temperaturas y disponibilidad de alimento tienden a disminuir las tasas de crecimiento y alargar el periodo de desarrollo larval. Esto finalmente tendrá un efecto negativo sobre la cantidad de larvas que llegarán a asentarse, que en condiciones óptimas de temperatura y alimento pueden ser 100.000 larvas por hembra, mientras que postergando el asentamiento por 7 semanas serían solo 100 larvas por hembra (Figura 1.3B).

Tomando en cuenta la importancia de no postergar el asentamiento una vez alcanzada la competencia, el transporte larval es otro factor que puede afectar el éxito de asentamiento. Para no postergar el asentamiento, una larva que alcanza la competencia debe tener un sustrato disponible adecuado a su alcance. Esto no sería posible si una larva es transportada por kilómetros de cualquier costa, y las larvas de mitílidos pueden ser transportadas por cientos de kilómetros debido a la duración de su periodo larval (Shanks, 2009). No obstante, esta pérdida por transporte es menos probable en mares interiores o estuarios con ciclos diarios de corrientes contrarias por mareas o viento que aumentan los tiempos de residencia (Sponaugle et al., 2002). En estuarios en particular, suele existir un patrón de circulación estuarina de dos capas, con corrientes contrarias en distintas profundidades (Valle-Levinson, 2021). Al presentar migraciones verticales, las larvas de mitílidos pueden estar sujetas a ambas corrientes evitando el transporte unidireccional a lo largo de su desarrollo (Raby et al., 1994). Finalmente, el efecto de la costa y en particular de la capa límite costera (i.e., zona donde costa debilita corrientes por fricción; Largier, 2003) fomentan una alta retención larval en sistemas de mares interiores (Sponaugle et al., 2002).

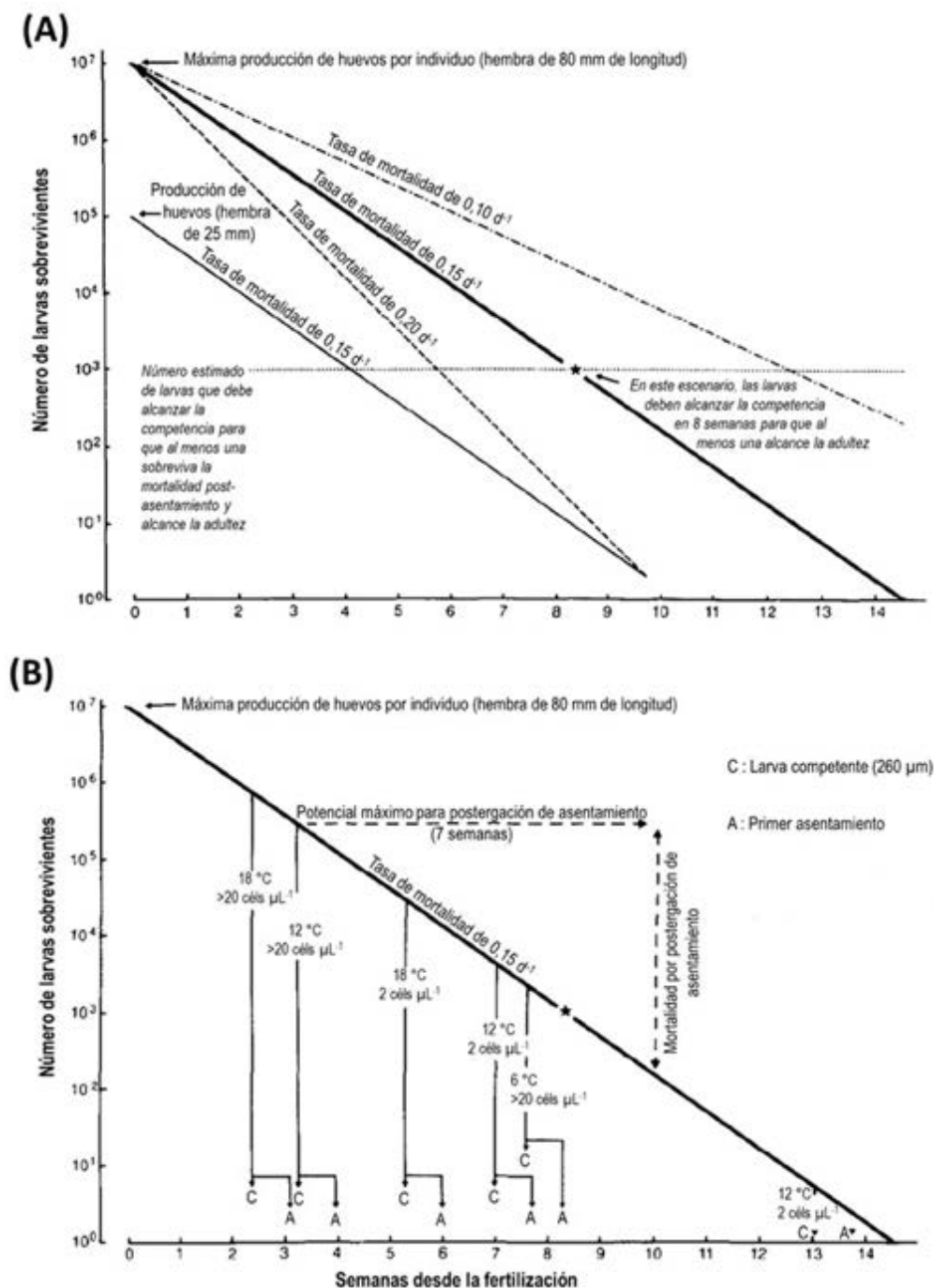


Figura 1.3. A) Efecto de la fecundidad y de la tasa de mortalidad instantánea larval sobre el tiempo de desarrollo necesario para alcanzar la competencia con abundancias que garanticen que una larva llegue a la adultez. B) Efecto de la temperatura y la disponibilidad de alimento sobre el tiempo de desarrollo (calculado con tasas de crecimiento) y abundancia de larvas competentes sobrevivientes de 10 millones de huevos (modificado de Widdows, 1991).

3.3.1.2. Reclutamiento

El asentamiento larval es el término utilizado para describir una serie de eventos asociados a la transición entra la vida planctónica y bentónica (Rodríguez et al., 1993). Se lleva a cabo por las larvas competentes para el asentamiento, que buscan activamente un sustrato adecuado, pudiendo retomar periodos planctónicos hasta encontrarlo y metamorfosear para iniciar la vida bentónica (Rodríguez et al., 1993; Jenkins et al., 2009). El reclutamiento, por otra parte, es el proceso de colonización exitosa tras un tiempo arbitrario luego del asentamiento (Jenkins et al., 2009), que generalmente se asocia a una alta mortalidad (Gosselin & Qian, 1997; Hunt & Schaibling, 1997). Debido a la dificultad para estimar el asentamiento y a la arbitrariedad para definir el reclutamiento, ambos términos suelen confundirse o utilizarse indistintamente (Jenkins et al., 2009). Por este y otros motivos expuestos posteriormente, en esta revisión el asentamiento será definido como el primer ingreso de una larva competente (o post-larva) en una población local, mientras que el reclutamiento será definido como la cantidad de sobrevivientes tras un año del asentamiento.

Factores que determinan el asentamiento de larvas competentes de mitílidos en bancos naturales

Una vez alcanzada la competencia para el asentamiento, la larva comienza el periodo de búsqueda de sustrato adecuado. Algunos autores han demostrado que los mayores pulsos de asentamiento de *M. edulis* se inducen por altas concentraciones de grupos del picoplancton ricos en ácidos grasos esenciales (Toupoint et al., 2012; Androuin et al., 2022). De igual forma, estudios de laboratorio han demostrado que el asentamiento puede ser inhibido por señales químicas de depredadores, e inducido por señales químicas de conespecíficos y algas fibrosas (Morello & Yund, 2016). Sin embargo, la presencia y distribución de bancos naturales indica que las larvas competentes de mitílidos pueden asentarse en cualquier superficie, siempre que sea rugosa y permita una fijación firme (Gosling, 2021).

Una hipótesis clásica sobre la forma de ingreso de las larvas competentes a los bancos naturales es el del asentamiento primario y secundario en *M. edulis* (Bayne, 1964). Esta hipótesis se basa en las observaciones de recién asentados solamente en algas fibrosas, y asentados más grandes (> 1 mm) solo en los bancos naturales. La hipótesis sostiene que el asentamiento en algas fibrosas permite evitar a las larvas competentes ser filtradas por los individuos del banco (i.e., larvifagia), efecto que ha sido demostrado posteriormente en laboratorio (Troost et al., 2008a; Troost et al., 2008b) y en la naturaleza (Lehane and Davenport, 2004; Porri et al., 2008; Troost et al., 2009). Tras la metamorfosis y un periodo de crecimiento hasta alcanzar un tamaño de ~ 1 mm, los juveniles cambiarían del alga a los bancos naturales, asentándose en el bisco entre los adultos. Estudios posteriores han demostrado que los asentados de *M. edulis* pueden tener migraciones hasta un tamaño de 2 a 2,5 mm utilizando las fibras del bisco, por periodos de uno a dos meses (Gosling, 2021). No obstante, la hipótesis de asentamiento secundario ha sido desafiada por observaciones en bancos naturales de *M. edulis* (McGrath et al., 1988) y de otras especies de mitílidos (Lasiak and Barnard, 1995), por lo que probablemente sea una vía alternativa utilizada en ciertas condiciones específicas.

La presencia de bivalvos filtradores como fuente de mortalidad de larvas competentes durante el asentamiento es reconocida en invertebrados marinos (Rumrill, 1990). En mitílidos ha demostrado ser sumamente relevante como fuente de mortalidad larval (Lehane & Davenport, 2004; Porri et al., 2008; Troost et al., 2009) y se ha utilizado para proponer modelos conceptuales de la dinámica de

poblaciones de *M. edulis* apoyados por evidencia empírica (Figura 1.4; Dolmer & Stenalt, 2010; Khaitov & Lentsman, 2016). Específicamente, se asume que el éxito de reclutamiento es máximo a una densidad media de adultos (Figura 1.4a). A bajas densidades de adultos los asentados están más expuestos a estrés fisiológico y depredadores, y a altas densidades de adultos las larvas competentes son filtradas o deben competir por alimento (Dolmer & Stenalt, 2010). Este modelo conceptual fue validado con información de series de tiempo de 18 años de monitoreo en bancos naturales de *M. edulis* (Khaitov & Lentsman, 2016). El modelo conceptual en términos de dinámica poblacional indica que no existe un pulso importante de reclutamiento hasta que las densidades de adultos decaen en los bancos naturales, produciendo variaciones cíclicas en la densidad y estructura de tallas de los individuos del banco natural (Figura 1.4b).

Factores que determinan la sobrevivencia de larvas asentadas en bancos naturales de mitílidos

Inmediatamente tras el asentamiento primario y la metamorfosis, las tasas de mortalidad suelen ser muy altas en estadios tempranos de invertebrados marinos (Gosselin & Qian, 1997; Hunt & Scheibling, 1997). Parte de esta mortalidad es debido a las condiciones experimentadas durante el periodo larval, especialmente su duración y la cantidad de reservas energéticas acumuladas (Pechenik et al., 1998). En mitílidos, la metamorfosis puede extenderse por 5 días y ese periodo de grandes cambios anatómicos es sostenido por las reservas energéticas de la larva competente (Gosling, 2021). La importancia de la disponibilidad de alimento durante el periodo larval sobre el desempeño en juveniles de *M. galloprovincialis* ha sido demostrado experimentalmente (Phillips, 2002; 2004). Las principales causas de mortalidad post-asentamiento en invertebrados marinos son la postergación de la metamorfosis, perturbaciones biológicas y físicas, estrés fisiológico, depredación y competencia (Hunt & Scheibling, 1997).

Si el asentamiento primario ocurre en un banco natural, es de esperar que la mortalidad por perturbaciones físicas y biológicas, estrés fisiológico y depredación sea menor. Esto porque el efecto protector del banco que le confiere la categoría de ingeniero ecosistémico a los mitílidos también aplica para sus propios reclutas. Si bien se ha propuesto que a densidades altas de adultos la competencia por alimento puede causar mortalidad en los asentados, probablemente esta competencia no sea suficiente para causar mortalidad por inanición, sino que más bien un crecimiento más lento (Dolmer & Stenalt, 2010). Por lo tanto, es probable que la persistencia de los bancos naturales esté más asociada al ingreso de larvas al banco y a su estado energético más que a la mortalidad post-asentamiento por factores locales.

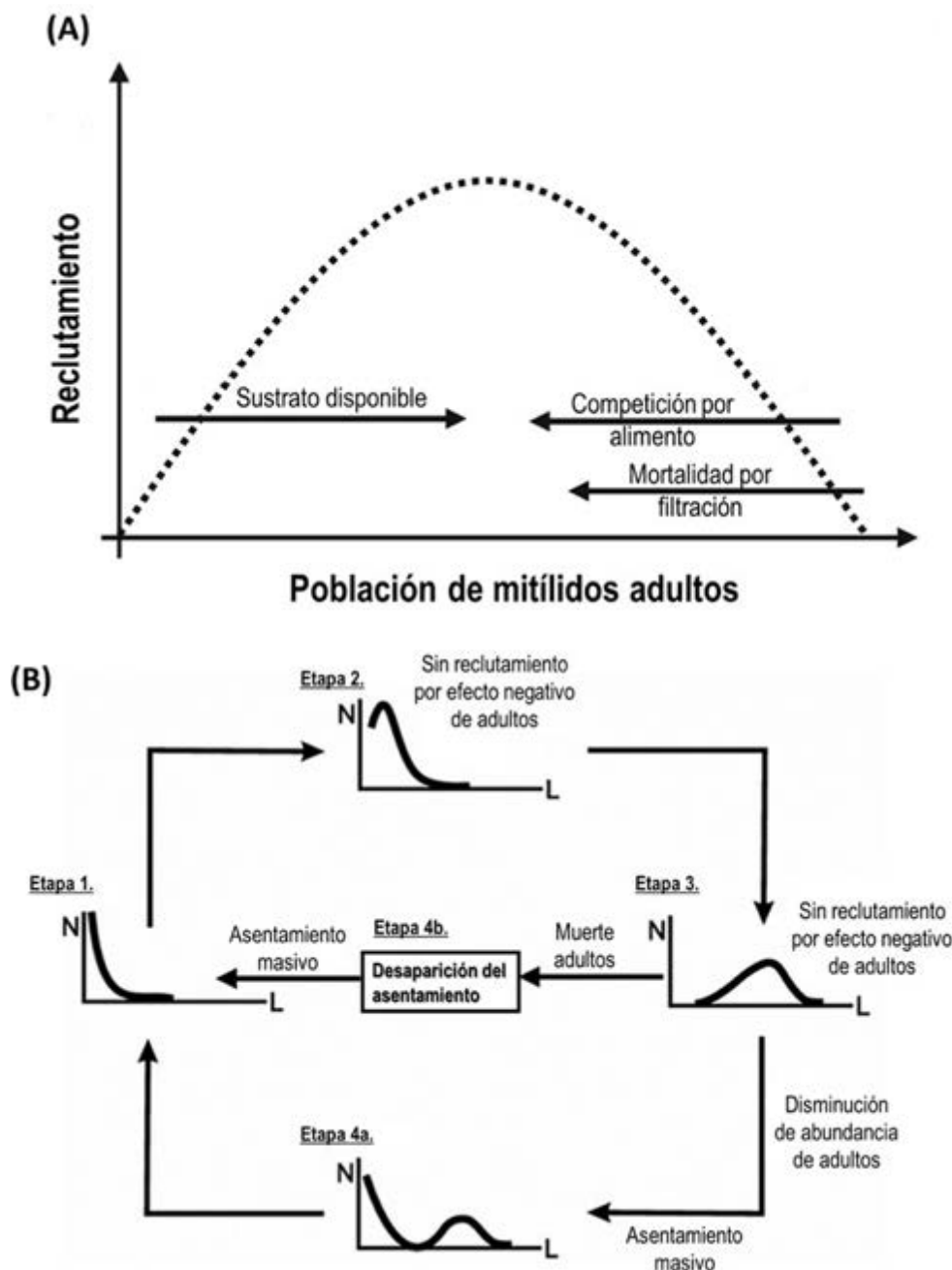


Figura 1.4. A) Esquema conceptual de la relación entre el éxito de reclutamiento de *Mytilus edulis* en función de la densidad de individuos en el banco natural receptor (modificado de Dolmer & Stenalt, 2010). B) Esquema conceptual de la dinámica poblacional de *Mytilus edulis* considerando un efecto negativo de la filtración de altas densidades de adultos sobre la abundancia de larvas competentes para el asentamiento y, por lo tanto, sobre el reclutamiento (modificado de Khaitov & Lentsman, 2016).

La revisión bibliográfica sobre los factores que determinan el éxito del asentamiento de larvas de mitílicos y su reclutamiento en bancos naturales, fue enfocada principalmente en especies del género *Mytilus* que dominan en sistemas estuarinos (e.g., *M. edulis*, *M. trossulus*) al igual que *Mytilus chilensis*.

Los procesos clave para el éxito del asentamiento y reclutamiento de larvas de mitílicos en bancos naturales identificados en esta revisión se presentan en la Tabla 1.2, indicando las distintas etapas del ciclo de vida involucradas.

Tabla 1.2. Procesos clave para el éxito del asentamiento y reclutamiento de larvas de mitílicos en bancos naturales y su distribución en el ciclo de vida.

Proceso clave	Reproductores	Gametos	Embriones	Larvas trocóforas	Larvas velígeras	Larvas pedivelígeras	Plantígrados	Asentados
1. Gametogénesis	X							
2. Emisión de Gametos		X						
3. Fecundación		X						
4. Desarrollo embrión-trocófora			X	X				
5. Formación primera concha				X				
6. Mortalidad larval directa					X			
7. Mortalidad larval acumulada					X			
8. Transporte Larval					X			
9. Inducción búsqueda sustrato						X		
10. Inducción fijación en sustrato						X		
11. Interacción con adultos						X		
12. Asentamiento secundario							X	
13. Mortalidad post-asentamiento								X

3.3.1.3. Estado de los bancos

El chorito *Mytilus chilensis* (Hupe, 1854) es un bivalvo que forma densos bancos sobre fondos duros y fangosos hasta una profundidad de 10 m (Lorenzen et al., 1979; Viviani, 1979; Zagal et al., 2001; Molinet et al., 2015), y su distribución comprende toda la costa chilena y parte de la costa argentina, dominando comunidades litorales en fiordos y canales del sur de Chile donde es esperable que gradientes verticales de salinidad determinen la estructura espacial de sus poblaciones (Pickard, 1971; Pickard and Stanton, 1980; Silva et al., 1995; Valle-Levinson et al., 2007). Esto principalmente a través de i) un efecto sobre la fase planctónica, donde la haloclina funciona como barrera química o física para aquellas larvas que intentan migrar a través de estos gradientes (Young, 1995; Gallager et al., 2004; Lougee et al., 2002; Molinet et al., 2021b), ii) afectando la sobrevivencia de reclutas y adultos

en un ambiente relativamente variable, iii) competencia y/o interacción con otros mitílicos como *A. atra* (Molinet et al., 2021b).

Información específica sobre bancos naturales de mitílicos para la zona de estudio es muy limitada, registrándose principalmente 3 fuentes de información: i) el seguimiento Bentónicos de IFOP, que permite identificar áreas de pesca de manera referencial (obtenida de viajes de pesca), ii) las AMERB que cuentan con evaluaciones directas de bancos naturales y iii) reportes específicos sobre bancos naturales.

La distribución general de especies bentónicas entre el intermareal y submareal somero realizada por Viviani (1979) destaca *M. chilensis* en y sobre la haloclina (entre 5 psu y 25 psu), sugiriendo que esta especie predominaría en sistemas estuarinos. En la Región de Los Lagos, se identificaron y caracterizaron bancos de chorito en el Fiordo Reloncaví (Lizama, 2003) y en los sectores de Cochamó, Metri, Pichicolo y Yaldad (Leiva et al., 2007), mientras que en la Región de Aysén Soto et al. (1999) caracterizaron la abundancia y distribución de bancos de *M. chilensis* en el Estero Piti-Palena y Canal Puyuhuapi. A través del proyecto FIPA 2014-57, Molinet et al. (2016) actualizaron el conocimiento sobre bancos naturales de las principales zonas de captación de semillas de chorito, Yaldad, Estero Pitipalena y Fiordo Reloncaví, las que sustentan gran parte de la industria mitilicultura en aguas interiores de la Región de Los Lagos verificando una disminución de área ocupada y densidad de mitílicos en los dos últimos sectores.

La asignación de derechos de uso territorial para los pescadores artesanales a través AMERB ha sido usada para incluir en los proyectos de manejo la captación de semillas de mitílicos, constituyendo la principal actividad de acuicultura de pequeña escala en Chile (Figuerola & Dresdner, 2016; Fernández et al., 2018). Estas AMERB tienen una metodología de monitoreo que permite obtener indicadores relativos a la eventual subpoblación de mitílicos en cada área (https://www.subpesca.cl/portal/618/articles-9720_documento.pdf). Las AMERB pueden ser una fuente apropiada de información para conocer el estado de los bancos de mitílicos, ya que estas son áreas donde pescadores artesanales declaran la existencia de bancos naturales y sobre los que se realizan evaluaciones directas con una frecuencia temporal que debiera ser anual y/o bianual. Sin embargo, es necesario proponer y evaluar mejoras a su metodología de muestreo como ha sido sugerido por Molinet et al. (2016) en las conclusiones del proyecto FIPA 2014-57 y por Molinet et al. (2021a). Existen 24 AMERB en el Fiordo Reloncaví y 29 AMERB en la comuna de Hualaihué (Canales Hornopirén, Cholgo, Llancahué, Llanichid, estero Pichicolo y ensenada Hualaihué), con información disponible desde 2008. En la comuna de Castro no se registran AMERB, con mitílicos como especies principales.

3.3.2. Revisión de reportes con datos

3.3.2.1. Estadísticas de Desembarque y acuicultura

Actualmente, la mitilicultura en Chile es la segunda actividad acuícola de importancia y más antigua, en la que el cultivo de *M. chilensis* a nivel nacional da cuenta de más del 98% de la producción de moluscos el año 2022 y concentrada en un 99% en la Región de Los Lagos (Sernapesca, 2022). En esta zona, el 99% de la producción de mitílicos corresponde al cultivo de *M. chilensis*, cuya producción

sobrepasó las 425000 toneladas durante 2022, posicionando a Chile entre los líderes a nivel mundial en el cultivo de mitilidos, mientras el cultivo de *A. atra* y *C. chorus*, es aún incipiente, con volúmenes de producción en torno a 500 – 4500 toneladas (Sernapesca, 2022) (Figura 1.5). Respecto al desembarque total de mitilidos desde bancos naturales (pesca artesanal), más del 95% del total nacional se lleva a cabo en la Región de Los Lagos. En el caso de *M. chilensis* el desembarque anual entre el año 1998 y 2001 se mantuvo cercano a las 5000 t, disminuyendo drásticamente hasta 2006 y 2013, con excepción del año 2007 en donde se alcanzó un desembarque máximo de 7800 t, a partir del año 2014 el desembarque aumenta a valores de entre 1000 y 2000 t anuales, registrando en 2022 un desembarque de 785 t. Para la especie *A. atra*, el desembarque nacional muestra una tendencia oscilante, disminuyendo entre los años 1998 y 2005 desde 8 mil toneladas a menos de 2000 t, y oscilar entre los años 2006 y 2014, manteniéndose entre los años 2015 y 2022 en torno a las 5000 toneladas, siendo la Región de Los Lagos quien representa sobre el 95 % del total del desembarque nacional. Finalmente, en el caso de *C. chorus*, los desembarques hasta el año 2009 y 2014 no superaban las 200 toneladas y 600 toneladas a nivel nacional, se observa un aumento partir del año 2015 y hasta 2022 un desembarque promedio aproximado de 1500 t, con un máximo entre 2017 y 2019 un desembarque aproximado de 2300 toneladas representando la Región de Los Lagos aproximadamente el 85-90% del desembarque nacional en dicho periodo (Figura 1.6).

La mayor parte de la captación de semillas de *M. chilensis* que abastece a la mitilicultura se realiza en sistemas estuarinos (principalmente fiordos) (Avendaño, 2011; Molinet et al., 2015; Molinet et al., 2017; Segura et al., 2023), donde existen extensos bancos naturales de *M. chilensis*, por lo que se ha propuesto que existe una directa relación entre la captación de semillas y el estado de los bancos, lo que debe ser mejor estudiado (Molinet et al., 2015; Molinet et al., 2016).

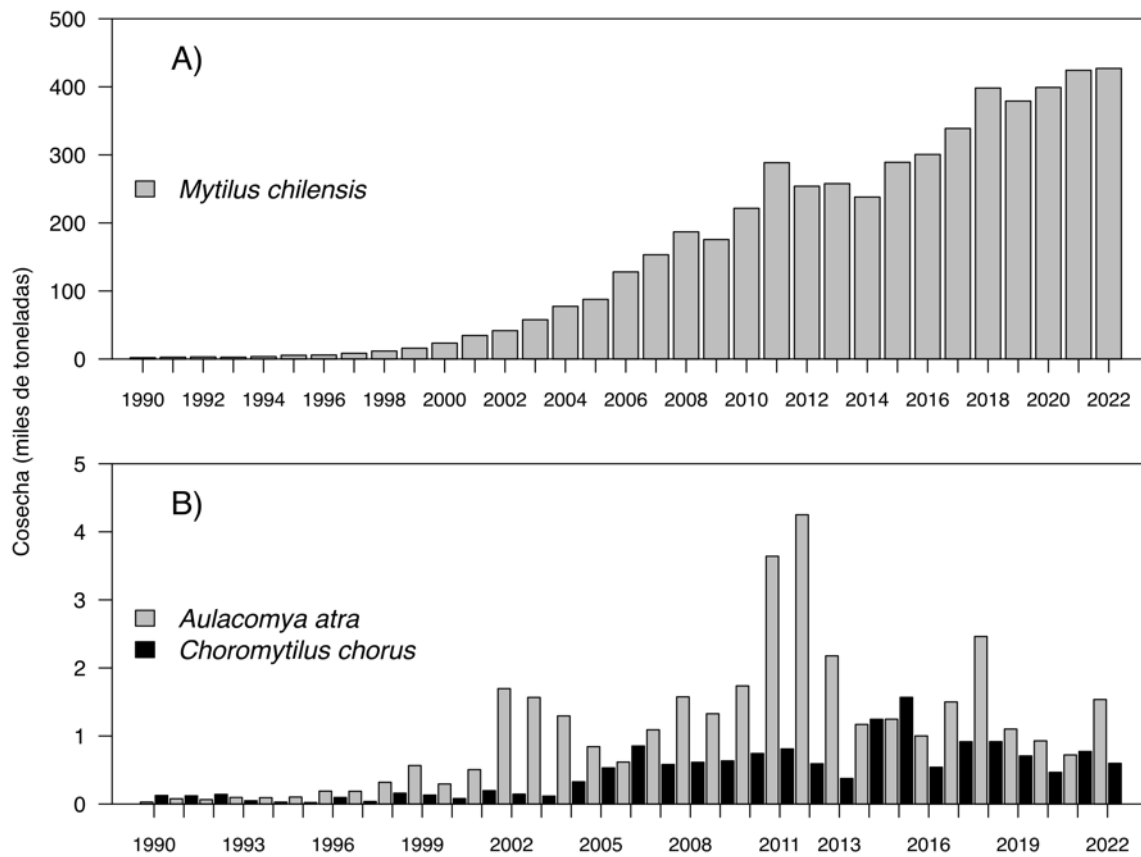


Figura 1.5. Cosecha anual de mitílicos cultivados en la Región de Los Lagos entre 1990 y 2022. A) *Mytilus chilensis*, B) *Aulacomya atra* y *Choromytilus chorus*. Fuente: Sernapesca.

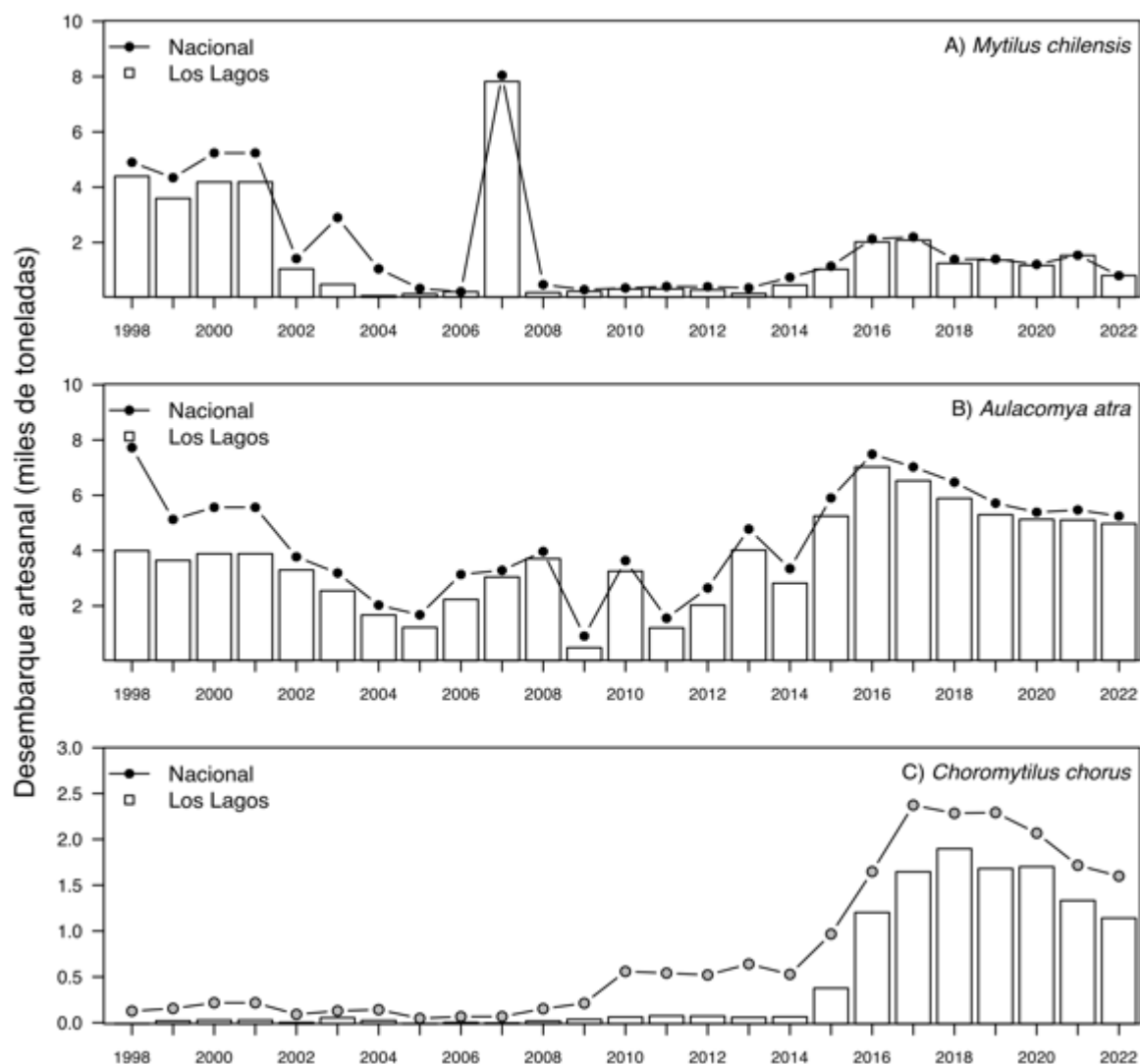


Figura 1.6. Desembarque artesanal anual de mitílicos registrado en bancos naturales de la Región de Los Lagos y a nivel nacional entre los años 1998 y 2022. A) *Mytilus chilensis*, B) *Aulacomya atra* y C) *Choromytilus chorus*. Fuente: Sernapesca.

3.3.2.2. Estadística de abastecimiento de semillas

Se obtuvieron registros de origen abastecimiento de semillas de *Mytilus chilensis* desde el año 1995, hasta 2024, destacándose entre 1995 y 2002 la predominancia de abastecimiento desde la comuna de Quellón y la comuna de Calbuco, con máximos de aproximadamente 7 mil t de abastecimiento (Figura 1.7a). Entre 2003 y 2010 se observa un rápido incremento del abastecimiento y cambios en la importancia del origen, con el origen NN representando el mayor abastecimiento, seguido de la

comuna de Puerto Montt y Cochamó. Desde el año 2017 el abastecimiento de semillas provino principalmente en las comunas de Cochamó, Hualaihué, Calbuco y comuna no identificada.

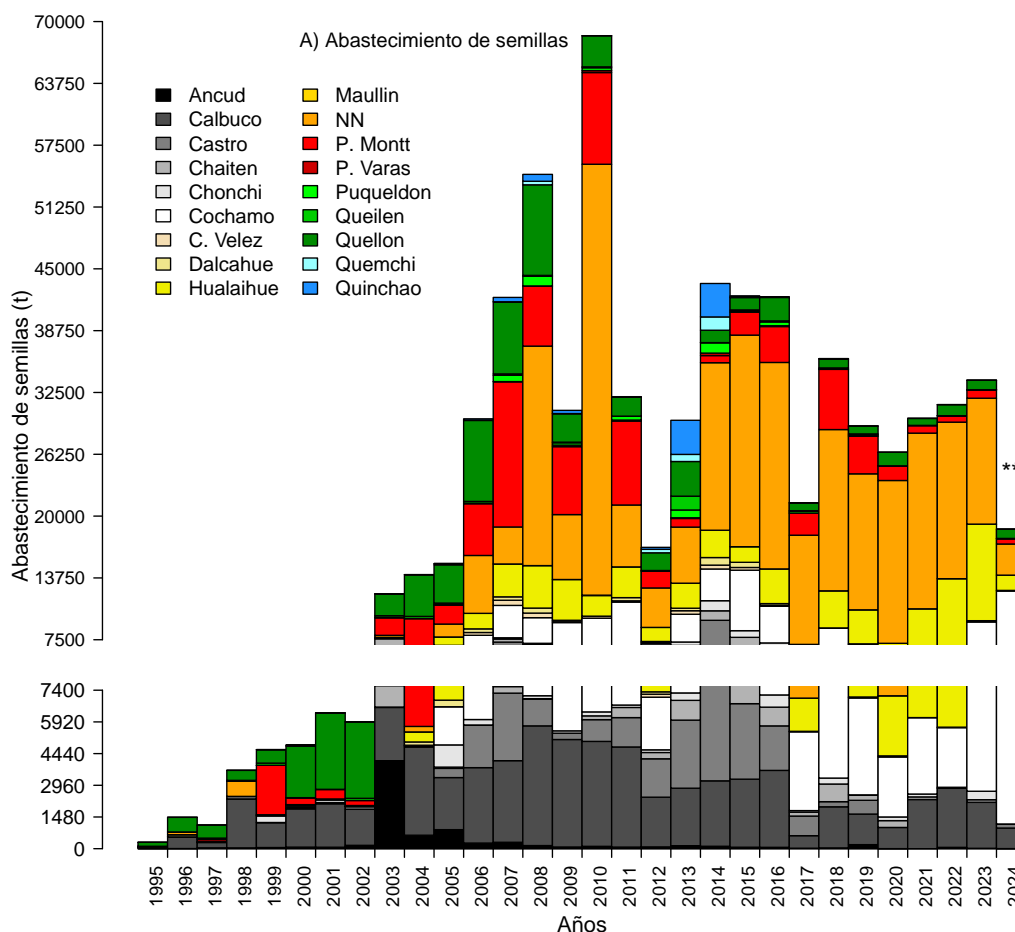


Figura 1.7a. Origen y magnitud del abastecimiento de semillas de *Mytilus chilensis* en las comunas de la Región de Los Lagos entre 1995 y 2024. El asterisco señala que la data está incompleta. Fuente: Sernapesca.

Este abastecimiento de semillas para la producción de mejillones ha implicado un importante movimiento de individuos de una a otra zona de cultivo, con efectos directos en las poblaciones locales, los cuales no han sido cuantificados. La Figura 1.7b muestra un mapa del flujo de semillas desde las principales comunas de las que proviene el abastecimiento, destacando, además del abastecimiento sin ubicación, la importancia actual de las comunas de Hualaihué, Reloncaví y Calbuco.

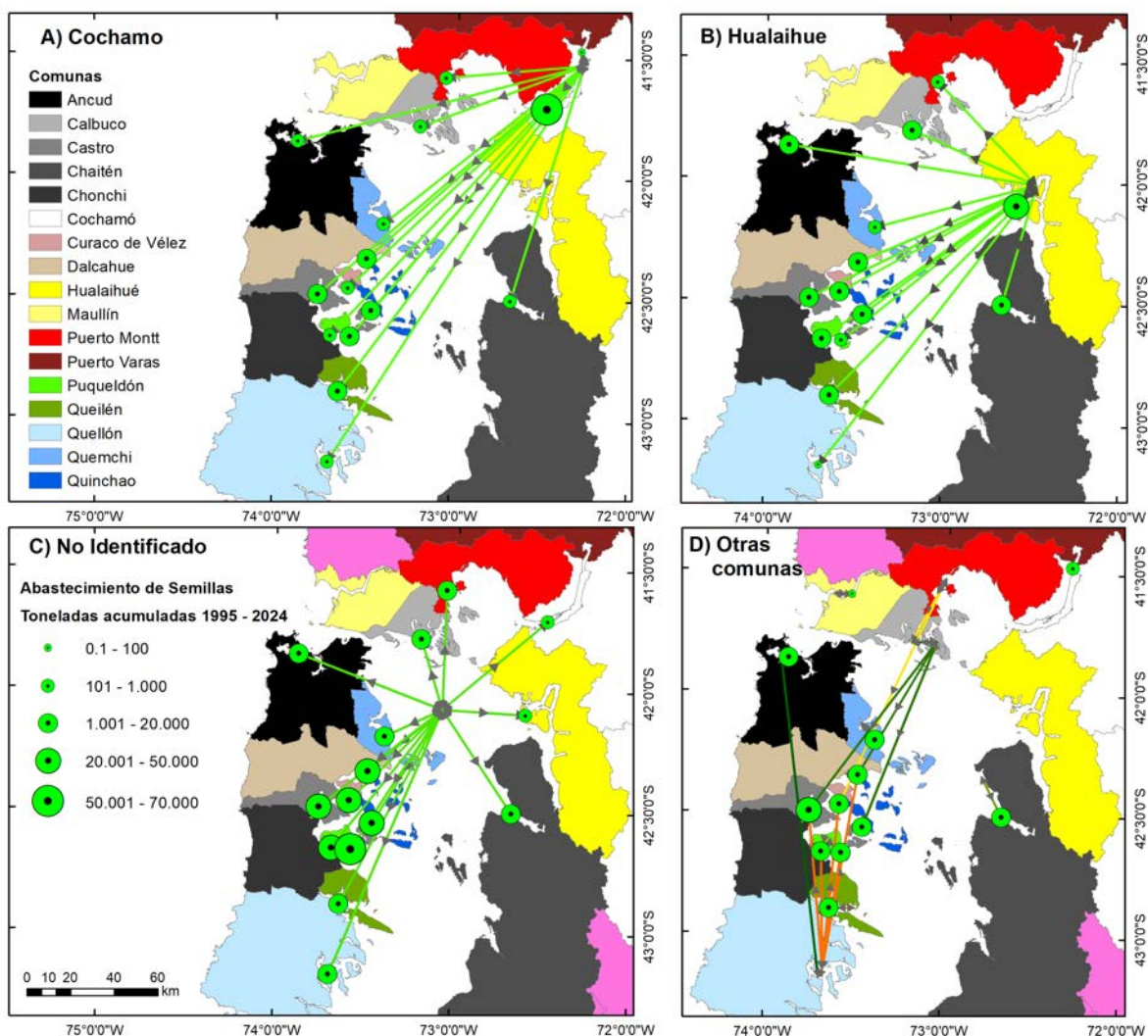


Figura 1.7b. Flujo del abastecimiento de semillas de *Mytilus chilensis* entre las principales comunas de la Región de Los Lagos. Datos obtenidos del Servicio Nacional de Pesca.

3.3.2.3. Programa de Seguimiento de Pesquerías Bentónicas en el Fiordo Reloncaví y las comunas de Hualaihué y Castro

Para los recursos chorito, cholga y choro zapato en la Región de Los Lagos a través del Programa de Seguimiento Bentónico, se registró información biológica pesquera desde 185 procedencias de pesca entre los años 1997 y 2022. Para el recurso chorito se identificaron 84 procedencias y para los recursos cholga y choro zapato fueron registradas 135 y 108 procedencias respectivamente. En 56 de las 185 procedencias se registró información de los recursos chorito y cholga, en 36 para los recursos cholga y choro y zapato, y en 34 procedencias se registró información de las 3 especies de mitílidos (Figura 1.8, Anexo 1.1).

Para *Mytilus chilensis* el promedio anual de captura monitoreada por IFOP en los distintos puertos de la Región de Los Lagos es de 38 toneladas, con un máximo de 473 t para la procedencia Curanué en el 2003, registrando en los últimos 10 años desembarque de 7 procedencias, siendo la procedencia Río Pudeto asociada al Puerto de Ancud, la única que presenta desembarque en el año 2022 (<0,5 t) y de manera continua desde el año 2015 (2,2 t promedio) (Tabla 1.3). El monitoreo del recurso cholga, registró un promedio anual de 38 t de captura y máximo de 1131 t proveniente desde Islas Butachauques. Desde el año 2018 (últimos 5 años) se registró el muestreo de la captura de 61 procedencias, disminuyendo en los años 2021 y 2022 a 24 y 25 respectivamente, con un promedio anual de 28 t (Tabla 1.4). El recurso choro zapato registró en 2007 en el puerto de Calbuco un máximo de captura muestreada de 1.111 t, registrando entre 2018 y 2022 un total de 44 procedencias y una captura muestreada promedio anual de 5 toneladas (Tabla 1.5).

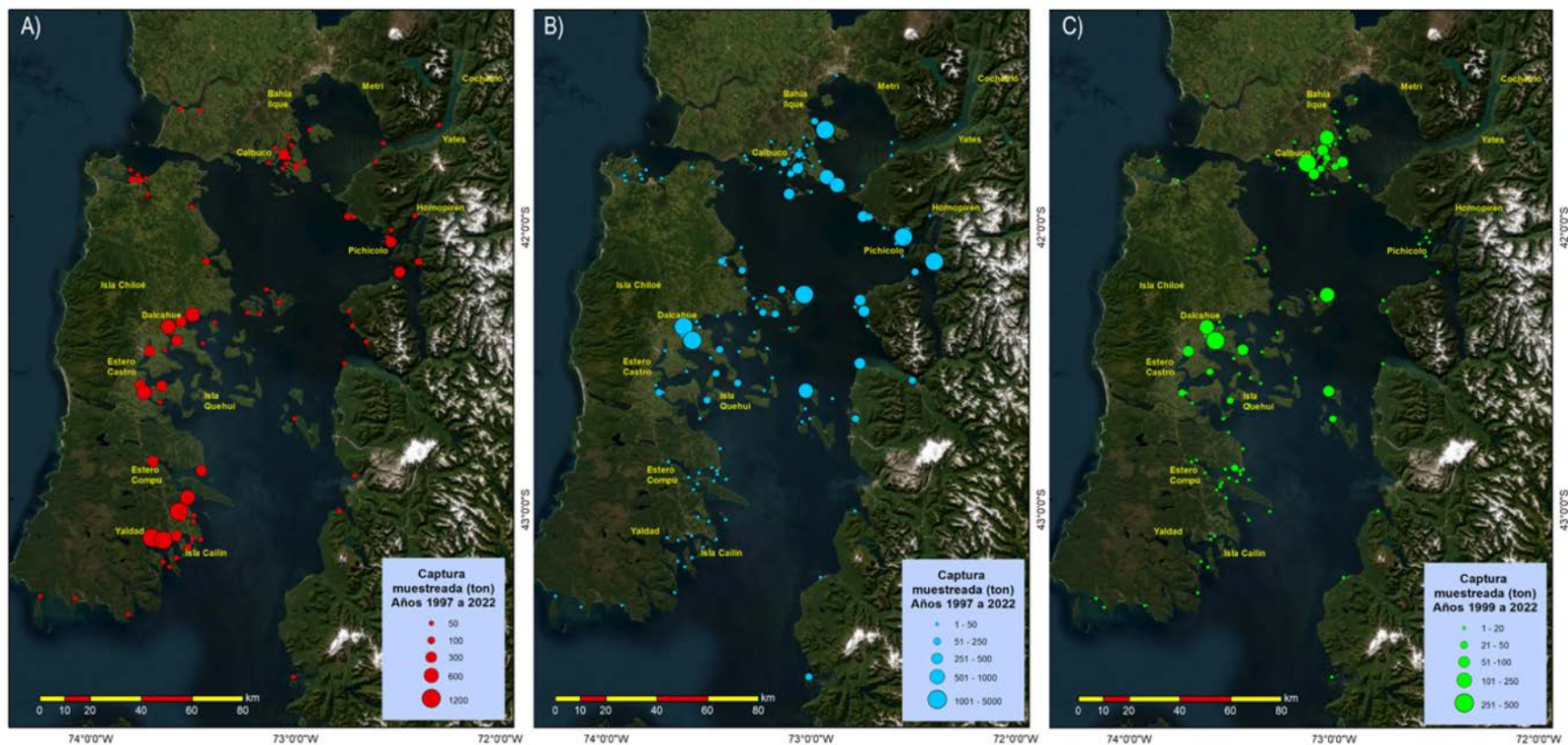


Figura 1.8. Mapa de procedencias y captura muestreada registrada entre los años 1997 y 2022 a través del programa de Seguimiento de Pesquerías Bentónicas en la Región de Los Lagos para los recursos A) *Mytilus chilensis*, B) *Aulacomya atra* y C) *Choromytilus chorus*.

Tabla 1.3. Captura muestreada (toneladas) de *Mytilus chilensis* en procedencias de pesca reportadas en el Seguimiento Bentónico de IFOP entre 1997 y 2022 en la Región de Los Lagos.

Nombre de Procedencia	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2013	2015	2016	2017	2018	2019	2021	2022
Dunas																		0,3					
Chullaquen																			1,0				
Sotomo						3,2	5,7																
Isla Guar						0,3																	
Rulo										1,0						0,1							
Estuario De Reloncavi							6,0																
San Agustín							1,6																
San Ramón							2,3																
Estero Huito									2,4														
Rosario											0,2	0,4											
Calbuco					16,4	231,4	40,0																
Punta Máchil								2,3															
Manihueico							2,6																
Isla Puluqui							0,2	0,5	0,3	0,2													
Caicaen							1,2	1,2															
Chope							1,9																
Estero Chauquiar						65,1		1,0															
Isla Chidhuapi						9,8	0,4	0,5															
Ahui									0,1														
Isla Cochino								0,0															
Mutrico																		0,4					
Ancud						59,0																	
Rio Pudeto		0,4						10,8	23,9	0,2		10,0	0,7		5,5		1,5	2,2	4,4	6,0	0,4	2,1	0,4
Pupelde																						0,4	
Bahía Linao				0,4																			
Hornopiren						3,7																	
Rolecha					60,4																		
Lliquiman																		6,5					
Pichicolo							4,5																
Los Toros						5,4			18,6	10,7	6,3	8,9											
Llancahue							105,3	31,5															
Puerto Bonito							1,6	20,1	13,3	26,7	4,2	4,5											

Nombre de Procedencia	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2013	2015	2016	2017	2018	2019	2021	2022
Puerto Quemchi						74,0																	
Comau										63,2	51,9	22,4											
Aulin											14,1												
Islas Chauques		1,0				21,2																	
Ayacara							4,2			6,0	16,9												
Isla Añihue					9,0																		
Estero Añihue															1,0								
Quetalco						312,2	31,7																
Punta Quiquel							108,5																
Isla Lin-Lin		0,0																					
Costa Pollollo							1,1																
Canal Dalcahue	3,2	2,8		80,4	196,5	162,0																	
Buill		2,1																					
Curaco De Velez				130,1	7,9																		
Canal Quinchao	6,4																						
Lincal						9,5		39,9															
Estero Castro						20,0	175,0																
Punta Chumilden							1,5	1,0															
Vilupulli						55,1	42,9	5,0															
Puqueldon						32,7	10,7	76,6															
Isla Lemuy						3,6		100,1															
Chonchi	130,8	4,2	21,7	0,3	45,2	124,1	9,4	14,4															
Teupa			11,0																				
Isla Talcan	1,6																						
Estero Compu	1,9	36,6	30,4	1,6	84,5	91,1		3,1															
Punta Mechai							22,0																
Queilen						80,0	10,0	10,6															
Ensenada Chaiten															1,3								
Auchac	10,7	57,6	98,5	224,4	82,9																		
Curahue						15,0																	

Nombre de Procedencia	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2013	2015	2016	2017	2018	2019	2021	2022
Auchemo						11,1																	
Curanue	68,8	327,3	175,6	35,0	81,6	10,3	473,7	31,8															
Huillard	0,5				27,7																		
Candelaria		7,2	37,2	20,9	3,1			3,2															
Punta Tutil						26,8																	
Bahía Quellon		130,5	5,1	4,7				1,5															
Puerto Carmen								4,5						2,1									
Estero Yaldad	24,1	43,2	177,8	132,6	366,7	10,6	301,2	74,4															
Oqueldan								0,2						2,4									
Barra Chaiguao								4,0															
Quellon Viejo	146,4	250,2	93,2	11,7	2,8		231,5	63,2															
Trincao		8,2	24,2		1,0																		
Isla Caillin	4,8	4,1	2,7					10,3		3,9			0,7	34,9	1,6								
Canal Yelcho												2,0		2,1									
Punta Paula								0,4															
Isla Coldita								3,6															
Isla Laitec					0,7																		
Isla Guapiquilan	1,1	2,2																					
Ensenada Quilanlar			6,8																				
Ayentema	1,8	20,4																					

Tabla 1.4. Captura muestreada (toneladas) de *Aulacomya atra* en procedencias de pesca reportadas en el Seguimiento Bentónico de IFOP entre 1997 y 2022 en la Región de Los Lagos.

Nombre de Procedencia	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021	2022
San Juanito																			1,0							
Puerto Montt					12,2																					
Sotomo						8,2																				
Huelmo						2,0	1,0	0,5			3,6	1,8	6,9	2,1	3,5								0,3			43,5
Isla Guar						24,4	94,5	37,3	16,8	26,5	10,8	66,9	24,7	53,6	68,5	79,8	17,8	39,1	23,2	4,7	1,2	10,2	55,9	47,3	141,7	292,6
Rulo									0,2	0,8		3,6	0,3		0,5		0,1									
Farellones Caicura							11,8																			
Canal San Antonio													1,1													
Tautil											0,2															
San Agustín						2,1		0,8					0,4			0,1							0,3		8,3	
San Ramón										1,0	0,2							0,1	1,3					20,6	13,9	22,9
Estero Huito																		1,0								
Rosario																		4,1								
Contao								0,2																		
Calbuco					35,4	18,6																3,6				
Helvecia														0,3	0,3				0,4	0,3						
Colaco								3,0					1,8													
Punta Máchil										0,5		0,5														
Isla Caicaboy															17,4											
Challahue						3,4																				
Isla Puluqui							0,2	1,4		0,8	0,6	6,7	5,6	4,6		0,2	0,4		0,8					1,2	13,6	1,0
Caicaen							0,3	6,5	1,2	8,4	30,3	11,6	2,6	2,6					9,1	1,2						3,3
Punta Yuste																					0,1					
Chope							1,2					0,3														4,0
Estero Chauquiar																0,4			1,3					3,2	8,4	
Isla Chidhuapi						4,6	4,7	10,0	9,6	10,2	4,6	40,6	13,4	0,5	0,3		0,3	1,6	5,4	0,7	8,1	1,1	1,4	7,8	66,1	75,5
Lagartija								0,1																		
Canal Caulin																			2,9							
Ahui																					1,0			0,0		

Nombre de Procedencia	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021	2022
Faro Corvijo									0,6		2,1	2,3	0,4		0,3	0,8	0,2		0,5		1,0	1,7				
Quenu									0,4	9,1	9,8	9,2	0,3	1,3					3,1	7,1	2,8	11,6	1,3	21,3	48,3	20,2
Punta Perhue							1,2	0,9	0,3	20,2	25,1	33,8	81,1	11,8	0,3	2,2	4,5	8,3	24,0	18,4	14,9	16,6	34,7	153,2	83,2	88,0
Punta Chaicura																							0,2			
Golfo Quetalmahue																			0,2						0,2	0,1
Mutrico																					0,0					
Bahia Ancud																					0,1	0,1				
Huentetique																								0,1		
Manao										4,2																
Isla Aulen						40,0																				
Queullin						5,0	26,3	44,1	40,7	88,0	71,2	49,0	51,7	45,8	66,6	76,0	13,4	8,7	14,1	12,6	9,5	7,3	55,2	22,1	8,5	29,5
Punta Almanao						0,7																				
Isla Lin								0,9			1,6		0,1				1,4		8,8	1,8	1,3		1,9			1,6
Isla Tabon						3,5	13,8	0,2	7,4	7,0	1,6	13,3	4,2	0,6	6,0	4,6	2,0	6,2	28,5	5,8	37,6	40,3	13,4	9,1	28,0	22,5
Hornopiren										9,6																
Rolecha					331,7	23,8	7,1	7,4	37,7	2,4									7,0						11,3	4,9
Lliguiman						1,2													12,3	44,1						
Guailaihue						12,0	8,1	4,5	11,0	3,6																
Pichicolo						4,6	8,0	23,7	21,7	22,5							5,0									
Los Toros						62,2	45,5	52,6	464,2	759,3	396,7	148,8	174,0	298,9	129,0	48,2	36,2	37,9	58,8	61,9	99,6				6,7	
Llancahue						19,5			7,5	4,0					4,5											
Isla Linguar								0,9																		
Morro Lobo																	14,2	6,7								
Isla Llanquihue						1,1						1,0	1,0			1,1										2,2
Puerto Bonito						696,6	848,1	887,6	706,0	416,7	580,1	201,5	38,0	113,1	301,8	109,8	29,0		15,8		19,5					
Sector Queler																	40,6	8,1								
Puerto Quemchi		179,0	0,9				5,0	5,6	0,7																9,5	
Guardiamó																							0,1			
Comau										12,5	29,0	33,4	6,0													
Isla Caucahue																	12,9	79,7								
Chaurahue																2,5		30,0								
Aulin						29,7	19,8	5,7	6,9	36,3	43,5	35,0							8,0							
Isla Butachauques		15,4				25,7	9,2	49,6	35,1	62,5	62,5	37,9	1131,4	170,2	12,5	45,7			8,0	53,1	4,2	7,0	130,6	48,5	26,6	36,5

Nombre de Procedencia	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021	2022
Isla Cheniao								4,2																		
Hueque						18,8	37,9	8,3	34,5	156,7	166,8	10,0	6,5													
Canal Quicavi		27,7																								
Islas Chauques		3,0	2,1	0,8	8,1	2,9	1,9					3,0		6,7		3,0							4,1			
Chulao						13,9																				
Isla Mechuque												3,2											5,3			
Ayacara			4,0			6,8	49,4	250,8	5,4	62,0	75,8	17,8			9,5					5,0	9,5					
Isla Añihue				27,3	131,3																					
Estero Añihue	20,4	39,5		7,0											3,5											
Punta Tenaun							0,2	0,2			2,8															
Calen																					9,7			0,2		
Puerto San Juan																										0,7
Punta Quichel								0,3		1,2	0,7		0,4	0,2	8,9		0,9			2,6						
Costa Pollollo						3,0	0,3	3,8		2,5	1,0				0,5				0,9							
Isla Tac						0,3															13,0					
Huyar																	2,5									
Canal Dalcahue						21,6	0,1	14,8	41,6	20,2	14,9	52,6	4,2	116,2	21,6		967,3	951,1	318,4	92,2	384,1	31,1	15,3	1,1	7,3	7,8
Isla Meulin									1,3		0,4	1,2											6,9			
Punta Palqui								1,0						3,9												
Curaco De Velez								0,4	7,5	95,4	24,6	1,2	2,1				557,2	16,2	90,1	71,6	27,1	402,6	4,3	7,0	21,4	50,5
Isla Teuquelin																							9,7			
Achao											1,0					1,5	1,6			106,6	5,2	0,6	0,3	4,8		
Isla Quenac								1,6		20,1											8,6			5,4		
Estero Castro	20,2																									
Conchas Blancas																								15,2		
Punta Chumilden								327,8	12,6	22,0			3,3		39,0		15,6		6,0	11,9	27,2					14,2
Rilan																					7,7	34,7	0,3			
Isla Chelin											12,0	55,0								14,4		66,4				
Estero Renihue	35,0	16,3																								
Apiao								0,9		2,0																2,6
Punta Cheguian													5,1							18,1	57,8					0,7
Vilupulli						16,5	24,9																			
Isla Chulin		34,9	124,8	3,2			8,3	1,7	43,8	9,2	12,2				8,0				10,0	87,7	28,6	12,7	46,8		65,0	13,5
Isla Alao								0,1										1,3	7,3							

Nombre de Procedencia	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021	2022
Isla Lemuy																				4,2						
Chonchi						71,3	9,7																		5,9	
Piedra Del Canto																							2,7			
Isla Quehui					6,0						35,5			24,5		8,4			7,6	46,1	15,9		3,5		0,9	
Isla Chuit																							4,8			
Bahia Pumalin	57,0	27,0	2,1						3,0	2,0	9,9									3,4	10,9	0,8	7,3	5,5	12,0	10,5
Isla Talcan	9,6	11,0						1,5												5,8		2,0	6,4			
Punta Bruja																2,0										
Isla Nayahue									8,6																	
Aitui														0,0												
Estero Compu					12,1							0,3	0,1													
Ensenada Detico																24,6	0,1					1,2		15,3		
Queilen																									46,2	
Estero Paildad																							0,3	3,9		
Punta Queilen																							1,5			
Punta Yatehua																								6,5		
Acui																3,7								0,1		
Quilun															0,1											
San José De Tranqui																							3,0			
San Juan De Chadmo																								8,2		
Auchemo		17,4		5,7		5,7																				
Candelaria		0,3	0,4				3,2																			
Isla Chaullin													0,0													
Punta Tutil							12,4													7,5						
Bahia Quellon																				0,2						
Estero Yaldad		0,2																								
Barra Chaiguao						1,2				0,4																
Quellon Viejo							2,5																			
Isla Cailin				0,6						0,4										1,7						
Canal Yelcho				1,8		21,4																				
Punta Paula												4,0														
Isla Laitec				10,2	1,3																					

Nombre de Procedencia	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021	2022
Corcovado		8,1		2,3		2,5																				
Isla San Pedro		0,2			0,9										3,0											4,0
Isla Guapiquilan		3,1																								
Asasao																									7,0	
Punta Inio				1,8																			7,0			
Bahia Tic-Toc	10,4	66,7		30,2	33,0																					

Tabla 1.5. Captura muestreada (toneladas) de *Choromytilus chorus* en procedencias de pesca reportadas en el Seguimiento Bentónico de IFOP entre los años 1999 y 2022 en la Región de Los Lagos.

Nombre de Procedencia	1999	2000	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021	2022
Huellehue				0,2																			
Punta Condor				0,2																			
Rio Quenuir			0,1																				
Isla Maillen								0,3															
Ilque									0,3														
Sotomo										0,0													
Huelmo				0,2	0,4	0,1	0,3		1,3	0,6				0,8									
Isla Guar					0,4	0,1	2,8	4,4	1,2		2,6	1,0		1,9								1,0	
Punta Guatral									0,3														
Rulo			0,5	2,2	8,3	5,3	58,4	111,6	6,2	16,3		0,2		0,2									
Canal San Antonio										0,3													
Tautil					0,3	0,1	2,1	0,5		0,7													
San Agustín			2,3	1,4	0,8	0,8	2,0	1,8		1,5		0,1											
San Ramón				0,7	1,7	0,1	1,6	3,4	0,5		0,5			0,6		0,1							
Estero Huito						0,2	3,0	2,1	1,3														
Rosario			0,3	1,0	0,7	0,5	4,3	50,6	10,1														
Helvecia									0,5														
Colaco										0,4			1,2										
Punta Máchil				1,7	5,6	0,7	16,9	5,5	2,5	0,8				0,3									
Punta Chechil					0,2																		
Isla Puluqui			8,7	9,3	16,8	3,4	23,5	18,3	5,3	6,2													
Caicaen				1,5	11,5	5,6	38,0	62,1	100,3	59,0	67,6	7,3	6,1										
Punta Yuste																0,0							

Nombre de Procedencia	1999	2000	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021	2022
Chope				1,0	2,5		0,7	0,5	3,2	0,7	0,7												
Estero Chauquiar			0,3	0,8	3,0	1,0	11,0	10,0	3,0	2,2													
Isla Chidhuapi				1,7	4,0	1,7	10,7	13,1	8,4	8,8	0,2												
Lagartija					0,1																		
Quenu					1,8	0,5	52,1	0,1	0,5	0,3													
Punta Perhue			0,1		0,2			0,3				0,2		0,1	0,1	0,0							
Rio Pudeto	0,4	0,2							0,4														
Queullin			0,3					0,2	0,2	1,0					1,4								
Isla Lin													0,2										
Isla Tabon			0,1	0,1	0,1	0,8	0,8		2,4														
Pichicolo											2,7												
Los Toros									1,7								2,3						
Llancahue							2,8																
Isla Linguar									0,9	0,2													
Morro Lobo													0,0										
Puerto Huite													0,2										
Isla Llanquihue						0,3							0,6										
Sector Queler														0,2									
Comau							3,6																
Isla Caucahue													0,1	0,2	0,1								
Isla Butachauques							0,3			17,0	27,0	9,1	15,0	38,4		7,0	18,0	7,0	13,9	14,0			12,2
Hueque								8,4															
Isla Mechuque									3,2														
Ayacara						0,3																	
Calen										1,5													
Puerto San Juan																						2,3	
Punta Quiquel										0,3												3,3	
Huyar																						6,9	
Canal Dalcahue						0,1			50,6	52,4	7,9	11,9	13,9	0,4			10,6	7,2	3,0			4,8	7,6
Isla Meulin										2,0						4,0						2,4	
Punta Palqui										0,6													
Curaco De Velez									8,7	32,6	48,1	58,8	8,9	2,5	2,8	107,5	75,2	70,5	30,8	8,1	2,1	20,0	15,4
Achao								1,5	28,2			1,4			6,5	15,5	2,4	0,2	3,3			0,4	1,0
Isla Quenac																			0,2				
Estero Castro																		14,3	21,6	13,0			30,3
Conchas Blancas																			1,6	1,0		0,4	5,5
Punta Chumilden										0,5													

Nombre de Procedencia	1999	2000	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021	2022
Rilan									2,5	1,8							4,8		0,3	1,5		12,7	1,6
Isla Chelin										1,4		0,8	0,4				0,3	8,0	0,1	0,4		1,4	
Apiao																			5,8				
Mateo																			1,3				
Punta Cheguian								0,1	6,1	3,2									0,5				
Isla Chulin										4,0	0,8					1,2	17,2	4,2	16,5	12,8	6,0	3,6	
Isla Lemuy																			1,5				
Chonchi										7,3		16,5	10,9										
Isla Quehui										7,0			0,3				3,1	6,6	6,8	12,4	1,2	1,3	2,3
Canal Yal																	6,6	1,2					
Coñab																	0,2						
Isla Talcan									1,7	6,9									16,1				
Punta Detif																	1,8				1,8		
Punta Bruja																						3,0	
Ahoni										0,3													
Aitui													0,2				0,5						
Caleta Pureo													0,3		0,0	0,1			1,2	3,2			
Estero Compu										4,1				1,0	0,5	1,1			1,5	4,8			
Ensenada Detico												0,5		0,4	0,2	0,8	1,2	2,0		13,6	2,3		
Chomio																					0,3		
Quechu																	1,1			9,7			
Queilen																			3,2	4,5	5,1		
Islote Conejo															0,1								
Estero Paildad										4,5		0,8	0,3	3,6	9,4	4,8	2,9	8,2	2,7	30,2	1,9	0,2	
Punta Queilen																					3,5		
San Jose					0,3																		
Acui										1,6				0,6		0,5		0,8		0,2			
Quilun													0,2	0,6	0,5	0,3	0,4	0,7		4,9	0,4		
Chauco														1,2	2,2	1,1	1,7						
San José De Tranqui													0,5	0,3	2,6	1,0				3,4	1,3		
Ensenada Leutepu																				5,1			
San Juan De Chadmo															0,2			0,8		2,5	1,2		
Auchac																						2,1	5,7
Auchemo																					1,5		
Punta Centinela																					0,2		
Isla Chaullin										0,1													

Nombre de Procedencia	1999	2000	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021	2022
Bahía Quellon																	0,4						
Punta Lapa																	0,0						
Punta Paula												3,0											
Isla Laitec												0,9				0,4	0,3						
Corcovado																							5,8
Isla San Pedro																				0,9			
Punta Tiques																				1,2			
Asasao																				0,7	0,8		
Punta Inio															8,0								
Bahía Tic-Toc															0,9		0,0						

3.3.2.4. Programa de Seguimiento Pesquerías Bajo Régimen de Áreas de Manejo

En la zona de estudio, el programa de seguimiento de pesquerías bajo el régimen de áreas de manejo posee información para mitílicos en 63 AMERB entre los años 2006 y 2019, identificando 62 AMERB con evaluaciones directa para los recursos chorito y cholga y 1 AMERB con evaluación directa para el recurso choro zapato, ubicada en la comuna de Castro. En el área Fiordo Reloncaví se identificaron 19 AMERB, 16 pertenecientes a las comunas de Cochamó y 3 a la comuna de puerto varas, mientras que en el área de Hualaihué se registraron 43 AMERB, quienes presentaron entre 1 y 8 evaluaciones directas durante el periodo analizado. En el área de Castro se identificó 1 área de manejo para mitílicos, cuyo recurso principal corresponde a choro zapato con 2 evaluaciones directas (Tabla 1.6).

En la zona Fiordo Reloncaví la densidad media de chorito registrada en AMERB entre 2007 y 2019 osciló bajo los 500 ind/m², con una densidad máxima de 1790 ind/m² en 2014, registrando una mediana anual de 147 ind/m², observando una tendencia al aumento en los años 2009, 2014, 2017 y 2019, y una abundancia anual bajo los 10 millones de individuos, con excepción del año 2019, en donde solo se informan dos áreas de manejo, se registró una abundancia máxima de 80 millones de individuos. Para cholga, las densidades registradas presentan una alta variabilidad, con una densidad media que varía entre 10 ind/m² y 736 ind/m², y similar tendencia la observada en chorito, ascendiendo en los 2009, 2014, 2015 y 2019, la abundancia por AMERB se observa estable durante el periodo de estudio bajo una media de 4 millones de individuos (Figuras 1.9a y 1.9b).

Tabla 1.6. Número de evaluaciones directas para los recursos chorito, cholga y choro zapato, en las AMERB de las comunas de Cochamó y Puerto Varas (Fiordo Reloncaví), Hualaihué y Castro entre los años 2006 y 2019 registradas en el Seguimiento de Pesquerías Bajo Régimen de Áreas de Manejo.

N°	Comuna	Nombre AMERB	Chorito	Cholga	Choro Zapato
1	Castro	Canal Dalcahue Sector B			2
2	Cochamó	Bahía Sotomó Sector A	6	6	
3	Cochamó	Bahía Sotomó Sector B	6	6	
4	Cochamó	Cascajal Sector A	4	4	
5	Cochamó	Islote Poe	7	7	
6	Cochamó	Marimelli Sector A	7	7	
7	Cochamó	Marimelli Sector B	6	6	
8	Cochamó	Pocoihuén Sector B	8	7	
9	Cochamó	Pocoihuén Sector C	6	6	
10	Cochamó	Pocoihuén Sector D	6	6	
11	Cochamó	Pueblo Hundido Sector D	1	1	
12	Cochamó	Punta Relonhue	7	7	
13	Cochamó	Relonhue	6	6	
14	Cochamó	Río Puelo Sector A	1		
15	Cochamó	Río Puelo Sector B	1		
16	Cochamó	Yates Sector B	2	2	
17	Cochamó	Yates Sector C	2	2	
18	Puerto Varas	Cululir Sector A	4	7	
19	Puerto Varas	Cululir Sector B	4	7	

N°	Comuna	Nombre AMERB	Chorito	Cholga	Choro Zapato
20	Puerto Varas	Península Rollizo	6	6	
21	Hualaihué	Aulen	3	6	
22	Hualaihué	Baltazar	4	5	
23	Hualaihué	Cholgo Sector A	6		
24	Hualaihué	Cholgo Sector C	5	5	
25	Hualaihué	Contao Sector A	1	1	
26	Hualaihué	Entre Ríos	3		
27	Hualaihué	Este Puntilla Pichicolu	4	4	
28	Hualaihué	Estero Rolecha Sector A		3	
29	Hualaihué	Estero Rolecha Sector B		4	
30	Hualaihué	Isla Linguar	2	3	
31	Hualaihué	Isla Llanchid Sector A	3	4	
32	Hualaihué	Isla Llanchid Sector B		2	
33	Hualaihué	Isla Llanchid Sector C	3	3	
34	Hualaihué	Isla Manzano	7		
35	Hualaihué	Isla Toro Sector B	5	5	
36	Hualaihué	La Arena Sector B	2	2	
37	Hualaihué	La Poza		3	
38	Hualaihué	Llequiman Sector A		5	
39	Hualaihué	Llequiman Sector B		1	
40	Hualaihué	Mañihueico Sector A	7	7	
41	Hualaihué	Mañihueico Sector B	8	8	
42	Hualaihué	Mañihueico Sector C		4	
43	Hualaihué	Norte Punta Calle	5	5	
44	Hualaihué	Pichicolu Sector A	6	7	
45	Hualaihué	Pichicolu Sector B	3	6	
46	Hualaihué	Puerto Bonito Sector A	7	7	
47	Hualaihué	Puerto Bonito Sector B	5	5	
48	Hualaihué	Puerto Bonito Sector C		1	
49	Hualaihué	Puntilla Pichicolu	5	7	
50	Hualaihué	Puntilla Quillón Sector A	5	7	
51	Hualaihué	Puntilla Quillón Sector B	5	5	
52	Hualaihué	Quetén Sector A	1	1	
53	Hualaihué	Quetén Sector B	5	5	
54	Hualaihué	Quiacas Sector A	2	2	
55	Hualaihué	Quiacas Sector B	3	4	
56	Hualaihué	Quiacas Sector C	3		
57	Hualaihué	Quiacas Sector D	3	6	
58	Hualaihué	Quiacas Sector E	3	6	
59	Hualaihué	San Pedro Del Manzano	6		
60	Hualaihué	Tentelhue Sector A		5	
61	Hualaihué	Tentelhue Sector B		5	
62	Hualaihué	Weste Isla Pelada Sector A	5	5	
63	Hualaihué	Weste Isla Pelada Sector B	6	6	

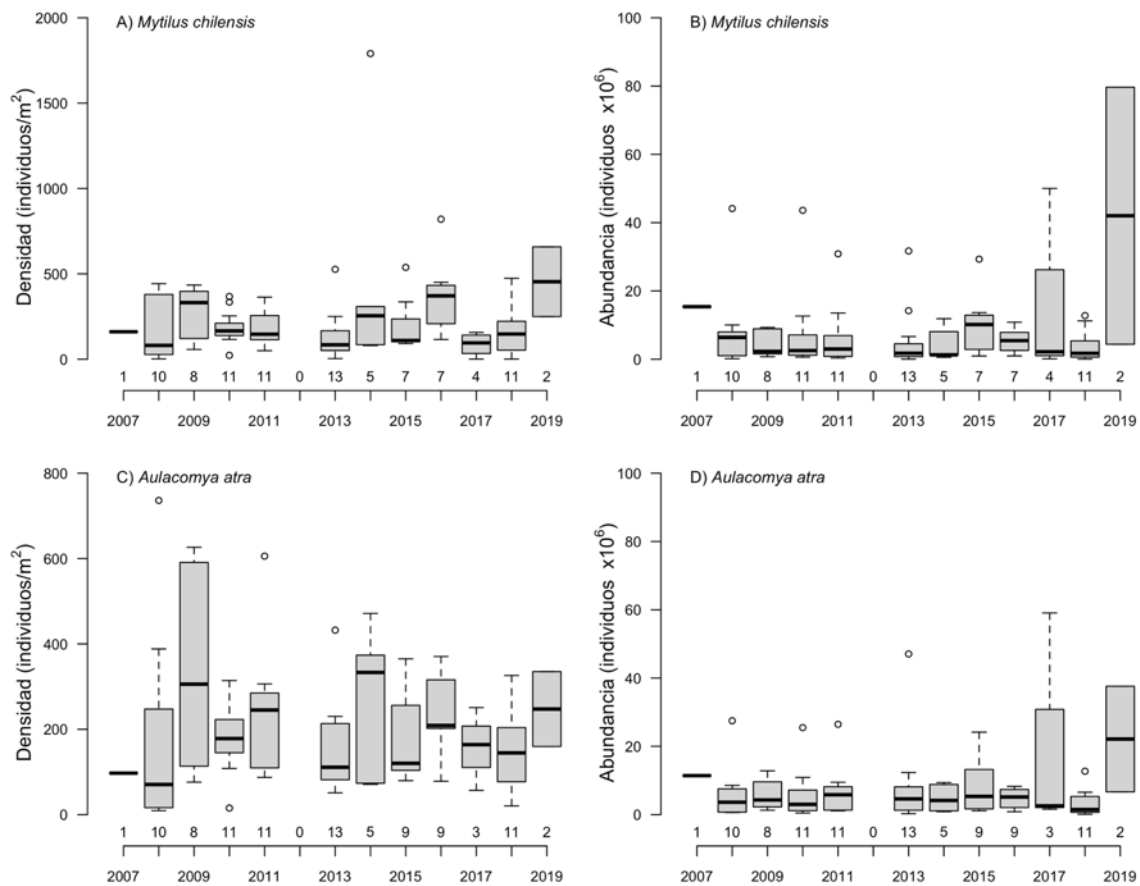


Figura 1.9a. Densidad media y abundancia estimada para *Mytilus chilensis* (A, B) y *Aulacomya atra* (C, D) de las evaluaciones directas en AMERB en las comunas de Cochamó y Puerto Varas en la zona Fiordo Reloncaví.

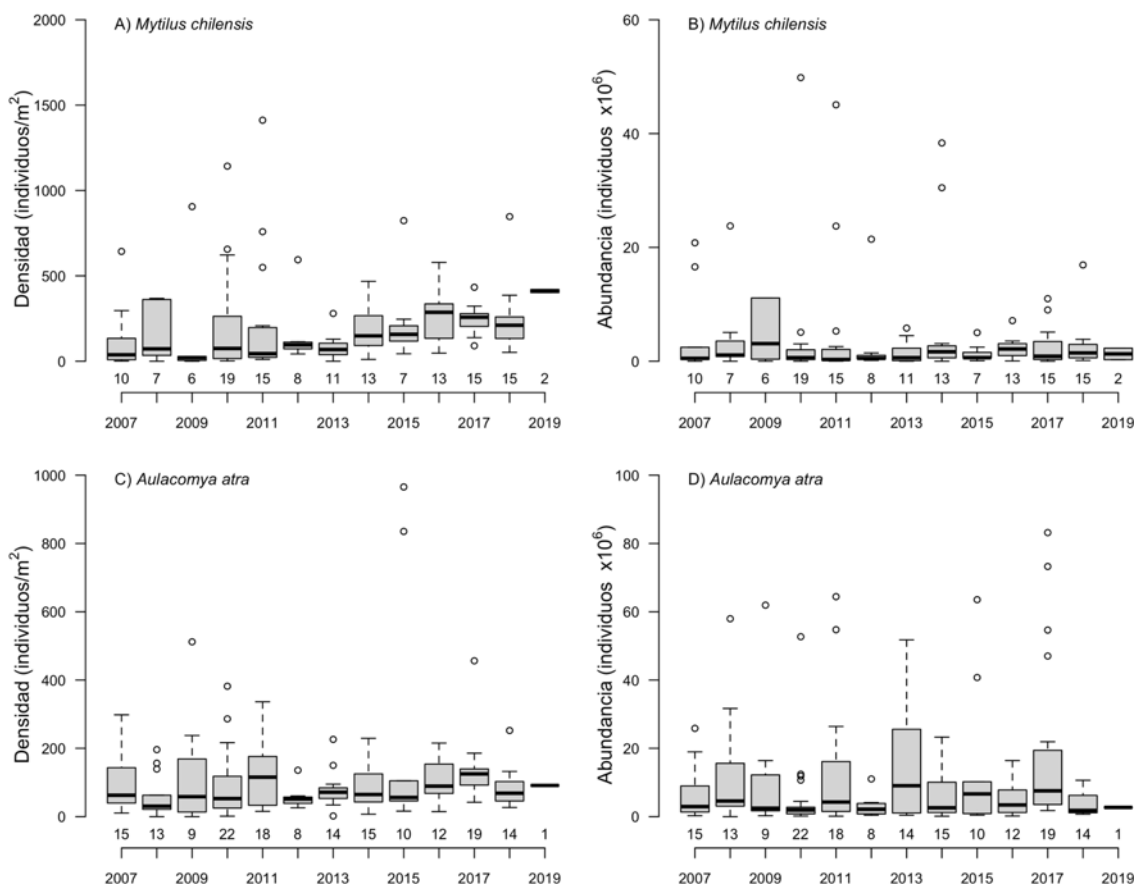


Figura 1.9b. Densidad media y abundancia estimada para *Mytilus chilensis* (A, B) y *Aulacomya atra* (C, D) de las evaluaciones directas en AMERB de la comuna de Hualaihué.

3.3.2.5. Programa de monitoreo y vigilancia sobre la disponibilidad larval de mitílidos para la sustentabilidad de la actividad de acuicultura en la zona sur austral de Chile

Desde el año 2013, el Instituto de Fomento Pesquero ejecuta un programa de monitoreo en el que se estima la abundancia de larvas de mitílidos, junto con otras variables ambientales, en sectores de interés para la captación de semillas de chorito. La red de monitoreo contempla 5 estaciones ubicadas en las áreas de interés de este estudio (Figura 1.10), Cochamó y Yates, ubicadas en el Fiordo Reloncaví y monitoreadas desde marzo de 2016, Hornopirén y Pichicolo, ubicadas en la comuna de Hualaihué y monitoreadas desde marzo de 2016, Estero Castro, ubicada en la comuna de Castro y monitoreada desde marzo de 2019. En esta sección se presenta una breve descripción de la variabilidad temporal de las variables monitoreadas.



Figura 1.10. Ubicación geográfica de las estaciones de muestreo del programa de monitoreo de larvas de mitílidos ejecutado por el IFOP, ubicadas en el Fiordo Reloncaví (Cochamó y Yates), comuna de Hualaihué (Hornopirén y Pichicolo) y comuna de Castro (Estero Castro).

Los materiales y métodos utilizados por el programa de monitoreo pueden ser revisados en detalle en Segura et al. (2023), pero a continuación se describen brevemente las variables consideradas. En cada estación de monitoreo se realizan muestreos con una frecuencia de ~ 10 días durante primavera y verano, con una disminución en la frecuencia de muestreo en otoño e invierno. En cada muestreo, se estima la temperatura y salinidad de los 20 m superficiales de la columna de agua mediante lances verticales de CTD. Además, se toman muestras integradas (0-10 m) de fitoplancton con una manguera y se estima la abundancia de diatomeas y dinoflagelados a nivel de especie, las que posteriormente son transformadas en biomasa mediante microscopía (e.g., Harrison et al., 2015), estimando el biovolumen de cada taxa (Sun & Liu, 2003) y su contenido de carbono con relaciones biovolumen-carbono (Menden-Deuer & Lessard, 2000). Para determinar la composición de la biomasa fitoplanctónica se estimó el aporte a la biomasa total de los principales géneros de diatomeas: *Thalassiosira* (Thal), *Chaetoceros* (Chae), *Rhizosolenia* (Rhiz), *Skeletonema* (Skel), *Pseudonitzschia* (Pseu), *Guinardia* (Guin), *Navicula* (Navi), *Leptocylindrus* (Lept), *Ditylum* (Dyti), *Coscinodiscus* (Cosc), *Eucampia* (Euca), *Detonula* (Deto), *Cerataulina* (Cera), *Stephanopyxis* (Step), además de un conglomerado de otras diatomeas (diat) y dinoflagelados (dino). Finalmente, las larvas de mitílidos son muestreadas a través de lances verticales (0-15 m) con una red de zooplancton y a abundancia de las distintas especies y estadios son estimadas bajo microscopio estereoscópico utilizando guías de identificación disponibles en la literatura (Ramorino & Campos, 1983; Campos & Ramorino, 1990; Bellolio et al., 1994; Díaz & Campos, 2014; Opazo et al., 2015).

Fiordo Reloncaví

Desde el 12 de marzo de 2016, el programa de monitoreo de larvas de mitílidos ha realizado 233 muestreos en sus estaciones del Fiordo Reloncaví: Cochamó y Yates (Figuras 1.11 y 1.12). Durante este periodo, se evidencia una marcada estacionalidad en la temperatura de los primeros 20 m de la columna de agua, especialmente en superficie. A 1 m de profundidad, la temperatura varió 14,8 °C en Cochamó (6,6 a 21,4 °C, promedio: 13,9 °C) y 12,8 °C en Yates (7,1 a 19,9 °C, promedio: 13,1 °C), mientras que a 10 y 20 m de profundidad las variaciones fueron mucho menores (5,3 y 3,0 °C en Cochamó, 5,9 y 3,0 °C en Yates). En ambas estaciones el ciclo estacional se caracteriza por un calentamiento asociado al registro de temperaturas sobre los 12 °C en primavera, superando los 16 °C en verano en los 5 m superficiales y disminuyendo bajo los 12 °C en otoño. Durante invierno, las temperaturas más bajas (< 10 °C) se encuentran en superficie producto de la presencia de agua dulce.

La salinidad también muestra patrones muy similares en ambos sitios del Fiordo Reloncaví, siendo la principal característica la presencia de una capa de agua estuarina (< 30 psu) que se extiende hasta los 5-10 m de profundidad. A 1 m de profundidad, la salinidad varió 30,8 psu en Cochamó (1,2 a 32,0 psu, promedio: 9,8 psu) y 26,0 psu en Yates (2,2 a 28,2 psu, promedio: 8,9 psu), mientras que a 10 y 20 m las variaciones fueron mucho menores (8,9 y 2,5 psu en Cochamó, 6,5 y 2,6 en Yates). Si bien no se observa un patrón estacional tan claro como en la temperatura, si es posible observar que en general, durante primavera se observan las menores salinidades superficiales (< 5 psu) y en verano la capa estuarina alcanza su máxima profundidad (~ 10 m).

Tanto la abundancia como la biomasa fitoplanctónica presentan amplias variaciones en Cochamó (1 a 24.506 células mL⁻¹ y 0,2 a 1.483 µg C L⁻¹) y Yates (2 a 20.092 células mL⁻¹ y 0,1 a 1.021 µg C L⁻¹).

En promedio para el periodo monitoreado, ambas estaciones presentan valores similares en abundancia y biomasa (Cochamó: $1.352 \text{ células mL}^{-1}$ y $93,4 \text{ } \mu\text{g C L}^{-1}$; Yates: $1.259 \text{ células mL}^{-1}$ y $90,1 \text{ } \mu\text{g C L}^{-1}$). Estimaciones de biomasa fitoplanctónica asociadas a floraciones (e.g., $> 100 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$) han sido registradas en todas las estaciones del año, pero con mayor frecuencia en los muestreos realizados en primavera y verano ($\sim 70\text{-}80\%$ de los registros). Con respecto a la composición a nivel de géneros, ambas estaciones del Fiordo Reloncaví se caracterizan por la dominancia de los géneros de diatomeas *Skeletonema* en primavera, *Rhizosolenia* en verano y *Thalassiosira* en invierno (Figuras 1.11 y 1.12).

La abundancia de larvas de mitílidos también presenta grandes fluctuaciones en las estaciones monitoreadas en el Fiordo Reloncaví (0 a $104.849 \text{ larvas m}^{-3}$ en Cochamó y 0 a $101.875 \text{ larvas m}^{-3}$ en Yates). Al considerar solo las larvas segregables morfológicamente (i.e., larvas umbonadas y competentes), es evidente una dominancia de larvas de chorito en Cochamó y Yates ($60,6$ y $65,7\%$ de la abundancia total, respectivamente), seguido por las larvas de cholga ($39,3$ y $34,3\%$) y con un aporte muy menor de larvas de choro zapato ($0,1$ y $0,05\%$). La abundancia de larvas de mitílidos muestra un patrón de variabilidad estacional, con aumentos de varios órdenes de magnitud en la abundancia de larvas pre-competentes durante la transición de invierno a primavera (i.e., inicio de temporada de desoves). Las larvas competentes de chorito, que son indicador de la disponibilidad larval para la captación en colectores y para el reclutamiento en bancos naturales, presentan abundancias promedio de 867 y $1.004 \text{ larvas m}^{-3}$ en Cochamó y Yates, respectivamente. Estas larvas presentan una marcada estacionalidad, con pocas presencias durante invierno y las mayores abundancias ($> 100 \text{ larvas m}^{-3}$, hasta $\sim 1.500 \text{ larvas m}^{-3}$) durante primavera. Este patrón estacional ha presentado variaciones interanuales tanto en las abundancias registradas (e.g., primavera 2019) como en el periodo de máximas abundancias (e.g., verano 2021) (Figuras 1.11 y 1.12).

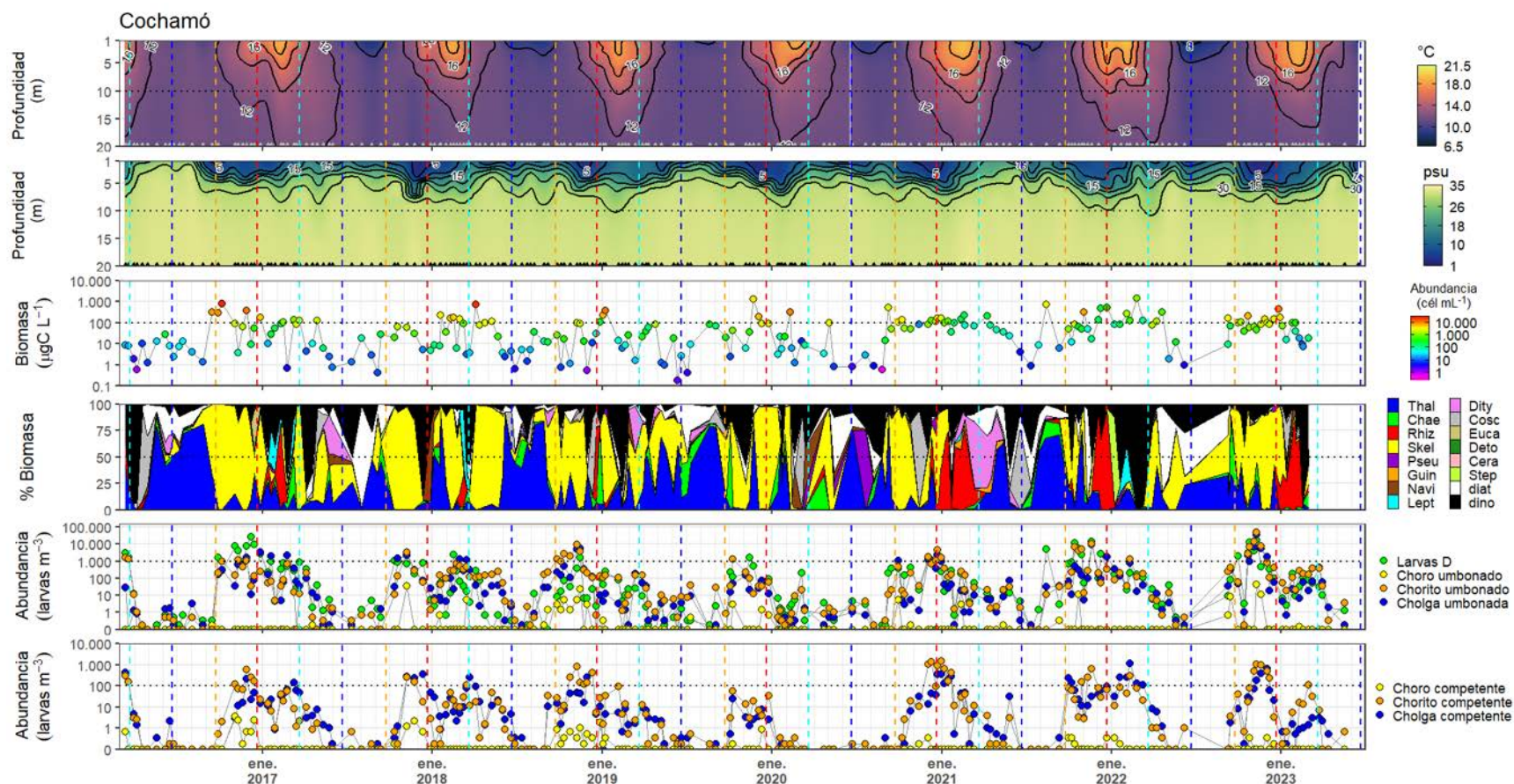


Figura 1.11. Series de tiempo de temperatura y salinidad de los 20 m superficiales de la columna de agua, abundancia y biomasa fitoplanctónica, grupos dominantes de la biomasa fitoplanctónica, y abundancia de larvas de mitílidos pre-competentes y competentes, obtenidas en la estación de monitoreo Cochamó, ubicada en el Fiordo Reloncaví. Ejes de biomasa fitoplanctónica y abundancia de larvas de mitílidos en escala logarítmica. Líneas punteadas verticales indican la transición entre estaciones del año (celeste: otoño, azul: invierno, naranja: primavera, rojo: verano). Fuente: programa de monitoreo de larvas de mitílidos ejecutado por el IFOP.

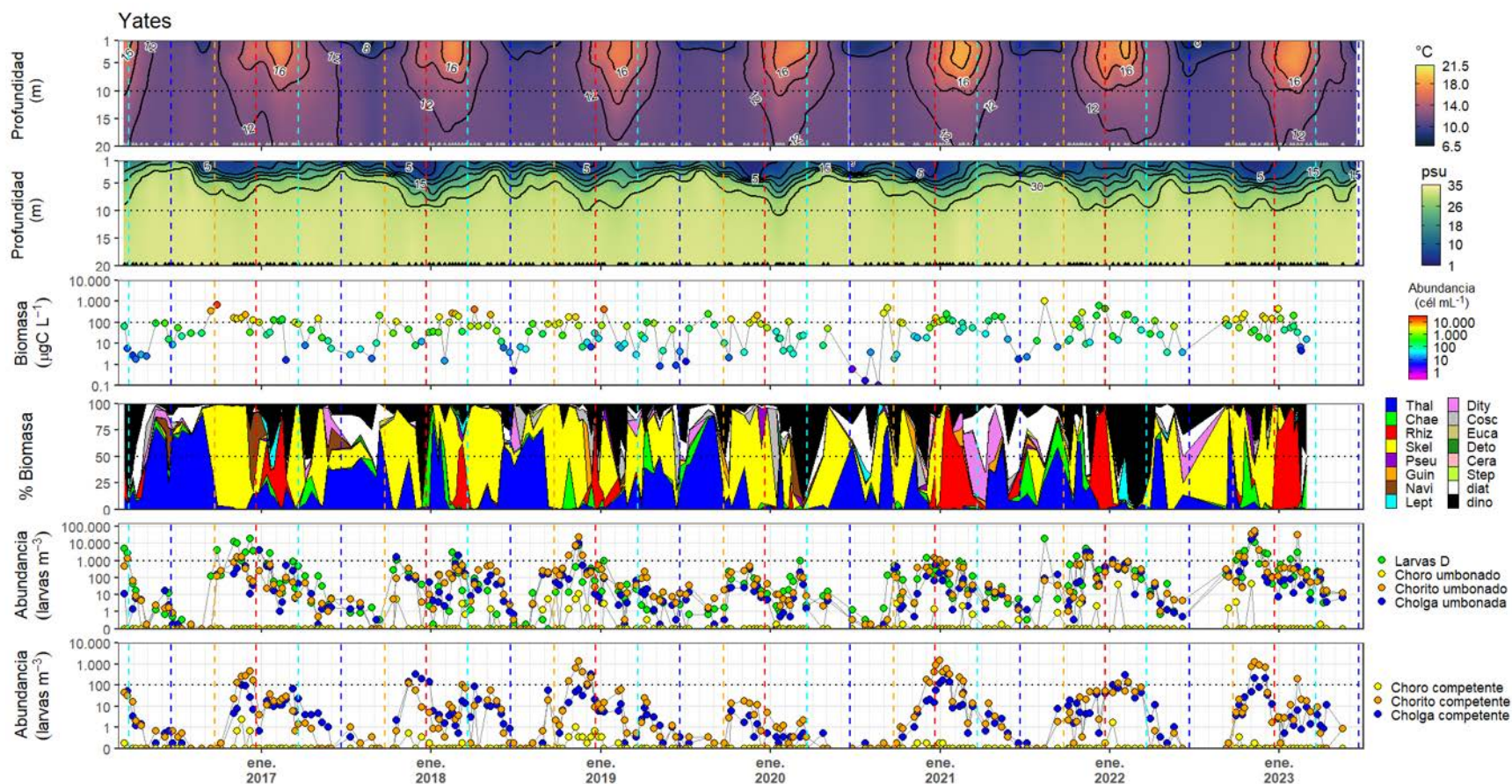


Figura 1.12. Series de tiempo de temperatura y salinidad de los 20 m superficiales de la columna de agua, abundancia y biomasa fitoplanctónica, grupos dominantes de la biomasa fitoplanctónica, y abundancia de larvas de mitílicos pre-competentes y competentes, obtenidas en la estación de monitoreo Yates, ubicada en el Fiordo Reloncaví. Ejes de biomasa fitoplanctónica y abundancia de larvas de mitílicos en escala logarítmica. Líneas punteadas verticales indican la transición entre estaciones del año (celeste: otoño, azul: invierno, naranja: primavera, rojo: verano). Fuente: programa de monitoreo de larvas de mitílicos ejecutado por el IFOP.

Comuna de Hualaihué

Desde el 11 de marzo de 2016, el programa de monitoreo de larvas de mitílidos ha realizado 230 muestreos en sus estaciones de la comuna de Hualaihué: Hornopirén y Pichicolo (Figuras 1.13 y 1.14). La temperatura en Hornopirén y Pichicolo muestra un patrón de variabilidad estacional muy similar al observado en las estaciones del Fiordo Reloncaví. A 1 m de profundidad, la temperatura varió 11,6 °C en Hornopirén (8,0 a 19,6 °C, promedio: 14,1 °C) y 11,3 °C en Pichicolo (8,6 a 19,9 °C, promedio: 14,0 °C), presentando mayores temperaturas superficiales en invierno que en las estaciones del Fiordo Reloncaví. Por su parte, las variaciones de temperatura registradas en 10 y 20 m (6,5 y 5,4 °C en Hornopirén, 7,0 y 5,8 °C en Pichicolo) fueron mayores a las registradas en las mismas profundidades en las estaciones del Fiordo Reloncaví, debido a un mayor calentamiento en profundidad durante primavera y verano.

Los registros de salinidad en Hornopirén y Pichicolo también muestran la presencia de aguas estuarinas (< 30 psu), aunque con salinidades superficiales mucho mayores a las registradas en las estaciones del Fiordo Reloncaví. A 1 m de profundidad, la salinidad varió 24,8 su en Hornopirén (7,6 a 32,4 psu, promedio: 25,8 psu) y 23,5 psu en Pichicolo (9,1 a 32,7 psu, promedio: 28,1 psu), mientras que a 10 y 20 m las fluctuaciones fueron mucho menores (5,5 y 3,4 psu en Hornopirén, 5,2 y 3,6 psu en Pichicolo). Otra diferencia con respecto a las estaciones del Fiordo Reloncaví es que no se observa un patrón estacional tan marcado en la salinidad superficial ni en la profundidad de la capa estuarina.

Al igual que en las estaciones del Fiordo Reloncaví, la abundancia y biomasa fitoplanctónica han presentado grandes fluctuaciones durante el periodo monitoreado en Hornopirén (1 a 7.218 células mL⁻¹ y 0,1 a 6.275 µg C L⁻¹) y Pichicolo (1 a 9.444 células mL⁻¹ y 0,2 a 1.201 µg C L⁻¹). No obstante, en promedio la abundancia es menor y la biomasa es mayor a lo registrado en las estaciones del Fiordo Reloncaví (Hornopirén: 618 células mL⁻¹ y 150,0 µg C L⁻¹; Pichicolo: 596 células mL⁻¹ y 112,0 µg C L⁻¹). Estas diferencias se asocian a que en estas estaciones no se observa la dominancia de diatomeas del género *Skeletonema*, las que son muy abundantes en el Fiordo Reloncaví y no producen un aumento proporcional en la biomasa producto de su pequeño tamaño celular (~ 8,4 µm). Finalmente, en estas estaciones de monitoreo también se han registrado estimaciones de biomasa fitoplanctónica asociadas a floraciones (e.g., > 100 µg C L⁻¹) en todas las estaciones del año, aunque con mayor frecuencia en primavera y verano (~ 60-70 % de los registros) (Figuras 1.13 y 1.14).

La abundancia de larvas de mitílidos presenta fluctuaciones similares a las observadas en las estaciones del Fiordo Reloncaví (0 a 93.565 larvas m⁻³ en Hornopirén y 0 a 117.746 larvas m⁻³ en Pichicolo). Sin embargo, en estas estaciones la dominancia de larvas de chorito no es tan aparente (52,6 % y 52,7 % de la abundancia total en Hornopirén y Pichicolo, respectivamente) ya que las larvas de cholga contribuyen un porcentaje similar de la abundancia total (47,2 y 47,1 %). La abundancia de larvas competentes de chorito también muestra el patrón estacional observado en el Fiordo Reloncaví, aunque con menores abundancias promedio (26,8 y 28,6 larvas m⁻³) y máximas registradas (420 y 485 larvas m⁻³) (Figuras 1.13 y 1.14).

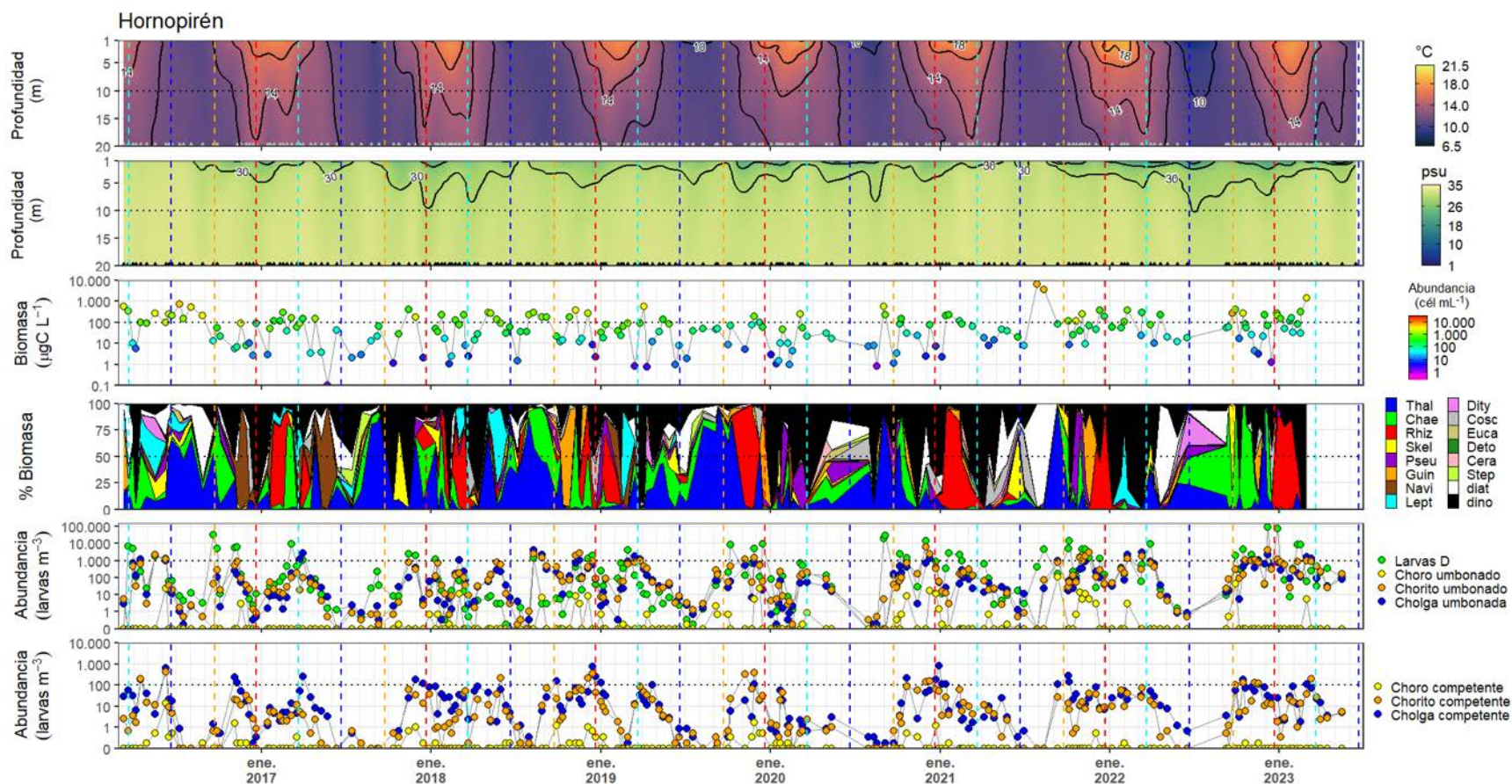


Figura 1.13. Series de tiempo de temperatura y salinidad de los 20 m superficiales de la columna de agua, abundancia y biomasa fitoplanctónica, grupos dominantes de la biomasa fitoplanctónica, y abundancia de larvas de mitílidos pre-competentes y competentes, obtenidas en la estación de monitoreo Hornopirén, ubicada en la comuna de Hualaihué. Ejes de biomasa fitoplanctónica y abundancia de larvas de mitílidos en escala logarítmica. Líneas punteadas verticales indican la transición entre estaciones del año (celeste: otoño, azul: invierno, naranja: primavera, rojo: verano). Fuente: programa de monitoreo de larvas de mitílidos ejecutado por el IFOP.

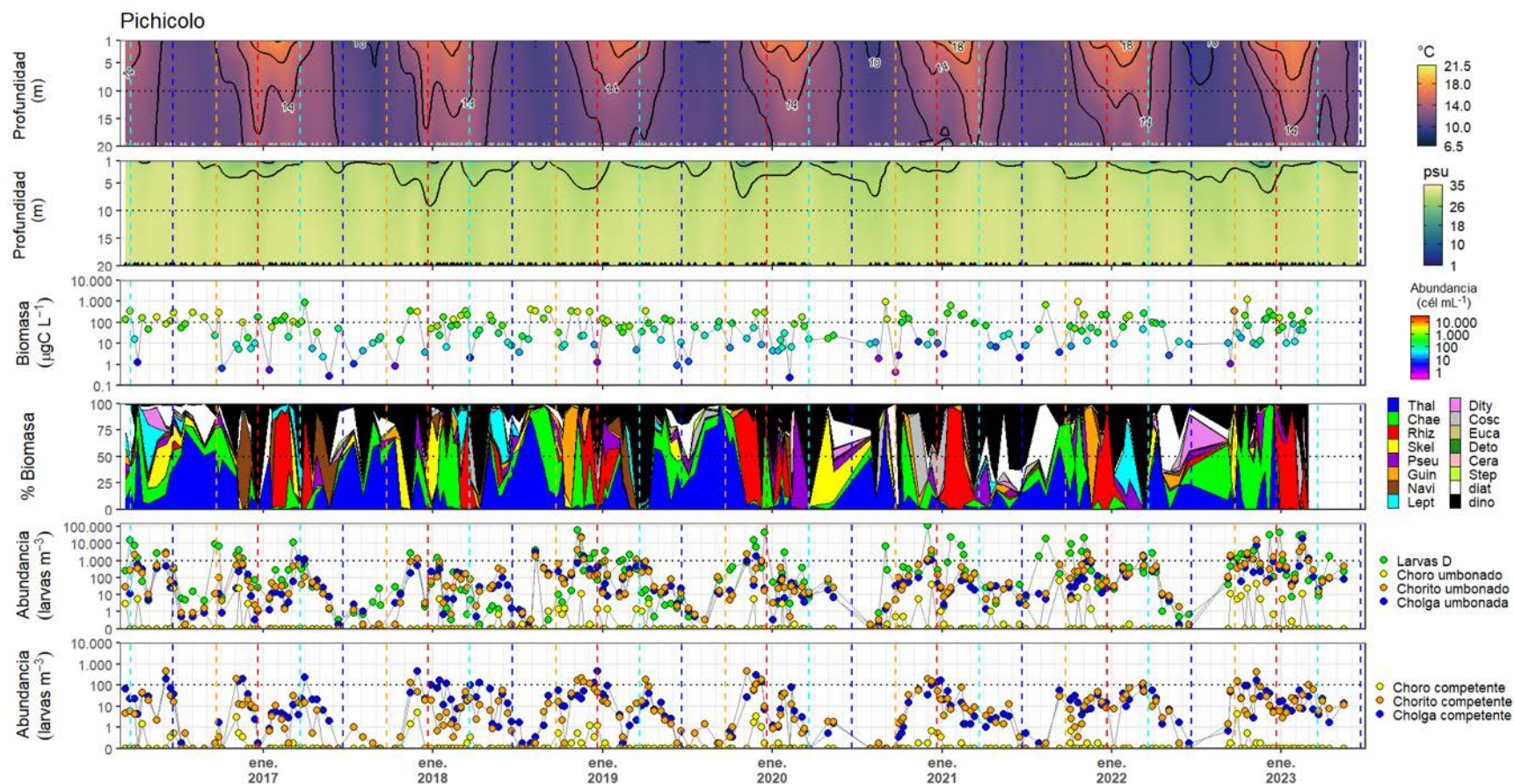


Figura 1.14. Series de tiempo de temperatura y salinidad de los 20 m superficiales de la columna de agua, abundancia y biomasa fitoplanctónica, grupos dominantes de la biomasa fitoplanctónica, y abundancia de larvas de mitílicos pre-competentes y competentes, obtenidas en la estación de monitoreo Pichicolo, ubicada en la comuna de Hualaihué. Ejes de biomasa fitoplanctónica y abundancia de larvas de mitílicos en escala logarítmica. Líneas punteadas verticales indican la transición entre estaciones del año (celeste: otoño, azul: invierno, naranja: primavera, rojo: verano). Fuente: programa de monitoreo de larvas de mitílicos ejecutado por el IFOP.

Comuna de Castro

Desde el 27 de marzo de 2019, el programa de monitoreo de larvas de mitílidos ha realizado 144 muestreos en la única estación ubicada en la comuna de Castro: Estero Castro (Figura 1.15). En el Estero Castro también se ha podido observar un patrón estacional en la temperatura de los 20 m superficiales de la columna de agua, aunque menos marcado que en las estaciones del Fiordo Reloncaví y la comuna de Hualaihué. A 1 m de profundidad, la temperatura fluctuó 9,0 °C (8,9 a 17,9 °C, promedio: 12,5 °C) durante el periodo de estudio, mientras que a 10 y 20 m de profundidad la temperatura varió 6,4 y 3,9 °C, respectivamente. La aparición de aguas con temperaturas > 12 °C durante primavera y su desaparición durante otoño limita el periodo del año con las mayores temperaturas, al igual que en los sectores descritos anteriormente.

A diferencia de lo observado en las estaciones del Fiordo Reloncaví y de la comuna de Hualaihué, en el Estero Castro prácticamente no se registró la presencia de aguas estuarinas y las fluctuaciones de salinidad fueron mucho menores. A 1 m de profundidad, la salinidad varió 5,4 psu (27,9 a 33,3 psu, promedio: 31,7 psu) en todo el periodo de estudio, mientras que a 10 y 20 m varió 2,0 y 1,6 psu, respectivamente.

La abundancia fitoplanctónica varió entre 1 y 10.286 células mL⁻¹ y la biomasa fitoplanctónica varió entre 0,03 y 996 µg C L⁻¹, con valores promedio similares a los registrados en las estaciones de la comuna de Hualaihué (548 células mL⁻¹ y 101,0 µg C L⁻¹). Al igual que en esas estaciones, la biomasa fitoplanctónica estuvo dominada por varios géneros de diatomeas, pero sin un aporte relevante de *Skeletonema*, a diferencia de lo observado en las estaciones del Fiordo Reloncaví (Figura 1.15).

La abundancia de larvas de mitílidos fluctuó entre 0 y 36.612 larvas m⁻³, abundancia máxima menor a las registradas en las estaciones descritas anteriormente. Otra diferencia notable con respecto a las estaciones del Fiordo Reloncaví y de la comuna de Hualaihué es la composición de especies, con un aporte mayor de larvas de choro zapato (34 % de la abundancia total), aunque las larvas de chorito son las dominantes (59,1 %). Las variaciones estacionales en la abundancia de larvas competentes de chorito son similares a las descritas para las otras zonas estudiadas, aunque las abundancias promedio (20,8 larvas m⁻³) y máxima (667,0 larvas m⁻³) son más similares a las de las estaciones de Hualaihué, y menores a las registradas en el Fiordo Reloncaví (Figura 1.15).

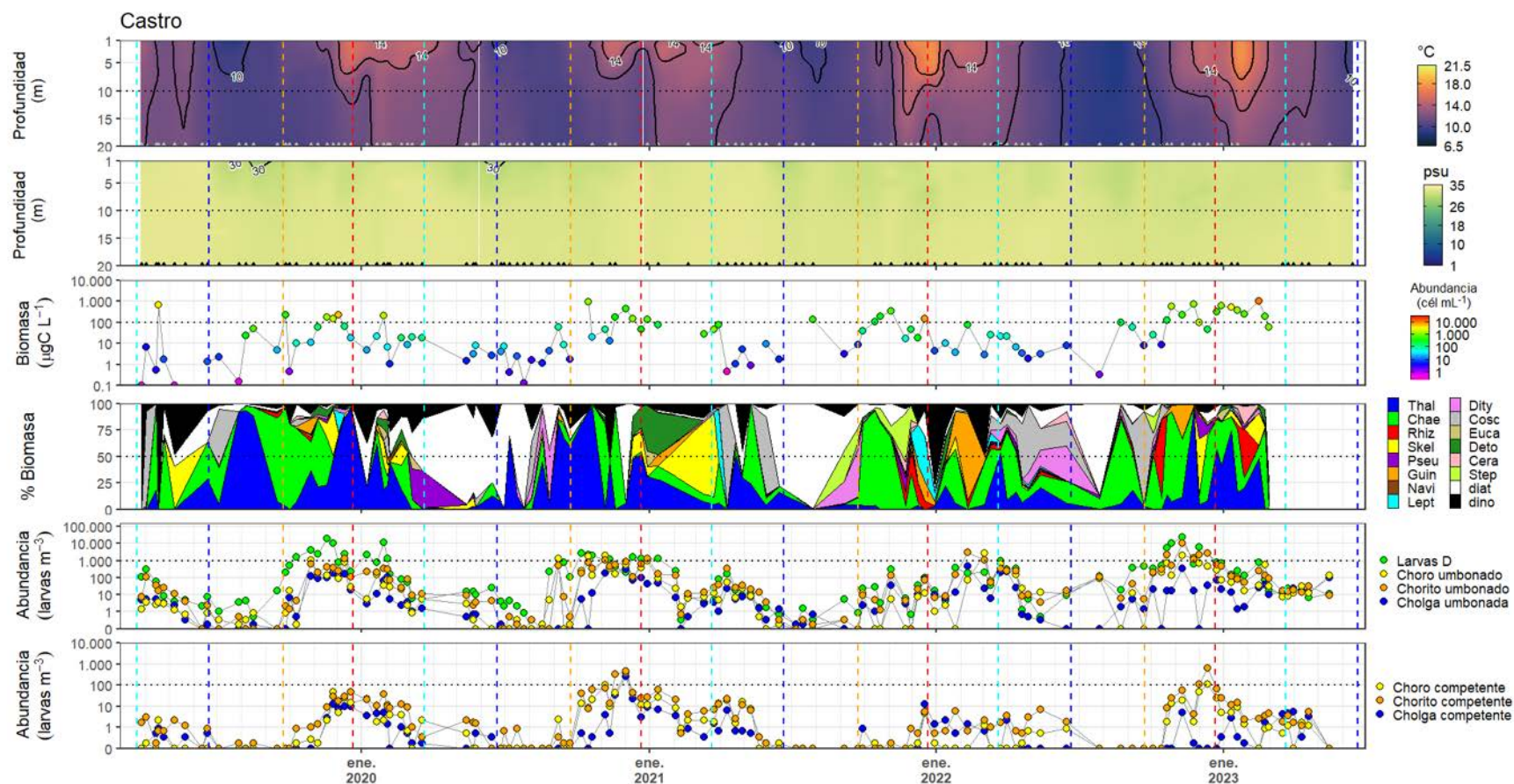


Figura 1.15. Series de tiempo de temperatura y salinidad de los 20 m superficiales de la columna de agua, abundancia y biomasa fitoplanctónica, grupos dominantes de la biomasa fitoplanctónica, y abundancia de larvas de mitílidos pre-competentes y competentes, obtenidas en la estación de monitoreo Estero Castro, ubicada en la comuna de Castro. Ejes de biomasa fitoplanctónica y abundancia de larvas de mitílidos en escala logarítmica. Líneas punteadas verticales indican la transición entre estaciones del año (celeste: otoño, azul: invierno, naranja: primavera, rojo: verano). Fuente: programa de monitoreo de larvas de mitílidos ejecutado por el IFOP.

3.3.2.6. Sistematización de la información

Con la información recopilada bancos naturales de *Mytilus chilensis* se elaboró una tabla resumen que sistematiza la información de publicaciones y proyectos para los sectores Fiordo Reloncaví y comuna de Hualaihué, y en donde se incluye el nombre del proyecto, fuente, metodología utilizada para la recolección de información, y el resultado de la densidad media de la estación monitoreada en cada uno de los sectores y su evolución en el tiempo (Tabla 1.7).

Tabla 1.7. Tabla resumen de información de publicaciones y proyectos para los sectores Fiordo Reloncaví y comuna de Hualaihué, densidad media estimada y su evolución en el tiempo.

Sector	Amerb/Sitio	Nombre Proyecto	Fuente	Metodología	año	Nº estaciones	Densidad media
Fiordo Reloncaví	Bahía Sotomó Sector A	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2008	20	397
Fiordo Reloncaví	Bahía Sotomó Sector A	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2009	32	57
Fiordo Reloncaví	Bahía Sotomó Sector A	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2011	33	56
Fiordo Reloncaví	Bahía Sotomó Sector A	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2013	44	51
Fiordo Reloncaví	Bahía Sotomó Sector A	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2014	30	85
Fiordo Reloncaví	Bahía Sotomó Sector A	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2016	24	276
Fiordo Reloncaví	Bahía Sotomó Sector B	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2008	20	379
Fiordo Reloncaví	Bahía Sotomó Sector B	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2009	34	360
Fiordo Reloncaví	Bahía Sotomó Sector B	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2011	48	309
Fiordo Reloncaví	Bahía Sotomó Sector B	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2013	48	84
Fiordo Reloncaví	Bahía Sotomó Sector B	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2014	40	80
Fiordo Reloncaví	Bahía Sotomó Sector B	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2017	24	125
Fiordo Reloncaví	Cascajal Sector A	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2014	24	1790
Fiordo Reloncaví	Cascajal Sector A	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2016		820
Fiordo Reloncaví	Islote Poe	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2008	10	27
Fiordo Reloncaví	Islote Poe	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2009	36	87
Fiordo Reloncaví	Islote Poe	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2011	38	132
Fiordo Reloncaví	Islote Poe	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2013	46	77
Fiordo Reloncaví	Islote Poe	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2015	32	538
Fiordo Reloncaví	Islote Poe	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2016	12	371
Fiordo Reloncaví	Marimelli Sector A	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2008	19	2
Fiordo Reloncaví	Marimelli Sector A	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2010	20	367
Fiordo Reloncaví	Marimelli Sector A	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2011	12	50
Fiordo Reloncaví	Marimelli Sector A	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2013	36	84
Fiordo Reloncaví	Marimelli Sector A	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2015	15	136
Fiordo Reloncaví	Marimelli Sector A	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2016	16	140
Fiordo Reloncaví	Marimelli Sector B	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2008	19	2
Fiordo Reloncaví	Marimelli Sector B	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2010	12	23
Fiordo Reloncaví	Marimelli Sector B	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2011	12	140
Fiordo Reloncaví	Marimelli Sector B	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2013	58	124
Fiordo Reloncaví	Marimelli Sector B	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2015	24	94
Fiordo Reloncaví	Marimelli Sector B	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2017		66
Fiordo Reloncaví	Pocoihuén Sector B	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2008	24	84
Fiordo Reloncaví	Pocoihuén Sector B	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2010	24	137
Fiordo Reloncaví	Pocoihuén Sector B	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2011	24	97
Fiordo Reloncaví	Pocoihuén Sector B	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2013	70	99
Fiordo Reloncaví	Pocoihuén Sector B	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2015	24	92
Fiordo Reloncaví	Pocoihuén Sector B	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2017	16	157
Fiordo Reloncaví	Pocoihuén Sector C	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2008	360	67

Sector	Amerb/Sitio	Nombre Proyecto	Fuente	Metodología	año	Nº estaciones	Densidad media
Fiordo Reloncaví	Pocoihuén Sector C	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2010	24	128
Fiordo Reloncaví	Pocoihuén Sector C	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2013	49	167
Fiordo Reloncaví	Pocoihuén Sector C	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2015	30	110
Fiordo Reloncaví	Pocoihuén Sector C	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2018	16	227
Fiordo Reloncaví	Pocoihuén Sector D	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2008	400	78
Fiordo Reloncaví	Pocoihuén Sector D	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2010	12	157
Fiordo Reloncaví	Pocoihuén Sector D	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2013	61	186
Fiordo Reloncaví	Pocoihuén Sector D	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2015	16	336
Fiordo Reloncaví	Punta Relonhue	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2008	40	280
Fiordo Reloncaví	Punta Relonhue	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2009	42	311
Fiordo Reloncaví	Punta Relonhue	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2011	50	330
Fiordo Reloncaví	Punta Relonhue	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2013	56	250
Fiordo Reloncaví	Punta Relonhue	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2014	67	308
Fiordo Reloncaví	Punta Relonhue	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2016	31	415
Fiordo Reloncaví	Relonhue	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2008	20	443
Fiordo Reloncaví	Relonhue	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2009	28	352
Fiordo Reloncaví	Relonhue	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2011	45	364
Fiordo Reloncaví	Relonhue	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2013	48	527
Fiordo Reloncaví	Relonhue	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2014	34	254
Fiordo Reloncaví	Relonhue	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2016	12	451
Fiordo Reloncaví	Rio Puelo Sector A	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2018		1
Fiordo Reloncaví	Rio Puelo Sector B	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2017	36	1
Fiordo Reloncaví	Yates Sector B	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2010	52	253
Fiordo Reloncaví	Yates Sector C	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2010	47	334
Fiordo Reloncaví	Yates Sector C	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2018	60	8
Hualaihué	Aulen	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2008	125	72
Hualaihué	Aulen	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2010	19	3
Hualaihué	Aulen	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2011	83	21
Hualaihué	Baltazar	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2013	75	54
Hualaihué	Baltazar	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2015	60	246
Hualaihué	Baltazar	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2016	60	579
Hualaihué	Cholgo Sector A	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2010	66	656
Hualaihué	Cholgo Sector A	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2011	78	208
Hualaihué	Cholgo Sector A	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2012	90	104
Hualaihué	Cholgo Sector A	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2014	161	148
Hualaihué	Cholgo Sector A	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2016	26	302
Hualaihué	Cholgo Sector A	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2017	88	309
Hualaihué	Cholgo Sector C	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2007	16	118
Hualaihué	Cholgo Sector C	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2011	66	1412
Hualaihué	Cholgo Sector C	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2013	60	280
Hualaihué	Cholgo Sector C	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2014	20	149
Hualaihué	Cholgo Sector C	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2017	16	433
Hualaihué	Entre Rios	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2010	16	14
Hualaihué	Entre Rios	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2011	20	41
Hualaihué	Este Puntilla Pichicolu	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2008	87	368
Hualaihué	Este Puntilla Pichicolu	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2010	66	75
Hualaihué	Este Puntilla Pichicolu	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2012	140	594
Hualaihué	Este Puntilla Pichicolu	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2016	45	401
Hualaihué	Isla Linguar	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2015	60	169
Hualaihué	Isla Linguar	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2017	60	172
Hualaihué	Isla Llanchid Sector A	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2011	6	131
Hualaihué	Isla Llanchid Sector A	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2014	48	92
Hualaihué	Isla Llanchid Sector A	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2017	48	225

Sector	Amerb/Sitio	Nombre Proyecto	Fuente	Metodología	año	Nº estaciones	Densidad media
Hualaihué	Isla Llanichid Sector C	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2010	100	2
Hualaihué	Isla Llanichid Sector C	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2013	56	26
Hualaihué	Isla Llanichid Sector C	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2017	52	187
Hualaihué	Isla Manzano	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2007	150	643
Hualaihué	Isla Manzano	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2009	29	906
Hualaihué	Isla Manzano	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2010	45	622
Hualaihué	Isla Manzano	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2011	41	549
Hualaihué	Isla Manzano	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2014	181	468
Hualaihué	Isla Manzano	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2016	40	47
Hualaihué	Isla Toro Sector B	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2007	12	296
Hualaihué	Isla Toro Sector B	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2010	21	415
Hualaihué	Isla Toro Sector B	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2012	10	82
Hualaihué	Isla Toro Sector B	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2014	60	126
Hualaihué	Isla Toro Sector B	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2017	60	277
Hualaihué	La Arena Sector B	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2015	36	157
Hualaihué	La Arena Sector B	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2016	48	152
Hualaihué	Mañihueico Sector A	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2009	35	26
Hualaihué	Mañihueico Sector A	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2010	45	25
Hualaihué	Mañihueico Sector A	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2012	40	43
Hualaihué	Mañihueico Sector A	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2013	51	68
Hualaihué	Mañihueico Sector A	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2015	60	43
Hualaihué	Mañihueico Sector A	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2017	52	265
Hualaihué	Mañihueico Sector B	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2007	61	2
Hualaihué	Mañihueico Sector B	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2009	50	5
Hualaihué	Mañihueico Sector B	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2011	24	29
Hualaihué	Mañihueico Sector B	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2013	131	81
Hualaihué	Mañihueico Sector B	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2015	33	79
Hualaihué	Mañihueico Sector B	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2016	12	402
Hualaihué	Norte Punta Calle	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2008	77	62
Hualaihué	Norte Punta Calle	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2010	90	9
Hualaihué	Norte Punta Calle	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2011	90	15
Hualaihué	Norte Punta Calle	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2013	90	47
Hualaihué	Norte Punta Calle	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2017	8	90
Hualaihué	Pichicolu Sector A	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2007	60	26
Hualaihué	Pichicolu Sector A	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2010	12	1143
Hualaihué	Pichicolu Sector A	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2011	15	759
Hualaihué	Pichicolu Sector A	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2014	40	47
Hualaihué	Pichicolu Sector A	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2016	10	286
Hualaihué	Pichicolu Sector B	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2014	120	267
Hualaihué	Pichicolu Sector B	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2016	150	318
Hualaihué	Pichicolu Sector B	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2017	52	322
Hualaihué	Puerto Bonito Sector A	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2008	48	3758
Hualaihué	Puerto Bonito Sector A	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2010	36	95
Hualaihué	Puerto Bonito Sector A	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2012	39	62
Hualaihué	Puerto Bonito Sector A	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2014	64	309
Hualaihué	Puerto Bonito Sector A	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2017	80	138
Hualaihué	Puerto Bonito Sector B	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2008	54	355
Hualaihué	Puerto Bonito Sector B	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2010	60	111
Hualaihué	Puerto Bonito Sector B	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2012	60	87
Hualaihué	Puerto Bonito Sector B	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2014	66	454
Hualaihué	Puerto Bonito Sector B	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2017	13	242
Hualaihué	Puntilla Pichicolu	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2010	10	457
Hualaihué	Puntilla Pichicolu	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2011	38	68

Sector	Amerb/Sitio	Nombre Proyecto	Fuente	Metodología	año	Nº estaciones	Densidad media
Hualaihué	Puntilla Pichicolu	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2014	66	103
Hualaihué	Puntilla Pichicolu	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2016	42	134
Hualaihué	Puntilla Quillón Sector A	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2010	46	28
Hualaihué	Puntilla Quillón Sector A	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2011	66	44
Hualaihué	Puntilla Quillón Sector A	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2013	80	129
Hualaihué	Puntilla Quillón Sector A	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2016	45	95
Hualaihué	Puntilla Quillón Sector A	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2018	80	186
Hualaihué	Puntilla Quillón Sector B	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2009	51	0
Hualaihué	Puntilla Quillón Sector B	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2011	75	186
Hualaihué	Puntilla Quillón Sector B	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2013	81	112
Hualaihué	Puntilla Quillón Sector B	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2015	73	156
Hualaihué	Puntilla Quillón Sector B	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2017	88	221
Hualaihué	Quetén Sector A	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2009	162	16
Hualaihué	Quetén Sector B	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2009	268	28
Hualaihué	Quetén Sector B	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2010	268	17
Hualaihué	Quetén Sector B	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2013	300	0
Hualaihué	Quetén Sector B	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2014	144	10
Hualaihué	Quetén Sector B	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2018	60	77
Hualaihué	Quiacas Sector A	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2016	45	171
Hualaihué	Quiacas Sector A	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2017	20	264
Hualaihué	Quiacas Sector B	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2014	36	79
Hualaihué	Quiacas Sector B	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2017	12	279
Hualaihué	Quiacas Sector C	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2015	45	823
Hualaihué	Quiacas Sector C	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2017	15	257
Hualaihué	Quiacas Sector D	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2007	18	48
Hualaihué	Quiacas Sector D	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2012	48	109
Hualaihué	Quiacas Sector E	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2010	66	75
Hualaihué	Quiacas Sector E	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2012	45	114
Hualaihué	San Pedro Del Manzano	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2007	324	9
Hualaihué	San Pedro Del Manzano	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2008	700	5
Hualaihué	San Pedro Del Manzano	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2010	330	20
Hualaihué	San Pedro Del Manzano	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2011	330	17
Hualaihué	San Pedro Del Manzano	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2013	217	29
Hualaihué	Weste Isla Pelada Sector A	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2007	210	17
Hualaihué	Weste Isla Pelada Sector A	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2010	250	14
Hualaihué	Weste Isla Pelada Sector A	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2011	250	11
Hualaihué	Weste Isla Pelada Sector A	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2014	19	166
Hualaihué	Weste Isla Pelada Sector A	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2016	54	336
Hualaihué	Weste Isla Pelada Sector B	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2007	85	134
Hualaihué	Weste Isla Pelada Sector B	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2010	160	78
Hualaihué	Weste Isla Pelada Sector B	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2011	160	23
Hualaihué	Weste Isla Pelada Sector B	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2013	15	99
Hualaihué	Weste Isla Pelada Sector B	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2016	60	125
Fiordo Reloncaví	Cululir Sector A	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2009	460	434
Fiordo Reloncaví	Cululir Sector A	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2010	40	168
Fiordo Reloncaví	Cululir Sector A	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2011	45	202
Fiordo Reloncaví	Cululir Sector A	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2013	60	4
Fiordo Reloncaví	Cululir Sector B	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2009	460	434
Fiordo Reloncaví	Cululir Sector B	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2010	40	168
Fiordo Reloncaví	Cululir Sector B	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2011	45	202
Fiordo Reloncaví	Cululir Sector B	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2013	66	41
Fiordo Reloncaví	Península Rollizo	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2007	154	161
Fiordo Reloncaví	Península Rollizo	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2009	48	155

Sector	Amerb/Sitio	Nombre Proyecto	Fuente	Metodología	año	Nº estaciones	Densidad media
Fiordo Reloncaví	Península Rollizo	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2011	49	146
Fiordo Reloncaví	Península Rollizo	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2013	126	20
Fiordo Reloncaví	Península Rollizo	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2015	30	110
Fiordo Reloncaví	Península Rollizo	Informe AMERB	SUBPESCA/IFOP	Cuadrantes	2016	21	115
Fiordo Reloncaví	Punta Alerce	Prospección de Bancos	Lizama 2003	Transectos	2003	2	3725
Fiordo Reloncaví	Punta Iglesia	Prospección de Bancos	Lizama 2003	Transectos	2003	2	3297
Fiordo Reloncaví	Corrientes	Prospección de Bancos	Lizama 2003	Transectos	2003	2	3067
Fiordo Reloncaví	El Cajón	Prospección de Bancos	Lizama 2003	Transectos	2003	2	2041
Fiordo Reloncaví	Punta Barquillo	Prospección de Bancos	Lizama 2003	Transectos	2003	2	1928
Fiordo Reloncaví	Chaiquén	Prospección de Bancos	Lizama 2003	Transectos	2003	2	1616
Fiordo Reloncaví	Los Pájaros	Prospección de Bancos	Lizama 2003	Transectos	2003	2	1498
Fiordo Reloncaví	Piedra Boyante	Prospección de Bancos	Lizama 2003	Transectos	2003	2	1430
Fiordo Reloncaví	Sector Puelche	Prospección de Bancos	Lizama 2003	Transectos	2003	2	1407
Fiordo Reloncaví	Punta Los Baños	Prospección de Bancos	Lizama 2003	Transectos	2003	2	1334
Fiordo Reloncaví	Río Arrayan	Prospección de Bancos	Lizama 2003	Transectos	2003	2	1219
Fiordo Reloncaví	Sector Coitue	Prospección de Bancos	Lizama 2003	Transectos	2003	2	1210
Fiordo Reloncaví	Punta Martín	Prospección de Bancos	Lizama 2003	Transectos	2003	2	1195
Fiordo Reloncaví	Pocoihuén Bajo	Prospección de Bancos	Lizama 2003	Transectos	2003	2	1017
Fiordo Reloncaví	Punta Chaparano	Prospección de Bancos	Lizama 2003	Transectos	2003	2	1010
Fiordo Reloncaví	Punta Mazazo	Prospección de Bancos	Lizama 2003	Transectos	2003	2	1009
Fiordo Reloncaví	Río Arena	Prospección de Bancos	Lizama 2003	Transectos	2003	2	993
Fiordo Reloncaví	Peña Alta	Prospección de Bancos	Lizama 2003	Transectos	2003	2	972
Fiordo Reloncaví	El Bosque	Prospección de Bancos	Lizama 2003	Transectos	2003	2	867
Fiordo Reloncaví	Relonhue	Prospección de Bancos	Lizama 2003	Transectos	2003	2	863
Fiordo Reloncaví	Central Canutillar	Prospección de Bancos	Lizama 2003	Transectos	2003	2	567
Fiordo Reloncaví	Piedra La Rana	Prospección de Bancos	Lizama 2003	Transectos	2003	2	218
Fiordo Reloncaví	Boca	Prospección y evaluación de la condición de bancos naturales FIPA 2014-57	Molinet 2023	Transectos	2013	24	23
Fiordo Reloncaví	Boca	Prospección y evaluación de la condición de bancos naturales FIPA 2014-57	Molinet 2023	Transectos	2015	52	93
Fiordo Reloncaví	Boca	Propuesta metodológica para el monitoreo de bancos naturales, UACH- INCAR	Molinet 2023	Transectos	2020	7	172
Fiordo Reloncaví	Cochamó	Prospección y evaluación de la condición de bancos naturales FIPA 2014-57	Molinet 2023	Transectos	2013	12	3
Fiordo Reloncaví	Cochamó	Prospección y evaluación de la condición de bancos naturales FIPA 2014-57	Molinet 2023	Transectos	2015	47	63
Fiordo Reloncaví	Cochamó	Propuesta metodológica para el monitoreo de bancos naturales, UACH- INCAR	Molinet 2023	Transectos	2020	6	90
Fiordo Reloncaví	Marimelli	Prospección y evaluación de la	Molinet 2023	Transectos	2013	10	37

Sector	Amerb/Sitio	Nombre Proyecto	Fuente	Metodología	año	Nº estaciones	Densidad media
		condición de bancos naturales FIPA 2014-57					
Fiordo Reloncaví	Marimelli	Prospección y evaluación de la condición de bancos naturales FIPA 2014-57	Molinet 2023	Transectos	2015	79	69
Fiordo Reloncaví	Marimelli	Propuesta metodológica para el monitoreo de bancos naturales, UACH- INCAR	Molinet 2023	Transectos	2020	14	29
Fiordo Reloncaví	Puelo	Prospección y evaluación de la condición de bancos naturales FIPA 2014-57	Molinet 2023	Transectos	2013	15	45
Fiordo Reloncaví	Puelo	Prospección y evaluación de la condición de bancos naturales FIPA 2014-57	Molinet 2023	Transectos	2015	58	94
Fiordo Reloncaví	Puelo	Propuesta metodológica para el monitoreo de bancos naturales, UACH- INCAR	Molinet 2023	Transectos	2020	13	62
Hualaihué	Cochamó	Definición de Criterios Biológicos... FIPA 2005-18	Leiva et al., 2007	Transectos	2007	5	348
Fiordo Reloncaví	Pichicolo	Definición de Criterios Biológicos... FIPA 2005-18	Leiva et al., 2007	Transectos	2007	6	76

3.3.3. Recopilar, analizar y sistematizar la información oceanográfica y ambiental disponible, sobre el Fiordo Reloncaví y las comunas de Hualaihué y Castro.

3.3.3.1. Programa de observación del ambiente litoral (POAL)

El Programa de observación del ambiente litoral (POAL) de la Dirección de intereses marítimos y medio ambiente acuático de la DIRECTEMAR y elaborado para dar cumplimiento a lo establecido en el Convenio y Protocolo para la protección del medio ambiente y la zona costera del pacífico sudeste (CPPS), tiene como objetivo el seguimiento de las condiciones ambientales, calidad y mantención de sus servicios ecosistémicos del medio marino y de los ecosistemas costeros, y consiste en la toma de muestras de agua, sedimento y biota, con el propósito de evaluar las concentraciones de los principales elementos contaminantes de las distintas actividades que se desarrollan en el borde costero.

En el marco del POAL, se monitorean un total de 68 parámetros para las matrices agua de mar, biota y sedimento marino, analizando compuestos orgánicos, hidrocarburos, indicadores, metales pesados, nutrientes y granulometría (Tabla 1.8).

El monitoreo debe realizarse dos veces al año entre los meses de abril-mayo y octubre-noviembre, y en el área de estudio se muestrean los cuerpos de agua Seno Reloncaví y Castro entre los años 2001

y 2022, la comuna de Hualaihué no presenta registros. En el Seno de Reloncaví el monitoreo se ha realizado en un total de 8 sectores, destacando los sectores de Boca Estero Reloncaví y Caleta la Arena quienes presentan la mayor serie de tiempo, 5 sectores presentan monitoreos solo en los últimos 3 años y 1 sector en los últimos dos años (Tabla 1.9). En el área de Castro se han monitoreado un total de 14 sectores, de los cuales Boya de Castro y Rauco, presenta un registro continuo desde el año 2003, 8 sectores presentan muestreos entre los años 2013 y 2022, y los sectores de Punta Pullao y Yutui, registran información los últimos 3 y 2 años respectivamente (Tabla 1.9).

En el cuerpo de agua de Castro, el monitoreo de las matrices agua de mar y sedimento marino presenta una serie de tiempo desde el año 2003, en tanto que la matriz biota presenta registros a partir del año 2013, por otro lado, en el Seno Reloncaví el monitoreo de las matrices agua de mar y biota comienzan año 2001 y para el sedimento marino a partir del año 2019 (Tabla 1.10).

Tabla 1.8. Resumen de parámetros según su tipo y matriz para los cuerpos de agua Seno Reloncaví y Castro en el marco del Programa de Observación del ambiente litoral (POAL).

MATRIZ	TIPO	PARAMETRO	UNIDAD
Agua de Mar	Compuestos orgánicos	Aceites y Grasas	mg/L
	Hidrocarburos	Acenafteno	ug/L
		Acenaftileno	ug/L
		Antraceno	ug/L
		Benzo(a)antraceno	ug/L
		Benzo(a)pireno	ug/L
		Benzo(b)fluoranteno	ug/L
		Benzo(ghi)perileno	ug/L
		Benzo(k)fluoranteno	ug/L
		Coliformes Fecales	NMP/100 ml
		Criseno	ug/L
		Dibenzo(a,h)antraceno	ug/L
		Fenantreno	ug/L
		Fluoranteno	ug/L
		Fluoreno	ug/L
		HAPs	ug/L
		Hidrocarburos fijos	mg/L
		Hidrocarburos Totales	mg/L
		Hidrocarburos volátiles	mg/L
		Indeno(1 2 3-cd)pireno	ug/L
		Naftaleno	ug/L
		Pireno	ug/L
	Indicadores	Coliformes Fecales	NMP/100 ml
		DBO5 20C	mg/L
		Oxígeno Disuelto	mg/L
		Sólidos Disueltos y Suspendidos	mg/L
	Metales pesados	Arsénico Disuelto	mg/L - ug/L

MATRIZ	TIPO	PARAMETRO	UNIDAD
		Cadmio Disuelto	mg/L - ug/L
		Cadmio Total	ug/L
		Cobre Disuelto	mg/L - ug/L
		Cobre Total	ug/L
		Cromo Disuelto	mg/L - ug/L
		Cromo Total	ug/L
		Mercurio Disuelto	mg/L - ug/L
		Mercurio Total	ug/L
		Plomo Disuelto	mg/L - ug/L
		Plomo Total	ug/L
		Zinc Disuelto	ug/L
		Zinc Total	ug/L
	Nutrientes	Amonio	mg/L - ug/L
		Fosfato	mg/L
		Fosforo Total	mg/L
		Nitrato	mg/L - ppm
		Nitrito	mg/L - ppm
		Nitrito más Nitrato (lagos)	mg/L
		Nitrógeno Total Kjeldahl	mg/L
		Nitrógeno-Amonio	ppm
		Nitrógeno-Nitrato	mg/L
		P - Fosfato	mg/L
Biotas	Hidrocarburos	Hidrocarburos Totales	mg/kg
	Indicadores	Coliformes Fecales	NMP/100 g
		Humedad 35C - 105C	mg/kg
	Metales pesados	Arsénico Total	mg/kg
		Cadmio Total	mg/kg
		Cobre Total	mg/kg
		Cromo Total	mg/kg
		Mercurio Total	mg/kg
		Plomo Total	mg/kg
		Zinc Total	mg/kg
	Nutrientes	Fosforo Total	mg/kg
		Nitrógeno Total Kjeldahl	mg/kg
Sedimento Marino	Compuestos orgánicos	Carbono Orgánico Total	%
		Materia Orgánica	%
	Granulometría	Arena Fina 0.125mm	%
		Arena Gruesa 0.5	%
		Arena Media 0.25mm	%
		Arena Muy Fina 0.063mm	%
		Arena Muy Gruesa 1.0mm	%
		Fango	%
		Grava Muy Fina 2.0mm	%
	Hidrocarburos	Fluoreno	mg/kg
		HAPs	mg/kg
		HF C34-C50	mg/kg
		Hidrocarburos Totales	mg/kg
		Indeno(1 2 3-cd)pireno	mg/kg
		Naftaleno	mg/kg

MATRIZ	TIPO	PARAMETRO	UNIDAD
		Pireno	mg/kg
		Xileno	mg/kg
	Indicadores	Humedad 35 C - 105C	%
		HV C5-C10	mg/kg
		PCBs	ug/Kg
		Pentaclorofenol	mg/kg
	Metales pesados	Arsénico Total	mg/kg
		Cadmio Total	mg/kg
		Cobre Total	mg/kg
		Cromo Total	mg/kg
		Mercurio Total	mg/kg
		Plomo Total	mg/kg
		Zinc Total	mg/kg
	Nutrientes	Fosforo Total	mg/kg
		Nitrógeno Total y Total Kjeldahl	mg/kg

Tabla 1.9. Sectores de muestreo y serie de tiempo de monitoreo en los cuerpos de agua Seno Reloncaví y Castro en el marco del Programa de Observación del ambiente litoral (POAL).

CUERPO DE AGUA	SECTOR DE MUESTREO	2001	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2013	2014	2015	2016	2017	2019	2021	2022
SENO RELONCAVI	Boca Estero Reloncaví	X		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X		
	Caleta Gutiérrez																X	X	X
	Caleta La Arena			X		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
	Morro Chico																X	X	X
	Morro Hornos																	X	X
	Punta Alerce																X	X	X
	Punta Barquillo																X	X	X
	Yerbas Buenas																X	X	X
CASTRO	Boya Castro		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
	Linlinao											X	X	X	X	X	X	X	X
	Palafitos Pedro Montt											X	X	X	X	X	X	X	X
	Puente Ten Ten											X	X	X	X	X	X	X	X
	Pullao											X	X	X	X	X	X	X	X
	Punta Línlnao		X		X	X	X	X	X	X	X								
	Punta Pullao																X	X	X
	Punta Tenten		X			X	X	X	X	X	X	X							
	Putemún 1											X	X	X	X	X	X	X	X
	Putemún 2											X	X	X	X	X	X	X	X
	Putemún Control											X	X	X	X	X	X	X	X
	Putemún Ifop											X	X	X	X	X	X	X	X
	Rauco		X		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
	Yutui																	X	X

Tabla 1.10. Serie de tiempo de monitoreo según tipo de análisis y matriz en los cuerpos de agua Seno Reloncaví y Castro en el marco del Programa de Observación del ambiente litoral (POAL).

CUERPO DE AGUA	MATRIZ	TIPO DE ANALISIS	2001	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2013	2014	2015	2016	2017	2019	2021	2022
SENO RELONCAVI	Agua de Mar	Compuestos orgánicos	X		X	X	X	X	X	X	X	X								
		Hidrocarburos				X		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X			
		Indicadores	X		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
		Metales pesados	X		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
		Nutrientes	X		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
	Biotas	Hidrocarburos								X	X									
		Indicadores			X		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X			
		Metales pesados			X		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X		X
		Nutrientes								X	X									
	Sedimento Marino	Compuestos orgánicos																X	X	X
		Granulometría																X	X	X
		Hidrocarburos																		X
		Metales pesados																X	X	X
		Nutrientes																X	X	X
CASTRO	Agua de Mar	Compuestos orgánicos		X	X	X	X	X	X	X	X	X								
		Hidrocarburos		X				X	X	X	X	X	X	X	X	X	X			
		Indicadores		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
		Metales pesados		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
		Nutrientes		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
	Biotas	Indicadores											X	X	X	X	X			
		Metales pesados											X	X	X	X	X	X	X	X
	Sedimento Marino	Compuestos orgánicos		X		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
		Granulometría											X	X	X	X	X	X	X	X
		Hidrocarburos						X	X	X	X	X	X	X	X	X	X			X
		Indicadores		X		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X		X			
		Metales pesados		X		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
		Nutrientes		X		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X

3.3.3.2. Catastro de las actividades que se realizan en el borde costero

En las Figuras 1.16, 1.17 y 1.18 se representan las distintas actividades desarrolladas en el borde costero del Fiordo Reloncaví y comunas de Hualaihué y Castro, donde también se incluyen la presencia de cuerpos de agua, los cuales podrían tener un impacto sobre los bancos naturales y afectar la permanencia del banco natural (Proyecto GIS, Anexo 1.2). En el borde costero del Fiordo Reloncaví se identificaron un total de 208 actividades realizadas equivalentes a 2403 ha de superficie utilizadas, en cuanto a la comuna de Hualaihué las actividades realizadas suman un total 170 equivalentes a 3654 ha de superficie mientras que en la comuna de Castro suman un total de 46 actividades y 1642 ha de superficie, las cuales están autorizadas por la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura, donde se incluyen Concesiones de Acuicultura, Áreas de Manejo, entre otras, y concesiones del uso del borde costero aprobadas por la Autoridad Marítima (Tabla 1.11).

Tablas 1.11. Número y superficie utilizada por actividades según tipo de uso en el borde costero de las zonas de Fiordo Reloncaví, Hualaihué y Estero Castro.

Zona	Tipo de uso	Cantidad	Superficie (ha)
Fiordo Reloncaví	AMERB	24	1488
	Concesiones acuicultura salmónidos	43	287
	Concesiones acuicultura moluscos	66	339
	Área de colecta de semillas mitílicos	75	289
Hualaihué	AMERB	30	2804
	Concesiones acuicultura salmónidos	38	326
	Concesiones acuicultura moluscos	45	309
	Área de colecta de semillas mitílicos	57	215
Estero Castro	AMERB	0	0
	Concesiones acuicultura salmónidos	8	71
	Concesiones acuicultura moluscos	21	112
	Área de colecta de semillas mitílicos	15	306
	Reserva marina	1	567
	Espacio costero marino pueblos originarios	1	586

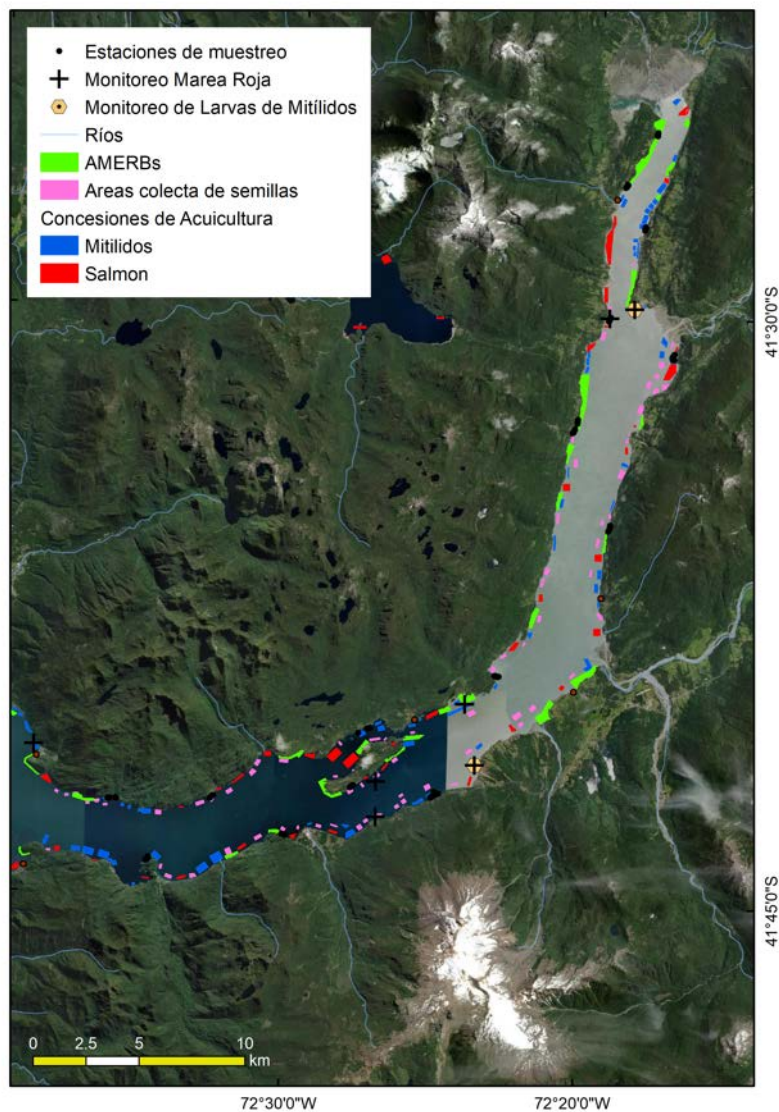


Figura 1.16. Mapa del catastro de las actividades realizadas en el borde costero de Fiordo Reloncaví.

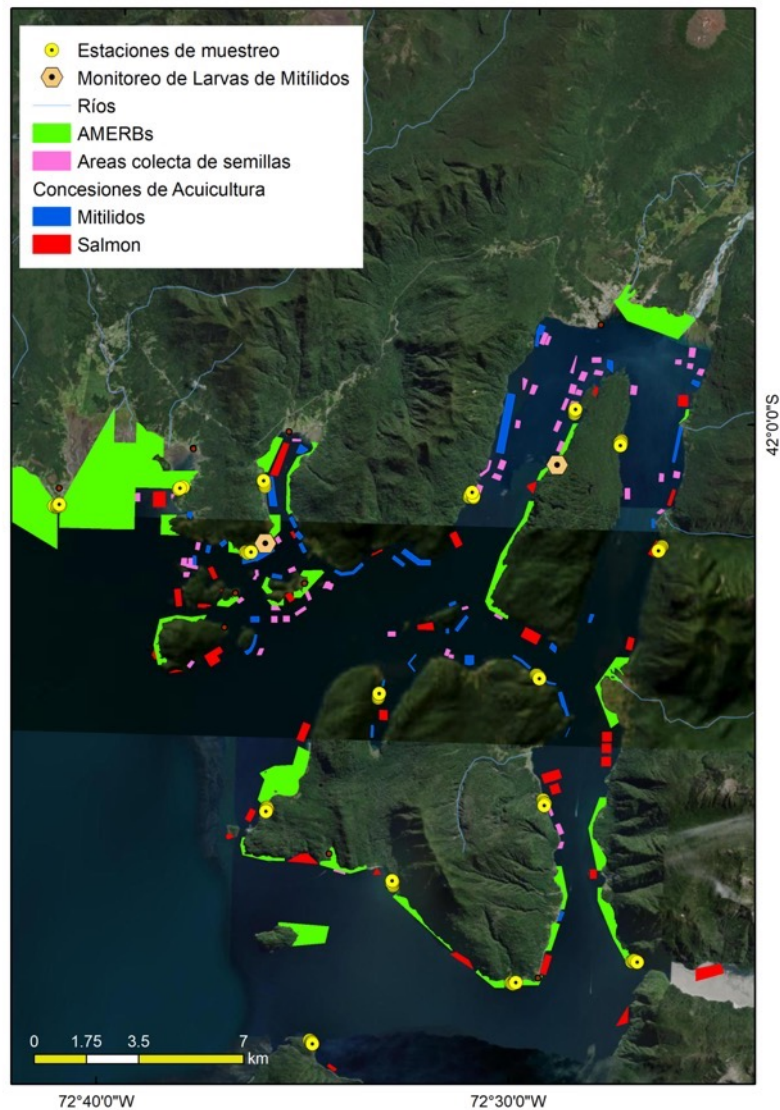


Figura 1.17. Mapa del catastro de las actividades realizadas en el borde costero de Hualaihué.

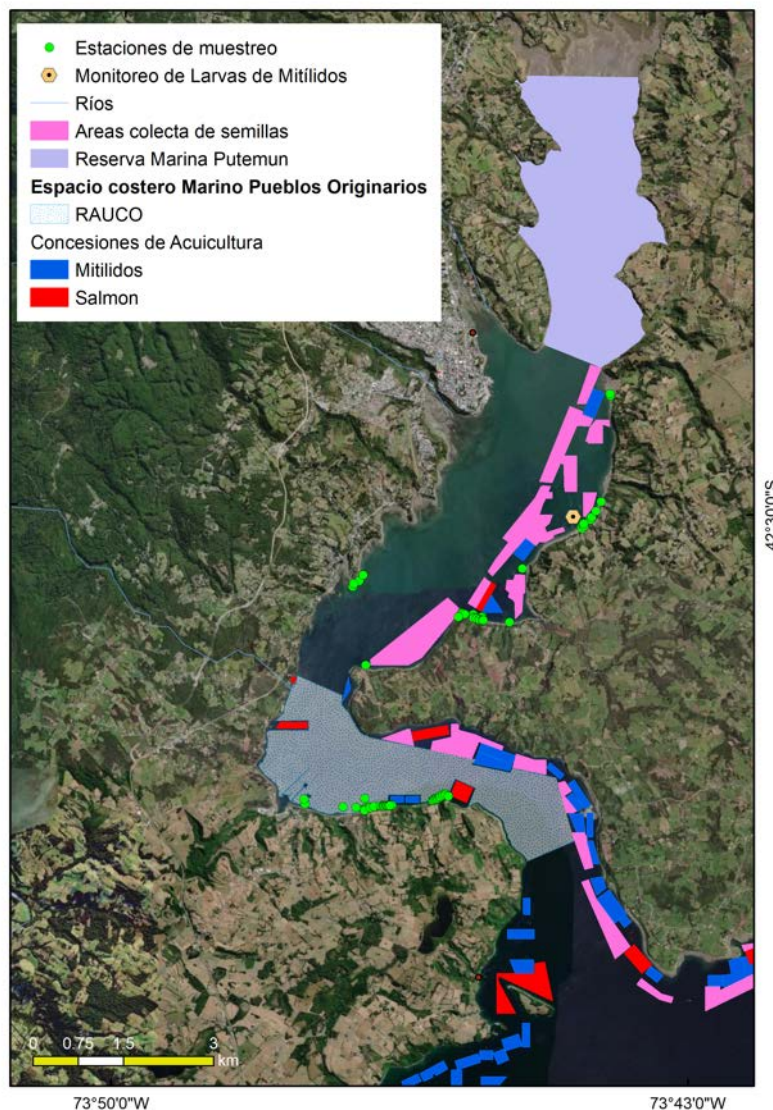


Figura 1.18. Mapa del catastro de las actividades realizadas en el borde costero de Castro.

3.3.4. Análisis de crecimiento de *Mytilus chilensis* en bancos naturales

Estudios de crecimiento de los moluscos bivalvos de la Región de Los Lagos son también escasos, a pesar de la importancia económica que representan. Se destaca la variación de crecimiento entre zonas y tipo de ambiente, es decir crecimiento en banco natural versus crecimiento en sistema suspendido.

En *M. chilensis* el crecimiento hasta 5 cm en banco natural varía entre 36 meses a 48 meses (Clasing et al., 1998). Mientras que en los 80's en sistema suspendido se alcanzaba 55 mm en un periodo de 14 a 17 meses en la bahía de Yaldad (Chaparro & Winter, 1983), zona que representa uno de los primeros y más importantes semilleros en los comienzos de la mitilicultura intensiva en Chiloé (Buzeta et al., 1988). En 2011, Marambio et al. (2012) observó un periodo de 13 meses para un crecimiento de 25 mm en un centro de cultivo de Rilán.

Choromytilus chorus muestra un crecimiento acelerado el primer año en sistema suspendido, alcanzando 60 mm, luego su crecimiento se desacelera tardando 2 años en llegar a 10 mm (Lorenzen et al., 1979; Aracena, 1983).

3.3.4.1. Estudio de cohortes

La estructura de tallas para el Fiordo Reloncaví presenta una alta variabilidad en el periodo analizado, con tallas inferiores a 15 mm en las temporadas 2015-2016, 2019-2020 y 2022-2023 y sobre 80 mm en las temporadas 2011-2012 y 2022-2023, con una estructura bimodal bien marcada entre los 2009 y 2012, y una estructura de tallas uniforme entre los años 2013 y 2023. Utilizando el criterio de información de Akaike (AIC), los modelos más informativos identificaron 4 y 7 cohortes por temporada, con una cohorte principal entre 60 mm y 70 mm entre las temporadas 2009 y 2014, 2016 y 2022, mientras que en las temporadas 2015-2016 y 2019-2020, la cohorte principal estimada presentó una media de 33 mm y 27 mm, respectivamente (Tabla 1.12, Figura 1.19).

Tabla 1.12. Estimados de los parámetros del modelo de cohortes seleccionado en el análisis de la distribución de la frecuencia de tallas del recurso *Mytilus chilensis* para la zona del Fiordo Reloncaví, entre las temporadas 2009 a 2023. Ee, error estándar.

Temporada	N° Cohortes	Proporción		Talla Media		Desviación Estándar	
		Estimado	Ee	Estimado	Ee	Estimado	Ee
2009-2010	1	0,121	0,011	30,541	0,642	6,283	0,518
	2	0,030	0,010	27,853	0,401	1,627	0,416
	3	0,429	0,243	64,376	1,341	5,773	1,379
	4	0,278	0,223	71,155	6,846	10,190	1,795
	5	0,143		52,979	2,738	4,890	1,080
2010-2011	1	0,130	0,034	30,707	1,687	6,998	0,998
	2	0,083	0,020	28,326	0,298	2,244	0,391
	3	0,596	0,084	55,217	1,389	10,797	1,034
	4	0,192		59,467	0,824	4,964	1,048

Temporada	N° Cohortes	Proporción		Talla Media		Desviación Estándar	
		Estimado	Ee	Estimado	Ee	Estimado	Ee
2011-2012	1	0,038	0,024	27,295	2,700	3,975	1,207
	2	0,194	0,081	52,266	1,953	5,277	1,825
	3	0,021	0,034	37,304	5,577	4,338	5,674
	4	0,064	0,031	59,634	0,368	1,353	0,452
	5	0,521	0,241	68,120	1,229	5,639	1,954
	6	0,162		80,463	6,336	6,209	2,012
2013-2014	1	0,032	0,019	50,774	0,772	1,911	0,895
	2	0,147	0,145	43,659	7,670	9,225	3,779
	3	0,602	0,166	62,208	1,487	8,311	0,968
	4	0,219		58,029	3,142	16,135	1,899
2014-2015	1	0,070	0,027	22,164	1,250	4,537	0,573
	2	0,294	0,108	36,569	1,609	7,314	1,368
	3	0,101	0,171	64,593	1,319	4,939	2,683
	4	0,060	0,031	54,533	0,597	2,431	0,658
	5	0,448	0,168	58,354	6,422	11,324	2,514
	6	0,026		79,852	1,510	3,677	0,996
2015-2016	1	0,005	0,001	10,865	0,085	0,491	0,058
	2	0,124	0,068	22,822	1,401	4,957	0,462
	3	0,499	0,151	32,540	1,298	6,434	0,685
	4	0,284	0,200	44,537	3,804	8,359	2,528
	5	0,088		59,020	9,502	10,083	2,450
2016-2017	1	0,007	0,003	16,941	0,197	0,513	0,150
	2	0,061	0,054	26,263	2,483	3,625	1,001
	3	0,015	0,009	39,151	0,340	0,571	0,274
	4	0,161	0,207	37,259	2,883	5,089	4,003
	5	0,439	0,696	54,447	8,167	7,711	8,566
	6	0,120	0,279	62,939	1,404	3,728	2,767
	7	0,196		71,174	12,052	8,606	3,267
2018-2019	1	0,006	0,002	14,575	0,686	1,912	0,495
	2	0,080	0,020	26,498	1,232	4,032	0,838
	3	0,141	0,053	38,055	0,817	3,808	1,061
	4	0,381	0,102	51,351	0,914	5,976	1,290
	5	0,391		67,074	1,665	7,539	0,722
2019-2020	1	0,049	0,007	11,984	0,214	1,364	0,138
	2	0,201	0,079	20,226	1,226	4,109	0,558
	3	0,385	0,069	27,743	1,232	5,972	0,424
	4	0,365		50,624	1,132	13,477	0,531
2022-2023	1	0,038	0,012	14,228	0,647	2,545	0,321
	2	0,076	0,024	21,134	1,427	4,126	0,673
	3	0,258	0,058	35,279	1,046	6,975	1,382
	4	0,011	0,013	44,409	1,234	1,602	1,422
	5	0,615	0,037	54,844	0,632	8,361	0,377
	6	0,002		83,444	2,589	3,214	1,578

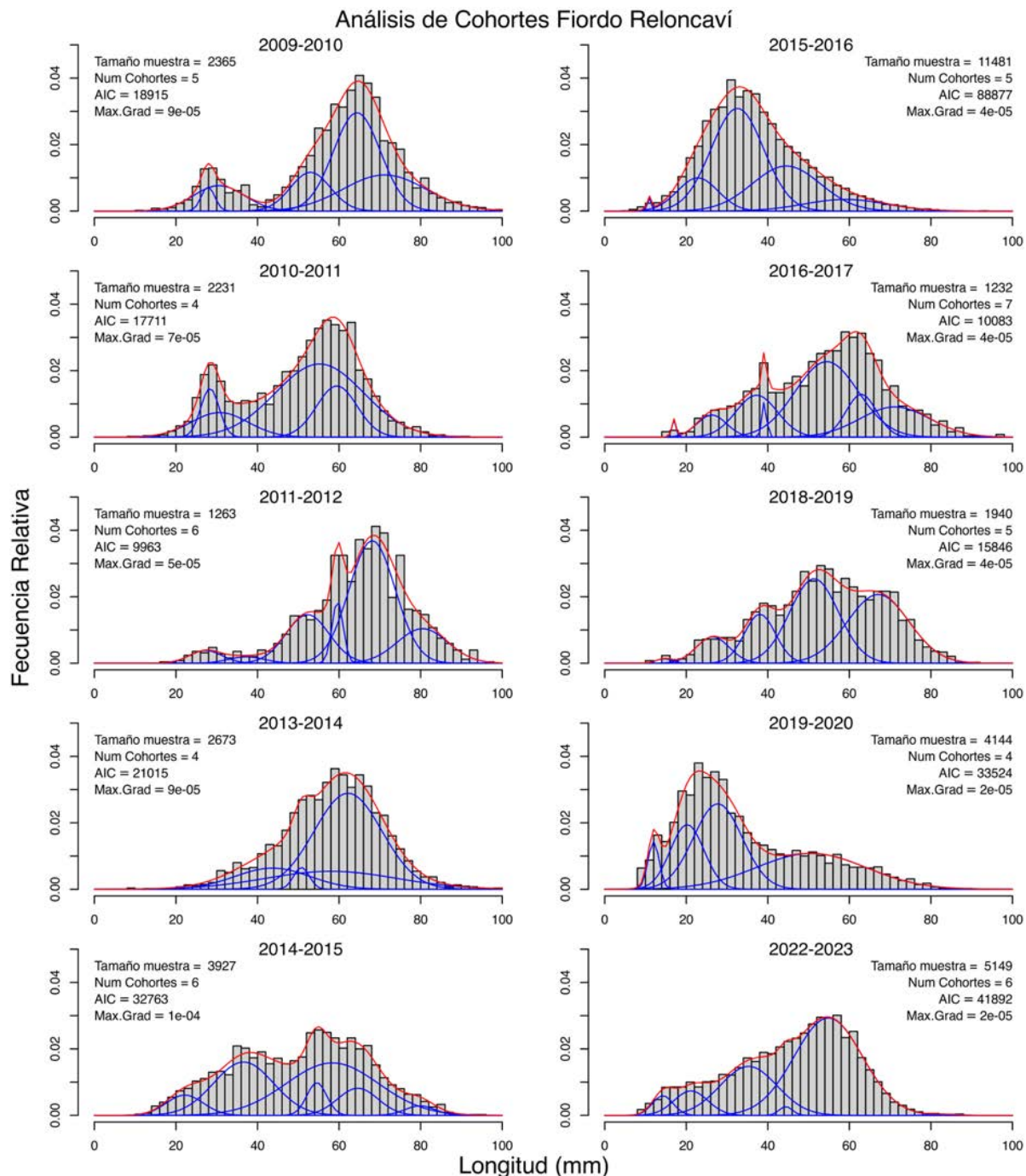


Figura 1.19. Distribución de tamaños y resultados del análisis de cohortes de *Mytilus chilensis* para la zona Fiordo Reloncaví para los años 2009 y 2023, mostrando el modelo más informativo para cada una de las temporadas analizadas. Líneas azules muestras la distribución de la proporción de cada una de las cohortes. Línea roja muestra la distribución acumulada. AIC es el criterio de información de Akaike.

En el área de Hualaihué, la distribución de tallas varió entre 10 mm y 80 mm entre los años 2009 y 2020, con una estructura principalmente unimodal con excepción de las temporadas 2009-2010, 2012-2013 y 2013-2014, en que la estructura observada presenta una estructura bimodal. El número de cohortes identificadas a través de AIC varió entre 3 y 7 cohortes, siendo las temporadas 2010-2011 y 2014-2015, las únicas en donde el modelo estimado más informativo fue aquel en donde se identificaron 7 cohortes. En el área de Hualaihué a diferencia de la zona Fiordo Reloncaví, principalmente se observan 2 cohortes que contribuyen de manera significativa a la población muestreada, entre 20-40 mm y entre 50-60mm (Tabla 1.13, Figura 1.20).

Tabla 1.13. Parámetros estimados del modelo de cohortes seleccionado para el recurso *Mytilus chilensis* para la zona de Hualaihué entre las temporadas 2009 a 2020. Ee, error estándar.

Temporada	N° Cohortes	Proporción		Talla Media		Desviación Estándar	
		Estimado	Ee	Estimado	Ee	Estimado	Ee
2009-2010	1	0,055	0,043	28,766	1,763	2,381	1,423
	2	0,070	0,032	32,581	0,396	1,394	0,238
	3	0,542	0,106	51,146	0,674	6,800	0,662
	4	0,290	0,112	43,809	1,409	11,293	0,680
	5	0,043		63,348	0,826	3,054	0,748
2010-2011	1	0,002	0,001	10,995	0,257	0,500	0,179
	2	0,246	0,127	32,011	1,052	3,427	1,078
	3	0,069	0,106	24,797	5,877	4,034	1,858
	4	0,047	0,217	64,256	7,391	4,344	4,046
	5	0,132	0,257	40,719	0,946	2,692	2,256
	6	0,497	0,507	51,130	1,964	7,126	7,332
	7	0,006		79,595	2,743	4,071	1,659
2011-2012	1	0,090	0,037	60,005	1,202	5,563	0,832
	2	0,153	0,015	32,015	0,181	2,274	0,210
	3	0,757		44,839	0,780	10,166	0,319
2012-2013	1	0,226	0,160	31,679	5,401	6,386	2,756
	2	0,079	0,264	42,322	4,254	2,812	4,851
	3	0,674	0,453	53,267	4,581	7,828	5,417
	4	0,022		71,862	32,662	5,733	12,977
2013-2014	1	0,051	0,022	23,931	1,428	3,062	0,727
	2	0,288	0,042	33,280	0,343	3,417	0,434
	3	0,563	0,102	50,988	0,827	7,833	0,531
	4	0,074	0,135	41,908	4,364	13,443	3,882
	5	0,024		59,694	0,868	1,344	0,774
2014-2015	1	0,073	0,043	22,618	1,446	3,113	0,972
	2	0,014	0,004	14,183	0,630	1,837	0,375
	3	0,231	0,083	32,639	0,777	4,394	1,632
	4	0,554	0,185	51,168	0,778	7,122	2,572
	5	0,014	0,012	75,125	3,518	3,877	1,428
	6	0,045	0,106	64,773	3,915	4,048	3,677
	7	0,068		41,369	0,813	2,226	1,125

Temporada	N° Cohortes	Proporción		Talla Media		Desviación Estándar	
		Estimado	Ee	Estimado	Ee	Estimado	Ee
2015-2016	1	0,006	0,002	12,628	0,519	1,118	0,380
	2	0,195	0,050	27,403	1,375	5,038	0,697
	3	0,223	0,023	38,740	1,289	4,674	0,771
	4	0,349	0,300	48,622	6,155	7,287	3,798
	5	0,227		59,422	3,710	6,060	0,947
2015-2017	1	0,032	0,037	23,713	1,544	2,836	1,235
	2	0,202	0,076	32,711	1,453	5,180	1,653
	3	0,341	0,129	45,088	0,886	4,538	0,909
	4	0,418	0,097	56,061	1,555	5,973	0,755
	5	0,007		78,343	1,517	3,193	1,060
2018-2019	1	0,010	0,005	24,815	0,391	0,916	0,291
	2	0,174	0,119	31,660	3,131	5,193	0,952
	3	0,388	0,225	43,116	1,398	5,636	2,044
	4	0,423	0,124	56,223	1,975	6,490	0,796
	5	0,005		72,996	0,639	1,099	0,420
2019-2020	1	0,146	0,043	30,385	2,122	5,512	0,998
	2	0,123	0,057	39,545	0,863	3,086	0,801
	3	0,041	0,016	45,890	0,264	0,850	0,250
	4	0,601	0,125	54,279	0,932	6,547	1,523
	5	0,090		67,783	3,124	4,322	1,192

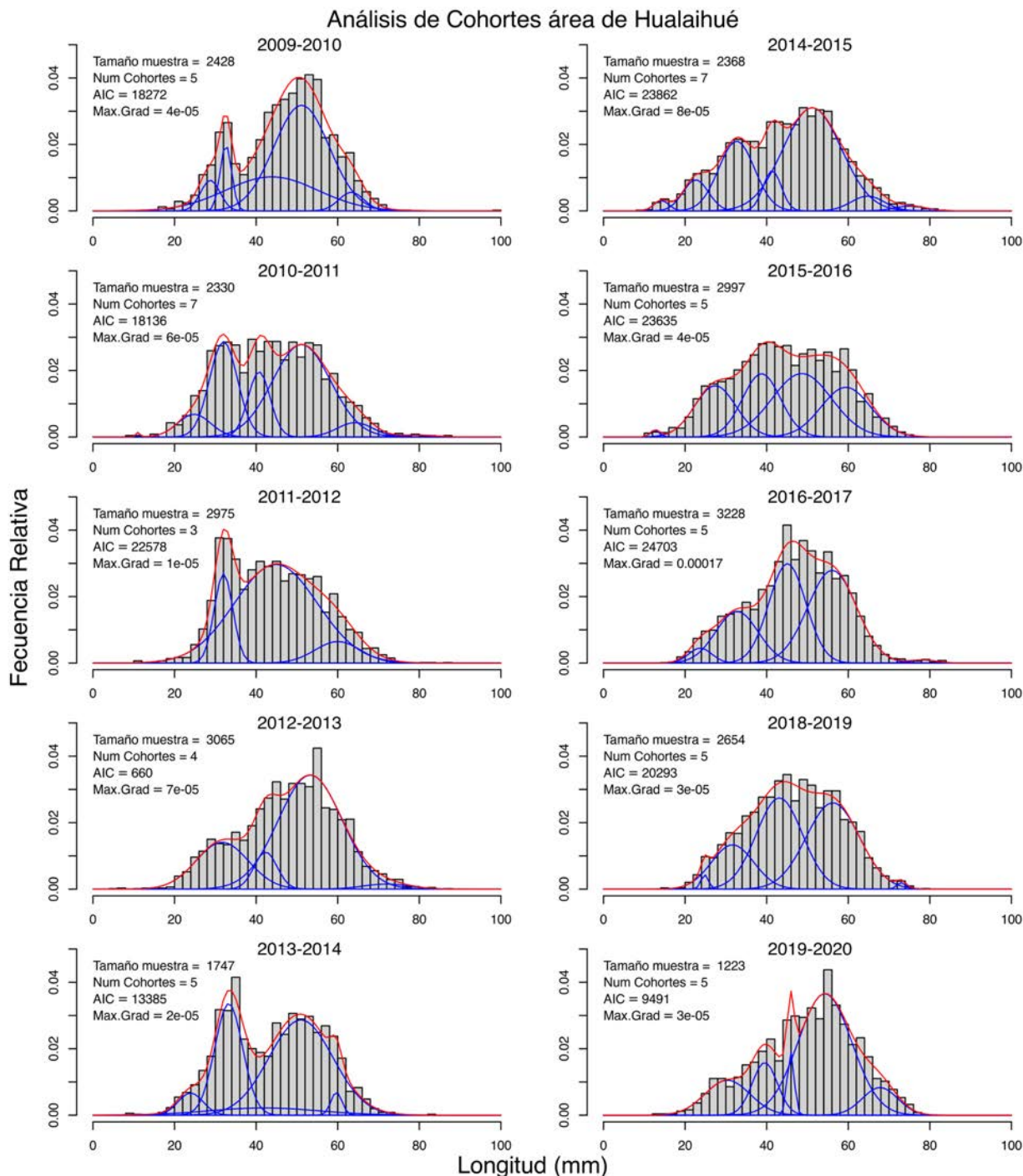


Figura 1.20. Distribución de tamaños y resultados del análisis de cohortes de *Mytilus chilensis* para la zona de Hualaihué para los años 2009 a 2020, mostrando el modelo más informativo para cada una de las temporadas analizadas. Líneas azules muestran la distribución de la proporción de cada una de las cohortes. Línea roja muestra la distribución acumulada. AIC es el criterio de información de Akaike.

3.3.4.2. Asignación de edad

La asignación de edades siguiendo la metodología utilizada por Roa-Ureta (2010) y en donde los individuos tienden a crecer con la edad y que no es posible dos tallas medias del mismo año pertenezcan a la misma cohorte, y asignando como edad cero a las tallas medias inferiores (~10 mm), permitió la identificación de 7 edades para las tallas medias obtenidas desde los modelos de mezcla de distribuciones normales (Tabla 1.14, Figura 1.21).

En la zona Fiordo Reloncaví, el rango de tallas para cada una de las edades vario entre 3 mm en la edad 1 y 13 mm en la edad 5, estimando en la edad 0 un mínimo de talla media 7 mm en la temporada 2022-2023 y una talla media máxima en la edad 6 de 84 mm en la temporada 2009-2010 (Tabla 1.14, Figura 1.21).

En la zona de Hualaihué, en la temporada 2010-2011 se estimó talla media menor con una longitud de 11 mm, mientras que en la temporada 2016-2017 se estimó la máxima talla media con una longitud de 87 mm. Para cada una de las edades asignadas el rango de tallas varió desde 3 mm en la edad 0 a 15 mm en las edades 3, 4 y 6 (Tabla 1.14, Figura 1.21).

Tabla 1.14. Resumen estadístico de tallas medias obtenidas a través del análisis de cohortes de *Mytilus chilensis* para las temporadas comprendida los años 2009 y 2023, en las zonas Fiordo Reloncaví y Comuna de Hualaihué.

Zona	Edad	Longitud Media (mm)		
		Mínimo	Promedio	Máximo
Fiordo Reloncaví	0	10,9	13,7	16,9
	1	20,2	24,7	28,3
	2	27,7	35,0	43,7
	3	39,2	49,6	55,2
	4	54,4	59,5	67,1
	5	62,2	68,7	83,4
	6	71,2	77,2	80,5
Comuna de Hualaihué	0	11,0	12,6	14,2
	1	22,6	25,8	30,4
	2	31,7	33,7	39,5
	3	40,7	43,8	48,6
	4	51,0	54,4	60,0
	5	59,7	67,9	78,3
	6	75,1	77,4	79,6

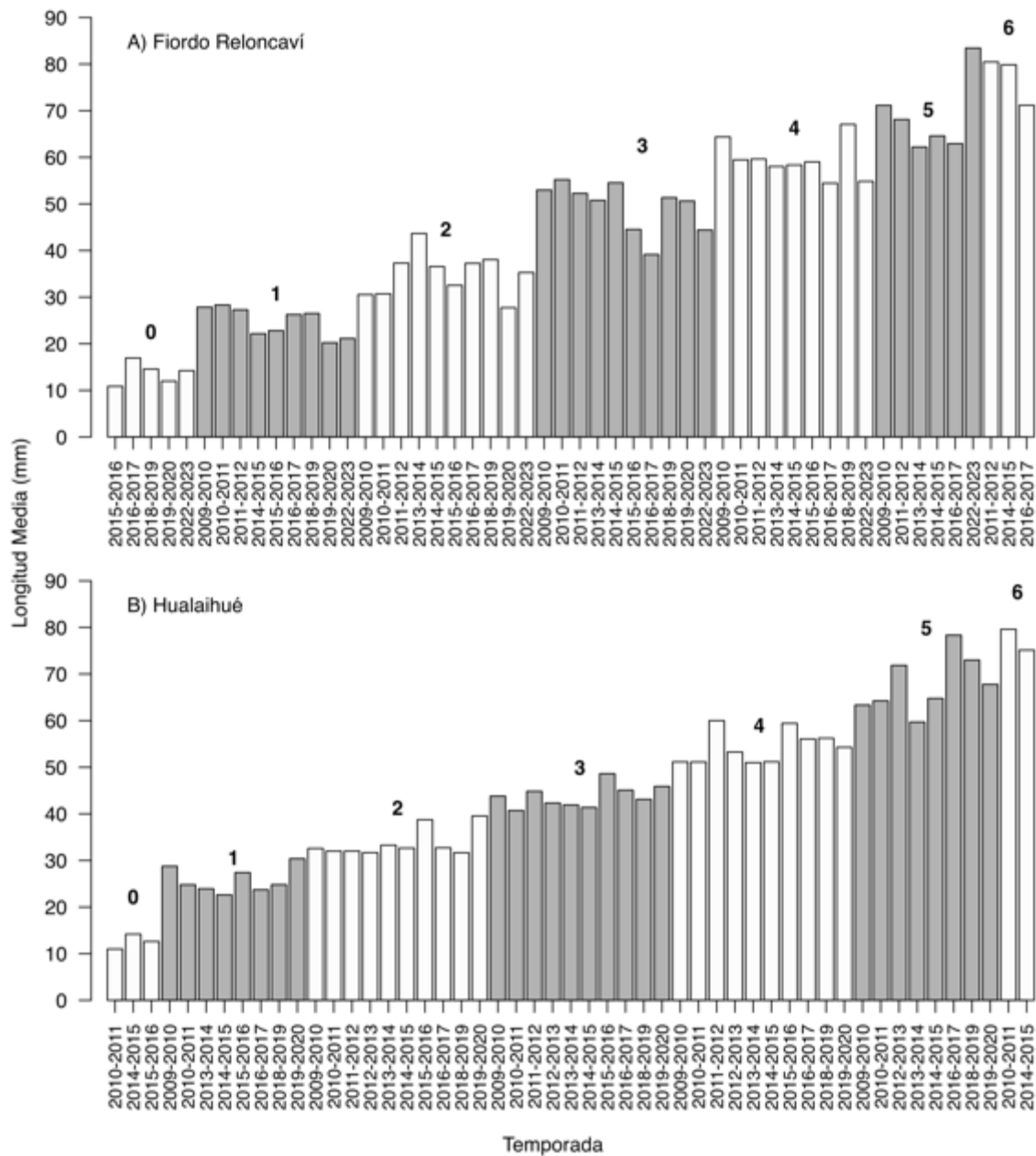


Figura 1.21. Asignación de clases de edades de *Mytilus chilensis* para las tallas medias obtenidas para cada una de las temporadas a través del análisis de cohortes entre los años 2009 y 2023 para las zonas A) Fiordo Reloncaví y B) Hualaihué. El cambio de color desde blanco a gris indica un cambio en la asignación de edad.

3.3.4.3. Modelo de crecimiento

Los parámetros estimados para cada uno de los modelos de crecimiento evaluados y zonas se muestran en la Tabla 1.15. Utilizando el criterio de información de Akaike (AIC), para la zona Fiordo de Reloncaví el modelo seleccionado corresponde al modelo de Schnute, mientras que para la zona de Hualaihué, menor AIC fue obtenido para el modelo Gompertz, pero con un alto valor estimado del parámetro L_{inf} , siendo el segundo modelo más informativo, al igual que la zona Fiordo Reloncaví, el modelo de Schnute (Tabla 1.15). El modelo de crecimiento estimado para cada zona se muestra en la Figura 1.22.

Tabla 1.15. Parámetros estimados, error estándar (Ee) e índice AIC para los Modelos de crecimiento Von Bertalanfy, Gompertz, Schnute y Tanaka para datos de frecuencia de talla de *Mytilus chilensis* de las zonas Fiordo Reloncaví y Hualaihué.

Zona	Modelo	Parámetros	Estimado	Ee	AIC
Fiordo Reloncaví	VonBertalanfy	L_{inf}	74,0131	0,0282	770
		K	0,3176	0,0335	
		t_0	0,7134	0,0307	
	Gompertz	L_{inf}	72,8625	0,0220	681
		gt	0,5910	0,0090	
		t_0	2,0336	0,0148	
	Schnute	a	4,2870	0,0271	566
		b	-14,5579	0,2121	
		y_1	14,2829	0,0200	
		y_2	84,1524	0,0555	
	Tanaka	a	0,0130	0,0030	703
		b	3,9959	0,0002	
		c	0,0000	NaN	
		d	80,9945	0,0215	
Hualaihué	VonBertalanfy	L_{inf}	82,7314	0,0066	747
		K	0,2500	0,0152	
		t_0	-0,2917	0,0236	
	Gompertz	L_{inf}	127,2925	0,0305	675
		gt	0,2286	0,0047	
		t_0	3,3985	0,0080	
	Schnute	a	0,2615	0,0012	678
		b	-0,3616	0,0012	
		y_1	16,7323	0,0230	
		y_2	88,8566	0,0402	
	Tanaka	a	0,0056	0,0020	769
		b	3,0812	0,0062	
		c	0,0002	NaN	
		d	80,1095	0,0187	

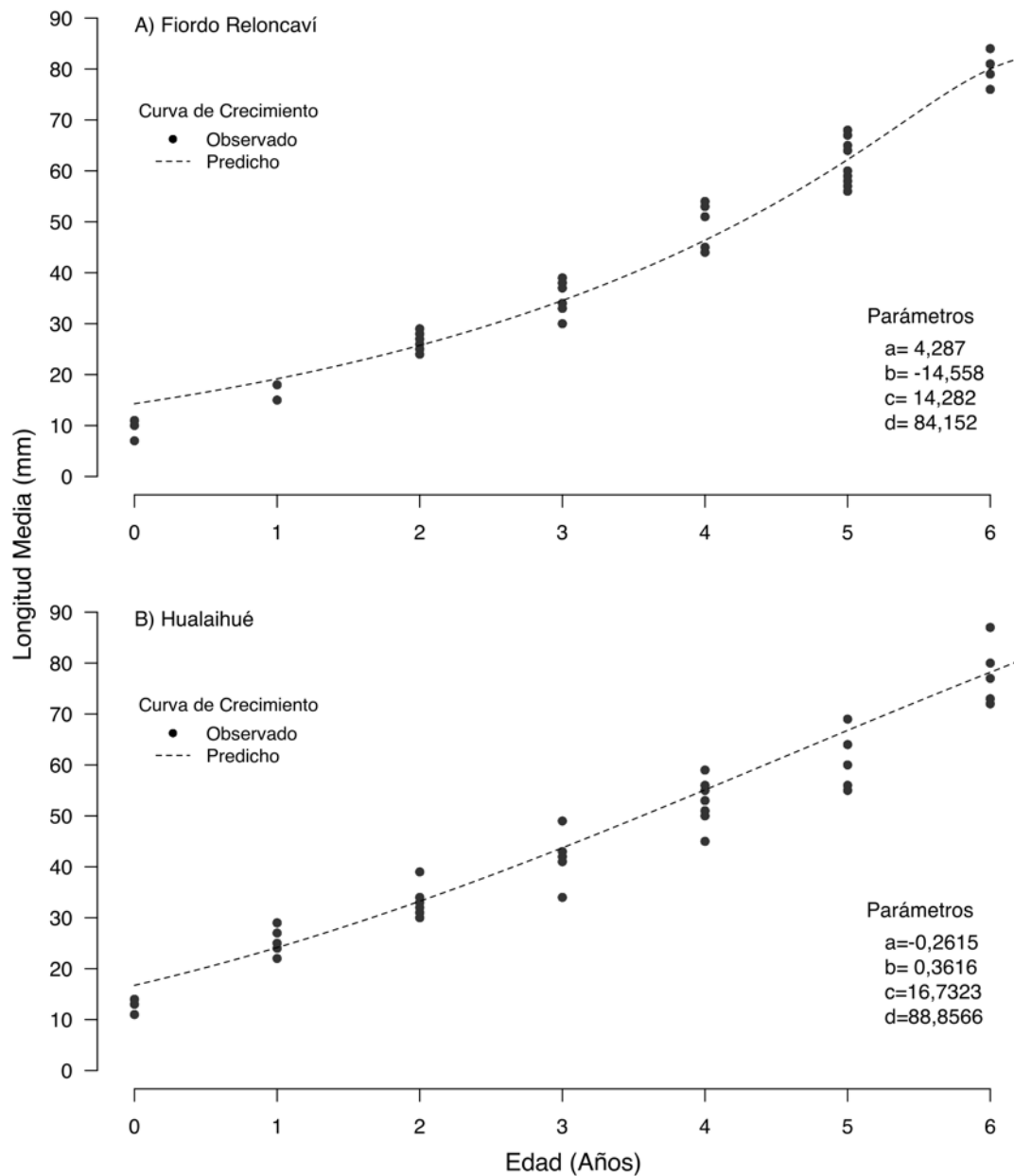


Figura 1.22. Curva de crecimiento y parámetros del modelo de Schnute para *Mytilus chilensis* de las zonas A) Fiordo Reloncaví y B) Hualaihué, se originan a partir de la Longitud Media (mm) y Edad (Años) obtenidos del modelo de distribución de cohortes.

3.3.5. Identificación y caracterización de áreas de mayor y menor concentración de mitílidos.

3.3.5.1. Identificación y caracterización

En el Fiordo Reloncaví, se han realizado campañas de muestreo en al menos 12 estaciones anuales en 2013, 2014, 2015, 2020 y 2022, financiado por diversas instituciones (Molinet et al., 2015; Molinet et al., 2016; Molinet et al., 2021a) (Tabla 1.16, Figuras 1.23, 1.24 y 1.25). Haciendo una síntesis de los hallazgos realizados en estas campañas Molinet et al. (2021b) elaboraron una contribución para una Política Pública: “Propuesta metodológica para el monitoreo de bancos naturales de mejillones en áreas de captación de semillas para la mitilicultura”, en el marco del proyecto FONDAP INCAR.

En la comuna de Hualaihué, existe un registro de bancos en Pichicolo (Leiva et al., 2007), en el marco del proyecto FIPA 2005-18. Además, en febrero de 2020 se realizó una campaña exploratoria que incluyó puntos de muestreo en Hualaihué, Canal Cholgo y Canal Llancahué, registrándose un cinturón de mitílidos más angosto que lo observado en el Fiordo Reloncaví (Figura 1.25), coincidente con una haloclina más superficial en los sectores mencionados, comparado con el Fiordo Reloncaví.

Tabla 1.16. Resumen de muestreos realizados en bancos de mitílidos en el Fiordo Reloncaví y comuna de Hualaihué. * Transectos para definir la posición de cuadrantes en intermareal y submareal (tres cuadrantes). ** Video transectos desde 0 a 15 m aproximadamente.

Año	Sector	N° Estaciones	N° Transectos
2003	Fiordo Reloncaví	23	46*
2007	Chaiquén, Fiordo Reloncaví	2	10*
2007	Pichicolo	2	10
2013	Fiordo Reloncaví	12 (5)	60**
2014	Fiordo Reloncaví	12 (5)	60**
2015	Fiordo Reloncaví	47 (6)	282**
2020	Fiordo Reloncaví	12 (3)	36**
2020	Comuna Hualaihué	4 (3)	12**
2022	Fiordo Reloncaví	12 (5)	60**

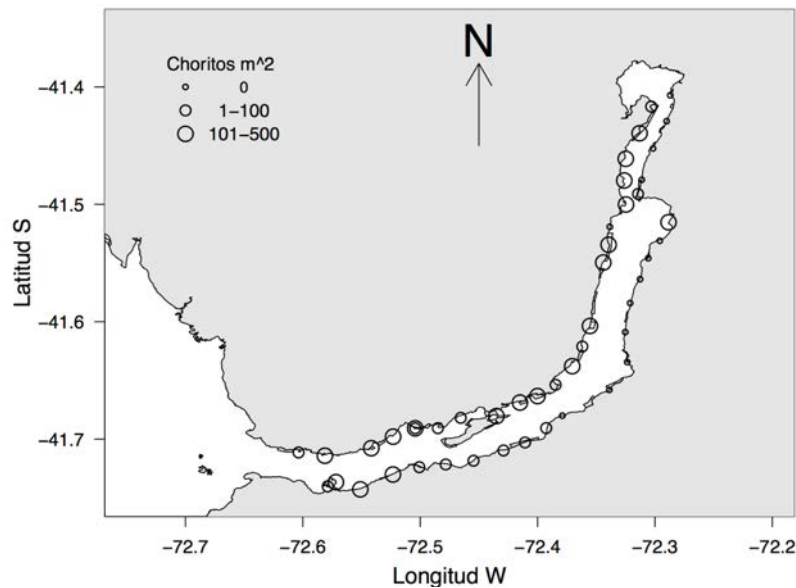


Figura 1.23. Resumen de las 47 estaciones de muestreo realizadas en el año 2015 (cada una consideró 6 transectos de 35 m de largo) en el marco del proyecto FIPA 2014-57.

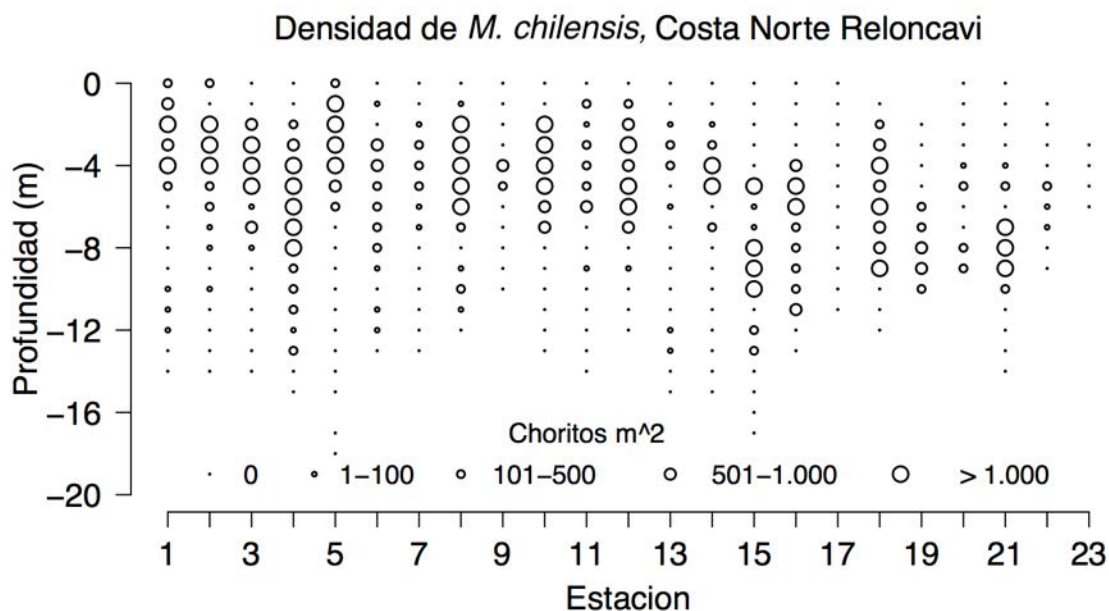


Figura 1.24. Perfil batimétrico de densidad de *Mytilus chilensis* en borde noroeste del Fiordo Reloncaví en el año 2015. Tomado del Informe Final de FIPA 2014-57.

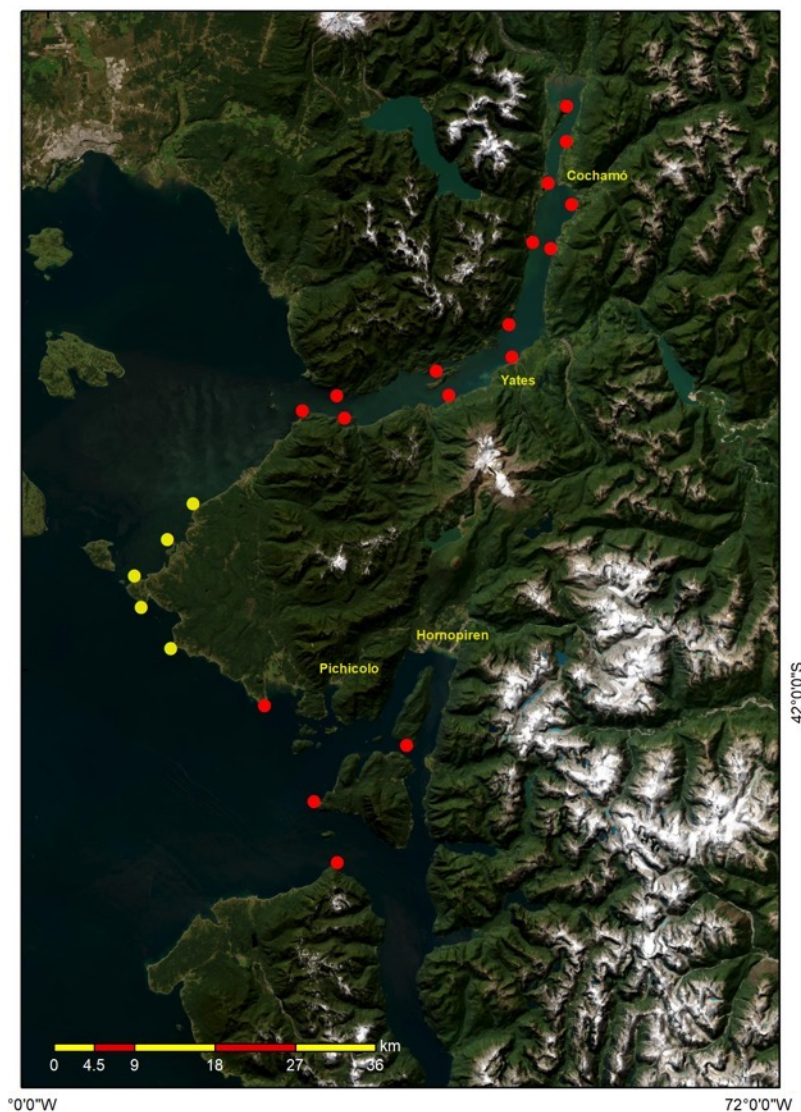


Figura 1.25. Presencia (círculos rojos) ausencia (círculos amarillos) de cinturones intermareales de *Mytilus chilensis* registrados en muestreo financiado por INCAR en febrero de 2020.

En el área de Hualaihué se realizó un levantamiento aéreo fotogramétrico los días 15 y 16 de octubre durante la bajamar en 4 sectores de la bahía de Hualaihué, cubriendo una superficie total de 28 ha. Se utilizó un dron multirrotor marca DJI, modelo Phantom 4 pro V2, el cual se programó con la aplicación Dronedeploy a una altura de vuelo de 34m. Las fotografías capturadas consideraron un traslape Frontal de un 70% y 60% lateral (Figura 1.26)

Las imágenes fueron procesadas utilizando el software Agisoft Metashape Profesional 1.5.5 obteniendo un tamaño de pixel de 1 cm postproceso (Figura 1.27) y este procedimiento consideró a) la alineación automática de las fotografías, b) la creación automática de puntos de malla, c) la estimación del modelo de elevación digital, y d) la creación del Ortomosaico 3D.

Una vez obtenida la ortofoto esta será procesada utilizando Arcmap 9.3 para dibujar los polígonos de presencia de choritos y estimar la superficie cubierta.

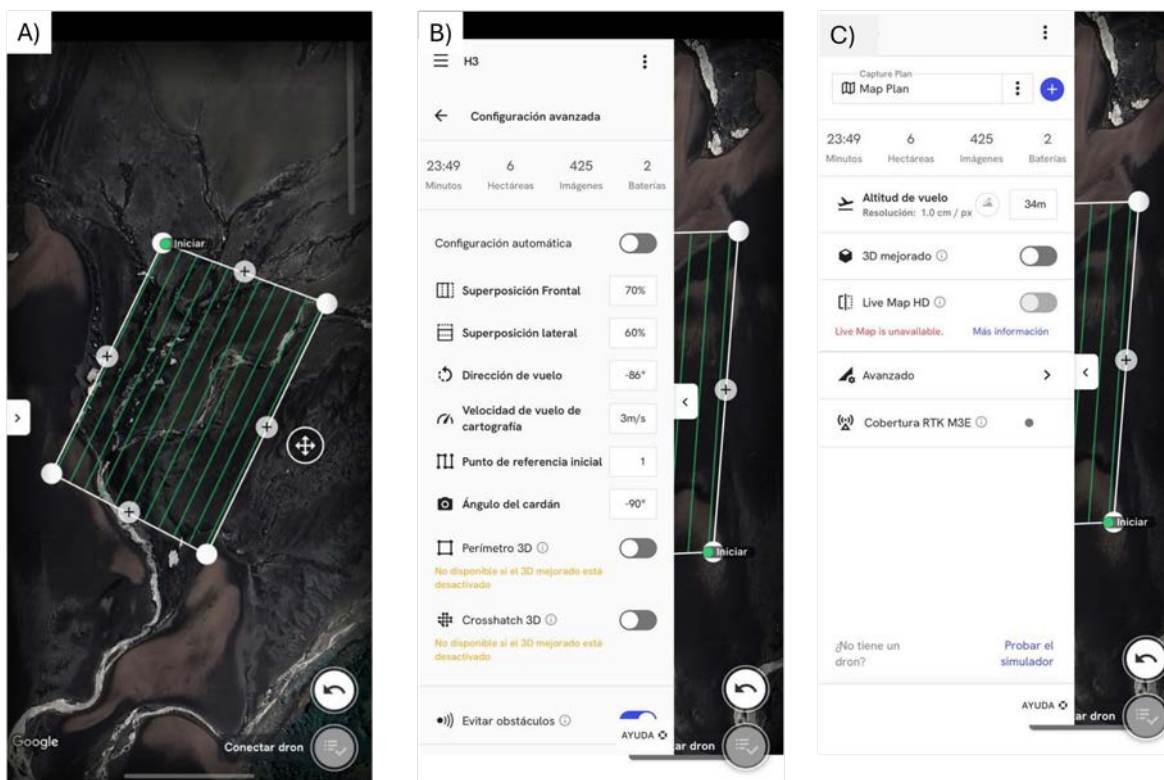


Figura 1.26. Configuración vuelo y parámetros de captura de imágenes. A) Track de vuelo recorrido por el dron, B) Configuración del vuelo, duración (23 minutos y 49 segundos) y área recorrida (6 ha), parámetros de superposición de las fotografías (70% frontal y 60% lateral), y C) Altura del vuelo (34 m) y resolución (1 cm por pixel en cada fotografía).

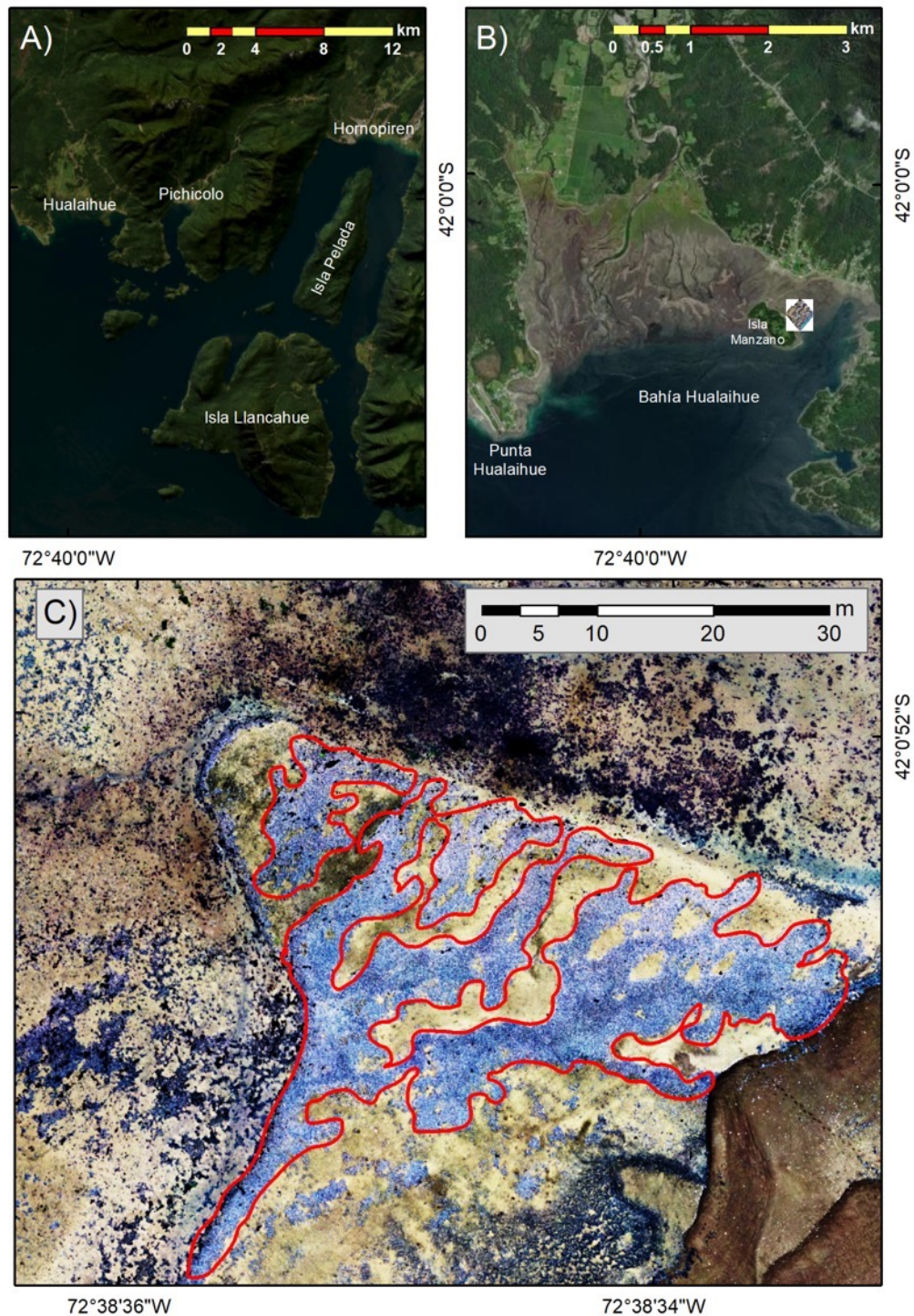


Figura 1.27. A) Ubicación general del área de estudio, B) Bahía Hualaihué y C) Ortofoto sector Este de Bahía Hualaihué, donde se observan parches con choritos delimitados por línea roja.

Por otro lado, los estudios en estero Castro son aún más escasos, registrándose un trabajo de Saelzer y Ramírez (1975), quienes estudiaron los bancos de *Choromytilus chorus* y *Aulacomya atra* en este estero, registrando a *M. chilensis* sólo como fauna acompañante, principalmente asociado a sistemas de captación (estacas y colectores). López et al. (1975), reportaron captación y crecimiento de *M. chilensis* en la estación costera Putemún, lo que sugiere la existencia de bancos aledaños, al menos en esa época. Considerando las características de *M. chilensis* estos bancos son más probables de existir asociados a los ríos alrededor del Estero Castro y canal Lemuy (Figura 1.28). Es por eso que entre los días 2 y 3 de agosto se realizó una prospección visual de la línea de costa intermareal en los diferentes sectores de Estero Castro durante las más bajas mareas, el primer día se recorrieron los sectores de Rauco, Nercón, Gamboa, costanera Castro y Ten Tén, mientras que en el segundo día se recorrió nuevamente el sector de Ten Tén y se continuó con los sectores Yutuy, Chañihué, Curahue y La Estancia. En la Figura 1.29 se representan los sectores recorridos en donde se indica la presencia o ausencia de bancos naturales los sectores con presencia corresponden a Rauco, Yutuy, Nercón y Chañihué. La prospección y registro fotográfico de los sectores recorridos se pueden observar en el siguiente link:

http://drive.google.com/open?id=1yKm0tueRavBkQXUO7YboP3yIYZGqUyhl&usp=sharing_eil_m&ts=64cd2a52



Figura 1.28. Estero Castro y canal Lemuy, que muestra el detalle de la geografía y los principales ríos del área de estudio mencionada.

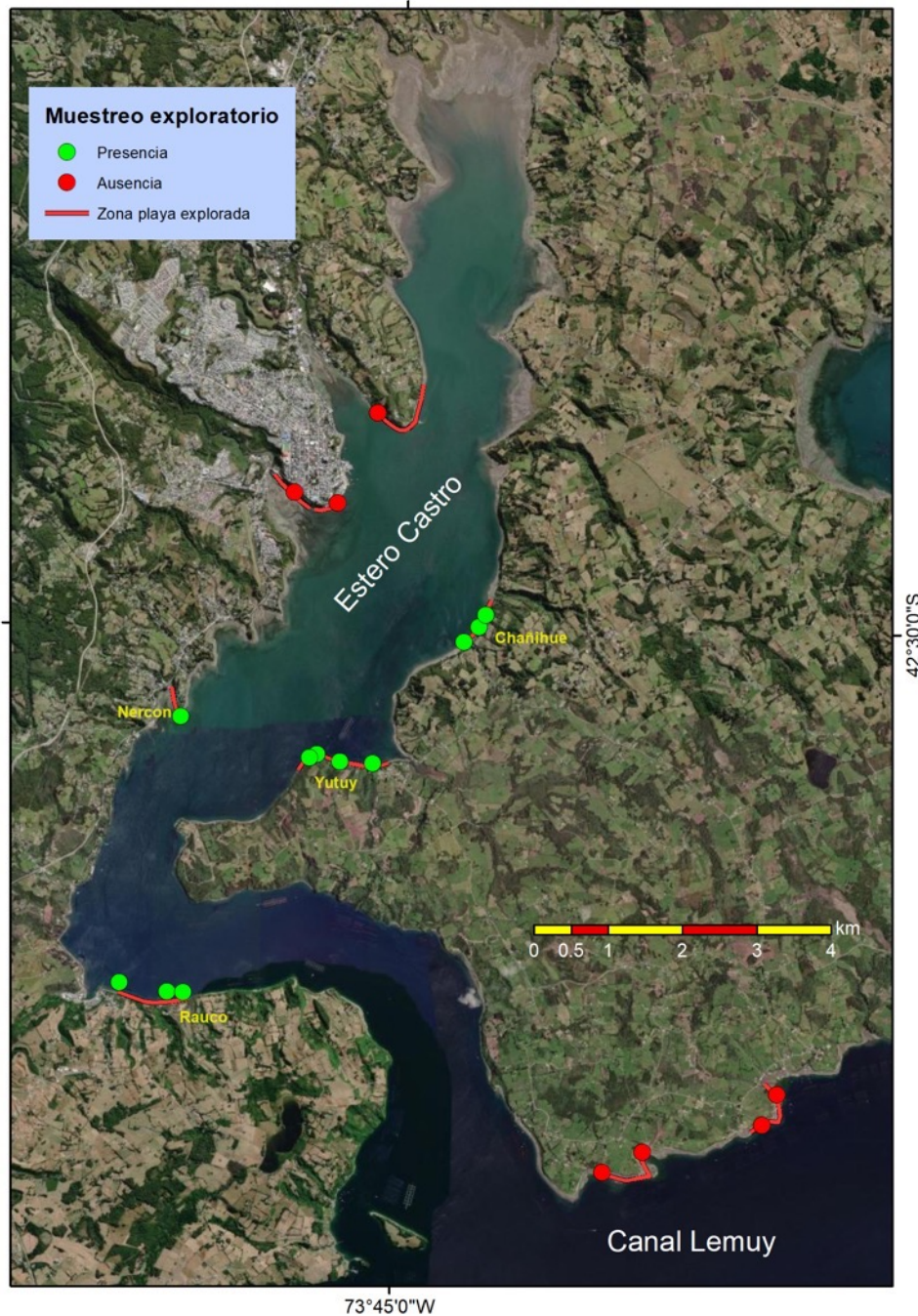


Figura 1.29. Mapa de la prospección de bancos de *Mytilus chilensis* en los sectores Estero Castro y Canal Lemuy. Símbolos verdes indican presencia, y símbolos rojos la ausencia de bancos, respectivamente.

3.3.5.2. Selección de sitios de muestreo

- Elaboración de resumen de la información. Para la selección de sitios de muestreo en el Fiordo Reloncaví y comunas de Hualaihué y Castro, se elaboró un resumen con la disponibilidad de información de bancos, y recopilada para la Identificación y caracterización de áreas de mayor y menor concentración de mitílicos en el área de estudio (Anexo 1.3).
- Taller de trabajo con la contraparte técnica. Con fecha 9 de agosto de 2023, y de manera virtual se llevó a cabo la reunión para la selección de sitios de muestreo, y en la que participaron los profesionales de la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura, la Sra. Paulina Vera Torres, perteneciente a la Unidad de Gestión Sanitaria y Plagas (UGSP) División de Acuicultura, y el Sr. Cristian Escalona Salazar, profesional de la Unidad de recursos bentónicos, además de los miembros del equipo de trabajo (Anexo 1.4).

La reunión estuvo dirigida por el director del proyecto Dr. Carlos Molinet Flores, quien realizó una presentación sobre antecedentes generales y bancos naturales de *Mytilus chilensis* en el Fiordo Reloncaví y en la comuna de Hualaihué desde el año 2003, y propuso los sitios de muestreo tanto en el Fiordo Reloncaví como en la comuna de Hualaihué (Figura 1.30 y 1.31).

En el fiordo Reloncaví se propuso 16 estaciones (de acuerdo con la oferta técnica) ubicadas a lo largo de éste. Doce de los sectores de muestreo propuesto han sido muestreados en 2003, 2013, 2015, 2020 y 2022, por distintos proyectos.

Por otro lado, en la comuna de Hualaihué se propusieron 16 estaciones de muestreo (según propuesta técnica), distribuidas en base a una campaña de muestreo realizada en 2020 en la zona e información del proyecto FIPA 2005-18. Además, y a sugerencia del Sr. Cristian Escalona se definió la caracterización del borde costero del sector de Pichicolo.

Para Estero castro y Canal Lemuy el Dr. Cristian Segura de IFOP, realizó una presentación de la prospección realizada en el sector de Estero Castro y Canal Lemuy, por el equipo IFOP, para identificar posibles sitios de muestreo (Figura 1.32).

Los principales acuerdos del taller de trabajo sobre selección de sitios de muestreo fueron:

- Se acuerda la selección de las 16 estaciones propuestas en la comuna de Hualaihué y el Fiordo Reloncaví.
- Se solicitará autorización a las organizaciones titulares de las áreas de manejo (en caso de que hubiera) previo a la realización de los muestreos.
- Para el sector de Hualaihué se recomendó incluir el sector del Manzano, áreas de manejo Isla manzano y San Pedro del Manzano.
- Se recalcó la importancia de muestrear los lugares en donde se realiza engorda de mitílicos.
- En Estero Castro, se considerarán para muestreo los sectores de Rauco, Nercón, Chañihué y Yutuy, además de la exploración de otros sitios.



Figura 1.30. Propuesta de sitios en Fiordo Reloncaví. Números indican estaciones muestreadas previamente, cruces verdes muestra las estaciones nuevas.

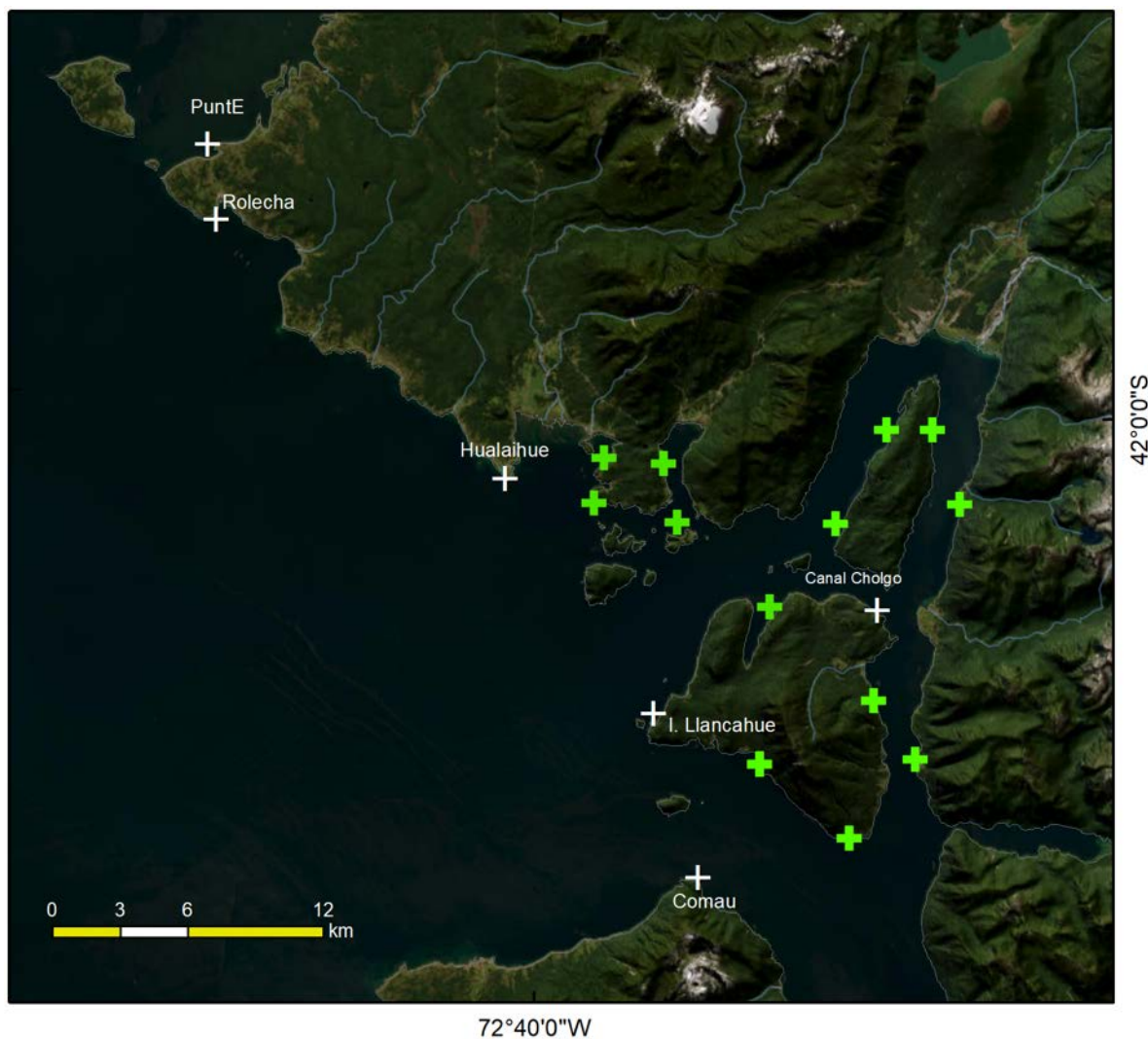


Figura 1.31. Propuesta de sitios en Hualaihué. En cruces blancas son estaciones muestreadas en 2020. Cruces verdes muestran nuevas estaciones sugeridas para muestreo 2023.

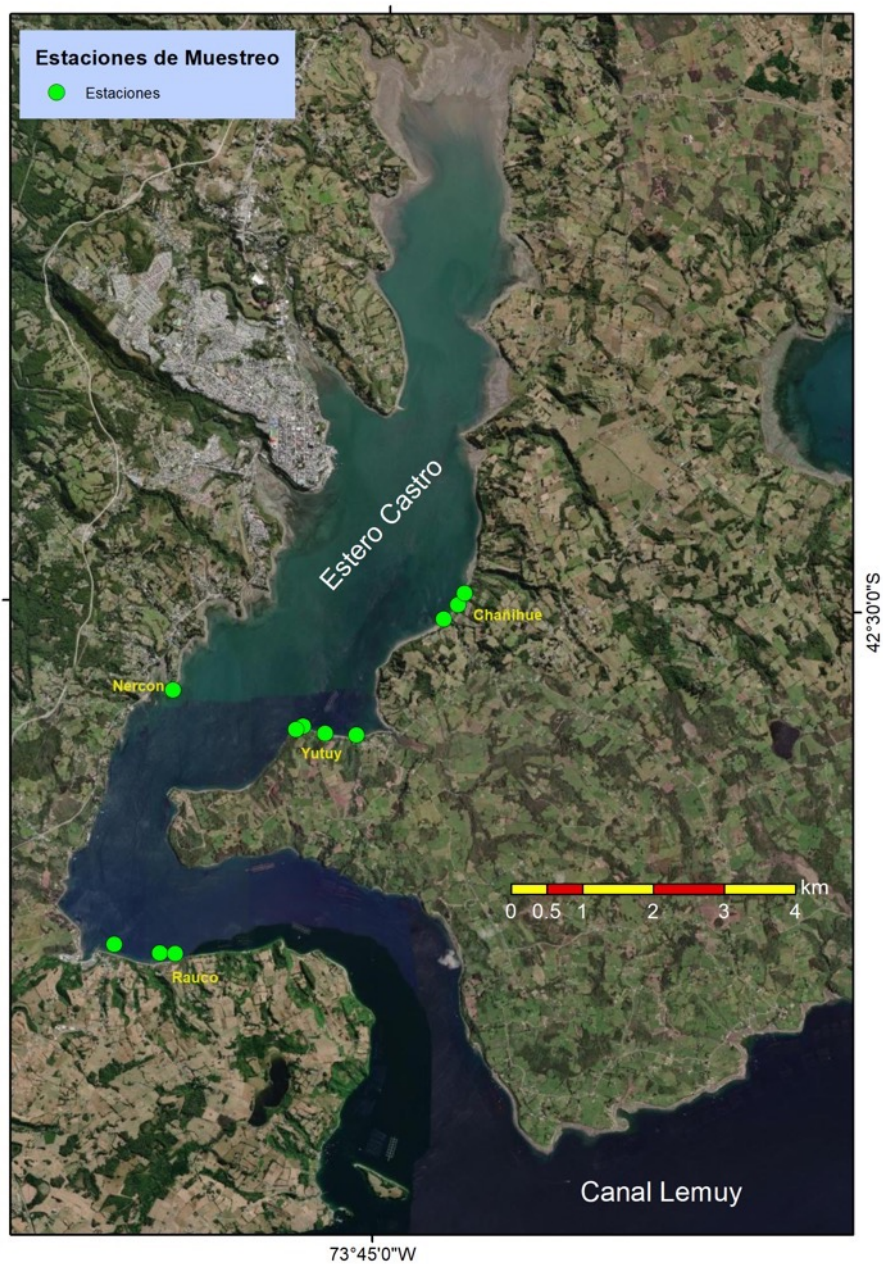


Figura 1.32. Estaciones de muestreo para el Estero Castro y Canal Lemuy.

4. Objetivo Específico N°2. Realizar una evaluación del estado general de los bancos naturales, considerando abundancia, cobertura, densidad, biomasa, distribución vertical, sexo, estructura de tallas y comunidad asociada, con énfasis en las diferentes especies que pudieran afectar los bancos de mitílidos.

4.1. Antecedentes

Las características de los bancos de mitílidos fueron descritas en el objetivo específico N°1. Considerando la información disponible, Molinet et al. (2015, 2016, 2021a y 2021b) propusieron que la dinámica de contracción-expansión de subpoblaciones (Orensanz and Jamieson, 1998; Orensanz et al., 2006) puede ser una herramienta apropiada para monitorear estas poblaciones espacialmente estructuradas, considerando la altura (ancho del cinturón de mitílidos como un indicador). Esto incluye el seguimiento de Áreas de Manejo y Explotación de Recursos Bentónicos (AMERB), cuya actual metodología de recolección de información sólo permite utilizar, con variado nivel de confianza, las distribuciones de tamaño de los muestreos.

El conocimiento de la condición de los bancos naturales de *M. chilensis* asociados a las zonas de captación de semillas parece un conocimiento necesario para proyectar la sustentabilidad de la mitilicultura en el sur de Chile (Avendaño, 2011; Molinet et al., 2015; Molinet et al., 2017).

4.2. Metodología

4.2.1. Recolección de muestras y registro de video transectos

Requerimiento metodológico 5.2.1, *“En los puntos consensuados con la contraparte técnica, realizar video transectos y mediciones en el sentido vertical que permitan establecer el ancho y la profundidad del cinturón de mitílidos, determinar la ubicación de las distintas especies de mitílidos y la fauna acompañante, así como la variabilidad entre los estratos y sitios estudiados”.*

4.2.1.1. Taller metodológico

Aunque la metodología de recolección de videos en el rango de profundidad en el cual se distribuye el cinturón de mitílidos en fiordos del sur de Chile ha sido publicada (Molinet et al., 2015) y reportada (Molinet et al., 2016), no se ha realizado un taller de trabajo con consultoras nacionales ni con IFOP (quien asesora a la Subpesca en el tema AMERB), por lo que se realizó un taller para discutir la metodología de recolección de imágenes y análisis de la información. El taller metodológico se realizó en formato híbrido (presencial y virtual) para recibir recomendaciones y sugerencias de otros grupos de trabajo y expertos, acerca de la metodología propuesta. Para los participantes se consideró a los siguientes actores:

- Grupo de Trabajo de AMERB de IFOP
- Subsecretaría de Pesca y Acuicultura
- Fundación Chiquihue
- Consultoras que se desarrollan en evaluaciones directas y/o ambientales

4.2.1.2. Obtención de muestras y video transectos

Para cada una de las tres zonas propuestas se realizaron grabaciones en sitios definidos, en los que se registraron entre 4 a 5 video transectos (separados por 50 m de distancia uno de otro). Cada transecto midió 20 - 40 m de largo y 0,25 m de ancho. Los video transectos fueron registrados desplegando una cámara submarina GoPro Hero 7 (resolución hasta UHD 4K60/50) desde aproximadamente 15 m de profundidad hasta el límite superior del intermareal.

Para la grabación de los video transectos, la cámara fue montada sobre un trineo de 0,25x0,25 m de base. Sobre uno de los rieles de la base (en el campo de visión de la cámara) se instaló un profundímetro de 0,1 m de precisión. El trineo se remolcó desde la orilla, apoyado por un buzo mariscador para evitar que se trabe y quien a su vez recolectó las muestras biológicas.

4.2.2. Distribución y abundancia de especies en las zonas de estudio

4.2.2.1. Procesamiento de muestras y videos, estimación de abundancia, densidad, cobertura y distribución de mitílicos

Requerimiento metodológico, 5.2.2. de las bases técnicas, *“A partir de las filmaciones estimar abundancia, densidad y cobertura de cada una de las especies de mitílicos presentes, en al menos 6 estratos”* y requerimiento metodológico 5.2.3. *“Determinar la distribución vertical de cada una de las especies de mitílicos presentes en el área de estudio y de las especies asociadas”*.

A partir del procesamiento de los videos realizados se estimó la densidad, abundancia y cobertura de mitílicos en el rango batimétrico y que fueron registrados durante las filmaciones. En cualquier caso, el inicio del video fue bajo el cinturón de mitílicos (más profundo).

La muestra está constituida por un cuadro de 0,25x0,25 m. En cada cuadro, la imagen fue congelada para clasificar el tipo de sustrato, identificar y cuantificar las especies presentes, registrando el tiempo de grabación del cuadro (hora: minuto: segundo). Las coordenadas geográficas de cada cuadro muestreado se obtuvieron alineando la hora de grabación del video y la hora de grabación del GPS, mientras que la profundidad del cuadro se registró desde el profundímetro instalado en la base del trineo. La profundidad (altura en el intermareal) fue corregida usando el registro de la tabla de marea a la hora, minuto y segundo de la filmación. A este valor se sumó la diferencia a la máxima pleamar del año 2023. A partir de las imágenes procesadas de cada video, se elaboró una base de datos que contiene los campos: número de video, sector, profundidad, especies observadas, número de individuos, etc.

La revisión de los videos fue validada por el coordinador de procesamiento, para lo cual se revisó 1/4 del tiempo de duración los videos de cada sector. En caso de no existir 100% de concordancia, el video fue nuevamente revisado poniendo atención a las fuentes de error (muestreador, calidad del video, sector, otro).

4.2.2.2. Identificación de especies de mitílicos

La identificación de las especies de mitílicos en los videos se realizó siguiendo las características morfológicas descritas por Coelho- Caro et al. (2018), Krapivka et al. (2007), Grant and Cherry. (1985), Lorenzen et al. (1979) y la clave taxonómica de especies de bivalvos de IFOP (<https://www.ifop.cl/macrofauna/coleccion-de-especies/claves-taxonomicas/>).

Complementariamente en fiordo Reloncaví y en Hualaihué, se recolectaron muestras (por buceo o directamente en el intermareal) en tres estratos (límite inferior, sector medio y límite superior del banco, relativo a la profundidad y/o altura del intermareal), mientras que en Castro se recolectaron muestras en dos niveles debido al estrecho rango de distribución en el intermareal. Desde estas muestras se separaron los diferentes morfos encontrados basados en la Figura 2.1, (siguiendo a los autores previamente citados), además de otros morfos que parecieron diferentes de *M. chilensis* "típico". Cada morfo fue identificado con la profundidad de la muestra y la estación, la que fue fotografiada (muestra y etiqueta) para su posterior análisis genético (ver objetivo específico N°3).

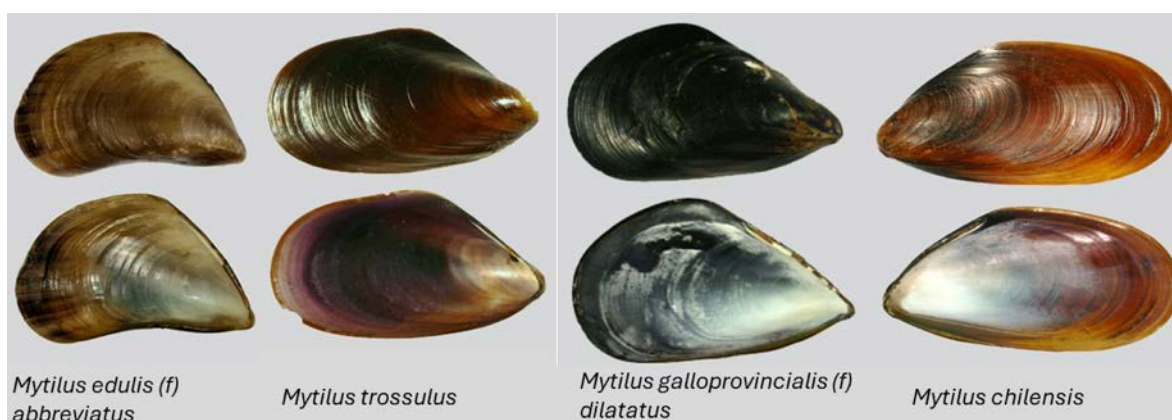


Figura 2.1. Imagen de las diferencias morfológicas externas entre las especies de *Mytilus* más probables de encontrar. La especie nativa en Chile corresponde a la última imagen. Imágenes extraídas de WorMs.

4.2.2.3. Distribución vertical y densidad de las especies de mitílicos registradas

A través del procesamiento de los videos se identificó (cuando fue posible) los morfos de mitílicos observados en cada metro de profundidad, lo que fue complementado con las muestras que el buzo recolectó en cada estrato.

4.2.2.4. Estimación de densidad, abundancia y biomasa de *Mytilus chilensis*

Para la estimación de densidad media y la identificación de sectores con mayor abundancia y biomasa, las zonas Fiordo Reloncaví, comuna de Hualaihué y Estero Castro, se utilizó como área apta: a) el ancho promedio del cinturón de *M. chilensis* de cada estación, obtenido durante el procesamiento de cada uno de los transectos registrados en video, y b) la longitud de cada estación, 200 metros.

La biomasa para el recurso *M. chilensis* en cada una de las estaciones del Fiordo Reloncaví, comuna de Hualaihué y Estero Castro se estimó a partir de la distribución de tamaños y abundancia de cada estación. Para la estimación de la biomasa total y de la fracción reproductiva (>36 mm, Molinet et al., 2016, FIPA 2014-57), se utilizaron los parámetros de la relación longitud peso obtenidas durante el muestreo. La estimación de abundancia y biomasa de cada estación consideró un área con ancho de 200 m (distancia entre transectos) y largo de ~40 m (largo de cada transecto), es decir ~8000 m² (0,8 ha) por estación.

4.2.2.5. Identificar, cuantificar y establecer la distribución de fauna y flora acompañante

Requerimiento metodológico 5.2.5. de las bases técnicas, “Identificar, cuantificar y establecer la distribución de la fauna y flora acompañante, especialmente de aquellas especies que pudieran afectar a los bancos, por depredación, competencia, invasión de hábitat, etc.”.

Siguiendo la descripción metodológica del punto 4.2.2.1 se identificaron las principales especies que pudieran afectar los bancos de mitílidos por depredación (Equinodermata), así como especies características, por ejemplo, cirripedia y crepipatella. Además, se buscó identificar la presencia y cobertura de las especies *Saccharina japonica* y *Metridium senile*. *Saccharina japonica* es una macroalga intencionalmente introducida para acuicultura en el sur de Chile (Camus et al., 2022), originaria de Japón, habita naturalmente en rocas en el submareal inferior entre 2 m y 5 m de profundidad y mantiene su eficiencia fotosintética entre 20 psu y 40 psu (Shindo et al., 2022), por lo que se presume que puede expandir su distribución en el borde costero de fiordos y canales.

Por otro lado, la especie *Metridium senile* es una invasora agresiva, reportada por primera vez por Häussermann and Försterra (2005) al sur de la Península de Taitao, mientras en 2021 fue reportada asociada a bancos de erizo de la Región de Los Lagos y Aysén (y otras zonas) (Häussermann et al., 2022). Molinet et al. (2023) reportaron su expansión en la escala local de un banco de erizos, el cual disminuyó su densidad desde aproximadamente 30 erizos/10 m² a 1 erizo/10 m².

Dadas sus características, *M. senile* pudo haber sido transportada en aguas de lastre de buques, como ha sido propuesto por Glon et al. (2020). El ciclo de vida que se ha descrito para esta especie incluye un periodo de vida de 10 años y más, reproduciéndose prolíficamente cuando las condiciones de temperatura (-1° C a 20° C), salinidad (14-37 ppm) y sustrato (roca, bolón y grava) son adecuadas. Estos rangos incluyen los valores de temperatura y salinidad de prácticamente todo el sistema de fiordos y canales del sur de Chile, por lo que su espacio para la expansión parece ser muy amplio.

4.2.3. Muestreos de estado de salud de *Mytilus chilensis*

Requerimiento metodológico 5.2.4. de las bases técnicas, “Realizar muestreos que permitan determinar estructura de talla, peso, sexo, estado de salud y maduración de las diferentes especies de mitílidos”.

4.2.3.1. Distribución de tamaños

Para la distribución de tamaños, en cada uno de los transectos realizados en las estaciones de monitoreo, se recolectaron muestras en la base del trineo (0,25 x 0,25 m) en los estratos de profundidad inferior, medio y superior, considerando la ubicación de las especies de mitílidos registradas, y desde donde se extrajeron todos los individuos para su análisis posterior. Los individuos obtenidos fueron identificados, clasificados por especie y contados. A todos los ejemplares del chorito *Mytilus chilensis* se les midió la longitud de la concha (LC), utilizando un pie de metro de 0,1 mm de precisión.

El estrato inferior se definió como el lugar más profundo (referido a la línea de más alta marea), en el recorrido del video transecto, en el que se registró la presencia de *M. chilensis*. El estrato medio se definió como aquel lugar en el recorrido del video transecto, en el que se registró *M. chilensis*, entre el estrato inferior y superior. El estrato superior se definió como aquel lugar, en el recorrido del video transecto, hasta donde se registró *M. chilensis*.

Las distribuciones de tamaño de *M. chilensis* de cada zona de muestreo fueron estudiadas aplicando la metodología descrita en objetivo específico N°1, para identificar cohortes siguiendo a Roa-Ureta et al. (2010). El modelo más informativo para seleccionar el número de cohortes presentes en la distribución de tamaños observada fue seleccionado a través del criterio de información de Akaike (AIC) (Burnham and Anderson, 2004; Akaike, 1974), considerando un gradiente máximo del modelo < 1 y la matriz de correlación de los parámetros estimados.

4.2.3.2. Relación talla peso e índice de condición

Para la estimación de la relación talla peso e índice de condición, 50 ejemplares de *Mytilus chilensis* por estación fueron pesados con una balanza de 0,1 g de precisión para elaborar una curva longitud peso.

El estado de salud y maduración de *Mytilus chilensis* en cada una de las zonas se obtuvo estimando el peso relativo como un índice de condición (IC) siguiendo a Anderson and Neumann (1996), a partir de 15 ejemplares de la especie de entre 50 y 60 mm de longitud, en cada una de las estaciones de muestreo. De cada individuo se registró a) longitud total (mm) con un pie de metro de 1 mm de precisión, b) peso total (g), peso de la carne (g) y peso de la gónada (g) con una balanza de 0,1 gr de precisión.

El IC se estimó como

$$IC_{PT} = \frac{PT}{PT_s} \times 100$$

$$IC_{PC} = \frac{PC}{PC_s} \times 100$$

donde PT es el peso total individual en gramos, PC es el peso total individual de la carne en gramos, PT_s y PC_s es el peso total y carne individual estándar predicho por la relación longitud peso construida, y 100 es una constante para convertir la proporción decimal en porcentaje.

4.2.3.3. Proporción sexual e índice gonádico

Para la obtención de la proporción sexual e índice gonádico, 15 ejemplares de *Mytilus chilensis* fueron sexados a través de observación de un frotis gonadal utilizando un microscopio, para así obtener la proporción sexual por zona de muestreo.

El índice gonádico IG se obtuvo, utilizando la siguiente ecuación:

$$IG = \frac{PG}{PT} \times 100$$

donde PG es el peso de la gónada individual en gramos y PT es el peso total individual de la carne en gramos.

4.2.4. Seguimiento bimestral de bancos

Requerimiento metodológico 5.2.6. de las bases técnicas, *“Proponer y consensuar con la contraparte técnica, al menos, 3 bancos naturales en cada sector, que pudieran ser fuentes de semillas para el Fiordo Reloncaví y las comunas de Hualaihué y Castro, y la metodología para su seguimiento en el tiempo”,* y requerimiento metodológico 5.2.7. *Realizar los muestreos en el tiempo de los bancos naturales consensuados con la parte técnica.*

4.2.4.1. Taller de trabajo para consensuar bancos

Considerando los resultados de los objetivos específicos N°1 y N°2 se realizó una propuesta fundada a la contraparte técnica, para el muestreo de tres bancos naturales de mitílicos en el Fiordo Reloncaví, tres en la Comuna de Hualaihué y tres en Estero Castro.

4.2.4.2. Muestreo bimestral de bancos

Para el muestreo bimestral de bancos, se planificaron los tres muestreos solicitados en las bases de la licitación en las siguientes fechas: diciembre de 2023, marzo de 2024 y mayo de 2024. Se obtuvo información de la composición y estructura poblacional de los bancos de mitílicos y se evaluó la sobrevivencia y desarrollo de los eventuales reclutas, en los tres muestreos que incluyeron filmaciones.

En cada banco se demarcaron tres transectos fijos que cubren todo el rango de distribución de los mitílicos y de 0,25 m de ancho. El transecto fue demarcado anclándolo al fondo con ganchos metálicos. Los transectos fueron georreferenciados, dejando un punto de referencia fuera del agua para su ubicación.

En primer lugar, se registraron videos de los transectos fijados al fondo. Los videos fueron analizados como se describe en 4.2.2.1 y 4.2.2.3, identificando las especies de mitílidos presentes, su densidad y su distribución batimétrica.

Considerando que los reclutas de mitílidos se ubican principalmente entre los organismos adultos, aledaño a cada transecto (para no alterar el transecto fijo) se recolectaron tres muestras por banco de 0,25x0,25 m en el límite inferior de la distribución de los mitílidos, en la zona media y en el límite superior de la distribución en los sitios con mitílidos. Para la extracción de los individuos se diseñó una pala de acero de inoxidable de 10 cm de ancho que contiene una malla de trama 500 μ m con la que se extrajeron los mitílidos y logrando retener individuos de hasta 1 mm de longitud.

Complementariamente se recolectaron muestras de semillas captadas en colectores en el mismo periodo, en long lines aledaños (cuando estuvieron disponibles), con el fin de comparar el éxito de captación en ambos sistemas (banco y long lines). Las muestras de semillas se obtuvieron desde tres long lines diferentes y se recolectaron semillas desde la parte superior, media e inferior del intermareal.

4.3. Resultados

4.3.1. Registro de muestras con video transectos.

4.3.1.1. Taller metodológico

El jueves 10 de agosto se realizó el taller metodológico de recolección de información a través de video transectos, en formato híbrido. Se presentó el diseño metodológico para i) la recolección de video transectos, ii) procesamiento de las imágenes, iii) validación, iv) ingreso de datos y v) análisis de información para la obtención de indicadores (Anexos 2.1, 2.2).

En el taller participaron 20 personas, todos ellos profesionales del área privada como Fishing Partners, Fundación Chiquihue, Patagonia Rov, Bitecma y representantes del Instituto de Fomento Pesquero y la Subsecretaria de Pesca y Acuicultura. El programa, presentación y lista de participantes de esta actividad están disponibles en el Anexo 2.1.

Una de las conclusiones más importantes que se generaron dentro del taller fue que sería muy importante estandarizar las metodologías utilizadas en las diferentes iniciativas; tales como evaluaciones en AMERB y proyectos de investigación. Todo esto con el fin de integrar toda la información recopilada.



Figura 2.2. Registro fotográfico de los participantes del Taller Metodológico.

4.3.1.2. Recolección de video transectos

Las campañas de muestreo se realizaron entre los meses de agosto y octubre de 2023. El primer muestreo se realizó entre el 25 y 28 de agosto en la zona del Fiordo Reloncaví donde se recorrieron 15 estaciones con un total de 75 video transectos. La zona de Hualaihué, se muestreó entre el 20 y 24 de septiembre, donde se recorrieron 16 estaciones y se registró un total de 79 video transectos. Finalmente, el muestreo en el estero Castro se realizó entre el 19 y 22 de octubre de 2023, obteniendo un total de 53 video transectos en 5 estaciones (Tabla 2.1, Figura 2.3).

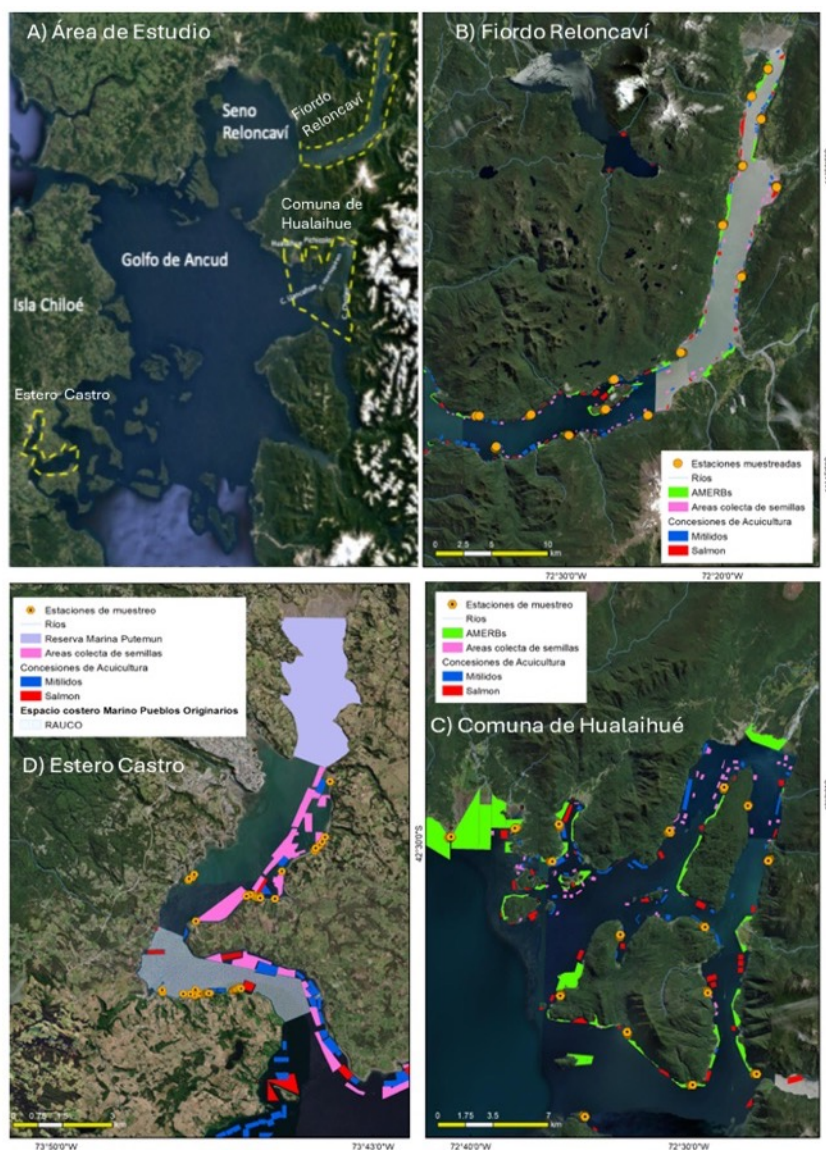


Figura 2.3. A) Área de estudio mostrando las 3 zonas de trabajo. B), C) y D) detalle de las estaciones muestreadas y principales derechos de uso del borde costero en el Fiordo Reloncaví, Comuna de Hualaihué y Estero Castro, respectivamente.

Tabla 2.1. Ubicación de las estaciones muestreadas y número de video transecto, durante la evaluación del estado general de los bancos naturales de mitílicos en las zonas Fiordo Reloncaví, comuna de Hualaihué y Estero Castro.

Zona	Fecha	N° de estación	Estación	Latitud (S)	Longitud (W)	N° Video Transecto	
						Videos con Trineo	Videos con Deriva
Fiordo Reloncaví	25-08-2023	1	Coitúe	41° 42' 37"	72° 36' 05"	5	
		3	Cajón	41° 42' 33"	72° 32' 38"	5	
		6	Marimelli	41° 40' 40"	72° 27' 18"	5	
		8	Sotomó	41° 39' 15"	72° 22' 55"	5	
	26-08-2023	10	Factoría	41° 32' 53"	72° 20' 35"	5	
		12	Pocoihuén	41° 30' 01"	72° 19' 29"	5	
		14	Rollizo	41° 26' 38"	72° 19' 04"	5	
		15	Punta Salida	41° 25' 21"	72° 18' 04"	5	
	27-08-2023	11	Serapio	41° 30' 59"	72° 17' 21"	5	
		9	Ragusa	41° 35' 23"	72° 19' 18"	5	
		13	Relonhue	41° 27' 41"	72° 18' 24"	5	
	28-08-2023	5	Marimelli sur	41° 42' 10"	72° 27' 52"	5	
		4	Barquillo	41° 43' 24"	72° 30' 10"	5	
		2	Bahía Martín	41° 44' 10"	72° 34' 45"	5	
		7	Llaguape	41° 42' 23"	72° 25' 07"	5	
Hualaihué	20-09-2023	1	Hualaihué	42° 01' 50"	72° 41' 22"	5	
		2	Puntilla Quillón	42° 01' 27"	72° 38' 20"	5	
		3	Punta Pichicolo	42° 02' 34"	72° 36' 43"	5	
	21-09-2023	4	Estero Pichicolo	42° 01' 22"	72° 36' 19"	5	
		6	Caleta Andrade	42° 05' 08"	72° 33' 25"	5	
		7	Canal Hornopirén	42° 01' 27"	72° 31' 22"	5	
		8	Weste Isla Pelada	41° 59' 54"	72° 28' 52"	5	
	22-09-2023	9	Este Isla Pelada	42° 00' 22"	72° 27' 43"	5	
		10	Camino Cholgo	42° 02' 15"	72° 26' 40"	5	
		11	Canal Cholgo	42° 04' 40"	72° 29' 34"	5	
		12	Llancahué	42° 06' 53"	72° 29' 21"	4	
	23-09-2023	13	Quintupeu	42° 09' 45"	72° 27' 05"	5	
		14	Caleta Bay	42° 10' 12"	72° 30' 00"	5	
		16	Punta Comau	42° 11' 20"	72° 34' 51"	5	
		15	Llancahué Sur	42° 08' 30"	72° 32' 56"	5	
	24-09-2023	5	Baltazar	42° 07' 10"	72° 36' 03"	5	
Castro	20-10-2023	4	Rauco	42° 32' 42"	73° 46' 59"	3	8
		3	Nercón	42° 30' 42"	73° 47' 09"	3	1
		2	Yutuy	42° 30' 55"	73° 45' 52"	2	10
	21-10-2023	1	Chañihué	42° 30' 08"	73° 44' 24"	4	
		2	Yutuy 2	42° 30' 57"	73° 45' 41"	4	
		5	Punta Rauco	42° 32' 34"	73° 46' 04"	4	
		4	Rauco 2	42° 32' 40"	73° 46' 45"	8	

4.3.2. Distribución y abundancia de especies en las zonas de estudio.

4.3.2.1. Distribución vertical y densidad de las principales especies de mitílicos registradas en video transectos

Las principales especies de Mitilidae en el fiordo Reloncaví fueron *Mytilus chilensis* y *Aulacomya atra*, las que se registraron en todos los sectores muestreados, con distribución más somera hacia la boca del fiordo y profundizándose hacia la cabecera de fiordo (Figura 2.4). El cinturón de *M. chilensis* se observó entre ~2 m y 14 m, mientras que *A. atra* se observó entre ~8 m y 20 m. Algunos individuos de *M. chilensis* se observaron más profundos, los que correspondieron a ejemplares desprendidos del sustrato, posiblemente descarte de pesquería. En el fiordo Reloncaví, las mayores densidades de *M. chilensis* se registraron entre el intermareal medio y el submareal y éstos fueron más abundantes en las estaciones 11 y 12, alcanzando valores de hasta 1500 choritos/m². La densidad de la cholga *A. atra* fue más homogénea a lo largo del fiordo con densidades máximas de ~1200 individuos/m² (Figura 2.4).

En la comuna de Hualaihué, se registró principalmente *M. chilensis* y *A. atra*, además de *P. purpuratus* en 6 de los sectores muestreados (Figura 2.4C y D). Se registró la distribución vertical de *M. chilensis* y *A. atra* en todos los sectores muestreados. *M. chilensis* se observó entre el intermareal superior y el intermareal inferior (1 m a 6 m de altura), mientras que *A. atra* se registró desde el intermareal inferior hasta ~15 m. En la comuna de Hualaihué, las mayores densidades de *M. chilensis* se registraron en los sectores de Hualaihué, entrada al fiordo Quintupeu (estación 13), entrada al fiordo Comau (estación 16) y sur de Isla Llancahué (estación 15), con densidades de hasta 1800 choritos/m². La densidad de la cholga *A. atra* fue mayor en Canal Llancahué (estación 11), con densidades máximas de ~1500 individuos/m² (Figura 2.4D).

En estero Castro, a través de los video transectos, se registró *M. chilensis*, *P. purpuratus* y *C. chorus* en un estrecho cinturón en el intermareal (Figura 2.5). Es importante destacar, que el tamaño de los mitílicos y la disposición de estos en el fondo dificultó su identificación desde los videos.

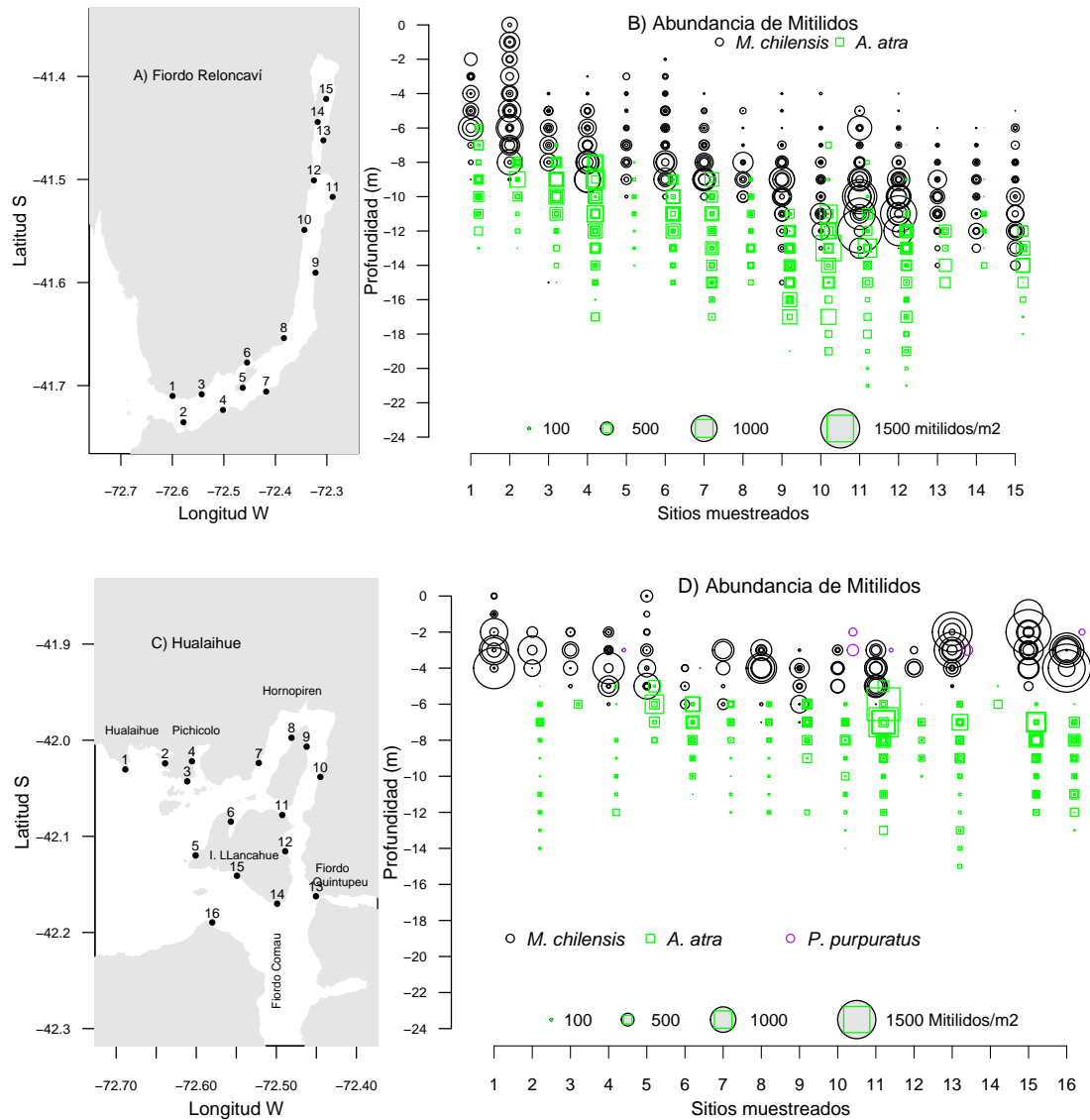


Figura 2.4. Estaciones de muestreo y distribución vertical de *Mytilus chilensis*, *Aulacomya atra* y *Perumytilus purpuratus* a lo largo de zona Fiordo Reloncaví (A y B), y zona de Hualaihue (C y D.) Los números indican las estaciones en ambas zonas de muestreo.

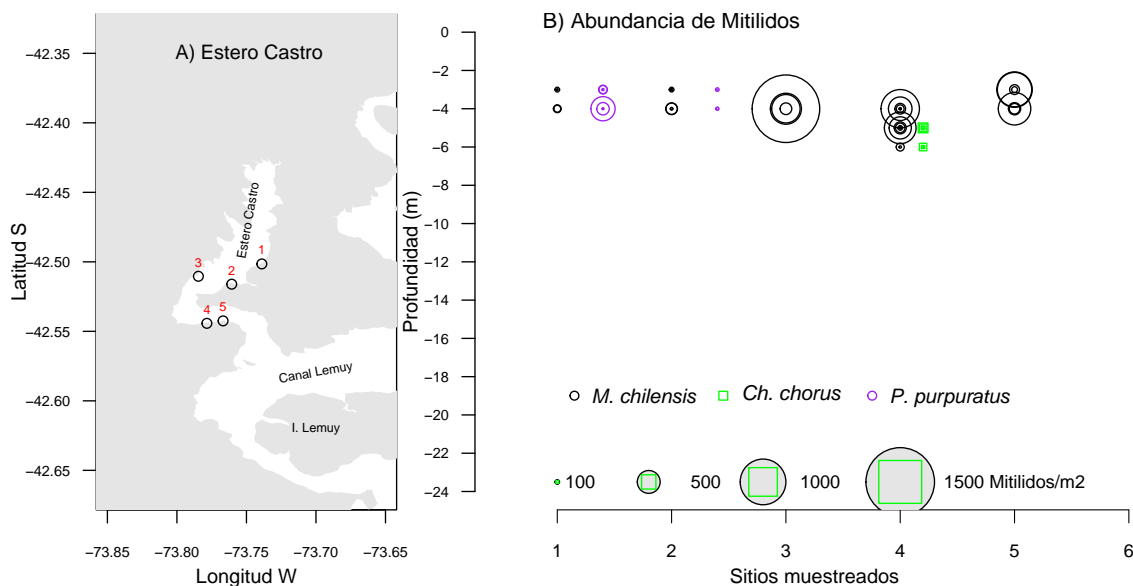


Figura 2.5. A y B), Estaciones de muestreo y distribución vertical de *Mytilus chilensis*, *Choromytilus chorus* y *Perumytilus purpuratus* en las estaciones muestreadas en Estero Castro. Los números indican las estaciones en ambas zonas de muestreo.

4.3.2.2. Identificación de morfos y/o especies

Desde los muestreos realizados se separaron desde banco natural 659 individuos entre las tres zonas estudiadas, los que en laboratorio fueron asociados a las formas de las especies que se muestran en la Figura 2.1, además de una clasificación otros para morfos que no calificaron en la mencionada figura (Tabla 2.2). Estas muestras fueron posteriormente analizadas para su identificación específica a través de técnicas moleculares (ver objetivo específico N°3).

Tabla 2.2. Número de individuos identificados como tipos de morfos (relativos a las especies que se muestran en Figura 2.1) que se recolectaron en las estaciones y zonas de muestreo en el submareal e intermareal. Sólo en fiordo Reloncaví se registró *M. chilensis* y morfos asociados en el submareal. Cf indica en referencia con.

Zona	Tipo Morfo	Intermareal	Submareal	Total general
Reloncaví	cf. <i>M. chilensis</i>	55	36	91
	cf. <i>M. edulis</i>	84	26	110
	cf. <i>M. galloprovincialis</i>	45	30	75
	cf. <i>M. trossulus</i>	119	109	228
	otros	50	40	90

Zona	Tipo Morfo	Intermareal	Submareal	Total general
Hualaihué	cf. <i>M. chilensis</i>	10		10
	cf. <i>M. edulis</i>	8	4	12
	cf. <i>M. galloprovincialis</i>	6		6
	cf. <i>M. trossulus</i>	20		20
	otros	15		15
Castro	otros	2		2
Total		418	241	659

4.3.2.3. Distribución de mitílicos por estrato desde cuadrantes de 0,25 x 0,25 m

La distribución de las 4 especies de mitílicos en los cuadrantes de 0,25x0,25 m en el fiordo Reloncaví muestra i) dominancia de 100% *M. chilensis* en el intermareal superior, ii) en el nivel medio, mezcla de aproximadamente 1%-20% con *A. atra* en algunas estaciones y *P. purpuratus* en una estación y iii) en el nivel inferior, mezcla de 2%-35% en todas las estaciones del fiordo con *A. atra* y presencia de *P. purpuratus* en 4 estaciones (Figura 2.6A, B y C).

En Hualaihué i) el nivel superior estuvo dominado por *M. chilensis*, mezclado con *P. purpuratus* entre 5%-60% en 15 de las 16 estaciones muestreadas, ii) en el nivel medio se observó mayor representación de *M. chilensis* (>80%) en 14 de las 16 estaciones visitadas (en la estación 14, no se registraron ejemplares en el estrato), y iii) en el nivel inferior se observó el predominio de cholga *A. atra* en 13 de las 16 estaciones, 6 de las cuales registraron 100% cholga (Figura 2.6D, E, F).

En estero Castro, *M. chilensis* solo se registró en los estratos superior e inferior, mezclado con *C. chorus* y con *P. purpuratus*. El mitílido predominante en estero Castro fue *C. chorus*, cuyos bancos se extendieron hasta 5 m-10 m de profundidad bajo el intermareal (Figura 2.6G, H, I).

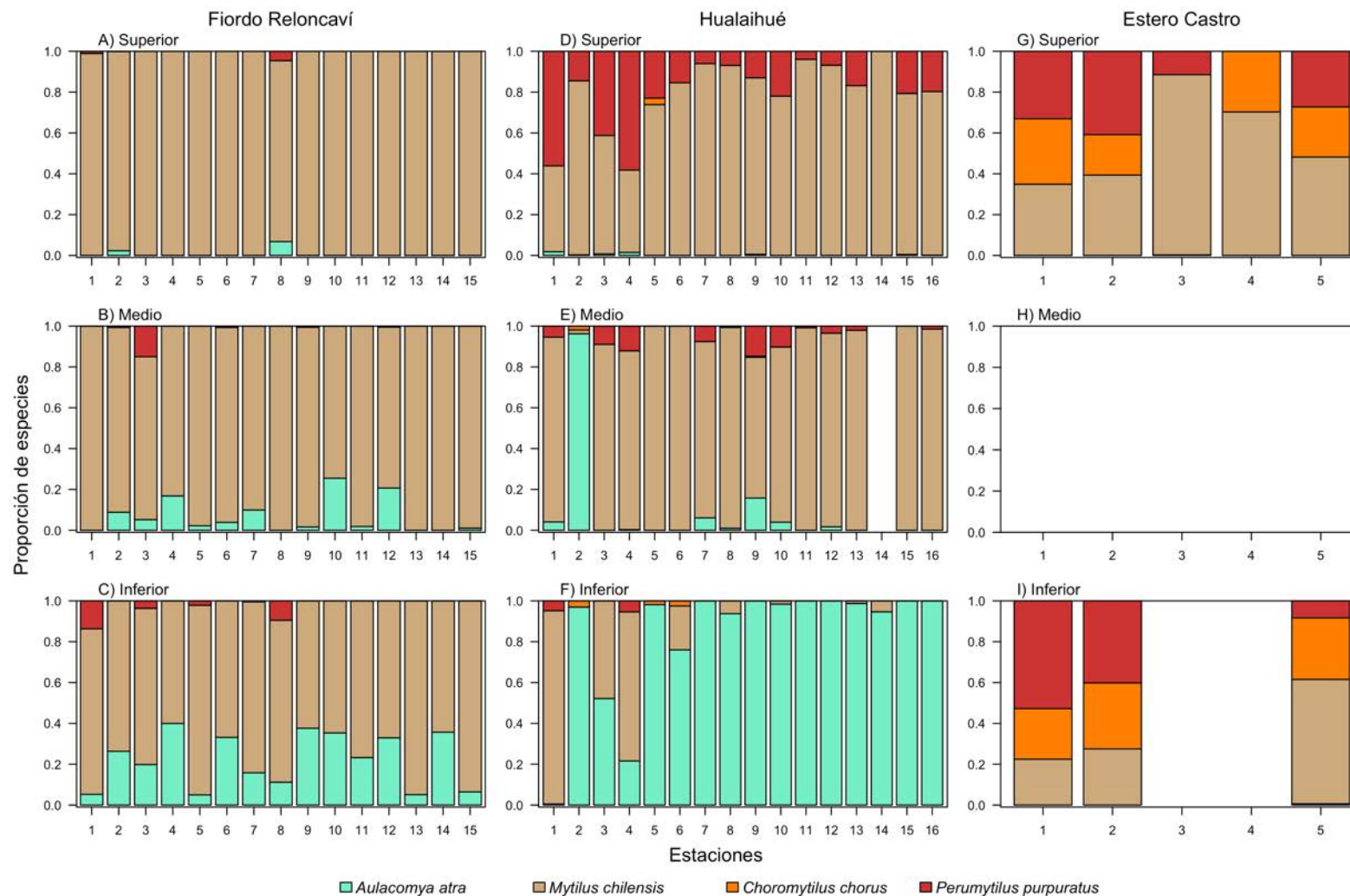


Figura 2.6. Proporción de mitilidos registrados a través de muestreo con cuadrantes de 0,25x0,25 m en las zonas Fiordo Reloncaví, Hualaihué y Estero Castro, en tres estratos de profundidad (Superior (A, D, G), Medio (B, E, H), e Inferior (C, F, I)).

4.3.2.4. Estimación de densidad, abundancia y biomasa de *Mytilus chilensis*

Las estaciones del fiordo Reloncaví presentan una menor densidad promedio de *M. chilensis* (154 ind/m² – 531 ind/m²) respecto de las estaciones de la zona Comuna de Hualaihué (188 ind/m² – 1048 ind/m²), sin embargo, la altura (medida en profundidad y/o intermareal) del cinturón o banco de choritos es 2 m-3 m mayor en las estaciones del fiordo Reloncaví, alcanzando un máximo de 8,4 metros en la estación Ragusa (estación 9) (Figura 2.4). La abundancia total por estación varió entre 111.067 individuos y 722.130 individuos en las estaciones del fiordo de Reloncaví y de 87.520 y 477.675 individuos en las estaciones de la comuna de Hualaihué. La biomasa total por estación varió entre 1,5 t y 9,58 t en fiordo reloncaví y entre 0,68 t y 3,70 t en Hualaihué, con una biomasa reproductiva (individuos mayores o iguales que 36 mm) sobre el 80% de la biomasa total en todas las estaciones monitoreadas (Tabla 2.3).

En la zona estero Castro el ancho de cada estación también fue de 200 m, con excepción de la estación de Nercón en la que se estimó un largo de 10 metros. La densidad promedio estimada por estación varió entre 97 ind/m² a 758 ind/m², con un cinturón de entre 1 m y 2,1 m de altura de intermareal. La abundancia total estimada en las estaciones de la zona fue menor en las estaciones de Nercón y Chañihué, con 7 y 24 mil individuos y una biomasa total de 0,07 t y 0,2 t, con una biomasa reproductiva de 0,05 t y 0,2 t, respectivamente, mientras que, en las estaciones de Yutuy, Rauco y Punta Rauco, se estimó una abundancia total de 40 y 154 mil individuos, y una biomasa total entre 0,37 t y 1,4 t, con una biomasa reproductiva de 0,3 t y 1,16 t (Tabla 2.3).

Tabla 2.3. Densidad (individuos/m²), abundancia, biomasa total y biomasa reproductiva de *Mytilus chilensis* en las estaciones de fiordo Reloncaví, comuna de Hualaihué y Estero Castro.

Zona	N° Estación	Estación	Densidad (ind/m ²)	Ancho Cinturón (m)	Largo Estación (m)	Abundancia total (n)	Biomasa total (t)	Biomasa reproductiva (t)
Fiordo Reloncaví	1	Coitúe	265	5,2	200	275658	3,658	3,385
	2	Bahía Martin	462	6,2	200	573142	7,606	7,039
	3	Cajón	185	5,6	200	207556	2,754	2,549
	4	Barquillo	452	4,8	200	434144	5,761	5,331
	5	Marimelli sur	181	5,8	200	207769	2,757	2,551
	6	Marimeli	267	7,0	200	373653	4,959	4,589
	7	Llaguepe	340	5,0	200	339733	4,508	4,172
	8	Sotomó	234	2,4	200	111067	1,474	1,364
	9	Ragusa	290	8,4	200	487715	6,472	5,990
	10	Factoría	190	6,8	200	257920	3,423	3,167
	11	Serapio	531	6,8	200	722130	9,583	8,868
	12	Pocoihuén	379	4,2	200	320237	4,250	3,933
	13	Relonhue	196	6,6	200	258773	3,434	3,178
	14	Rollizo	154	6,0	200	185043	2,456	2,272
	15	Punta Salida	281	7,0	200	392769	5,212	4,823



Zona	N° Estación	Estación	Densidad (ind/m ²)	Ancho Cinturón (m)	Largo Estación (m)	Abundancia total (n)	Biomasa total (t)	Biomasa reproductiva (t)
Comuna de Hualaihué	1	Hualaihué	455	3,2	200	291019	2,253	1,816
	2	Puntilla Quillón	512	1,3	200	128000	0,991	0,799
	3	Punta Pichicolo	255	2,5	200	127532	0,987	0,796
	4	Estero Pichicolo	291	3,6	200	209200	1,620	1,305
	5	Baltazar	246	4,0	200	196976	1,525	1,229
	6	Caleña Andrade	188	2,3	200	87520	0,678	0,546
	7	Canal Hornopirén	341	2,0	200	136573	1,057	0,852
	8	Weste Isla Pelada	426	2,8	200	238741	1,848	1,490
	9	Este Isla Pelada	262	2,6	200	136000	1,053	0,849
	10	Camino Cholgo	406	2,0	200	162480	1,258	1,014
	11	Canal Cholgo	620	2,6	200	322587	2,497	2,013
	12	Llancahué	501	1,3	200	133511	1,034	0,833
	13	Quintupeu	641	3,0	200	384427	2,976	2,399
	15	Llancahué Sur	796	3,0	200	477675	3,698	2,980
	16	Punta Comau	1048	1,6	200	335235	2,596	2,092
Estero Castro	1	Chaníhué	97	1,3	200	24190	0,225	0,183
	2	Yutuy	101	2,0	200	40489	0,377	0,307
	3	Nercón	758	1,0	10	7584	0,070	0,057
	4	Rauco	234	2,1	200	99331	0,924	0,752
	5	Punta Rauco	440	1,8	200	153943	1,432	1,166

4.3.2.5. Identificar, cuantificar y establecer la distribución de fauna y flora acompañante

A través del procesamiento de los video transectos registrados en el fiordo Reloncaví, Hualaihué y estero Castro, se identificó la presencia de cuatro especies de la familia Mytilidae; *M. chilensis*, *A. atra*, *P. purpuratus* y *C. chorus*. Además, como fauna acompañante se registró la presencia y abundancia de las especies *Arbacia dufresnii*, *Loxechinus albus*, *Crepidatella dilatata*, *Tegula atra*, la especie invasora *Metridium senile* y especies de la clase Asteroidea. Para la subclase Cirripedia se registró la presencia y cobertura promedio en cada metro de profundidad (imágenes de las especies de fauna y flora acompañante se presentan en Anexo 2.3).

En el fiordo Reloncaví, *M. chilensis* estuvo presente entre 2 m y 14 m de profundidad (desde el límite de más alta marea), disminuyendo su representación con el aumento de profundidad, hasta aproximadamente 14 m (Figura 2.7A). *Aulacomya atra* fue registrada entre 5 m y 20 m aumentando su representatividad (relativa a las otras especies) a mayor profundidad. *Perumytilus purpuratus* solo fue observada en las estaciones de Cajón y Coitú a una profundidad de 4 m y 7 m, respectivamente. El gastrópodo *C. dilatata* se registró en una proporción promedio de 0,12 entre los 5 m y 20 m, asociado a *A. atra*. La Anthozoa invasora *Metridium senile* fue registrado entre 10 y 20 m, con una proporción en aumento hasta alcanzar un máximo de 0,26 a una profundidad de 16 m. Los erizos *A. dufresnii* y *L. albus*, y las asteroideas, fueron registradas en baja proporción (Figura 2.7A). La subclase Cirripedia fue observada de manera continua entre el intermareal superior (1 m) y 14 m, aumentando su



cobertura promedio hasta 80% en la profundidad de 4 m y 5 m, para comenzar a disminuir hacia mayor profundidad (Figura 2.7D).

En las estaciones muestreadas de zona de Hualaihué, *M. chilensis* presentó una proporción dominante en los primeros 5 m de profundidad (0,91 m – 0,99 m, desde la más alta marea), disminuyendo a 0,16 y 0,01 en 5 y 7 m, respectivamente. La cholga *A. atra* y *C. dilatata* aumentan entre 5 y 16 m (Figura 2.7B). El mitílido *P. purpuratus* fue observado en baja proporción en el intervalo de 1 y 4 m de profundidad. La anémona *M. senile*, se registró entre 5 m y 16 m (límite en intermareal inferior) con aumento en la abundancia a mayor profundidad. El gastrópodo depredador *Acanthina monodon* registró una mayor presencia entre los 3 y 6 m, con una proporción máxima de 0,6, mientras que el grupo Echinodermata registró una proporción menor a 0,1, representadas principalmente por *L. albus*, *A. dufresnii* y Asteroidea. La subclase Cirripedia estuvo presente entre 1 y 7 m relativo a la línea de más alta marea, alcanzando una cobertura máxima de 47% en el intervalo de profundidad de 3-4 m (Figura 2.7E).

En la zona de Castro se registró *M. chilensis* entre 2 y 7 m desde la línea de más alta marea, con una proporción aproximada (relativa a las otras especies registradas) de 0,8 en la zona de mayor concentración (entre 2 y 5 m) (Figura 2.7C). *Choromytilus chorus* se registró en una baja proporción en el intermareal inferior (5 y 6 metros), siendo predominante entre 6 y 10 m con una proporción mayor que 0,8. *Perumytilus purpuratus* se registró entre 2 y 4 m con una proporción media de 0,15. Los gastrópodos *C. dilatata* y *T. atra* fueron registrados entre 4 y 7 m de profundidad. Las especies *L. albus*, *A. dufresnii* y asteroideas presentes entre los 6 y 10 m, fueron observados en una proporción menor a 0,05 (Figura 2.7F).

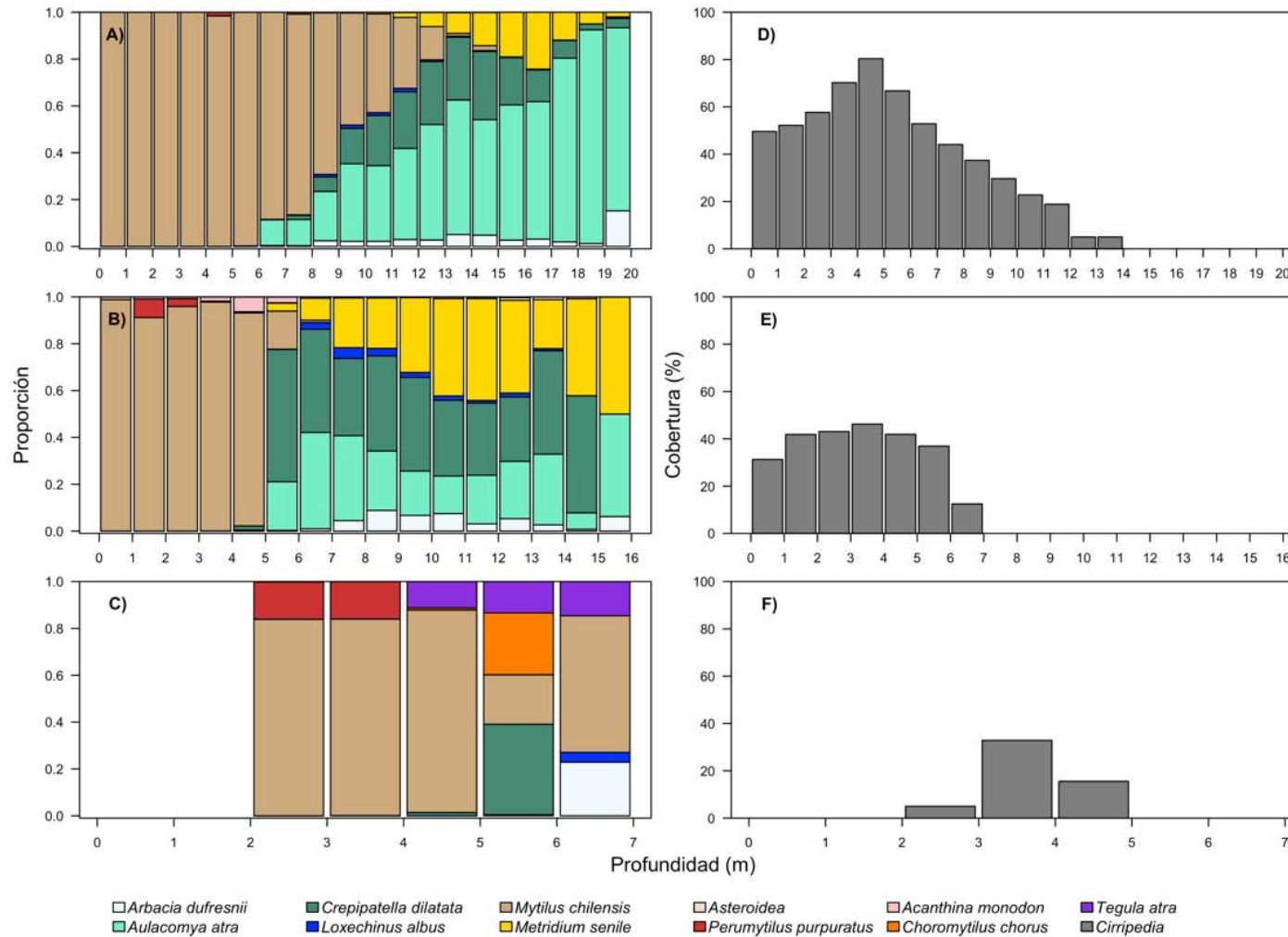


Figura 2.7. Distribución vertical de la proporción de abundancia para las especies de mitílidos y fauna acompañante y de la cobertura de Cirripedios en las zonas Fiordo Reloncaví (A, D), Hualaihué (B, E) y Estero Castro (C, F).

4.3.3. Muestreos de estado de salud de *Mytilus chilensis*

4.3.3.1. Distribución de tamaños

Para la estimación de la estructura de tallas en la zona fiordo Reloncaví se recolectó y midió un total de 6023 ejemplares de *M. chilensis* desde los estratos de profundidad superior, medio e inferior, cuando se observaron individuos en los tres niveles (Tabla 2.4). La longitud media promedio de *M. chilensis* fue mayor en el nivel inferior (50,05 mm), mientras que los choritos del intermareal superior fueron en promedio más pequeños (26,3 mm LC).

En la zona de Hualaihué, se recolectó 8191 ejemplares de *M. chilensis*, obteniendo ejemplares en el nivel superior de todas las estaciones monitoreadas, mientras que en el nivel medio de profundidad no se obtuvieron muestras de la estación Caleta Bay. En el nivel inferior de esta zona los choritos fueron menos abundantes, registrándose ejemplares en 8 de las 15 estaciones (Tabla 2.5) y sólo en 4 de ellas (Punta Pichicolo, Caleta Andrade, Pichicolo y Hualaihué) se recolectó > 20 individuos (desde 5 cuadrantes de 0,25x0,25) (Tabla 2.5). La longitud promedio en el nivel inferior de esta zona fue mayor (44,6 mm LC) que el nivel medio y superior (40,07 y 29,2 mm LC, respectivamente) (Tabla 2.4).

En las estaciones de Estero Castro la muestra obtenida de *M. chilensis* fue de 1056 individuos, los que fueron recolectados principalmente en el estrato superior. Sólo se registraron 3 estaciones con choritos en el nivel inferior de profundidad (Tabla 2.4). La longitud promedio en ambos estratos fue similar (38,19 y 39,26 mm LC, respectivamente).

Tabla 2.4. Resumen de muestras recolectadas de *Mytilus chilensis* por estrato de profundidad para la estimación de la estructura tallas en las zonas de Fiordo Reloncaví, Hualaihué y Castro.

Zona	Estrato de Profundidad	N° Individuos	Talla media (mm)
Fiordo Reloncaví	Inferior	1732	50,05
	Medio	1976	48,69
	Superior	2315	26,13
Hualaihué	Inferior	281	44,60
	Medio	3516	40,07
	Superior	4394	29,20
Castro	Inferior	246	38,19
	Medio	0	-
	Superior	810	39,26

La distribución de tamaños de los ejemplares de *M. chilensis* en el fiordo Reloncaví presentó alta variabilidad en todos los niveles de profundidad. En el estrato superior predominaron individuos entre 5 y 45 mm LC, con individuos de mayor tamaño más escasos. Los choritos del nivel medio e inferior presentaron un patrón de distribución similar, con predominancia de individuos entre 40 y 70 mm LC (Figura 2.8).

En la zona de Hualaihué la distribución de tamaños de *M. chilensis* también registró individuos de menor tamaño en el estrato superior, concentrada entre 10 y ~50 mm LC. El nivel medio de los bancos en la zona de Hualaihué presentó una distribución de tamaños bimodal (~20 y 45 mm LC), mientras que en el nivel inferior se registraron tamaños predominantes entre 40 y 70 mm LC y una baja representación de individuos entre 5 y 35 mm LC (Figura 2.8).

En estero Castro la distribución de tamaños en el estrato superior se concentró entre 30 y 60 mm LC, mientras que en el estrato inferior los tamaños de los choritos se concentraron entre 30 y 50 mm LC (Figura 2.8).

La estructura de talla de *M. chilensis* para cada sector (estación de muestreo) y estrato de las estaciones monitoreadas se muestra en Anexo 2.4.

Tabla 2.5. Número de ejemplares obtenidos por zona, estación, transecto y estrato de profundidad para la estructura de talla, peso y sexo de *Mytilus chilensis*. Las muestras fueron recolectadas usando cuadrantes de 0,25x0,25 m.

Zona	Sector	Número de Muestras					
		Estructura de talla			Talla Peso	Peso Gónada	Sexo
		Nivel Inferior	Nivel Medio	Nivel Superior			
Castro	Chañihué	49		37	50	15	15
	Nercón			333	50	15	15
	Punta Rauco	95		147	50	15	15
	Rauco			154	50	15	15
	Yutuy	102		139	50	15	14
	TOTAL	246	0	810	250	75	74
Hualaihué	Baltazar		158	116	50	15	15
	Caleta Andrade	26	51	137	50	15	15
	Camino Cholgo	1	260	181	50	15	15
	Canal Cholgo		125	364	50	15	15
	Canal Hornopirén		354	109	50	15	15
	Punta Comau		600	638	50	15	15
	Hualaihué	177	466	69	50	15	15
	Isla Pelada Este		131	308	50	15	14
	Isla Pelada Oeste	1	307	216	50	15	15
	Llancahué		110	233	50	15	15
	Llancahué Sur		280	638	50	15	15
	Pichicolo	50	275	54	50	15	14
	Punta Pichicolo	22	61	73	49	15	15
	Puntilla Quillón		1	561	50	15	15
	Quintupeu	1	337	689	50	15	15
	Caleta Bay	3		8			
	TOTAL	281	3516	4394	749	225	223

Zona	Sector	Número de Muestras					
		Estructura de talla			Talla Peso	Peso Gónada	Sexo
		Nivel Inferior	Nivel Medio	Nivel Superior			
Reloncaví	Bahía Martin	137	263	772	50	15	15
	Barquillo	99	95	83	50	15	15
	Cajón	189	138	300	50	15	15
	Coitué	77		384	50	15	15
	Factoría	139	149	67	50	30	29
	Llaguepe	164	119	58	50	15	15
	Marimelli	115	148	220	50	15	15
	Marimelli Sur	130	220	108	50	15	15
	Pocoihuén	222	183	58	50	30	30
	Punta Salida	130	93	19	46	30	30
	Ragusa	63	180	13	50	15	15
	Relonhue	37	93	3	50	15	15
	Rollizo	72	82	22	50	15	15
	Serapio	66	159	91	50	15	15
	Sotomó	92	54	117	50	15	15
	TOTAL	1732	1976	2315	746	270	269

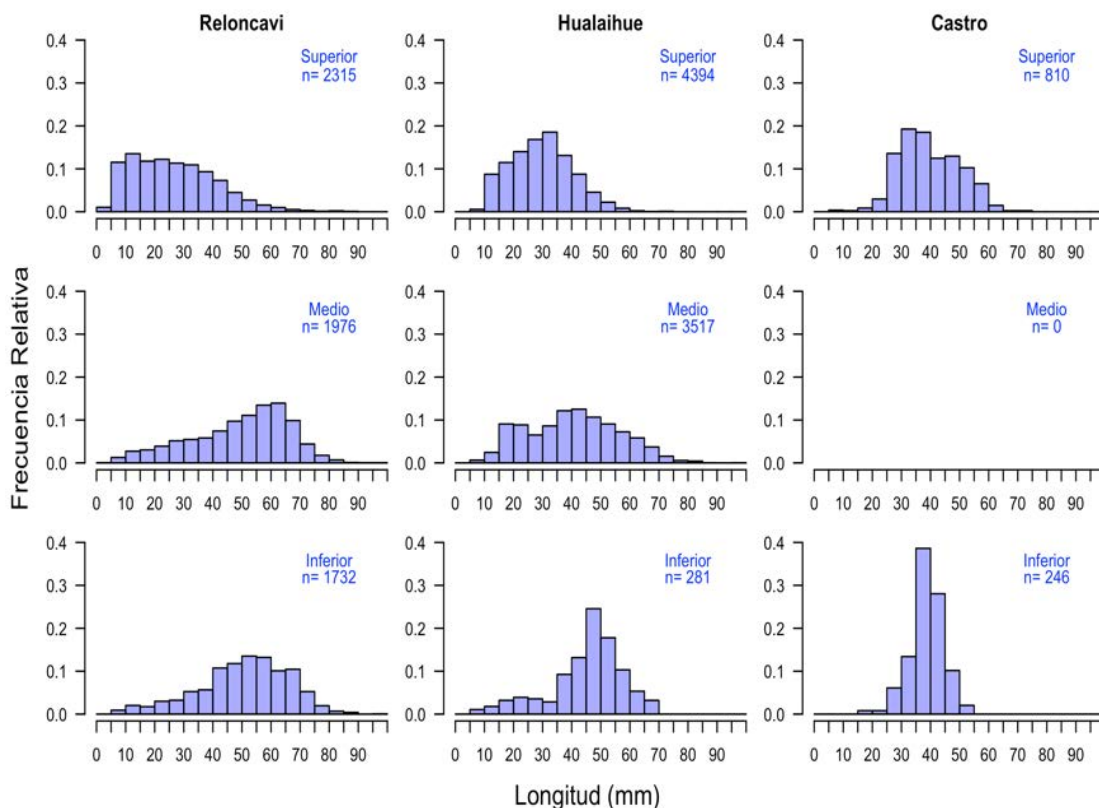


Figura 2.8. Estructura de talla de *Mytilus chilensis* para los estratos de profundidad superior, medio e inferior en las zonas de Fiordo Reloncaví, Hualaihué y Castro.

El modelo más informativo para el análisis de cohortes de *M. chilensis* en el fiordo Reloncaví identificó 5 cohortes en la distribución de tamaños (AIC= 51791) (Figura 2.9, Tabla 2.6). Las tres primeras cohortes (aproximadamente 8, 17, 29 mm LC, en promedio respectivamente) mostraron una representatividad similar, mientras que la cuarta cohorte (~50mm LC) fue la que representó una mayor proporción de la muestra estudiada, a la vez que mostró mayor desviación estándar.

En Hualaihué, el modelo más informativo (AIC=65953) también identificó la presencia de cinco cohortes en la distribución de tamaños de *M. chilensis* (promedio en aproximadamente 15, 22, 27, 37 y 51 mm LC) (Figura 2.10, Tabla 2.6).

En Estero Castro el modelo más informativo (AIC=7716), identificó la presencia de 6 cohortes, aunque con un valor muy cercano de AIC para el modelo con 5 cohortes (Figura 2.11). En el modelo de 6 cohortes se observó una primera cohorte (9 mm LC) con baja representación (0,4%), mientras que la segunda cohorte (~27 mm LC) presentó mayor representatividad (5%) (Figura 2.11, Tabla 2.6).

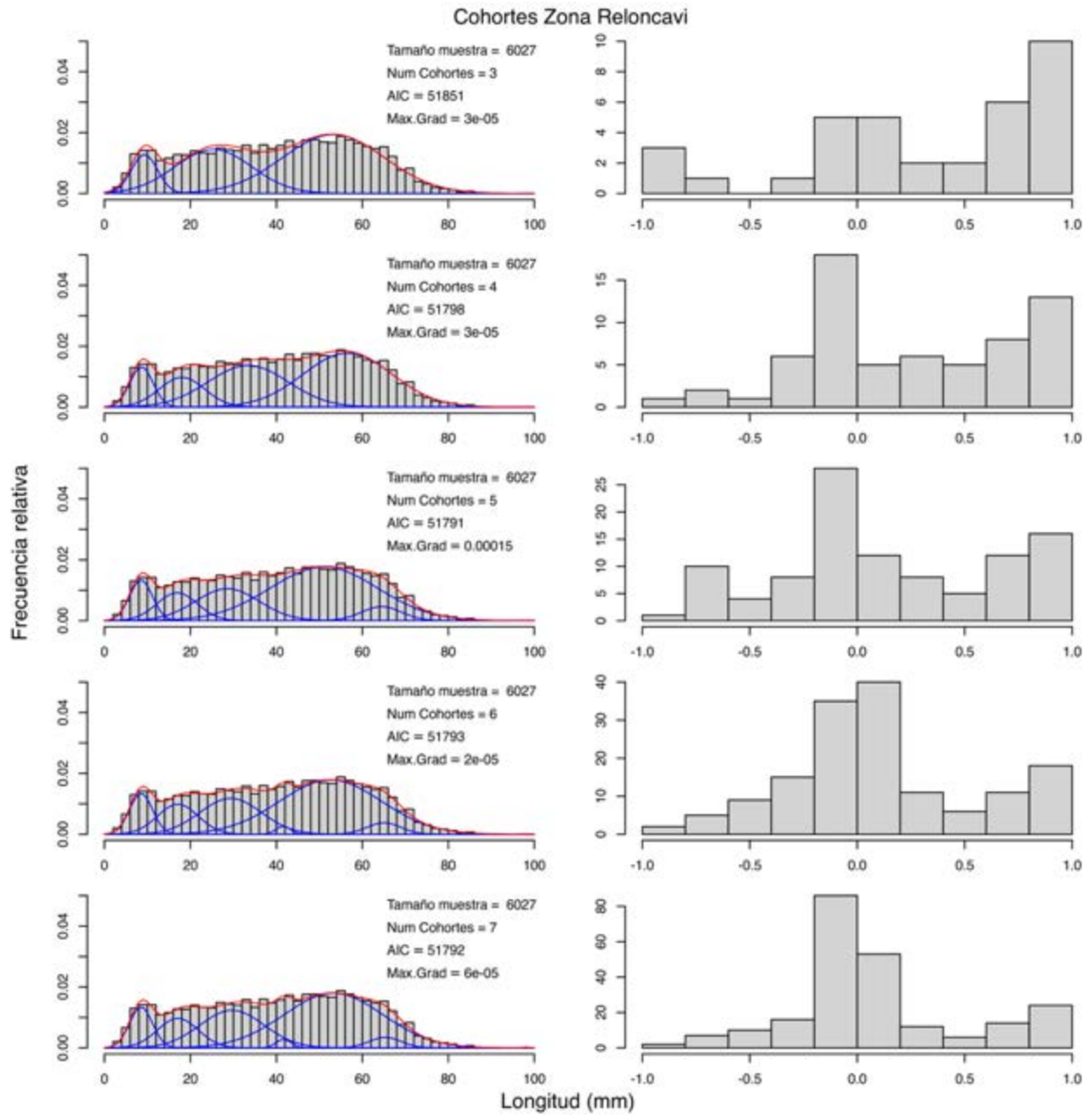


Figura 2.9. Izquierda: Análisis de cohortes para la distribución de tamaño de *Mytilus chilensis* recolectada en el fiordo Reloncaví. Líneas azules muestras la distribución de la proporción de cada una de las cohortes analizadas (3 a 7). Línea roja muestra la distribución acumulada. Modelo seleccionado de 5 cohortes, AIC= 51791. Derecha: Distribución de la matriz de correlación para los diferentes ajustes (por cohorte).

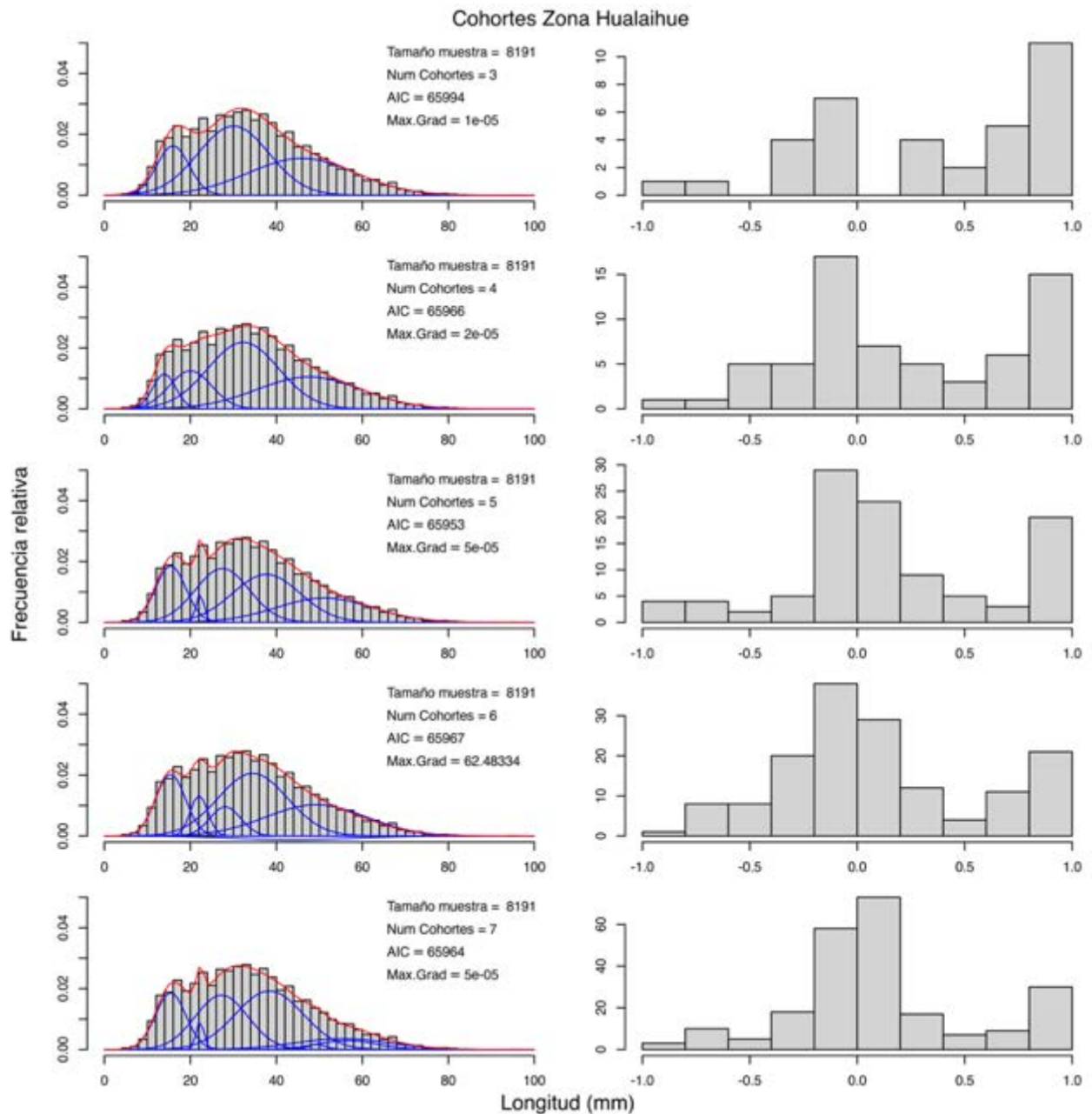


Figura 2.10. Izquierda: Análisis de cohortes para la distribución de tamaño de *Mytilus chilensis* recolectada en la comuna de Hualaihué. Líneas azules muestras la distribución de la proporción de cada una de las cohortes analizadas (3 a 7). Línea roja muestra la distribución acumulada. Modelo seleccionado de 5 cohortes, AIC= 65953. Derecha: Distribución de la matriz de correlación para los diferentes ajustes (por cohorte).

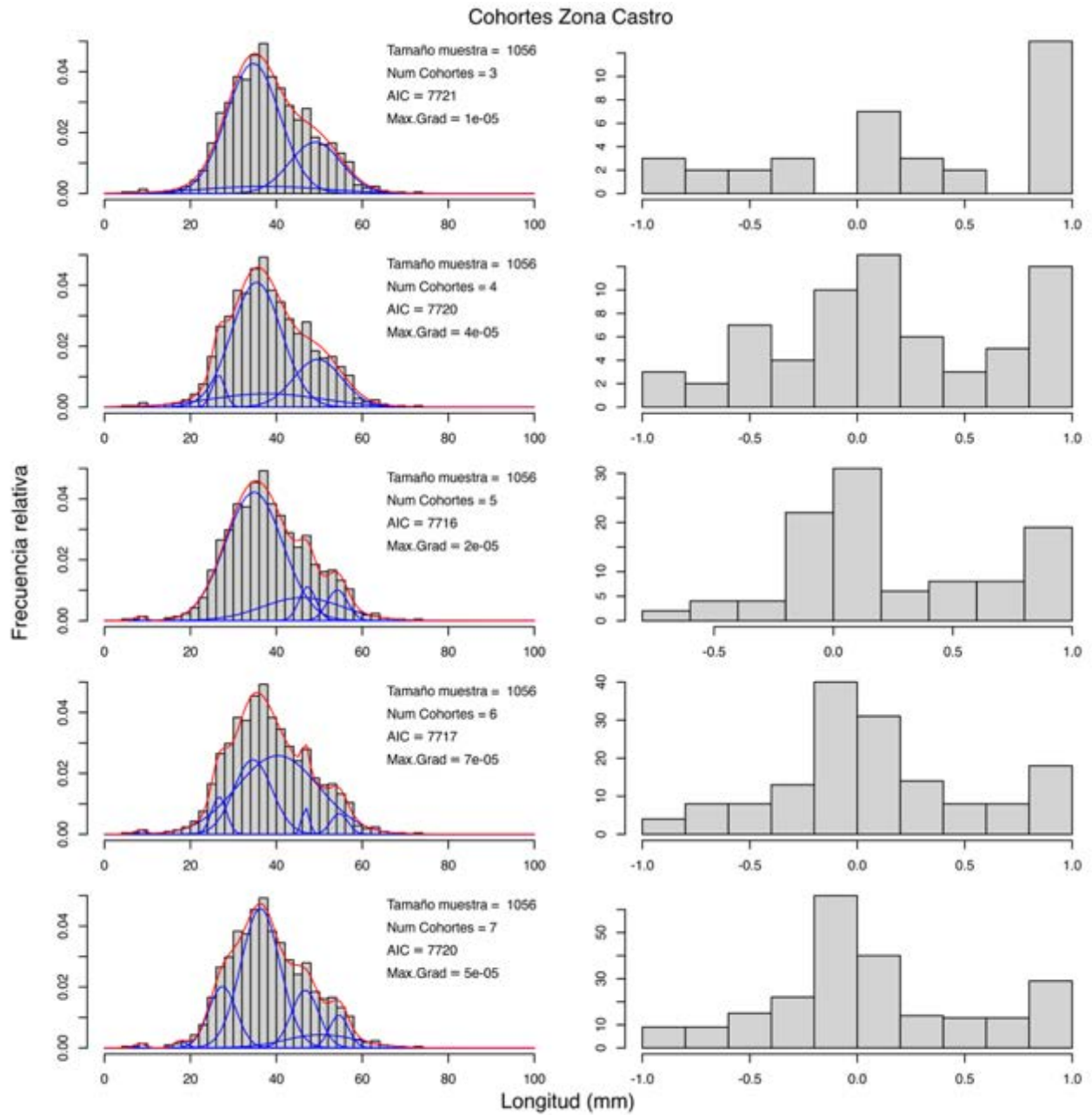


Figura 2.11. Izquierda: Análisis de cohortes para la distribución de tamaño de *Mytilus chilensis* recolectada en Estero Castro. Líneas azules muestran la distribución de la proporción de cada una de las cohortes analizadas (3 a 7). Línea roja muestra la distribución acumulada. Modelo seleccionado de 5 cohortes, AIC= 7716. Derecha: Distribución de la matriz de correlación para los diferentes ajustes (por cohorte).

Tabla 2.6. Estimados de los parámetros del modelo de cohortes seleccionado en el análisis de la distribución de la frecuencia de tallas de *Mytilus chilensis* en las zonas Fiordo Reloncaví, Hualaihué y Estero Castro.

Parámetro	N° Cohortes	Fiordo Reloncaví		Hualaihué		Estero castro	
		Estimado	Error Estándar	Estimado	Error Estándar	Estimado	Error Estándar
Proporción	1	0,089	0,011	0,164	0,021	0,004	0,002
	2	0,108	0,030	0,022	0,007	0,054	0,058
	3	0,196	0,058	0,278	0,198	0,272	0,154
	4	0,553	0,034	0,311	0,226	0,617	0,132
	5	0,054		0,225		0,019	
	6					0,034	0,018
Talla Media	1	8,503	0,287	15,404	0,305	8,269	0,579
	2	16,907	1,093	22,252	0,199	26,626	0,852
	3	28,586	1,986	27,436	2,131	34,532	1,163
	4	51,059	2,220	37,674	4,630	40,369	0,797
	5	64,466	1,225	51,200	4,404	46,800	0,553
	6					54,647	0,957
Desviación Estándar	1	2,637	0,171	3,511	0,179	1,159	0,391
	2	4,700	0,610	0,919	0,278	1,718	1,071
	3	7,424	1,165	6,263	1,043	4,408	1,991
	4	12,495	0,844	7,864	2,073	9,534	0,452
	5	4,661	1,346	11,268	1,285	0,847	0,499
	6					1,969	0,751

4.3.3.2. Relación talla peso e índice de condición

La relación talla - peso en el fiordo Reloncaví se estimó a partir de una muestra de 746 individuos de *M. chilensis*, de 749 ejemplares para la zona de Hualaihué y de 250 individuos para la zona de Castro.

En las tres zonas estudiadas se logró un relativamente buen ajuste para cada una de las zonas, las que presentaron similitudes en su relación longitud peso. Tanto los choritos de fiordo Reloncaví como aquellos de estero Castro y Hualaihué mostraron un valor de $b < 3$, por tanto, alométrico negativo. En el caso de estero Castro se registraron pocos ejemplares sobre 60 mm LC (Figura 2.12). En la zona de Hualaihué el parámetro $b = 2,61$ fue mayor que en Castro y Fiordo Reloncaví.

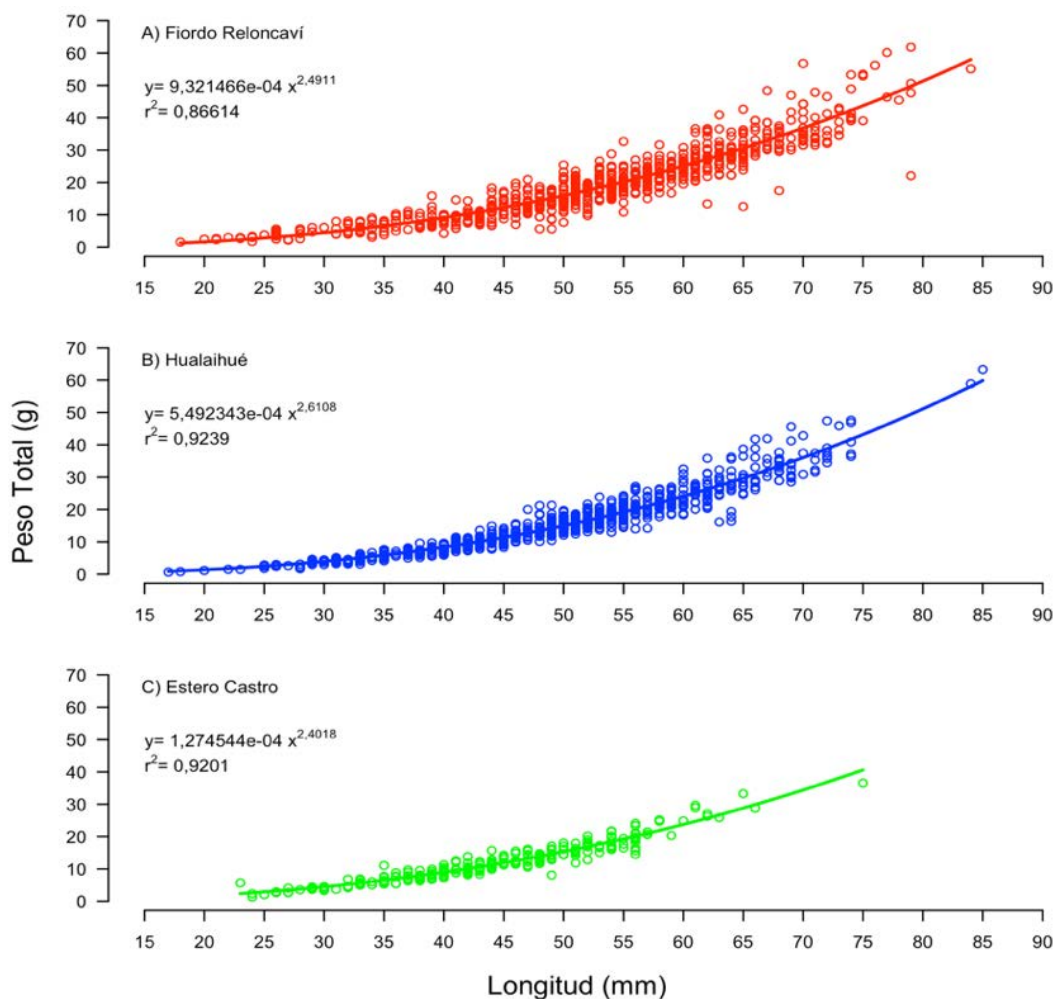


Figura 2.12. Relación Longitud peso de *Mytilus chilensis* para las zonas A) Fiordo Reloncaví, B) Hualaihué, y C) Estero Castro.

El índice de condición (IC) relativo al peso total y peso carne de *M. chilensis* mostró amplia variabilidad en las estaciones muestreadas en la zona del Fiordo reloncaví, con los mayores valores en la estación 1 ubicada en la boca del fiordo (Coitué), disminuyendo entre las estaciones 2 a 4 y con una alta variabilidad entre las estaciones 5 y 15 estimando una mediana del IC peso total de entre 90% y 120% y del IC peso carne de entre 80% y 120 % (Figura 2.13A, D).

En la zona de Hualaihué, el índice de condición (IC) peso carne muestra una mayor variabilidad entre estaciones que el IC peso total (Figura 2.13B, E). La mediana del IC peso total varía entre 90% y 110%, mientras que la mediana del IC peso carne presenta un rango intercuartil de ente 60% y 180%, y una mediana entre 80% y 135% (Figura 2.13B, E).

En la zona de Estero Castro se registró el rango intercuartil más estrecho de las 3 zonas muestreadas. El IC peso total, presenta su mayor valor en la estación 1 (Chañihué) de 120%, mientras que se registró una mediana de entre 93% y 100% en las estaciones 2 a 5. El IC peso carne, muestra una mayor variabilidad, con una mediana que varó entre 94% y 115%, en las estaciones 1 y 4, correspondiente a los sectores Chañihué y Rauco, respectivamente (Figura 2.13C, F).

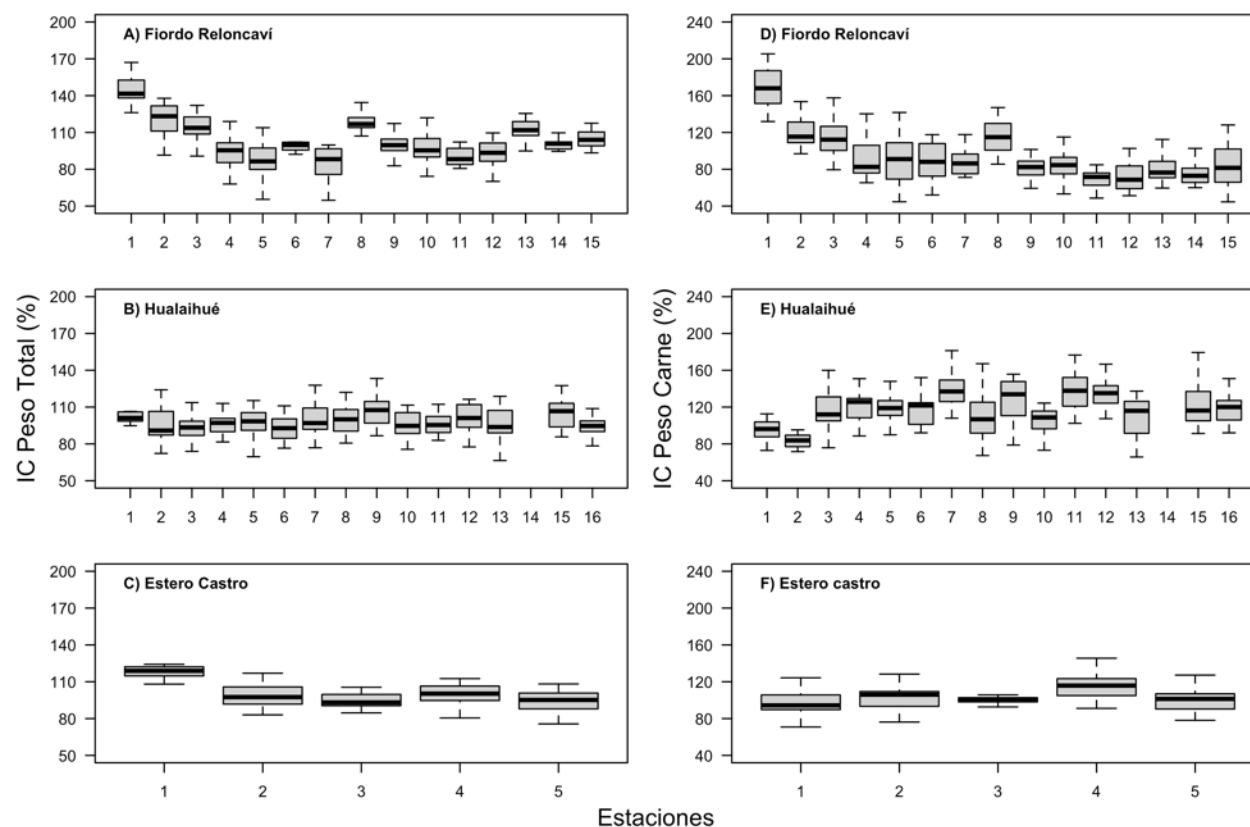


Figura 2.13. Índice de condición para el peso total e índice de Condición para el peso de la carne húmeda de *Mytilus chilensis* recolectados en el Fiordo Reloncaví (A, D), Hualaihué (B, E) y Castro (C, F). Línea negra indica la mediana, rectángulo gris muestra el rango intercuartil (Q1 y Q3), barras de error muestran los valores mínimos y máximos.

4.3.3.3. Proporción sexual e índice gonádico

La estimación de la proporción sexual se obtuvo de una muestra de 269 individuos de *M. chilensis* para la zona del fiordo Reloncaví, de 223 para Hualaihué y 74 individuos para la zona de Castro (Tabla 2.5).

La proporción sexual de *M. chilensis* obtenida en la zona de fiordo de reloncaví fue mayor en hembras en 8 estaciones con una proporción de entre 53% y 67%, mientras que la proporción de machos cuando fue mayor varió entre 53,3% y 73,3% (Figura 2.14A). En la zona de Hualaihué la proporción de hembras fue mayor en 10 de las 16 estaciones monitoreadas, con un rango que varió entre 53,35% y 80%, en tanto que en el Estero Castro la proporción de hembras fue levemente mayor en 3 de las 5 estaciones visitadas (Figura 2.14B, C).

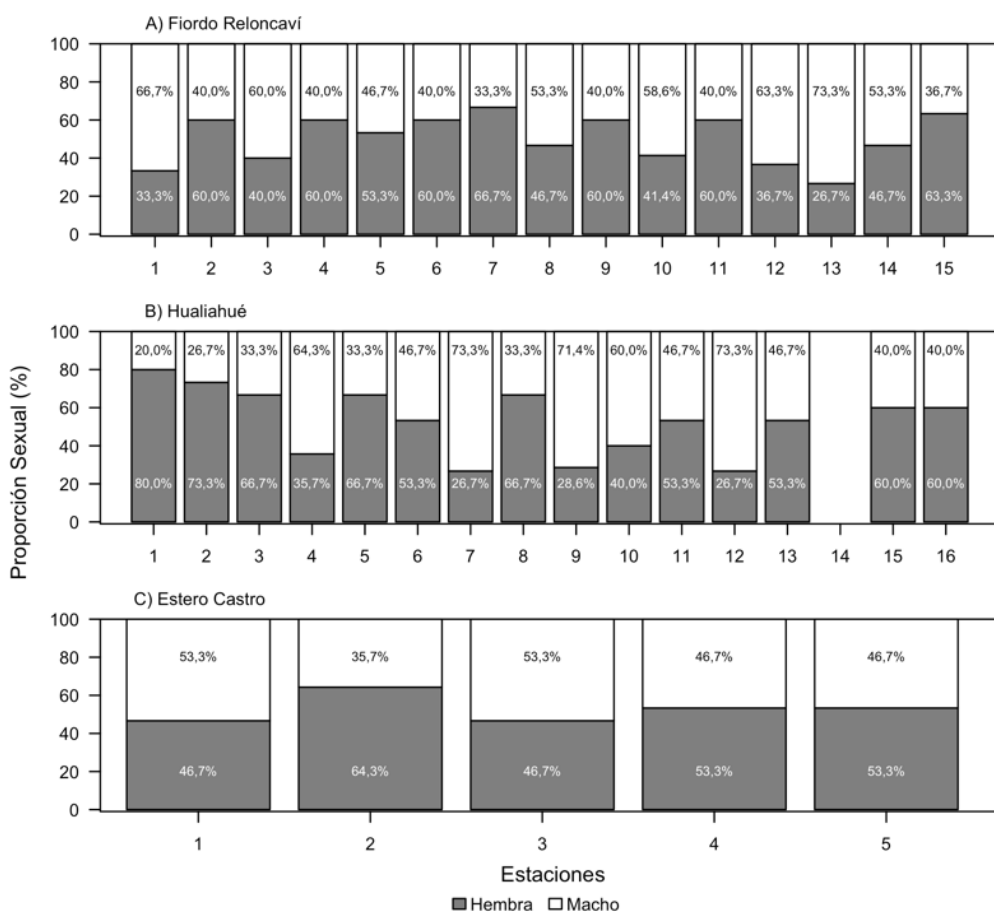


Figura 2.14. Proporción sexual de *Mytilus chilensis* en las zonas de A) Fiordo Reloncaví, B) Hualaihué, y C) Estero Castro.

El índice gonádico (IG) de *M. chilensis* vario entre 0 y 16% en las tres zonas monitoreadas. Consistente con el índice de condición, la zona de Hualaihué fue donde se observó la mayor mediana de IG entre 5,1% y 9,0 % con un promedio de 7,6%, mientras que la mediana del IG registrado en la zona del fiordo Reloncaví varió entre 2% y 6% y media de 4,4%. En la zona del Estero Castro presento una mediana de entre 3,7% y 5,8% y un promedio de 4,8% (Figura 2.15).

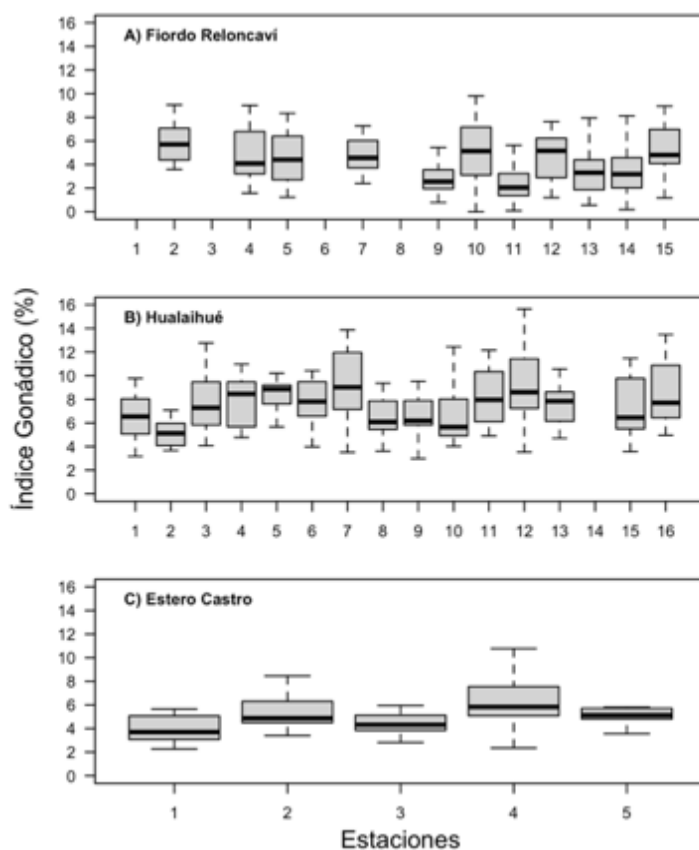


Figura 2.15. Índice Gonádico (IG) de *Mytilus chilensis* en las zonas A) Fiordo Reloncaví, B) Hualaihué y C) Estero Castro.

4.3.4. Seguimiento bimestral de bancos

4.3.4.1. Selección de bancos

La selección de bancos para el seguimiento bimestral se basó en la propuesta metodológica y los sitios de muestreo fueron consensuados con la contraparte técnica. La propuesta fue presentada en

formato escrito, lo que se complementó con una presentación PowerPoint. De esta actividad se generó un acta con los acuerdos que contiene la identificación de los sitios a muestrear (Anexo 2.4).

En el fiordo Reloncaví se seleccionaron las estaciones 7,11 y 15 (Llaguepe, Serapio y Punta Salida, respectivamente) (Figura 2.4A); en la zona de Hualaihué se seleccionaron las estaciones 1, 4 y 7 (Hualaihué, Pichicolo y canal Hornopirén) (Figura 2.4C), finalmente en estero Castro se seleccionaron las estaciones 2, 3 y 4 (Yutui, Nercón y Rauco, respectivamente) (Figura 2.5).

4.3.4.2. Muestreo bimestral de bancos

Los muestreos se realizaron en los meses diciembre de 2023, marzo y mayo de 2024 (Tabla 2.7). En todos los monitoreos se registraron videos de los transectos fijados al fondo en cada uno de los sectores, lo que generó un total de 27 video transectos por zona y muestreo. En el primer muestreo no se registraron semillas en colectores, ya que aún no se registraba captación (Tabla 2.7). La proporción de las especies de mitílidos registradas en las muestras de bancos naturales en cuadrantes de 0,25x0,25 desde los bancos naturales, en los niveles superior, medio e inferior fueron *M. chilensis*, *A. atra*, *C. chorus* y *P. purpuratus* se muestran en la Figura 2.16.

Tabla 2.7. Muestreos bimestrales realizados y tipo de muestras recolectadas en 3 sitios de cada zona.

Fecha	Zona	Sector (N° de Estación)	N° de cuadrantes banco natural			N° de Videos	N° de Colectores
			Inferior	Medio	Superior		
06-12-2023	Reloncaví	Llaguepe (7)	3	3	3	3	
		Serapio (11)	3	3	3	3	
		Punta Salida (15)	3	3	3	3	
07-12-2023	Castro	Rauco (4)	3	0	3	3	
		Nercón (3)	3	1	2	3	
		Yutuy (2)	3	1	3	3	
13-12-2023	Hualaihué	Hualaihué (1)	0	1	3	3	
		Pichicolo (4)	2	3	3	3	
		Canal Hornopirén (7)	3	3	3	3	
25-03-2024	Reloncaví	Llaguepe (7)	3	3	3	3	3
		Serapio (11)	3	3	3	3	3
		Punta Salida (15)	2	3	3	3	0
18-03-2024	Castro	Rauco (4)	3	0	3	3	3
		Nercón (3)	3	0	2	3	0
		Yutuy (2)	3	0	3	3	3
14-03-2024	Hualaihué	Hualaihué (1)	3	3	3	3	0
		Canal Hornopirén (7)	1	1	3	3	0
		Pichicolo (4)	3	2	2	3	0
15-05-2024	Reloncaví	Llaguepe (7)	3	3	3	3	3
		Serapio (11)	3	3	3	3	3
		Punta Salida (15)	3	3	3	3	0
18-05-2024	Castro	Rauco (4)	3	3	3	3	3

Fecha	Zona	Sector (N° de Estación)	N° de cuadrantes banco natural			N° de Videos	N° de Colectores
			Inferior	Medio	Superior		
25-05-2024	Hualaihué	Nercón (3)	3	3	3	3	0
		Yutuy (2)	3	3	3	3	3
		Hualaihué (1)	3	3	3	3	0
		Pichicolo (4)	3	3	3	3	0
		Canal Hornopirén (7)	3	3	3	3	0

En las Figuras 2.17 a 2.19 se muestran las distribuciones de tamaños de las muestras obtenidas en el banco natural y en los colectores (en este caso sólo a partir del segundo muestreo) (Tabla 2.8).

En el muestreo 1, en las tres zonas sólo se observan individuos *M. chilensis* de banco natural (barras rojas), observando presencia de individuos <10 mm (que corresponderían a reclutados recientemente) en Hualaihué y escasamente en fiordo Reloncaví. En el mes de marzo (muestreo 2, tres meses después) se observaron semillas abundantes en los colectores en fiordo Reloncaví y Castro de hasta 30 mm, mientras que en Hualaihué no se registraron semillas en colectores (Figura 2.17 a 2.19, Tabla 2.8) A la vez, en el banco natural se observa aumento de los individuos < 10 mm LC (reclutas), más abundantes en Hualaihué superior e inferior y menos abundantes en Reloncaví superior.

Finalmente, en el muestreo 3 (mayo), no se registraron semillas en Hualaihué. En Castro y fiordo Reloncaví las semillas fueron abundantes en los colectores y alcanzaron tamaños de hasta 35 mm en fiordo Reloncaví y hasta 45 mm en Castro. Por otro lado, en fiordo Reloncaví y en Castro se observó una distribución bimodal en los choritos de banco natural sólo en el nivel inferior, sugiriendo un reclutamiento exitoso en ambos sitios y niveles. En Hualaihué se mantuvo la representatividad de individuos pequeños (Figura 2.17 a 2.19).

Tabla 2.8. Número de ejemplares de *Mytilus chilensis* recolectados para la estructura talla desde transectos en banco natural y colector, por nivel de profundidad inferior, medio y superior, durante los monitoreos de diciembre 2023, marzo y mayo de 2024, en las zonas Fiordo Reloncaví, Hualaihué y Estero Castro.

Zona	Mes	Transecto en Banco Natural			Colector		
		Inferior	Medio	Superior	Inferior	Medio	Superior
Fiordo Reloncaví	diciembre 2023	365	264	166			
	marzo 2024	199	272	184	1260	1773	2841
	mayo 2024	371	262	193	1443	1910	1258
Hualaihué	diciembre 2023	477	641	817			
	marzo 2024	797	714	1149			236
	mayo 2024	756	550	605			
Estero Castro	diciembre 2023	234	77	334			
	marzo 2024	366		399	1953	1639	1959
	mayo 2024	737	173	678	1600	1297	1700

Las distribuciones de tamaños observadas en los bancos naturales incluyeron rangos de tamaños hacia individuos más grandes, lo que se explica porque los colectores de semillas se instalan cada año.

La distribución de tamaños de las semillas obtenidas desde los colectores fue más amplia en Castro y en el estrato inferior del fiordo Reloncaví, mientras que en el estrato superior del fiordo Reloncaví, las semillas fueron más pequeñas (Figura 2.19).

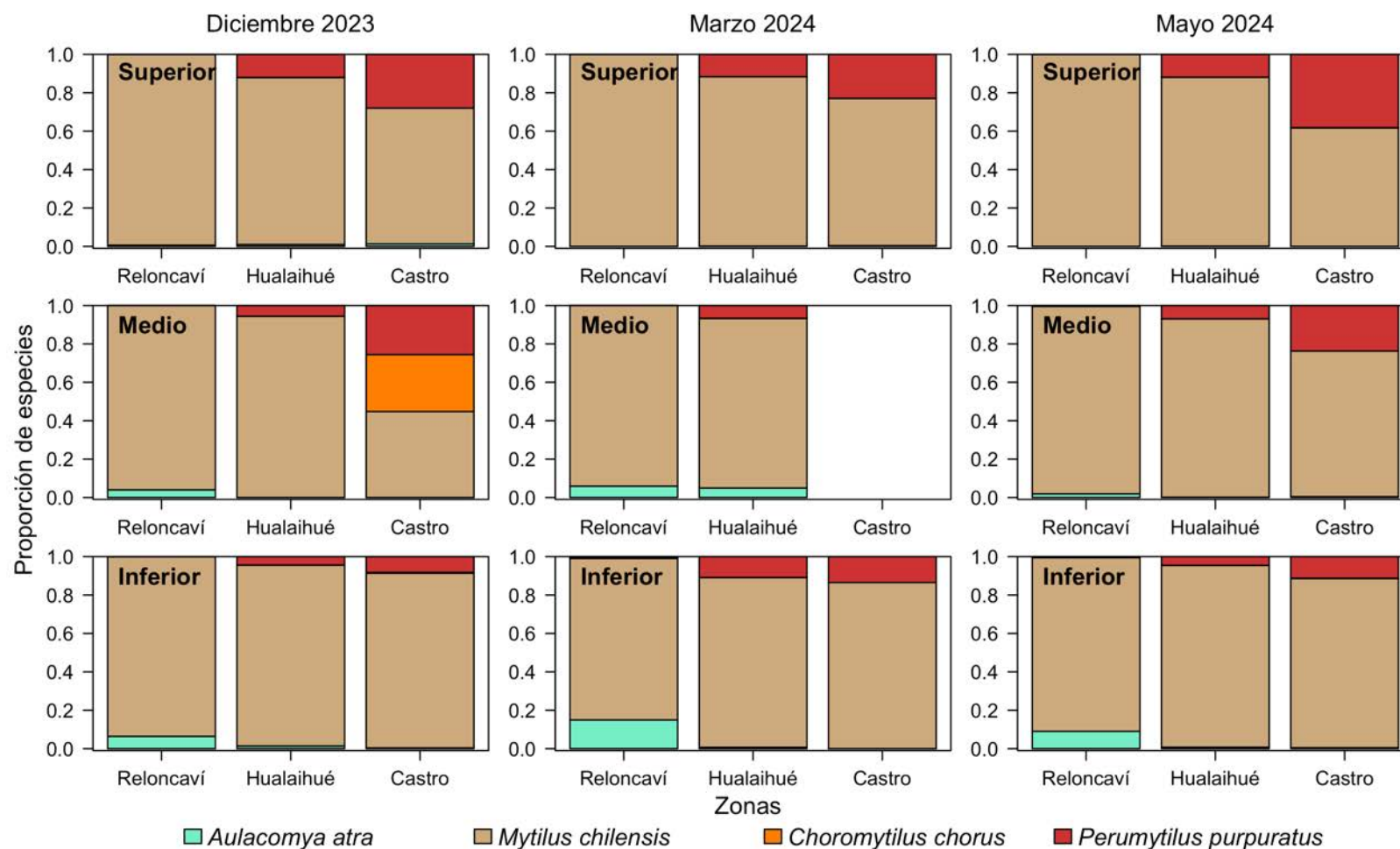


Figura 2.16. Proporción de especies de *Mitilidae* registradas en los muestreos bimestrales en bancos seleccionados de las zonas Fiordo Reloncaví, Hualaihué y Estero Castro.

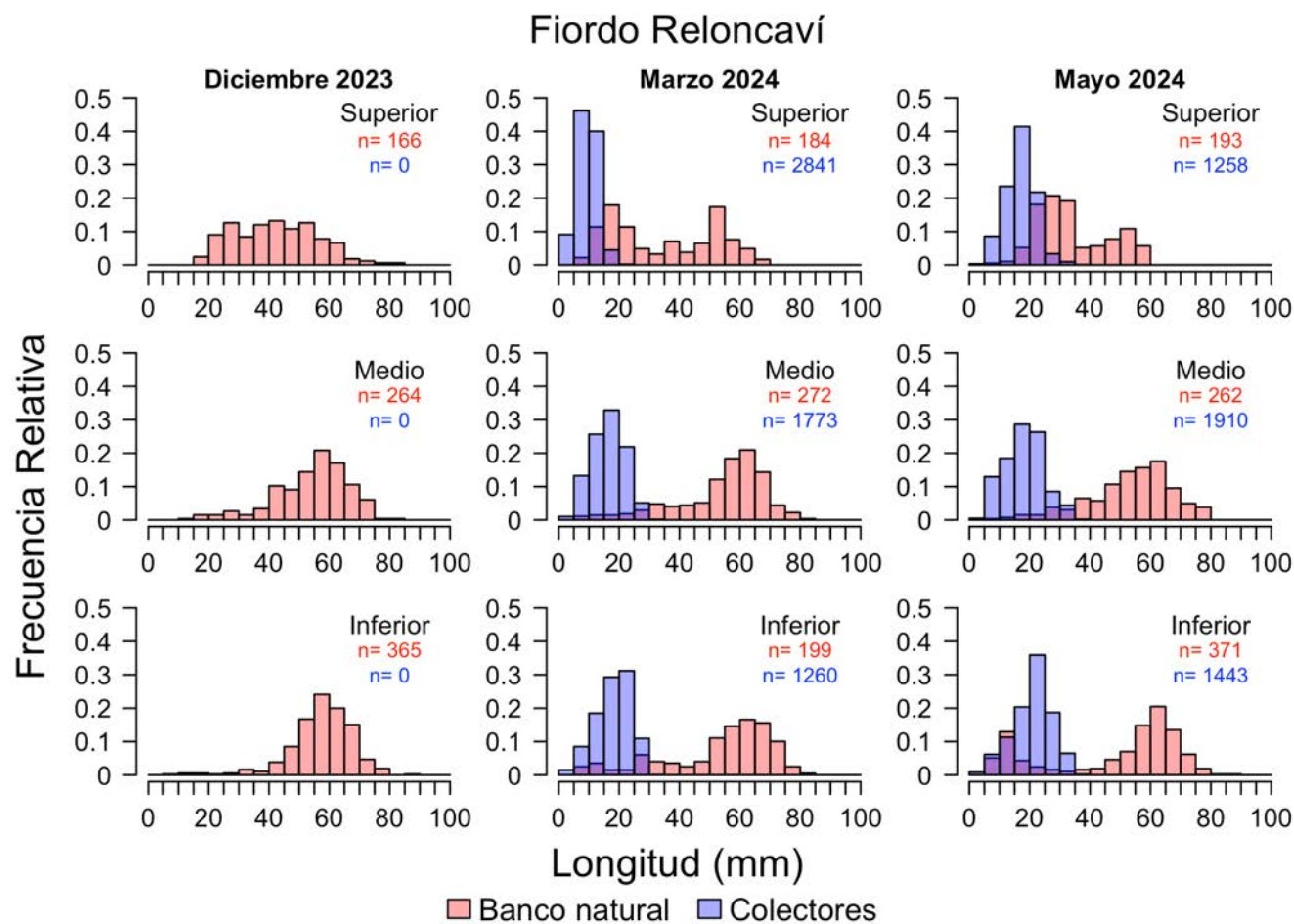


Figura 2.17. Distribución de tamaños de *Mytilus chilensis* desde cuadrantes de 0,25 x 0,25 m en bancos naturales y colectores en la zona Fiordo Reloncaví, en los muestreos de diciembre de 2023, marzo y mayo de 2024, en los niveles de profundidad superior, medio e inferior.

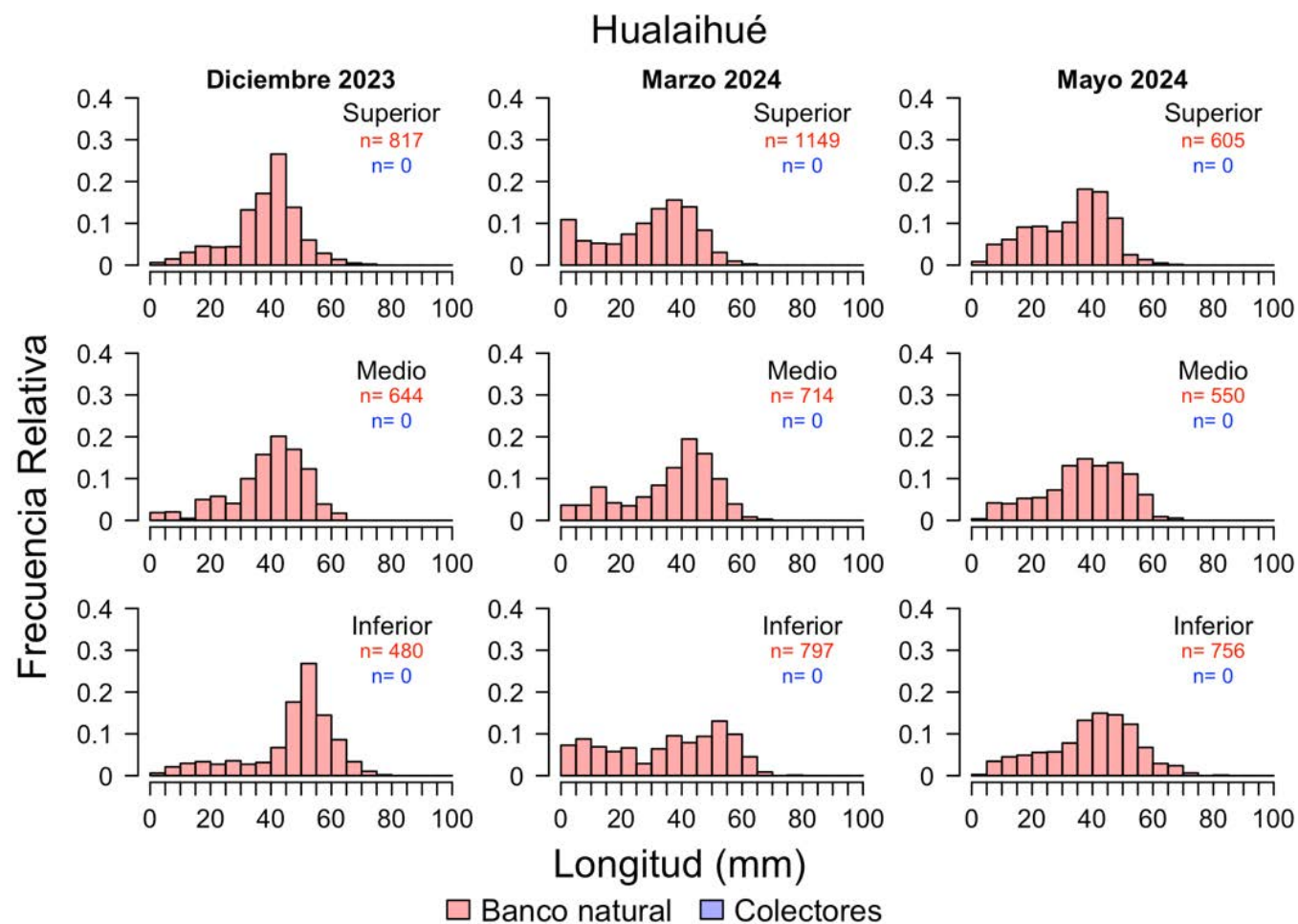


Figura 2.18. Distribución de tamaños de *Mytilus chilensis* desde cuadrantes de 0,25 x 0,25 m en bancos naturales y colectores en la zona Hualaihué, en los muestreos de diciembre de 2023, marzo y mayo de 2024, en los niveles de profundidad superior, medio e inferior.

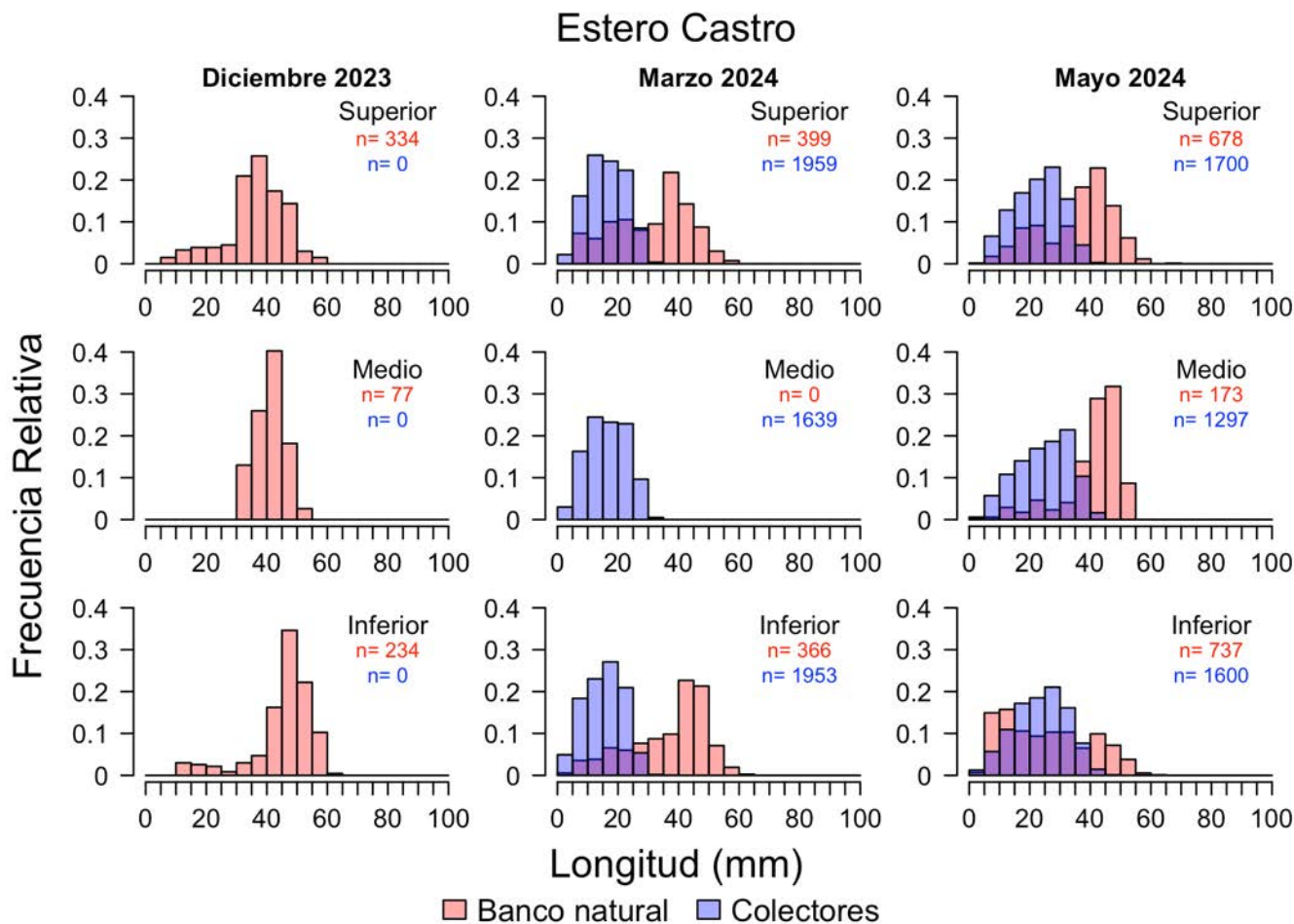


Figura 2.19. Distribución de tamaños de *Mytilus chilensis* desde cuadrantes de 0,25 x 0,25 m en bancos naturales y colectores en la zona Estero Castro, en los muestreos de diciembre de 2023, marzo y mayo de 2024, en los niveles de profundidad superior, medio e inferior.

El análisis de cohortes de las semillas de los colectores muestreados el fiordo Reloncaví en marzo, registró cinco cohortes (Figura 2.20A), con una corte más robusta en aproximadamente 10 mm LC. En el muestreo de mayo, se observó que el modelo más informativo (menor AIC y Max. Grad <1) registró 4 cohortes, con una cohorte que representó más de 50% de las semillas con tamaño promedio alrededor de 18 mm LC (Figura 2.20B).

Por otro lado, en Castro el modelo más informativo también identificó 5 cohortes en la captación de semillas hasta marzo, con una cohorte más robusta en tamaño promedio 18 mm LC (alrededor de 50%) y una cohorte más pequeña (10%) en tamaño promedio 24 mm LC) (Figura 2.21A). En mayo de 2024 se registraron nuevamente 5 cohortes, las más robustas en 24 y 32 mm LC (Figura 2.21B).

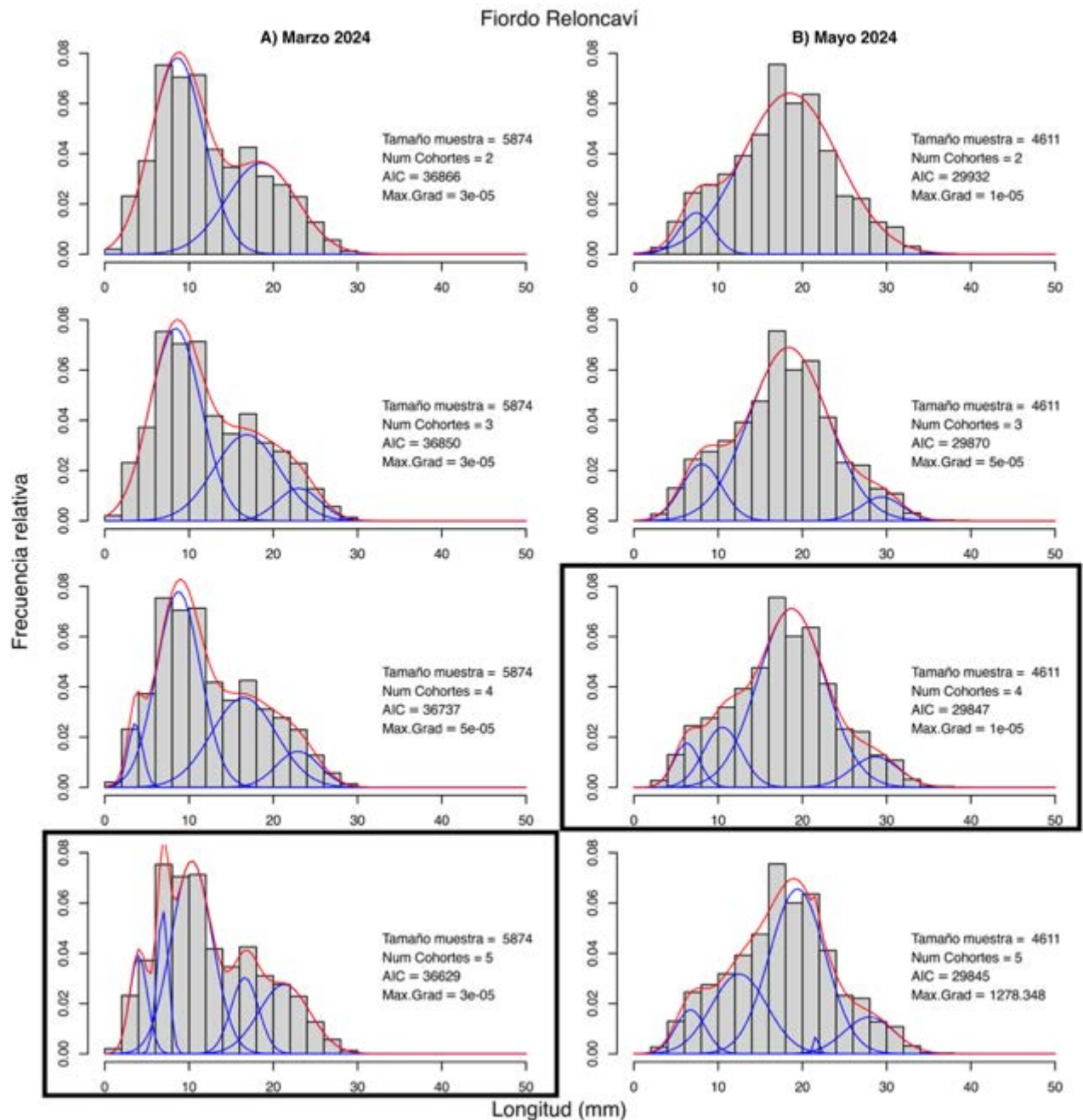


Figura 2.20. Análisis de cohortes de semillas de *Mytilus chilensis* obtenidas desde colectores, A) en el mes de marzo de 2024 en fiordo Reloncaví; B) en el mes de mayo de 2024 en la zona Fiordo Reloncaví. Líneas azules muestran la distribución de la proporción de cada una de las cohortes. Línea roja muestra la distribución acumulada. AIC es el criterio de información de Akaike. Encerrado en rectángulo los modelos más informativos.

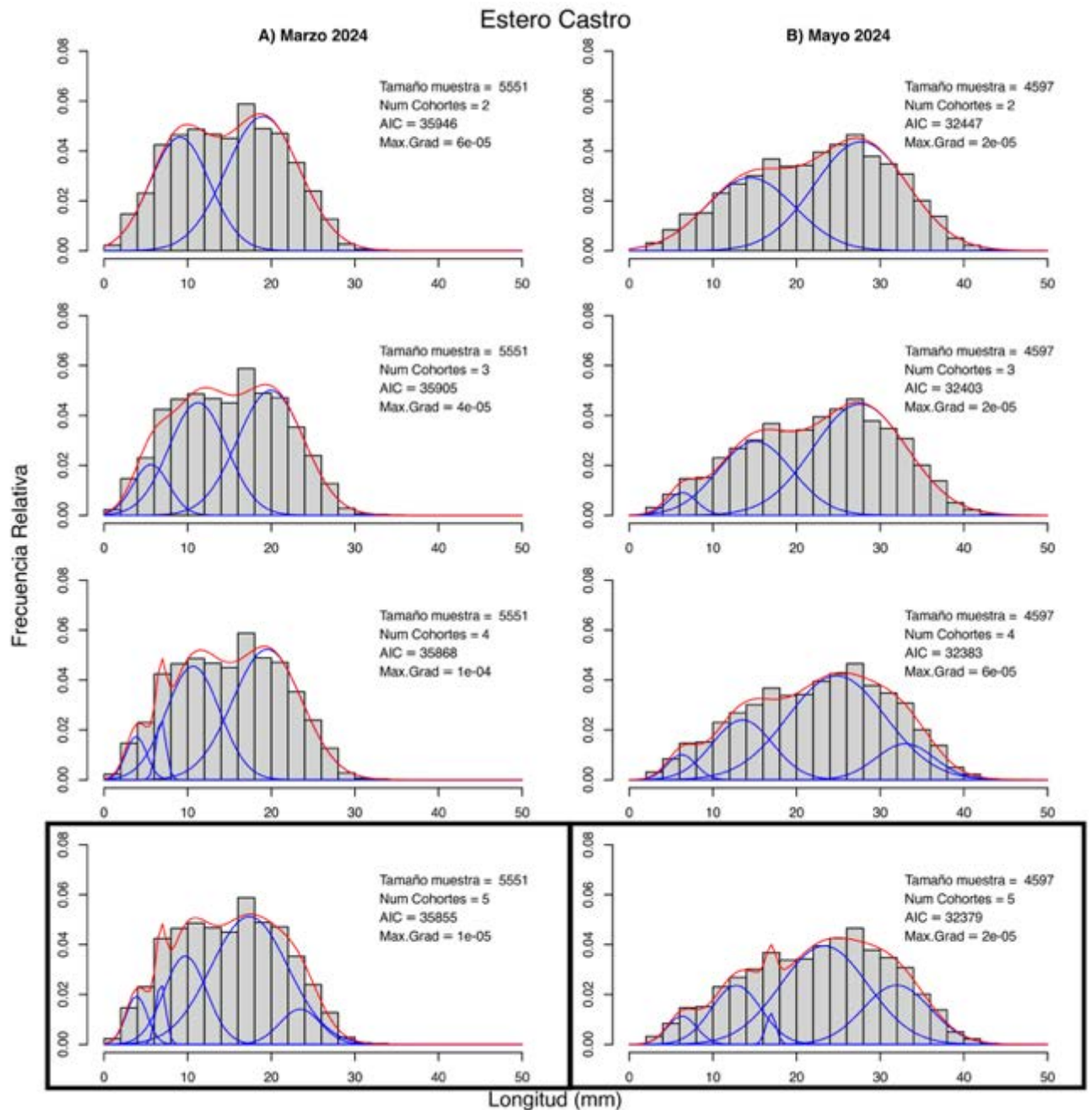


Figura 2.21. Análisis de cohortes de semillas de *Mytilus chilensis* obtenidas desde colectores, A) en el mes de marzo de 2024 en fiordo Reloncaví; B) en el mes de mayo de 2024 en la zona Estero Castro. Líneas azules muestras la distribución de la proporción de cada una de las cohortes. Línea roja muestra la distribución acumulada. AIC es el criterio de información de Akaike. Encerrado en rectángulo los modelos más informativos.



Figura 2.22. Fotografía de colectores en el sector de Pichicolo (Hualaihué) que muestra la ausencia de semillas en esa zona en marzo de 2024.

5. Objetivo Específico N°3. Caracterizar genéticamente los bancos naturales, considerando el gradiente vertical, mediante marcadores SNP, para apoyar la trazabilidad de las diferentes especies del género *Mytilus* presentes en el área de estudio e identificar posibles bancos con poblaciones o individuos de especies exóticas.

5.1. Antecedentes

El estudio de la caracterización genética de los bancos naturales de mitílicos en Chile se ha realizado desde hace más de 20 años, utilizando diferentes aproximaciones metodológicas. Los resultados han mostrado diferencias en la estructura poblacional, a lo largo de grandes rangos de distancia, donde se ha observado diferenciación con Punta Arenas principalmente (Oyarzún et al., 2016). Sin embargo, con el avance del desarrollo de tecnología molecular, que ha permitido conocer en mayor detalle genes, secuencias o genomas, se han desarrollado otra serie de trabajos, tanto para preguntas globales de identificación de especie hasta comparación entre bancos. Para esto se ha utilizado métodos de secuenciación de ADN (Astorga et al., 2015), desarrollo de microsatélites (Ouagajjou et al., 2011; Larrain et al., 2014) y análisis genómicos de SNPs (Araneda et al., 2016; Larrain et al., 2018). Además, recientemente se ha realizado la secuenciación del genoma completo de la especie (Gallardo-Escárate et al., 2022).

Los resultados han mostrado patrones muy similares, donde destaca que la especie presente en Chile es única y diferenciada del resto de especies del mismo género, presentes en otras localidades, confirmando su denominación como *Mytilus chilensis*. Por otro lado, se ha detectado la presencia de la especie invasora *Mytilus galloprovincialis*, aunque restringida a las zonas de la Región del Biobío (Toro et al., 2005, Oyarzún et al. 2024) y posiblemente en la Región de Magallanes (Oyarzún et al., 2016), sin un registro actual con marcadores de alta resolución, en la Región de Los Lagos. Además, Valenzuela et al. (2016), diferenciaron híbridos de ambas especies mediante marcadores moleculares evaluados en individuos que se reprodujeron en laboratorio, logrando separar estos grupos como se observa en el análisis de componentes principales, destacados en círculo rojo en la Figura 3.1.

Los estudios a lo largo del gradiente latitudinal han establecido una amplia conectividad entre bancos naturales de la costa chilena, no observándose estructura o diferenciación entre localidades, como se muestra en los estudios realizados por Astorga et al. (2015, 2018), quienes definen tipos genéticos compartidos entre localidades, como se observa en las redes de haplotipos de la Figura 3.2, y donde si se observan diferencias con las muestras ubicadas en la costa argentina.

Estos resultados son corroborados posteriormente en el análisis poblacional realizado por Astorga et al. (2020), como se observa en la Figura 3.3, que muestra los grupos genéticos compartidos entre localidades.

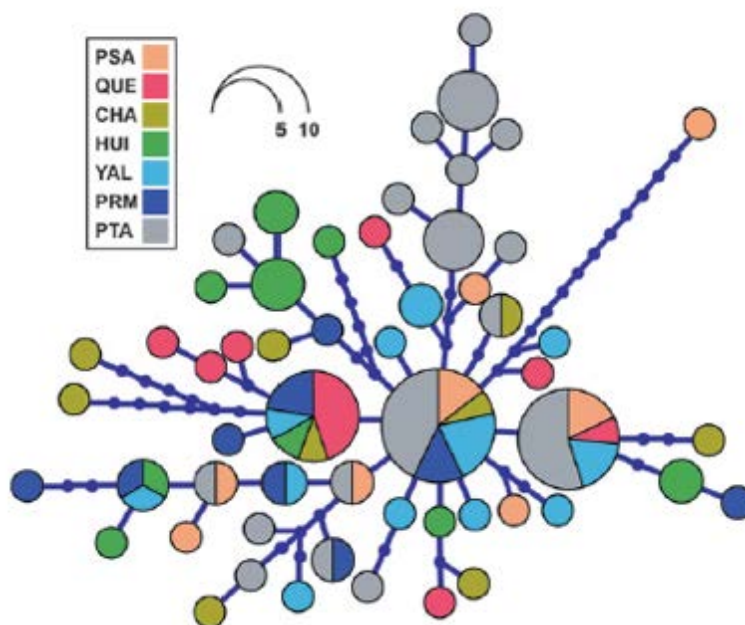


Figura 3.3. Red de haplotipos de muestras de *Mytilus chilensis* de la costa chilena, para evaluar su estructura genética poblacional en base a secuenciación de ADN mitocondrial. (Extraído de Astorga et al., 2020).

Los trabajos han determinado que los bancos naturales de la especie *M. chilensis* presentan alta conectividad, lo cual puede ser debido a dos grandes causas: i) naturales por alta dispersión de los estados larvales, producto de corrientes o por su tiempo de vida larval de aproximadamente 30 a 40 días en el plancton y ii) causas antrópicas, correspondiente al movimiento de individuos en estados de semilla, desde una zona de producción o captación hacia otra zona donde se realiza engorda, y donde los individuos también son capaces de madurar y reproducirse. Estos procesos han hecho difícil identificar origen de las semillas o identificar bancos naturales que sean fuente para la captación, debido a que la similitud genética de estos es muy alta, por la mezcla ya descrita.

Se espera que, con el uso de análisis más finos para la lectura de la información genética, como la secuenciación masiva, puede resolverse esta problemática, solo si es que ésta se debe a las herramientas genéticas actualmente utilizadas y no a las características de los bancos naturales de la especie *M. chilensis*.

Sin embargo, se ha detectado diferenciación de la diversidad genética entre algunas localidades (Astorga et al., 2020), lo cual se asocia a los niveles de extracción y cultivo, donde la más alta diversidad fue observada en Huinay (lugar sin cultivo y extracción de mitílicos por ser un área protegida), mientras que la menor diversidad fue observada en Yaldad (la primera y más importante área de captación para la mitilicultura hasta los años 1990s).

Por último, a nivel más local, se ha observado diferencias genéticas entre muestras del intermareal y submareal (Astorga et al., 2018) donde se ha encontrado un grado de selección natural diferencial entre grupos de ambas zonas, siendo seleccionados en contra de aquellos individuos más expuestos que se ubican en la zona intermareal. Por otro lado, el uso de marcadores capaces de indicar procesos selectivos puede ser de gran utilidad para corroborar estos procesos, lo cual sería posible usando SNPs outlier, como lo describe Araneda et al. (2016).

5.2. Metodología

5.2.1. Recolección de muestras

La obtención de muestras para los análisis genéticos se realizó en estaciones específicas muestreadas en las campañas descritas en el objetivo específico N°2.

Las muestras para la identificación genética de los diferentes morfos identificados en el objetivo específico N°2 se recolectaron desde varias estaciones de muestreos en las tres zonas de estudio (Tabla 2.1). Posteriormente, se realizó una nueva clasificación en la que se descartaron los morfos repetidos para su posterior análisis genético, utilizándose muestras de cuatro estaciones del fiordo Reloncaví, cuatro estaciones de Hualaihué y tres estaciones de Estero Castro (Tabla 3.1, Figura 3.4).

Desde este mismo grupo de muestras se separaron muestras de individuos de *M. chilensis* intermareal y submareal, sólo para el caso del fiordo Reloncaví, ya que en Hualaihué y Castro no se registró *M. chilensis* o similar en el submareal.

Para el objetivo específico N°4 se recolectaron muestras de semillas y adultos provenientes de bancos naturales y líneas de cultivo desde las estaciones Rollizo y Llaguepe en fiordo Reloncaví; Puntilla Quillón y Llancahué en Hualaihué, y Chañihué y Yutuy en Estero Castro (Figura 3.4 A, B y C).

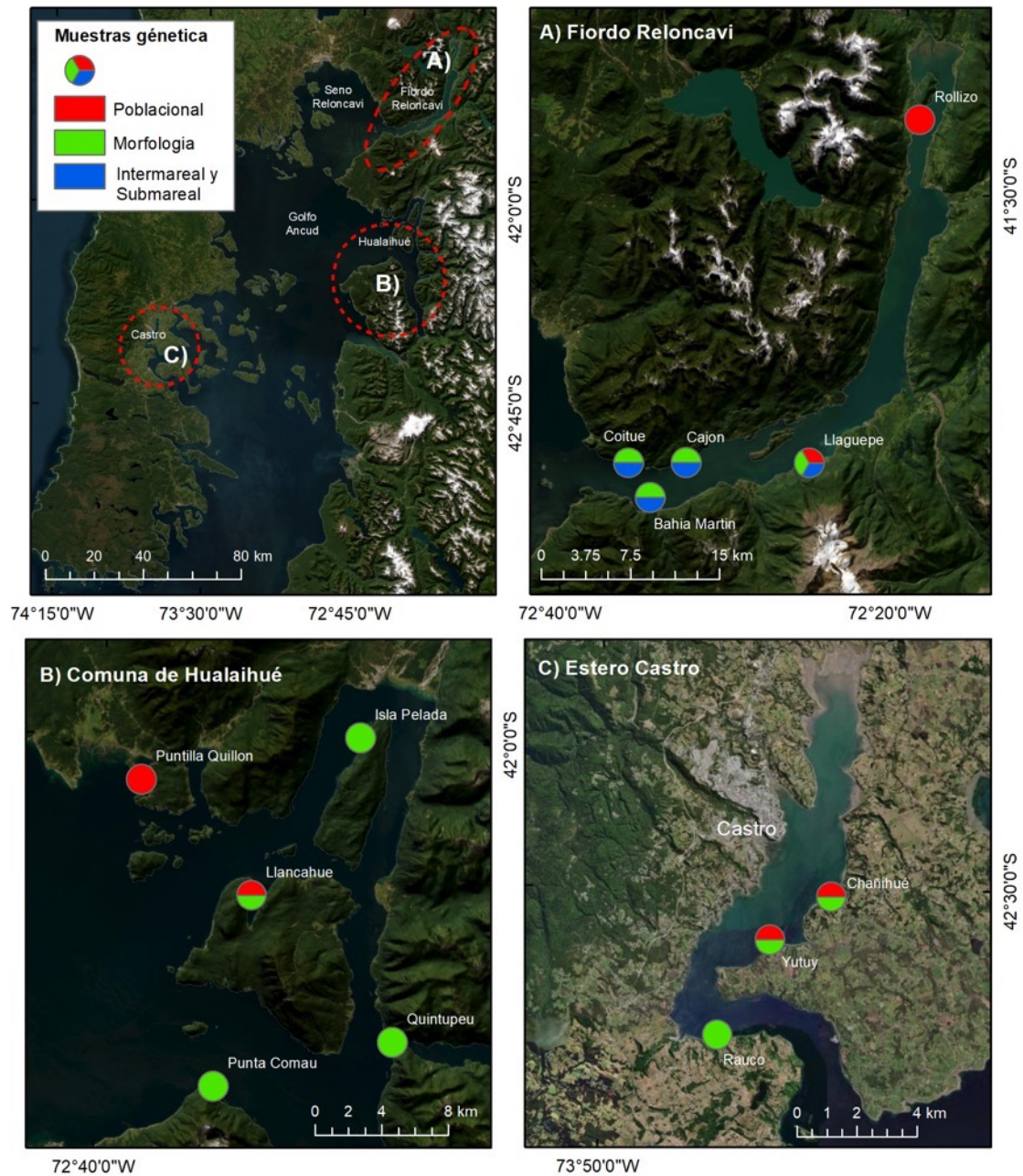


Figura 3.4. Mapa de ubicación de las estaciones donde se recolectaron las muestras para la caracterización genética de *Mytilus chilensis*, objetivo 4 (rojo), análisis morfológico (verde) e intermareal y submareal (azul) en las zonas Fiordo Reloncavi (A), Hualaihué (B) y Estero Castro (C).

5.2.2. Identificación de mitílicos e híbridos en bancos naturales

Requerimiento metodológico 5.3.2 el cual plantea “Identificar cada una de las especies de mitílicos presentes en los bancos naturales del área de estudio, considerando al menos 3 estratos en el sentido vertical, con especial énfasis en detectar la presencia de especies exóticas como *Mytilus galloprovincialis*” y requerimiento metodológico 5.3.3. “Identificar los sectores donde hay presencia en los bancos naturales de otras especies del género *Mytilus* diferentes a *Mytilus chilensis* o de bancos naturales de ellas y el grado de hibridación con *M. chilensis*, si lo hubiera”.

Para la identificación de especies, se muestrearon individuos que presentaron morfos diferenciados al común observado en *Mytilus chilensis*, siguiendo las formas de las especies *M. chilensis*, *M. galloprovincialis*, *M. trosulus*, *M. edulis* descritas en Figura 2.1 (objetivo específico N°2) y otros morfos observados, de tal forma de asegurar un muestreo dirigido a la posible presencia de otras especies (Tabla 3.1).

El análisis de los morfotipos para identificación de especie se realizó mediante dos tipos de metodologías genéticas, con la tecnología de High Resolution Melting (HRM), y secuenciación de ADN mitocondrial (marcador universal para DNA Barcoding, Citocromo oxidasa I, COI).

Tabla 3.1. Número de mitílicos de bancos naturales muestreados y analizados para la secuenciación del gen mitocondrial Citocromo Oxidasa I por zona, sector y zona mareal.

Zona	SECTOR	ZONA MAREAL	NÚMERO
Fiordo Reloncaví	Coitué	Submareal	6
	Coitué	Intermareal	15
	Bahía Martín	Submareal	11
	Bahía Martín	Intermareal	12
	Cajón	Submareal	7
	Cajón	Media	11
	Cajón	Intermareal	11
	Llaguepe	Submareal	9
	Llaguepe	Media	6
	Llaguepe	Intermareal	3
Hualaihué	Hualaihué	Submareal	12
Estero Castro	Estero Castro	Submareal	10
TOTAL			113

5.2.2.1. Identificación de especies e híbridos mediante técnica HRM

Para la identificación de especies se analizaron los diferentes morfos encontrados en los distintos sectores, mediante la aproximación indicada en las bases consistente a la aplicación del método de PCR-High resolution Melting (HRM) multilocus definido por Quintrel et al. (2021) utilizando los partidores PAMP F-R diseñados por Jilberto et al. (2017). Cabe destacar que según la propuesta original se estableció la identificación de especies de *Mytilus chilensis* e híbridos mediante la definición de un panel de 9 SNPs descritos en el trabajo de por Quintrel et al. (2021) más el previamente publicado por Jilfredo et al. (2017). No obstante, la secuencia y condiciones del panel de partidores de los 9 marcadores no fue posible de encontrar en el artículo publicado, así como en los trabajos de tesis desarrollados por el grupo de investigación. Específicamente el set de partidores descritos para L2-L10 descritos en la publicación de Quintrel et al. (2021) en la Tabla 3.2 (ver a continuación).

Tabla 3.2. Nombre, tamaño Amplicon, polimorfismos y referencia.

Nombre	Tamaño Amplicon (pb)	SNP	Referencia
PAMP-F/PAMP-R	116-170	G/T	Jilberto et al. (2017)
L2-F/L2-R	106	A/T	Quintrel et al. (2021)
L3-F/L3-R	58	A/C	Quintrel et al. (2021)
L4-F/L4-R	51	A/G	Quintrel et al. (2021)
L5-F/L5-R	54	T/C	Quintrel et al. (2021)
L6-F/L6-R	132	A/G	Quintrel et al. (2021)
L7-F/L7-R	79	C/T	Quintrel et al. (2021)
L8-F/L8-R	54	G/T	Quintrel et al. (2021)
L9-F/L9-R	80	C/T	Quintrel et al. (2021)
L10-F/L10-R	57	A/G	Quintrel et al. (2021)

En síntesis, el análisis de HRM solo fue realizado utilizando los partidores que amplifican una región del gen PAMP (Polyphenolic Adhesive Protein of Mussels), cuya secuencia esta publicada en el trabajo de Jilfredo et al. (2017). La secuencia de los partidores utilizados fueron las siguientes: (PAMP-F: 5'-GGAACAAAGCATGGACCA-3' and PAMP-R:5'-GACAGCTTCTTTGCAAGTGG-3').

Los morfotipos analizados para la identificación de especie se realizó en las tres zonas y el detalle se muestra en la Tabla 3.3.

Tabla 3.3. Muestras para análisis de morfotipos para identificación de especie mediante análisis de High Resolution Melting (HRM).

N° MUESTRA	ZONA	SECTOR	TEJIDO	INT/MEDIO/SUB	CLASIFICACIÓN
1	Reloncaví	Coitúe	manto	Intermareal	morfo T3 SUP
2	Reloncaví	Coitúe	brancaia	Intermareal	morfo T3 SUP
3	Reloncaví	Coitúe	manto	Intermareal	morfo T3 SUP

N° MUESTRA	ZONA	SECTOR	TEJIDO	INT/MEDIO/SUB	CLASIFICACIÓN
52	Reloncaví	Coitúe	bránquia	Intermareal	banco natural T3 SUP
92	Reloncaví	Coitúe	bránquia	Submareal	banco natural INF
101	Reloncaví	Coitúe	manto	Submareal	banco natural INF
134	Reloncaví	Cajón	manto	Media	morfo T4 media
167	Reloncaví	Marimelli	manto	Submareal	morfo T1 INF
182	Reloncaví	Marimelli	manto	Submareal	morfo T4 INF
200	Reloncaví	Sotomó	manto	Intermareal	morfo T5 SUP
201	Reloncaví	Sotomó	manto	Intermareal	morfo T4 SUP
345	Reloncaví	Relonhué	manto	Intermareal	morfo T4 SUP
368	Reloncaví	Ragusa	manto	Submareal	morfo T1 INF
383	Reloncaví	Bahía Martín	manto	Intermareal	morfo T4 SUP
409	Reloncaví	Bahía Martín	manto	Media	morfo T2 media
444	Reloncaví	Marimelli Sur	manto	Intermareal	morfo T1 SUP
455	Reloncaví	Barquillo	manto	Media	morfo T2 media
675	Hualaihué	Pichicolo	manto	-	morfo Pichicolo
681	Hualaihué	Isla Pelada	manto	-	morfo Isla Este
694	Hualaihué	C. Andrade	manto	-	morfo C. Andrade

El análisis propuesto utilizando HRM se basa en la amplificación selectiva del gen denominado por autores como PAPM (Polyphenolic Adhesive Protein of Mussels), cuya secuencia de partidores esta publicada en el trabajo de Jilfredo et al. (2017). Respecto a este gen específico utilizado como candidato para la identificación de especies, es importante entregar antecedentes de su conformación a nivel genómico a fin de evaluar su utilización en la identificación de especies del género *Mytilus*. Algunos moluscos bivalvos como los choritos, producen y secretan bioadhesivos, especializados resistentes al agua, y han sido estudiados como una fuente potencial de adhesivos resistentes al agua. La sustancia adhesiva generada por lo choritos está compuesta de cinco tipos distintos de proteínas: la proteína del pie tipo 1 (FP-1) al tipo 5 (FP-5). Todas las proteínas adhesivas de choritos contienen altas proporciones de 3-dihidroxifenil-L-alanina (DOPA), que es derivada de la hidroxilación de los residuos de tirosina. Este compuesto posee la característica de polimerizar en presencia de agua y, por tanto, su función de adherencia en choritos al sustrato marino. La técnica desarrollada por HRM por Jilfredo et al. (2017) identifica zonas conservadas de los genes Foot proteins (FT) 4, 17, 9, 11 y 15 (Tabla 3.4). Dichos genes están dispersos en los cromosomas 4, 5, 6 y 9 posiblemente por eventos de duplicación genómica. Un aspecto interesante, es la repetición en tándem del gen FT-4 en el cromosoma 4, siendo este antecedente importante para futuros estudios donde se aplique dicho gen para inferir relaciones filogeográficas (Figura 3.5).

Table 3.4. Análisis genómico de genes identificados en el genoma de *Mytilus chilensis* como proteínas de adherencia del pie (foot proteins, FPs).

Cromosoma	GeneID	Descripción
Cromosoma 4	MCH019101.1	ABC84185.1(foot protein-4 variant-2 [<i>Mytilus californianus</i>])
Cromosoma 4	MCH019103.1	ABC84185.1(foot protein-4 variant-2 [<i>Mytilus californianus</i>])

Cromosoma	GeneID	Descripción
Cromosoma 4	MCH019106.1	ABC84185.1(foot protein-4 variant-2 [<i>Mytilus californianus</i>])
Cromosoma 5	MCH022115.1	AST36136.1(foot protein 17 [<i>Mytilus californianus</i>])
Cromosoma 6	MCH025256.1	AST36129.1(foot protein 9 variant 2 [<i>Mytilus californianus</i>])
Cromosoma 6	MCH024637.1	AST36130.1(foot protein 11 [<i>Mytilus californianus</i>])
Cromosoma 9	MCH028990.1	AST36134.1(foot protein 15 [<i>Mytilus californianus</i>])
Cromosoma 9	MCH028991.1	AST36134.1(foot protein 15 [<i>Mytilus californianus</i>])
Cromosoma 9	MCH028998.1	AST36134.1(foot protein 15 [<i>Mytilus californianus</i>])

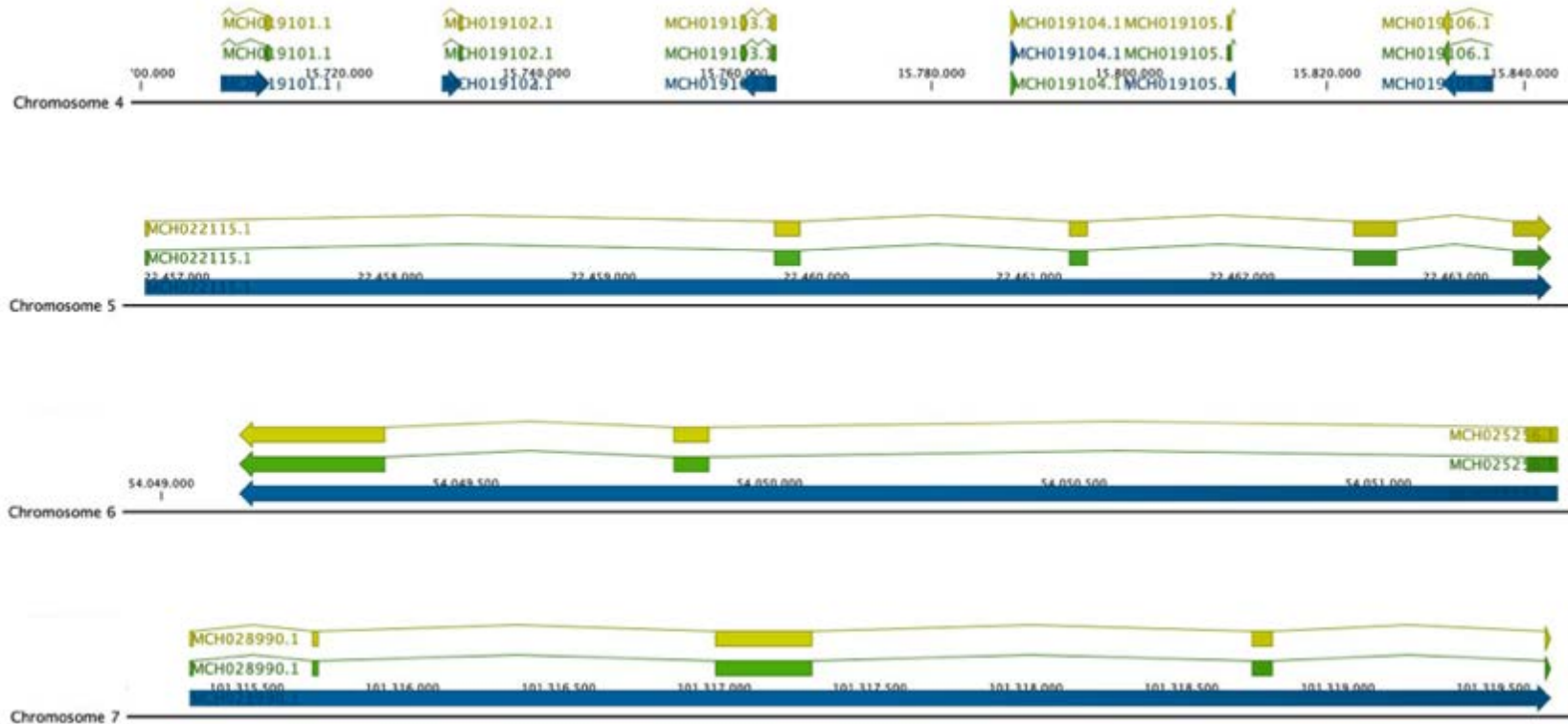


Figura 3.5. Arreglo genómico de genes anotados para proteínas de adhesión del pie (Foot proteins, FP) identificadas en el genoma de *Mytilus chilensis*. En la imagen se observan la localización de los genes FP en los cromosomas 4, 5, 6 y 7.

5.2.2.2. Método de secuenciación de ADN mitocondrial

a) Extracción de ADN

La extracción del ADN se realizó a partir de las muestras individuales identificadas anteriormente. Para cada una de estas muestras se realizó extracción de ADN total desde un trozo de tejido de aproximadamente 0,5 cm. Mediante el uso del kit de extracción para Moluscos (DNA kit EZNA mollusc de Omega Biotech), siguiendo las instrucciones del fabricante. El ADN total obtenido se almacena a -20°C.

b) Cuantificación de ADN mediante Qubit dsDNA HS Assay Kit

Una vez extraído el ADN se realizó la medición de la concentración obtenida. La cuantificación de las muestras se realizó por fluorometría mediante Qubit 1x dsDNA HS Assay Kit (Invitrogen, Carlsbad, California). La cantidad exacta de ADN se determinó mediante la comparación de la muestra problema con muestras de cantidad de ADN conocidas. La calidad del ADN total se visualizó en gel de agarosa al 1% a 90 volt por 40 minutos.

c) PCR convencional

El ADN obtenido de cada una de las muestras fue amplificado por PCR mediante métodos estandarizados para el marcador estándar para el sistema de Código de barras de ADN mundial, correspondiente a Citocromo oxidasa I, mediante los partidores LCO1490 y HCO2198 (Folmer et al., 1994), los cuales ya han sido evaluados en estas muestras.

Las reacciones de PCR fueron realizadas en un termociclador 2720 Thermal Cycler y Mini amp plus, a través de una desnaturalización inicial durante 5 minutos a 95°C seguido de 30 ciclos de desnaturalización a 95°C durante 30 segundos, alineamiento de 55°C durante 30 segundos y una extensión a 72°C durante 45 segundos y una extensión final a 72°C por 10 minutos.

d) Gel de agarosa, producto de PCR

La especificidad y el tamaño del producto final de amplificación se verificaron mediante electroforesis en gel de agarosa al 1,5% a 90 volt por 40 min. Se incluyó un patrón estándar de separación de 100 pares de bases, que permitió discriminar de acuerdo con su peso molecular la presencia de la región en estudio.

Los productos de PCR obtenidos y posteriormente visualizados en gel de agarosa fueron secuenciados mediante método de Sanger en ambos sentidos usando secuenciador automático Applied BioSystem mediante el servicio de Macrogen inc.

Las secuencias obtenidas fueron editadas y alineadas mediante software BIOEDIT 7.7. Para el análisis de los morfotipos e identificación de especies en los muestreos mediante secuenciación, se comparó con las secuencias de diferentes especies de *Mytilus* extraídas de genbank. Estas secuencias corresponden a la especie *Mytilus galloprovincialis*, *Mytilus edulis*, *Mytilus trossulus* y *Mytilus californianus*.

Las secuencias fueron comparadas mediante análisis filogenético usando el software MEGA-11, para lo cual se realizó la construcción del árbol filogenético mediante la aproximación estadística de Neighbor joining usando el modelo de Tamura de 3 parámetros, incluyendo transiciones y transversiones y con tasa uniforme, y se aplicó análisis de bootstrap con 500 repeticiones para el peso de los nodos, en base a lo cual se estimó las distancias genéticas entre los datos y la agrupación que permite la identificación de la especie del género *Mytilus* presente y correspondiente a los diferentes morfotipos encontrados.

Para el análisis de comparación entre zonas mareales, se realizó comparación mediante indicadores de diversidad genética entre grupos (sectores y zonas mareales) y de divergencia genética entre grupos, para lo cual se utilizó el software DnaSP v6 y se utilizó análisis de varianza molecular AMOVA para comparar las muestras entre zonas mareales y sectores de muestreo, mediante el software Arlequin 3.5. Para la estimación de diferencias en la frecuencia genética entre localidades se obtuvo el valor de F_{st} y las diferencias significativas de su diferencia de 0, mediante el software Genepop v4.5.7 (Rousset, 2008).

Para evaluar diferenciación entre zonas mareales explicadas por selección natural, se realizó el test de Tajima para la estimación del valor de D , que calcula la razón entre mutaciones no sinónimas y mutaciones sinónimas, lo cual muestra las frecuencias de alelos de reciente selección o recientes cambios en el tamaño poblacional. Este valor fue obtenido usando DnaSP v6.

5.2.3. Análisis de Datos

La identificación de las variantes alélicas fue realizada en base a las gráficas entregadas por el sistema de análisis PCR-HRM, lo que permitió estimar en número la presencia de posibles otras especies e híbridos. Las reacciones de qPCR se llevaron a cabo utilizando el sistema QuantStudio™ (Thermo Fisher Scientific, EE. UU.) con un volumen total de 20 μ L por reacción. Cada mezcla de reacción contenía 10 μ L de Melt Doctor HRM Master Mix (Thermo Fisher Scientific, EE. UU.), 10 μ M de cebadores directos e inversos, 20 ng/ μ L de ADN molde y 5,4 μ L de agua libre de ARNasa. El protocolo de amplificación consistió en una desnaturalización inicial a 95 °C durante 10 minutos, seguida de 40 ciclos de desnaturalización a 95 °C durante 15 segundos y anillamiento a 60 °C durante 1 minuto. Para el análisis de la curva de fusión de HRM, las condiciones incluyeron desnaturalización a 95 °C durante 15 segundos, recocido a 60 °C durante 1 minuto, fusión de alta resolución a 95 °C durante 15 segundos y un paso de recocido final a 60 °C durante 15 segundos. Los resultados se analizaron utilizando el software High-Resolution Melt (versión 3.1).

5.3. Resultados

Los principales morfotipos de las valvas de *M. chilensis* obtenidos de los muestreos en bancos naturales e identificados en Tabla 2.2, se muestran en la Figura 3.6, en la que es posible observar las diferencias morfológicas registradas en el campo.



Figura 3.6. Representación de la diversidad de morfotipos de *M. chilensis* encontrados en las estaciones de muestreo, basados en las características de las especies de Mitílicos de la Figura 2.1 (Objetivo específico N°2).

5.3.1. Identificación de especies e híbridos mediante técnica HRM

Los resultados de la aplicación de la técnica de HRM solicitada en la propuesta técnica basada en el panel multilocus, pero acotada a los partidores de PCR descritos por Jilfredo et al. (2017), evidenció según los patrones descritos de variante de discriminación alélica, que todos los individuos muestreados corresponden a *M. chilensis* (Tabla. 3.5). No obstante, en un 25% de las muestras analizadas no hubo amplificación por PCR o bien no se generaron los patrones alélicos esperados para las especies analizadas. Cabe destacar, que la asignación de variantes alélicas fue realizada utilizando muestras controles previamente identificadas con el gen marcador mitocondrial COI para *M. chilensis* y *M. galloprovincialis*. Es posible inferir que el porcentaje de no discriminación basado en HRM puede ser debido a la naturaleza poligénica del gen FP, sus duplicaciones encontradas a lo largo del genoma de *M. chilensis* o bien mutaciones puntales ocurridas en dichos individuos que impidieron la amplificación selectiva del gen.

Table 3.5. Análisis de HRM sobre genes de adherencia del pie (foot proteins, FPs) en ejemplares de *Mytilus chilensis* recolectados desde las 3 zonas y 15 estaciones del estudio.

Zona	Estación	Variante <i>M. chilensis</i>	Variante <i>M. galloprovincialis</i>	Variante Híbridos
Reloncaví	Coitúe	X	-	-
Reloncaví	Coitúe	No PCR*	-	-
Reloncaví	Coitúe	X	-	-
Reloncaví	Coitúe	X	-	-
Reloncaví	Coitúe	X	-	-
Reloncaví	Coitúe	X	-	-
Reloncaví	Cajón	X	-	-
Reloncaví	Marimelli	X	-	-
Reloncaví	Marimelli	No PCR*	-	-
Reloncaví	Sotomó	X	-	-
Reloncaví	Sotomó	X	-	-
Reloncaví	Rolohue	X	-	-
Reloncaví	Ragusa	X	-	-
Reloncaví	Bahía Martín	X	-	-
Reloncaví	Bahía Martín	X	-	-
Reloncaví	Marimelli Sur	No PCR*	-	-
Reloncaví	Barquillo	X	-	-
Hualaihué	Pichicolo	X	-	-
Hualaihué	Isla Pelada	No PCR*	-	-
Hualaihué	C. Andrade	No PCR*	-	-
<i>M. chilensis</i>	Control	X	-	-
<i>M. galloprovincialis</i>	Control	-	X	-

*No PCR: El análisis por HRM no generó un producto de amplificación cuantificable o bien los patrones de variantes alélicas no fueron conclusivos para discriminar entre especies.

5.3.2. Identificación de especies e híbridos mediante secuenciación de ADN

a) Extracción de ADN para análisis de gen Citocromo Oxidasa I (COI)

La extracción de ADN permitió obtener una cantidad adecuada para las diferentes muestras en estudio, sin embargo, en algunos casos se observó diferentes calidades de ADN, como se observa en la Figura 7, donde se observan bandas con ADN degradado, a pesar de que este fue suficiente para hacer análisis de secuenciación.

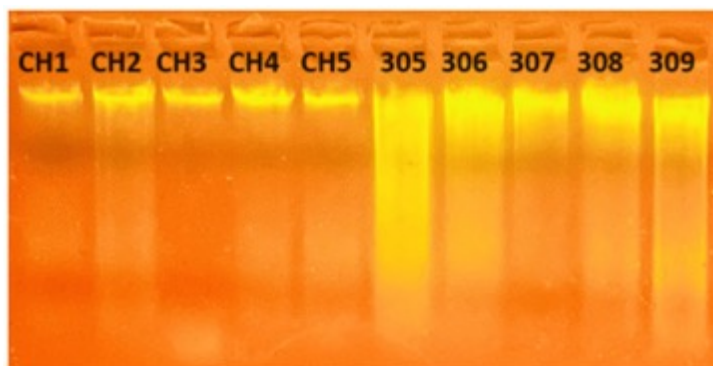


Figura 3.7. Gel de agarosa al 1% bajo luz UV que muestra los resultados de extracción de ADN total para 10 muestras de *Mytilus chilensis* provenientes de la zona de Castro (CH1 –CH5) y Llaguepe (305-309).

b) Amplificación Gen COI

La amplificación del gen COI mediante PCR mostró un resultado positivo para la amplificación del gen, en las diferentes estaciones en base a las condiciones de PCR descritas, con bandas específicas e intensas, lo cual demuestra una alta cantidad de copias de ADN obtenidos. Las bandas observadas se encuentran dentro del rango de tamaño de 600 pb, lo cual corresponde a lo esperado para el gen (Figura 3.8).

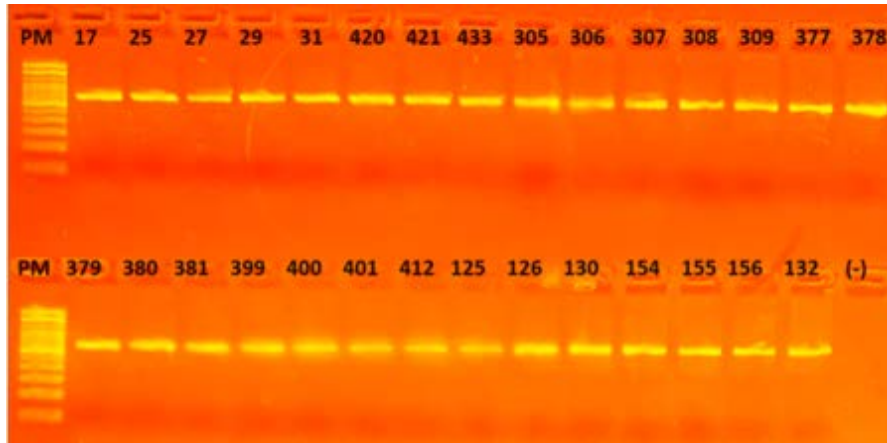


Figura 3.8. Gel de agarosa al 2% bajo luz UV que muestra los resultados de amplificación del gen COI, por medio de PCR. PM (marcador de peso molecular 100 pb), (-) (control negativo).

c) Análisis genético para identificación de especies

El análisis para la identificación de la especie de cada uno de estos morfos se realizó mediante agrupación en clados usando el modelo de análisis filogenético de las secuencias, lo cual se observa en las Figuras 3.9 y 3.10, las cuales muestran los individuos de los morfotipos analizados.

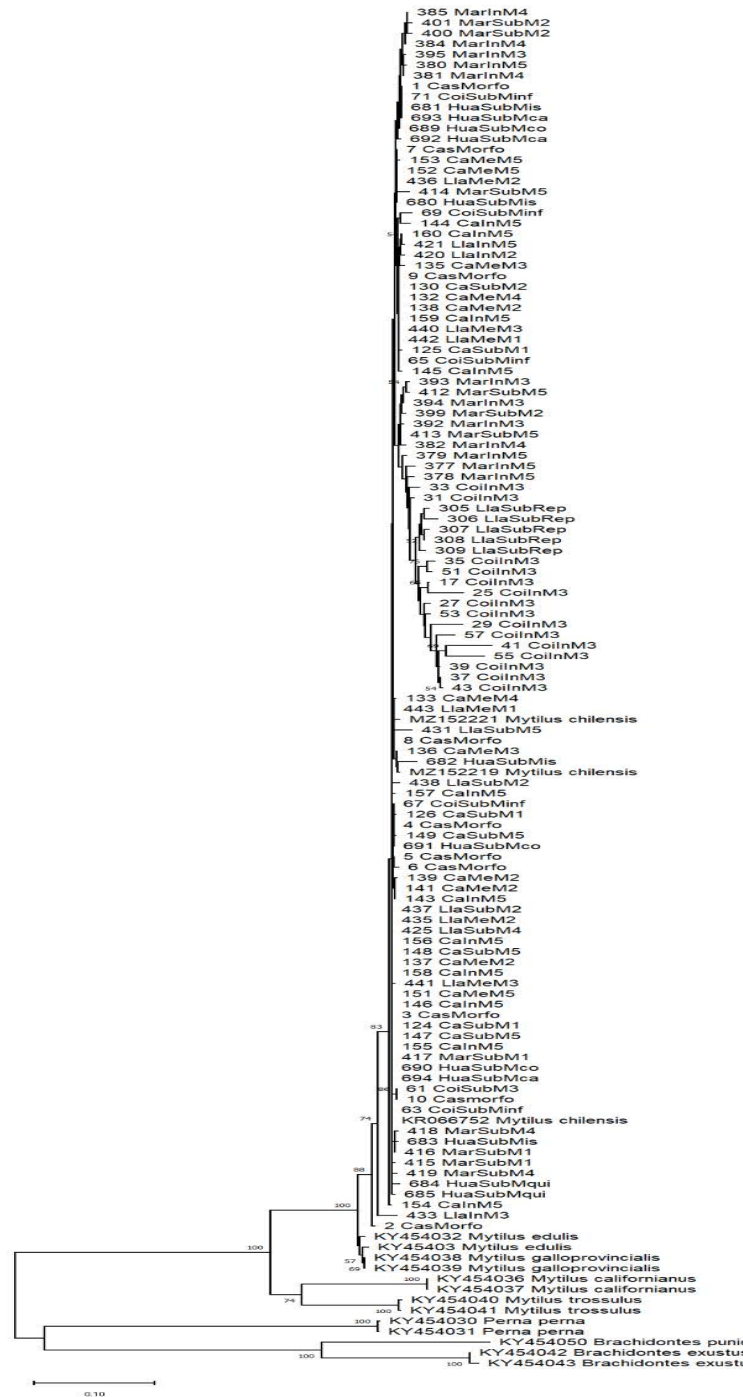


Figura 3.9. Reconstrucción filogenética de los morfotipos de las estaciones analizadas, para identificación de especie, comparando con grupos externos (especies de mitílidos de diferentes géneros).

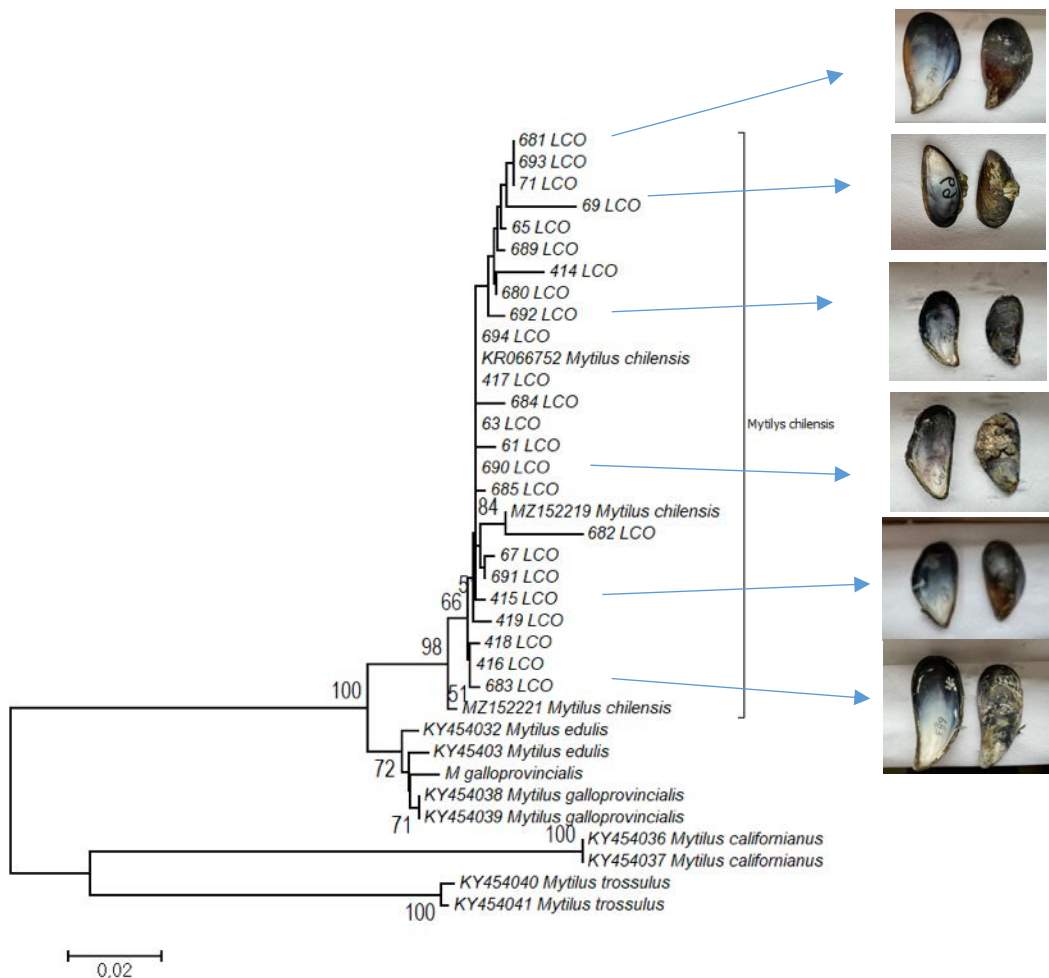


Figura 3.10. Árbol filogenético que compara los morfotipos de algunas estaciones, con la imagen de sus valvas, las muestras se compararon con muestras conocidas de las diferentes especies del género *Mytilus* obtenidas desde bases de datos de Genbank, en las cuales se indica el nombre de la especie y el código de ingreso en Genbank.

La comparación de secuencias confirma que todas las muestras analizadas corresponden a una misma especie y esta es *M. chilensis*, con un valor de bootstrap de 98% para el clado de esta especie. Las secuencias entre si muestran una alta similitud genética entre ellas, independiente de la variación morfológica que estas tengan. La diferenciación con las otras especies del género *Mytilus* es alta y consistente.

5.3.3. Diferencias entre submareal e intermareal

El análisis de diversidad genética realizado en las estaciones del fiordo de Reloncaví se muestra en la Tabla 3.6, en la cual es posible observar las diferencias en 5 indicadores de diversidad genética entre las zonas submareal, intermareal y zona media, esta última observada para 2 de las 4 estaciones. Cuando se compara el global de las tres zonas mareales, se observan diferencias entre los indicadores de diversidad entre ellos, siendo la zona intermareal presenta la mayor diversidad genética.

Tabla 3.6. Indicadores de diversidad genética del Gen COI en las tres zonas mareales analizadas del fiordo de Reloncaví.

Zona	Sitios Variables	Número Haplotipos	Diversidad Haplotípica	Número de diferencias	Diversidad de nucleótidos
Submareal	52	26	0,958	7,704	0,016
Media	10	11	0,926	2,588	0,005
Intermareal	99	38	0,992	13,867	0,029
TOTAL	121	70	0,972	10,247	0,021

El análisis de componentes principales realizado con los datos de las secuencias de ADN en las muestras de las tres zonas mareales analizadas se muestra en la Figura 3.11, donde es posible ver una alta similitud de los datos de zona media y submareal y solo los datos de intermareal presentan la mayor dispersión y diferenciación con las otras zonas. Esto puede ser explicado por la mayor diversidad genética observada en la zona intermareal.

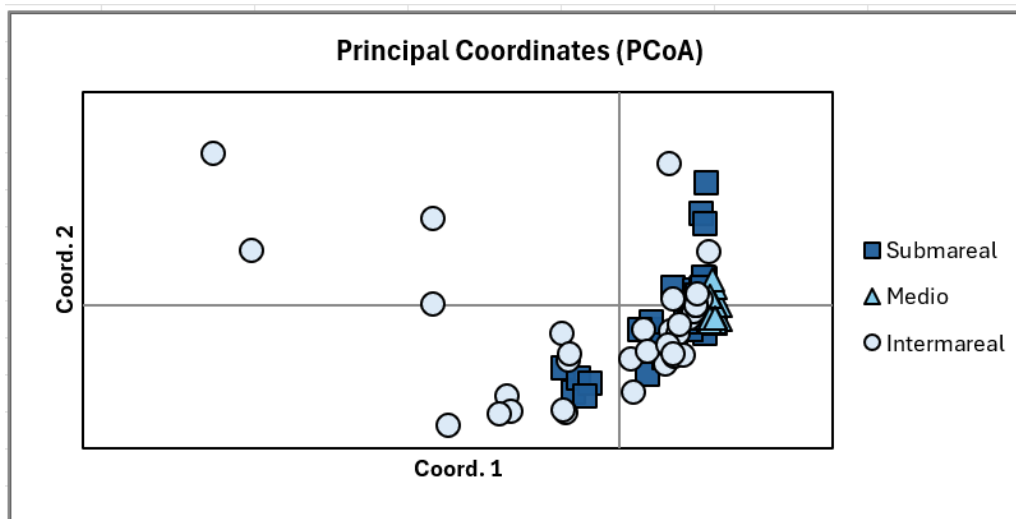


Figura 3.11. Gráfico del análisis de componentes principales de las muestras en las tres zonas mareales analizadas, Submareal, zona Media e Intermareal.

Por otro lado, cuando separamos las zonas mareales en las diferentes estaciones analizadas (Tabla 3.7), se observa, en base a estos datos, una mayor diversidad genética en la estación de Coitúe intermareal y la más baja diversidad genética se observa en Llaguepe zona media, sin embargo, en el global de la comparación de las diferencias genéticas entre los sectores/estaciones analizadas, mediante test de permutaciones (1000 replicas) usando DnaSp, no se observan diferencias significativas entre ellas (P-value: 0,8842 ns; df = 670).

Tabla 3.7. Estimadores de diversidad genética del Gen COI para las diferentes estaciones separadas por sus zonas mareales muestreadas del Fiordo de Reloncaví.

Estaciones	Zona Mareal	Sitios Variables	Número Haplotipos	Diversidad Haplotípica	Número de diferencias	Diversidad de nucleótidos
Coitúe	Submareal	11	6	1,00	4,6	0,0097
Coitúe	Intermareal	72	15	1,00	16,2	0,0348
Bahía Martín	Submareal	20	11	1,00	6,1	0,0129
Bahía Martín	Intermareal	17	12	1,00	5,3	0,0112
Cajón	Submareal	6	4	1,00	3,5	0,0074
Cajón	Media	8	7	0,96	3,1	0,0065
Cajón	Intermareal	13	8	0,89	3,3	0,0069
Llaguepe	Submareal	32	8	0,97	11,6	0,0250
Llaguepe	Media	5	5	0,93	2,4	0,0050
Llaguepe	Intermareal	17	3	1,00	11,6	0,0249
TOTAL		120	68	0,97	10,4	0,0218

La diferenciación genética basada en las frecuencias haplotípicas observadas en las diferentes estaciones y en las diferentes zonas mareales presentaron diferencias solo para algunas estaciones. Los valores que muestran diferencias significativas se muestran con signo positivo (+) y los que no presentan diferencias significativas se muestran con un signo negativo (-) en la Tabla 3.8.

Tabla 3.8. Matriz de significancia de los valores de probabilidad (p) de la comparación de los valores de Fst entre las localidades, obtenido usando Genepop. Se indican los valores de diferencias significativas (+) y no significativas (-) entre todas las estaciones y zonas mareales analizadas.

Localidad	Coitue Sub	Coitue Inter	Martín Sub	Martín Inter	Cajón Sub	Cajón Media	Cajón Inter	Llaguepe Inter	Llaguepe Media	Llaguepe Sub	Hualaihue	Castro
Coitue Sub		+	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-
Coitue Inter	+		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Martín Sub	-	+		-	+	-	-	-	-	-	-	-
Martín Inter	-	+	-		+	-	+	+	+	+	-	-
Cajón Inter	+	+	+	+		+	+	+	+	+	+	+
Cajón Media	-	+	-	-	+		-	-	-	-	-	-
Cajón Sub	-	+	-	+	+	-		-	-	+	-	-
Llaguepe Inter	-	+	-	+	+	-	-		-	+	-	-
Llaguepe Media	-	+	-	+	+	-	-	-		+	+	+
Llaguepe Sub	+	+	-	+	+	-	+	+	+			
Hualaihue	-	+	-	-	+	-	-	-	+	-		
Castro	-	+	-	-	+	-	-	-	+	-	-	

El análisis de varianza molecular AMOVA entre estaciones y zonas mareales se muestran en la Tabla 3.9, en la que es posible observar que no se encontraron diferencias significativas entre las estaciones del fiordo de Reloncaví, en cambio se observan diferencias significativas entre las zonas mareales, lo cual es explicado principalmente por la mayor diversidad genética observada en el intermareal por sobre el submareal. También se observa diferencia dentro de ambas zonas mareales, explicado por la diversidad individual dentro de cada set de datos.

Table 3.9. Análisis de Varianza molecular de las secuencias de COI entre estaciones y entre zonas mareales por estación, indicando el valor de significancia de la probabilidad.

Fuente de Variación	Df	Suma de Cuadrados	Componente de Varianza	Porcentaje de Variación	Significancia
Entre estaciones	3	76,85	0,631	-7,25	0,863 ns
Entre zonas mareales dentro de estaciones	7	229,890	3,595	41,27	0,0001 ***
Dentro de zonas	80	460,003	5,750	65,99	0,0001 ***

ns: no significativo.

5.3.4. Diferencias poblaciones entre fiordo Reloncaví, Hualaihué y Castro

El análisis del test de Tajima D, para evaluar los cambios poblacionales y la presencia de selección natural que genere reducción poblacional, muestra valores negativos de D, ya sea para el total de muestras (Tajima's D: -2,096, $P < 0,05$), con valores significativos en relación a estructura neutral de las muestras analizadas. El mismo patrón se observa para la zona submareal (Tajima's D: -2,053, $P < 0,05$) mostrando valores significativos. Por otro lado, la zona intermareal (Tajima's D: -1,389) y media (Tajima's D: -0,458) también presentan valores negativos, pero no significativos. Estos valores

negativos de Tajima muestran un barrido selectivo reciente, y posterior expansión de la población después de un reciente cuello de botella. Por lo cual estos resultados muestran expansión poblacional y ausencia de procesos de selección.

Posteriormente, se realizó la caracterización y comparación de los indicadores de diversidad genética de las zonas analizadas, los cuales se observan en la Tabla 3.10, donde se observa una mayor diversidad genética en la zona de Reloncaví en relación con las otras dos analizadas.

Tabla 3.10. Indicadores de diversidad genética de las tres zonas analizadas: Fiordo Reloncaví, Hualaihué y Estero Castro.

Zona	Sitios Variables	Número Haplotipos	Diversidad Haplotípica	Número de diferencias	Diversidad de nucleótidos
Reloncaví	121	70	0,972	10,247	0,021
Hualaihué	20	10	0,969	4,606	0,009
Castro	17	10	1,000	4,467	0,009
TOTAL	129	79	0,971	9,367	0,019

La comparación de la diferenciación genética entre las zonas analizadas se muestra en la Tabla 3.11. Los valores del estimado F_{st} de diferenciación (bajo la diagonal) y los valores de significancia de p (Sobre la diagonal), para esta comparación. En dicha tabla se observa que Castro y Hualaihué presenta la menor diferenciación genética, siendo altamente similares genéticamente ambos grupos, en cambio la mayor diferenciación y significativa se observa para Reloncaví en relación a las otras dos zonas, presentando diferencias significativas con Castro.

Tabla 3.11. Matriz de diferenciación genética entre zonas de estudio que muestra los valores de diferenciación mediante el indicador F_{st} bajo la diagonal y el Valor de significancia de p sobre la diagonal.

Zona	Reloncaví	Hualaihué	Castro
Reloncaví		0,072	0,036
Hualaihué	0,047		0,873
Castro	0,046	-0,033	

6. Objetivo Específico N°4. Generar una herramienta de secuenciación masiva que permita establecer y relacionar el origen geográfico de los nuevos reclutas en los bancos naturales y de las semillas captadas en los colectores, respecto de los bancos naturales previamente identificados.

6.1. Antecedentes

La identificación del origen de las larvas o reclutas en mitílicos no es algo fácil de definir, por diferentes razones, una es la alta conectividad ya evidenciada en esta especie (Astorga et al, 2015, 2020) y otra es la movilización de reclutas y semillas mediante acción antrópica a diferentes localidades de la Región de Los Lagos, los cuales son utilizados para engorda (Figura 1.7a y 1.7b, objetivo específico N°1). La alta mezcla entre bancos naturales y asentamiento de semillas fue evidenciada por Valenzuela et al. (2016), donde establece el origen de las semillas analizando bancos naturales e individuos de engorda, definiendo porcentajes de procedencia, los cuales muestran la alta mezcla de procedencias. Una excepción fue observada en localidades de Yaldad (Región de Los Lagos) y Raúl Marín Balmaceda (Región de Aysén) las cuales presentaron la máxima y mínima asignación de semillas a su origen respectivamente.

Por otro lado, en relación con nuevas metodologías de secuenciación masiva, recientemente se ha secuenciado el genoma completo de la especie *M. chilensis*, identificando un tamaño del genoma ensamblado equivalente a 1,93 Gb y ensamblado en 14 cromosomas. El genoma de *M. chilensis* comprende 34.530 genes y 4.795 ARN no codificantes (Gallardo-Escarate et al., 2022).

Ensamble de genoma completo de *Mytilus chilensis* a nivel de cromosomas

El chorito *Mytilus chilensis* (Hupé, 1854) es una especie clave ecológica y socioeconómicamente en Chile, que lidera la acuicultura nacional de moluscos. Esta especie endémica de mejillón constituye una de las principales industrias de producción de mejillón a nivel mundial (Gonzalez-Poblete et al., 2018; Uriarte, 2008). Sin embargo, el éxito de la producción acuícola de mejillón en Chile se ve amenazado por una amplia gama de microorganismos (Detree et al., 2016; Enriquez et al., 1992; Gray et al., 1999), la contaminación marina (Blanc, Molinet, Subiabre, & Diaz, 2018) y la variabilidad climática que puede afectar el asentamiento larvario y el crecimiento de las poblaciones de mejillón (Harvell, 2002; Hüning, 2013; Vihtakari et al., 2013). Para hacer frente a esos factores estresantes, los mejillones y los invertebrados marinos producen respuestas de dos componentes, una respuesta específica al factor estresante y una respuesta más general que involucra vías inmunitarias y endocrinas (Cooper, 1996). Se ha pronosticado que los impactos de los factores de estrés múltiples tienen efectos aditivos, sinérgicos o antagónicos en la fisiología de los organismos marinos (Crain et al., 2008a). Estos diferentes efectos están directamente relacionados con la cantidad de tiempo entre la aparición de los factores estresantes, su intensidad y la capacidad del organismo para volver a la homeostasis antes de que ocurra un nuevo factor estresante (Gunderson et al., 2016). A pesar de estas predicciones, los análisis de metadatos muestran que la mayoría de los factores de estrés múltiples estudiados tienen efectos sinérgicos en la fisiología de los organismos (Crain et al., 2008b). En particular, los efectos aislados de los estresores ambientales sobre el sistema inmunitario de los mejillones han sido estudiado ampliamente por distintos autores (Bibby et al., 2008; Lockwood et al.,

2010; Malagoli et al., 2007; Mitta et al., 2000; Pereiro et al., 2021; Rey-Campos et al., 2021; Romero et al., 2022; Sendra et al., 2020). Sin embargo, la respuesta inmune del mejillón a la combinación de factores estresantes permanece sin ser completamente elucidada. La interacción entre el sistema inmunitario y los factores de estrés multiambientales, como la acidificación de los océanos, la hipoxia, las olas de calor, las HAB y las infecciones por patógenos, requiere herramientas fisiológicas, celulares y moleculares que descubran la complejidad de la biología de los mejillones. Aquí, el ensamblaje del genoma de alta calidad a nivel cromosómico es fundamental para impulsar a la comunidad científica en este esfuerzo y los mejillones representan una especie modelo sobresaliente. Por ejemplo, las especies de mejillón muestran cariotipos morfológicamente conservados y no hay evidencia de eventos masivos de duplicación cromosómica (Perez-García et al., 2014). En comparación con otros bivalvos, los genomas de mejillón actualmente disponibles evidencian tamaños de genoma relativamente grandes, así como alta heterocigosidad y elementos móviles expandidos (Du et al., 2017; McCartney et al., 2022; Uliano-Silva et al., 2017; Wang et al., 2017; Zhang et al., 2012). Desafortunadamente, estas características del genoma desafían los esfuerzos de ensamblaje para evitar la fragmentación del genoma. Hasta ahora, el ensamblaje del genoma a nivel cromosómico para Mytilidae solo se ha informado públicamente para la especie congénica *M. coruscus* (Yang et al., 2021) y para el mejillón cebra *Dreissena polymorpha* (McCartney et al., 2022); mientras tanto, otros miembros de la Familia han sido reportados como genomas de referencia fragmentados en contigs, o bien en scaffolds (Murgarella et al., 2016; Renaut et al., 2018; Xu et al., 2017).

La presente propuesta de investigación considera la utilización de la información molecular obtenida recientemente a través de la secuenciación del genoma completo de *Mytilus chilensis* (Gallardo-Escárate et al., 2022). El tamaño del genoma ensamblado fue de 1,93 Gb, con un contig N50 de 134 Mb. A través de ligación por proximidad Hi-C, se agruparon, ordenaron y ensamblaron 11.868 contigs en 14 cromosomas en congruencia con la evidencia cariológica. El genoma de *M. chilensis* comprende 34.530 genes y 4.795 ARN no codificantes. Un total del 57% del genoma contiene secuencias repetitivas con predominio de retrotransposones LTR y elementos desconocidos (Figura 4.1). Un análisis genómico comparativo entre *M. chilensis* y *M. coruscus* reveló reordenamientos génicos distribuidos en todo el genoma. En particular, los elementos similares a Steamer asociados con el cáncer transmisible horizontal, lo que sugiere supuestas relaciones filogenéticas a nivel cromosómico en Bivalvia. De manera relevante, el recientemente secuenciado genoma de *M. chilensis* permite evidenciar en alta resolución la expresión del genoma, mostrando diferencias genómicas putativas entre poblaciones de mejillones ecológicamente diferentes como son Cochamó y Yaldad. Colectivamente, la evidencia sugiere las señales putativas de adaptación local de *M. chilensis* a nivel poblacional debe ser analizada utilizando el genoma completo de esta especie, evitando una subestimación de parámetros como flujo genético y estimación de endogamia.

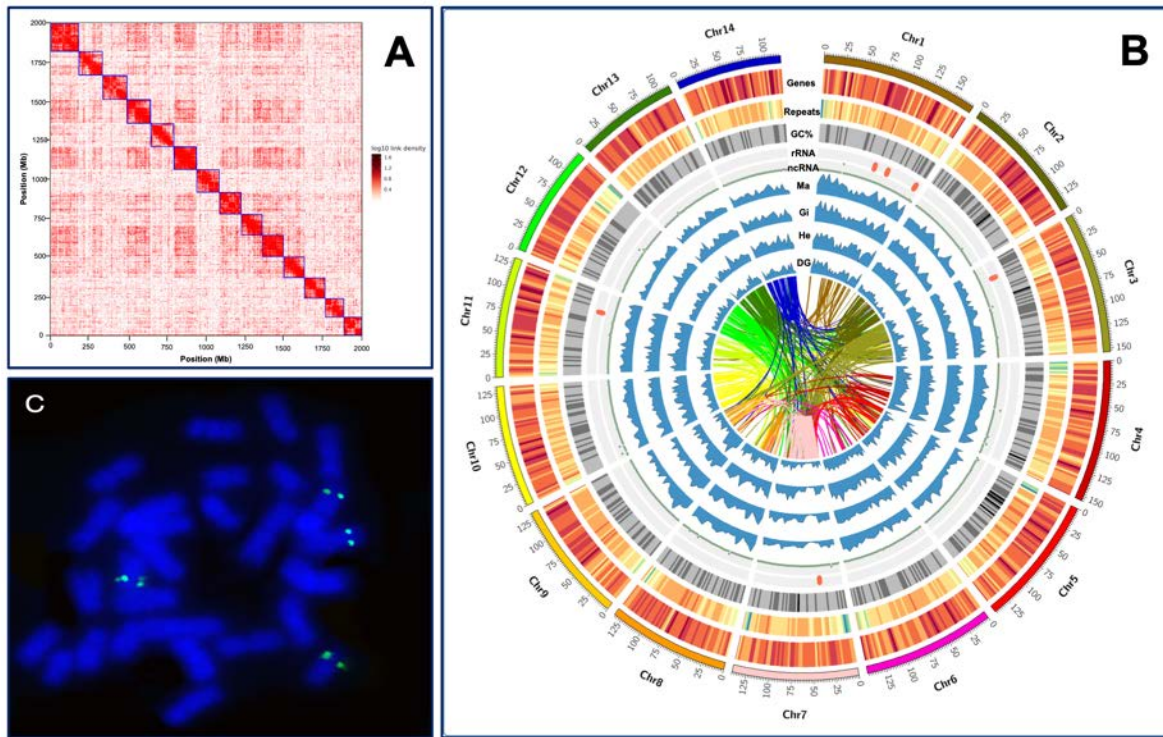


Figura 4.1. Ensamble de genoma completo de *Mytilus chilensis*. (A) Mapa de calor de la intensidad de la interacción cromosómica en el ensamblaje Hi-C de *Mytilus chilensis*. Los ejes x e y representan la longitud de los cromosomas. La barra de color representa la densidad de contacto Hi-C. (B) Gráfico de circo muestra las características genómicas de los 14 cromosomas. Del círculo exterior al interior: densidad de genes, densidad de repetición, contenido de GC, localización de rRNA y ncRNA. La expresión del transcriptoma para el manto (Ma), las branquias (Gi), los hemocitos (He) y la glándula digestiva (DG) se muestran como perfiles de luz azul. Las sintenias cromosómicas se representan en diferentes colores según cada ideograma. El tamaño del cromosoma se muestra en la escala Mb. (C) Cromosomas metafásicos de muestras de larvas de chorito y mapeo de 28S-rDNA por hibridación fluorescente in situ.

Un aspecto muy relevante al momento de diseñar un estudio que evalué a nivel genético las poblaciones de *M. chilensis* es la presencia de variaciones estructurales (SV). Las SVs consisten en diferencias a gran escala dentro del genoma de la misma especie, incluidas translocaciones, duplicaciones, variación del número de copias, inserciones y deleciones (Feuk et al., 2006). Las variaciones estructurales tienen un efecto diferente al de las variaciones a pequeña escala ampliamente distribuidas, como los polimorfismos de un solo nucleótido y las pequeñas duplicaciones y translocaciones. La variación estructural a gran escala puede afectar tanto a las regiones intergénicas como a las codificadoras de genes, lo que da origen a una variación intraespecífica de presencia/ausencia en el contenido de genes. Los cambios en el contenido de genes entre individuos de una especie en particular dan origen a un pan-genoma. Originalmente descritos en genomas

microbianos y virales, los pangenomas se definen por un conjunto de genes centrales compartidos entre individuos y genes prescindibles que están ausentes en algunos individuos (Medini et al., 2005). Los genes accesorios prescindibles tienen efectos ventajosos, permitiendo la adaptación a diferentes nichos ecológicos (McInerney et al., 2017). En el reino animal, recientemente comenzaron a informarse pangenomas con una baja proporción de genes prescindibles, en contraste con los pangenomas de plantas y bacterias donde el fenómeno de variación de presencia-ausencia (PAV) representa fracciones mucho más grandes. El primer pangenoma del reino animal con una amplia variación de presencia-ausencia se informó en el mejillón *Mytilus galloprovincialis*, en el que se encontró que el 38% del contenido genético era prescindible después de un análisis genómico que incluía la resecuenciación de varios individuos (Gerdol et al., 2020a). En este punto es crítico incorporar en el presente estudio el concepto de pangenoma para el estudio de genética poblacional de *M. chilensis*, es decir, es necesaria la resecuenciación genómica de individuos muestreados en las distintas localidades para definir y caracterizar los genes y regiones genómicas en el core-genoma, así como la fracción de genes dispensables. Sin esta estimación, las inferencias estadísticas de SNPs estarán sesgadas debido a que el desequilibrio será evidentemente afectado por la ausencia o presencia de dichos elementos genéticos intra e interpoblacional. Estimaciones preliminares del grupo de investigación proponente de esta licitación, estima que los genes dispensables en *M. chilensis* supera el 20% de los genes anotados para el genoma de referencia. Si bien este aspecto de PAVs en el genoma de *M. chilensis* complejiza la caracterización genético poblacional de la especie, la disponibilidad del primer genoma de referencia y conocimiento adquirido por el grupo de proponente, son sin duda una ventaja significativa al momento de abordar el estudio.

6.2. Metodología

6.2.1. Recolección de muestras y extracción de ADN

Requerimiento metodológico 5.4.1, *“Proponer y utilizar una metodología de secuenciación masiva que permita hacer trazabilidad o inferir del origen de las semillas. Es decir, intentar determinar de qué banco natural provienen las semillas que se están captando en un determinado sector o asentando en un determinado banco natural”*.

Se seleccionaron dos estaciones para cada zona de estudio: fiordo Reloncaví, Castro y Hualaihué. El lugar fue seleccionado en base al requisito de tener banco natural y colectores de semillas (ver objetivo específico N°2 punto 3.2.2.5, e.1, e.2 y e.3).

Para caracterizar genéticamente los diferentes sectores y bancos naturales, se tomaron 60 muestras de todas las estaciones con bancos naturales de las tres zonas de estudio: fiordo Reloncaví, Castro y Hualaihué (Figura 4.2).

Se muestrearon en un mismo momento semillas ubicadas en diferentes colectores y en diferentes lugares de los colectores. Asimismo, se muestrearon semillas de similar tamaño (asumiendo una misma cohorte) desde los bancos naturales cercanos a los colectores. En aquellos lugares que exista cultivo de mitílicos para engorda, se muestrearon individuos adultos, mediante muestreo al azar en diferentes cuelgas de engorda y se muestrearon adultos de los bancos naturales, para definir las

posibles procedencias de las semillas, los que fueron descritos en las actividades de muestreo del objetivo específico N°3.

Zona de estudio

ZONA	ESTACIÓN	CÓDIGO
RELONCAVI	Rollizo	RR
	Llaguepe	RL
HUALAIHUÉ	Llancahué	HL
	Puntilla Quillón	HP
CASTRO	Yutuy	CY
	Chañihué	CC




Figura 4.2. El resumen de las zonas y estaciones para el muestreo de *Mytilus chilensis*.

Para el presente estudio se analizó un número total de 60 individuos, considerando 20 muestras por zona (fiordo Reloncaví, Castro y Hualaihué) y 2 puntos de muestreo por zona. Para cada individuo, se muestreo tejido branquial y manto, para posteriormente ser almacenado en etanol al 100%. Desde estas muestras de tejido se realizó una extracción de DNA genómico. La extracción de DNA se realizó según el método descrito por Taggart et al. (2010). Para la cuantificación del DNA se utilizó el espectrofotómetro NanoDrop ND-1000 (Nanodrop Technology Inc.) y su integridad fue determinada mediante electroforesis en un gel de agarosa al 1%. El análisis preliminar del material mostró valores importantes de degradación del DNA genómico. Este hecho es característico de este tipo de muestra, donde los moluscos bivalvos y específicamente mitílicos son matrices complejas de trabajo. La Figura 4.3, muestra el análisis de muestras obtenidas desde Reloncaví y Hualaihué, donde es posible apreciar que las relaciones 260/230 fueron en algunos casos inferiores a 1,0, evidenciando baja pureza de la muestra y posible contaminación. En referencia a los valores de integridad del DNA para su secuenciación. Se utiliza un índice denominado DIN (DNA Integrity Number), cuyos valores teóricos van de 1 a 10, siendo el valor de 7 el mínimo requerido para secuenciación de DNA. El análisis preliminar de las muestras mostró valores menores a 7, por lo cual fue necesario realizar una optimización de protocolo de extracción de DNA genómico con la finalidad de cumplir con los estándares de calidad requeridos para secuenciación masiva de DNA.

Extracciones de ADN desde tejidos de Choritos para secuenciación

Requerimientos de ADN mínimos para secuenciación

- 1 μ g DNA total
- DIN 7
- 10-12 μ L



Extracción Fenol-cloroformo

Muestra	ng/ μ L	260/280	260/230	DIN
205	2293,5	2,08	0,58	6,7
	2299	2,08	0,58	
614	3390,7	2,07	1,78	6,1
	3387,8	2,06	1,79	

Extracción kit QIAGEN

Muestra	ng/ μ L	260/280	260/230	DIN
207	762,5	1,9	1,34	6,1
	760,4	1,89	1,34	
614	608,2	1,95	2,18	6,3
	612,1	1,94	2,17	

Las muestras tienen diferente origen y fecha de muestreo

Sector	Localidad	n° tubo	Tejido	Clasificación
RELONCAVI	Rollizo	205	manto	Cultivo reproductores de cultivo
RELONCAVI	Rollizo	207	manto	Cultivo reproductores de cultivo
HUALAIHUE	Puntilla Quillón	614	manto	Cultivo reproductores de cultivo

Figura 4.3. Análisis preliminar de muestras de choritos para extracción de DNA y posterior secuenciación por NGS.

Para la optimización de protocolo, se utilizaron los procedimientos de extracción de DNA genómico basados en el método de Fenol-Cloroformo y Kit de extracción DNeasy Blood & Tissue Kits Qiagen. Los resultados de ambos protocolos fueron evaluados por electroforesis digital en equipo TapeStation 2200 (Agilent, USA). La Figura 4.4 muestras los resultados obtenidos para dos muestras de choritos colectados en Reloncaví y Hualaihué. La electroforesis digital evidencia degradación de material genómico para las muestras 205 y 614. Los rectángulos rojos indicados en la Figura 4.4 muestran un peak principal correspondiente a DNA genómico de alto peso molecular de aproximadamente 50K pares de bases (pb) y uno secundario de alrededor de 200 pb. Este último peak representa material genómico degradado. En la figura de electroforesis (izquierda) se aprecia el material genómico en gris entre los tamaños mencionados. Un hecho importante son los valores obtenidos con este método de purificación de DNA, el cual evidencia valores de 6,7 y 6,1 para las muestras de Reloncaví-Rollizo y Hualaihué-Punta Quillón, respectivamente.

Extracción Fenol-cloroformo

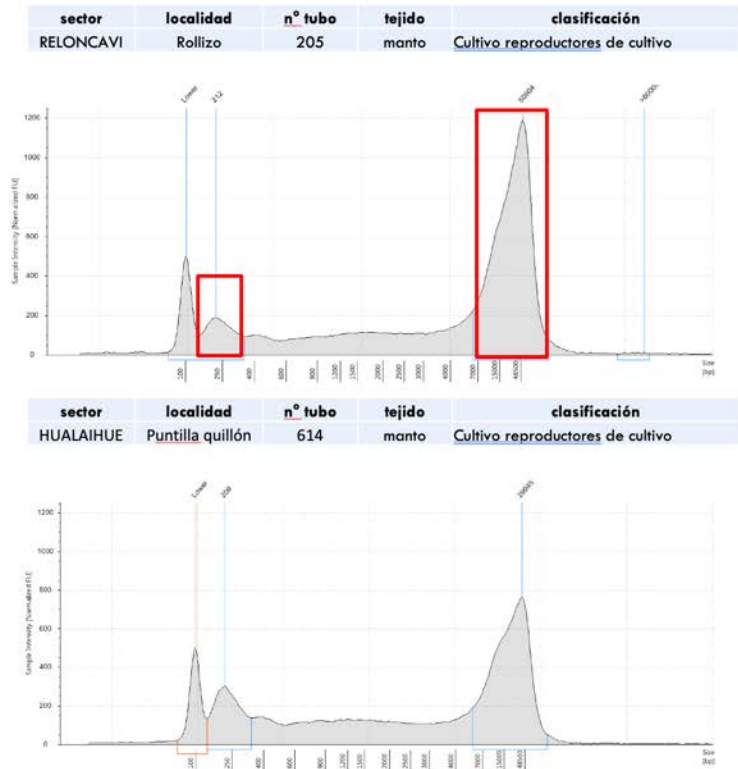
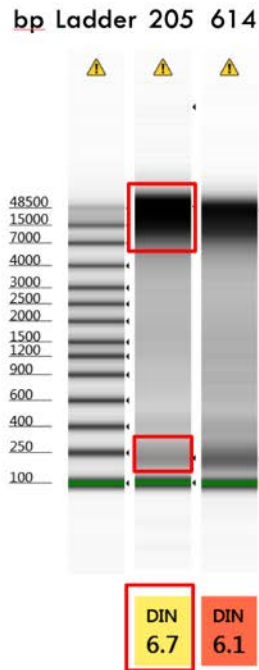


Figura 4.4. Evaluación por electroforesis capilar digital en equipo TapeStation 2200 para muestras de DNA genómico purificadas con método Fenol-Cloroformo.

Adicionalmente y con la finalidad de obtener una mejor calidad de DNA genómico se probó un kit comercial de extracción de material genético de la marca Qiagen. Los resultados fueron similares a los obtenidos con el método de Fenol-Cloroformo. La Figura 4.5 muestra los valores de integridad genómica, en este caso de 6,3 y 6,1 para muestras colectadas desde las mismas estaciones.

Extracción kit QIAGEN

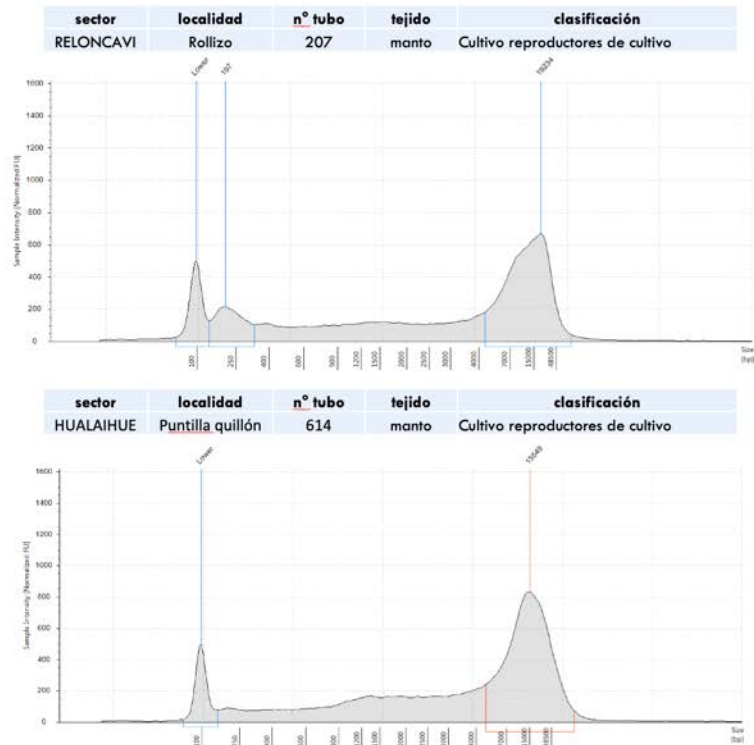
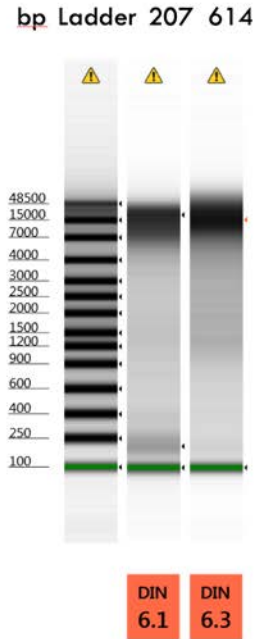


Figura 4.5. Evaluación por electroforesis capilar digital en equipo TapeStation 2200 para muestras de DNA genómico purificadas con Kit de extracción DNeasy Blood & Tissue Kits Qiagen.

Con la finalidad de incrementar los valores de DNA utilizando el material genómico purificado, se procedió a realizar un proceso de eliminación selectiva de DNA de bajo peso molecular. Para ello se utilizó el kit comercial Short Read Eliminator de la compañía Circulomics. Desafortunadamente, los resultados obtenidos no fueron los esperados, generando valores de DIN entre 6,6 y 6,5. Los resultados de la electroforesis digital se muestran en la Figura 4.6.

Short read Eliminator

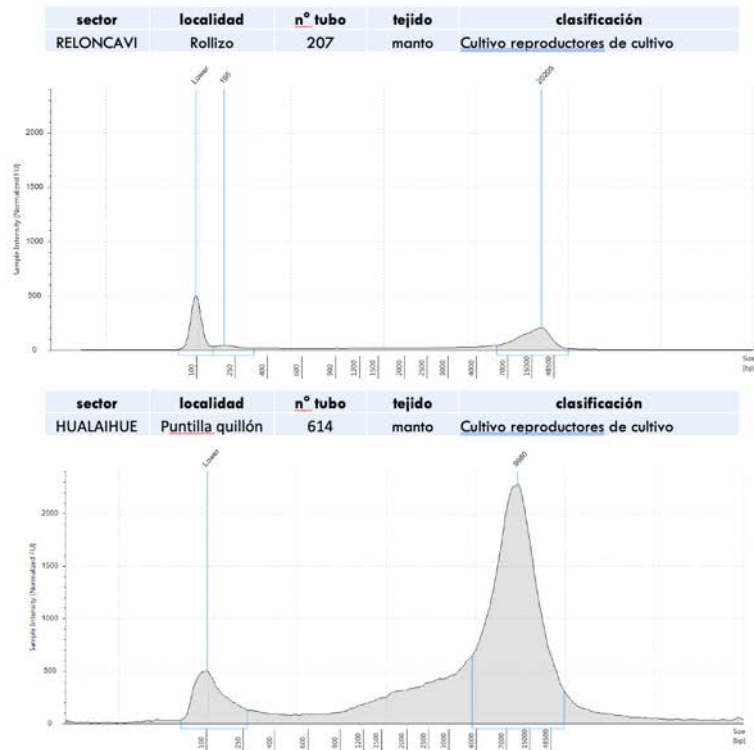
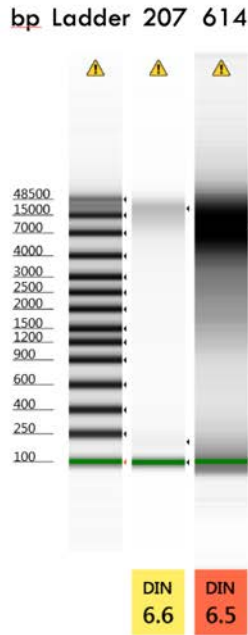


Figura 4.6. Evaluación por electroforesis capilar digital en equipo TapeStation 2200 para muestras de DNA genómico purificadas con Kit de purificación de DNA Short Read Eliminator, Circulomics.

Finalmente, el proceso de optimización de purificación de DNA con calidad para su secuenciación en plataforma Illumina, se realizó mediante la remoción manual de fragmentos de bajo peso molecular extraídos por gel de agarosa al 2%. Los valores de DIN obtenidos desde este procedimiento se observan en la Figura 4.7. Se puede evidenciar que casi todas las muestras extraídas registraron valores de DIN mayores a 7,0, cumpliendo así con los criterios de calidad de integridad genómica. De esta forma, a partir de este material genómico se procedió al envío de las muestras para resecuenciación de genoma completo (WGR, Whole Genome Resequencing) mediante plataforma Illumina y kit de preparación de librerías de secuenciación TruSeq Nano DNA Kit.

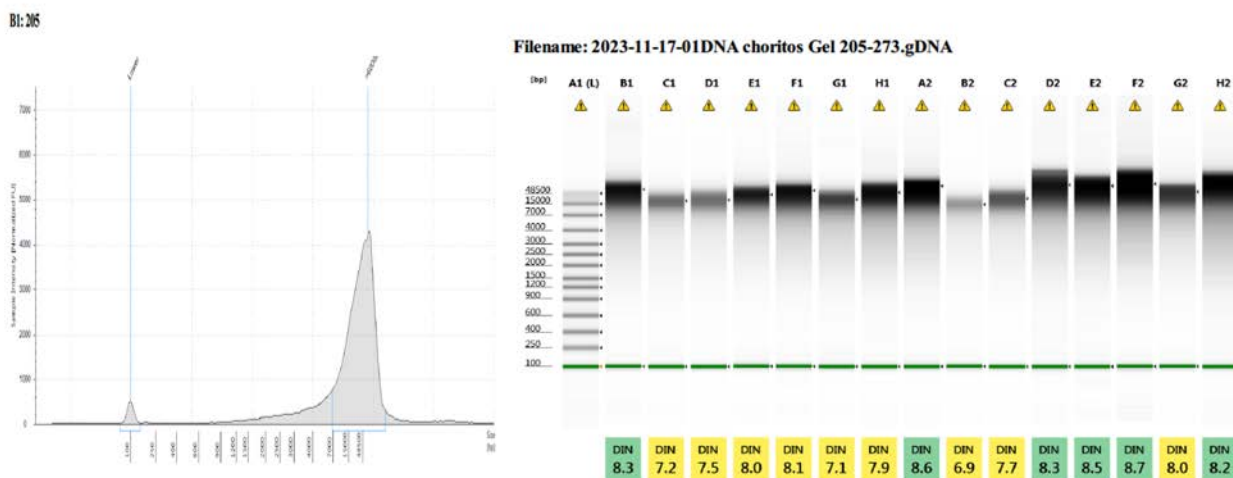


Figura 4.7. Evaluación por electroforesis capilar digital en equipo TapeStation 2200 para muestras de DNA genómico purificadas manualmente desde geles de agarosa al 2%.

6.2.2. Preparación de librerías de secuenciación y generación de datos WGS

Las muestras colectadas de las tres zonas en estudio (n=60) fueron preparadas según el flujo de trabajo de preparación de la biblioteca NGS y se secuenciaron utilizando la plataforma Illumina. El flujo de trabajo se muestra en la Figura 4.8 y corresponde el método común de preparación de bibliotecas basado en ligación. El proceso puede diferir según sobre el protocolo de preparación de la biblioteca seguido.



Figura 4.8. Flujo de trabajo de preparación de librerías NGS y secuenciación en Illumina.

El primer paso en el proceso de WGR es la preparación de las librerías de secuenciación. Para este caso, se utilizó el TruSeq Nano DNA Kit para la generación de secuencias de tipo Paired-End (PE) de un tamaño de 101 bases nucleotídicas. La Figura 4.9 muestra los resultados de control de calidad (QC) para 47 muestras de un total de 60 enviadas a la empresa MacroGen Inc., localizada en Seúl, Corea. La profundidad de secuenciación fue de 30x.



NGS Library QC

General Information

Order Number	HN00211167	Name of Customer	Cristian Gallardo	Date of Order	2024-01-09
Final QC Result of DNA sample(s)					
Arrival Date	Experiment Date	Sample count	Pass	Fail	Hold
2024-01-16	2024-01-25	47	47	0	0
Final QC Result of RNA sample(s)					
Arrival Date	Experiment Date	Sample count	Pass	Fail	Hold
N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A

MACQCREPORT_V1_171016

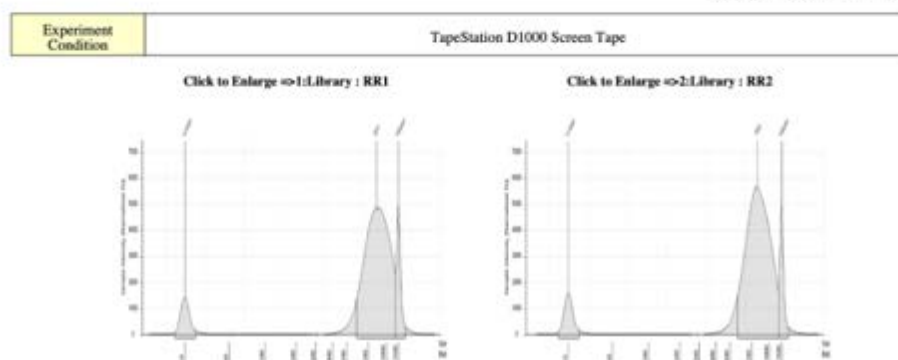


Figura 4.9. Informe de Quality Check (QC) para librerías de choritos en el marco del estudio genético poblacional.

El envío de las muestras a Macrogen Inc., se realizó el 10 de enero del 2024, posterior al proceso de muestreo en campo desde las zonas en estudio y la optimización de extracción de DNA genómico. El arribo de las muestras a Corea fue registrado el 16 de enero del 2024, entrando al proceso de secuenciación el 25 de enero del 2024. Posteriormente, el tiempo de generación de datos genómicos tardó 8 semanas, llegando los datos físicamente a Chile en marzo 2024. La estadística de los datos mostró valores de alta calidad con estimación por sobre el 90% para Q20 y Q30 (Figura 4.10). Los

datos crudos fueron depositados en Sequence Read Archive (SRA) de NCBI bajo el Bioproject: PRJNA1195905.

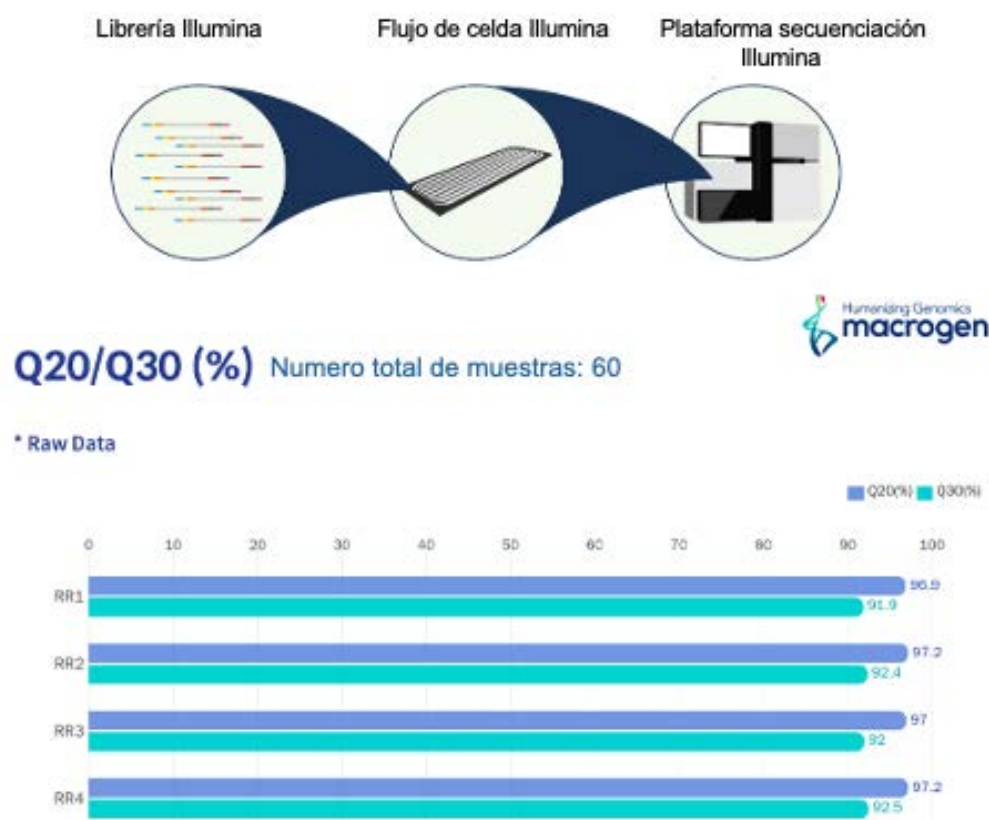


Figura 4.10. Figura esquemática del proceso de secuenciación e informe de calidad de datos estimados como Q20/Q30 (%) para librerías de choritos en el marco del estudio genético poblacional.

6.2.3. Estadísticas de datos sin procesar (Raw Data)

El número total de bases, lecturas GC (%), Q20 (%) y Q30 (%) se calcularon para las 60 muestras. Por ejemplo, en la muestra RR1, se producen 61.276.144 lecturas y las bases de lectura totales son 6,2 Gpb. El contenido de GC (%) es del 32,8% y el de Q30 es del 91,9%. Las 60 muestras de choritos secuenciadas generaron un total de 160 Gigabases, equivalentes a 3.600 millones de lecturas. A continuación, se muestra las estadísticas para todas las muestras.

Sample ID	Total bases (bp)	Total reads	GC (%)	AT (%)	Q20 (%)	Q30 (%)
RR1	6,188,890,544	61,276,144	32.8	67.2	96.9	91.9
RR2	6,014,872,998	59,553,198	33.2	66.8	97.2	92.4
RR3	6,010,946,320	59,514,320	32.9	67.1	97.0	92.0
RR4	5,792,948,930	57,355,930	32.9	67.1	97.2	92.5
RR5	6,101,695,022	60,412,822	32.9	67.1	97.0	92.1
RR6	5,677,166,166	56,209,566	33.1	66.9	97.0	92.1
RR7	5,614,494,656	55,589,056	32.9	67.1	97.2	92.4
RR8	5,739,504,982	56,826,782	32.8	67.2	97.4	92.9
RR9	5,738,510,738	56,816,938	32.2	67.8	97.0	91.8
RR10	6,180,934,168	61,197,368	33.2	66.8	97.3	92.6
RL11	5,665,943,046	56,098,446	32.0	68.0	97.0	92.0
RL12	5,637,627,696	55,818,096	32.7	67.3	97.0	92.0
RL13	4,477,907,316	44,335,716	32.1	67.9	97.2	92.2
RL14	6,158,494,190	60,975,190	32.6	67.4	97.0	92.1
RL15	5,716,222,260	56,596,260	32.1	67.9	97.3	92.5
RL16	6,172,867,904	61,117,504	32.6	67.4	97.0	92.1
RL17	5,934,309,944	58,755,544	32.5	67.5	97.2	92.6
RL18	5,602,508,582	55,470,382	32.0	68.0	97.4	92.6
RL19	5,987,077,798	59,277,998	32.6	67.4	97.0	92.1
CY20	6,185,890,844	61,246,444	32.9	67.1	97.0	92.1
CY21	5,822,656,464	57,650,064	33.0	67.0	97.2	92.5
CY22	5,835,477,404	57,777,004	32.8	67.2	97.1	92.2
CY23	5,991,606,234	59,322,834	32.6	67.4	97.1	92.3
CY24	6,072,571,268	60,124,468	32.7	67.3	97.0	92.1
CY25	5,644,097,352	55,882,152	33.1	66.9	96.7	91.5
CY26	6,117,674,232	60,571,032	33.3	66.7	96.8	91.6
CY27	6,071,248,774	60,111,374	32.8	67.2	97.1	92.1
CY28	6,095,689,360	60,353,360	33.5	66.5	97.1	92.3
CY29	6,067,825,480	60,077,480	33.3	66.7	97.2	92.4
CY30	5,648,503,376	55,925,776	32.7	67.3	97.1	92.3
CC31	5,662,236,548	56,061,748	32.9	67.1	97.1	92.3
CC32	5,603,449,296	55,479,696	32.2	67.8	97.3	92.4
CC33	5,880,870,238	58,226,438	32.9	67.1	96.7	91.5

Sample ID	Total bases (bp)	Total reads	GC (%)	AT (%)	Q20 (%)	Q30 (%)
CC34	5,876,921,542	58,187,342	32.9	67.1	97.1	92.2
CC35	5,746,434,592	56,895,392	33.0	67.0	97.0	92.0
CC36	5,582,216,066	55,269,466	32.9	67.1	97.3	92.7
CC37	6,113,674,430	60,531,430	32.6	67.4	97.2	92.5
CC38	5,645,235,218	55,893,418	32.8	67.2	97.4	92.8
CC39	5,797,109,524	57,397,124	33.1	66.9	97.2	92.5
CC40	6,082,800,548	60,225,748	33.1	66.9	97.1	92.1
HL41	5,881,007,194	58,227,794	32.9	67.1	97.0	92.2
HL42	6,050,741,128	59,908,328	32.5	67.5	97.1	92.1
HL43	6,088,995,888	60,287,088	32.0	68.0	97.4	92.7
HL44	5,756,074,840	56,990,840	33.4	66.6	97.0	92.2
HL45	5,733,837,670	56,770,670	33.3	66.7	97.2	92.4
HL46	5,920,861,794	58,622,394	32.1	67.9	96.9	91.7
HL47	5,995,786,826	59,364,226	32.8	67.2	97.0	92.0
HL48	5,661,845,880	56,057,880	32.9	67.1	97.4	92.8
HL49	5,591,051,546	55,356,946	32.2	67.8	97.4	92.8
HL50	6,005,475,958	59,460,158	32.7	67.3	97.2	92.4
HP51	5,875,247,366	58,170,766	32.9	67.1	97.4	92.8
HP52	5,723,494,866	56,668,266	32.2	67.8	97.3	92.6
HP53	5,877,675,002	58,194,802	32.8	67.2	96.9	91.9
HP54	5,870,743,170	58,126,170	32.8	67.2	96.8	91.5
HP55	6,133,463,158	60,727,358	31.9	68.1	97.4	92.8
HP56	6,197,210,924	61,358,524	32.8	67.2	97.0	92.0
HP57	5,918,124,896	58,595,296	32.0	68.0	97.4	92.7
HP58	6,036,026,034	59,762,634	32.7	67.3	97.1	92.2
HP59	5,934,840,396	58,760,796	33.4	66.6	97.3	92.7
HP60	6,152,207,950	60,912,950	33.4	66.6	97.1	92.3

- Sample ID: Nombre de la muestra.
- Total Bases (pb): Número total de bases secuenciadas.
- Total Read: Número total de lecturas.
- GC (%): Proporción de contenido GC.
- AT (%): Proporción de contenido AT.
- Q20 (%): Proporción de bases con phred quality score sobre 20.
- Q30 (%): Proporción de bases con phred quality score sobre 30.

6.2.4. Resecuenciación de genoma completo (WGRS) en *Mytilus chilensis*

El empleo de técnicas como la secuenciación de nueva generación (NGS) es esencial para comprender los patrones macro y micro evolutivos de las especies. Asimismo, la aplicación de distintas tecnologías NGS permite determinar las diferencias entre poblaciones silvestre y aquellas domesticadas con fines productivos de alimentación. De esta forma, la actual tecnología permite acceder a un nivel molecular sobre interacciones biológicas complejas de organismos, y más importante aún, buscar las bases genéticas de la variación fenotípica. En organismos marinos, y especialmente en *M. chilensis*, la información derivada de datos de secuenciación puede desentrañar no sólo la base molecular existente de las vías reguladoras sino también los nuevos mecanismos de adaptación que intervienen en las respuestas a distintos tipos de estresores. Los invertebrados marinos adoptan diferentes rasgos funcionales por selección natural y en respuesta a estímulos ambientales vinculados con marcadores genéticos presentes en el genoma. Cuando se dispone de un genoma de referencia para una especie, la secuenciación de otros individuos o variedades de la misma especie denominada resecuenciación del genoma completo (WGRS, por sus siglas en inglés) permite el descubrimiento de varios marcadores de ADN como SNP, InDels y variaciones del número de copias (CNV). Aunque la investigación de los mitílidos, especialmente del complejo *Mytilus*, se enfrenta a dificultades debido a la complejidad estructural y genética de sus genomas, la disponibilidad de un genoma de referencia de *M. chilensis* permite incrementar significativamente la profundidad de los análisis genéticos en esta especie de bivalvo.

En la presente investigación, se utilizaron datos de secuencias de genoma completo con objetivo de cumplir con los requerimientos de presente estudio. De esta forma, los análisis fueron orientados para evaluar: (i) La diversidad genética y la estructura de tres poblaciones de *M. chilensis*, y dos estaciones por zona, (ii) Las posibles firmas de selección asociadas con la adaptación a ambientes contrastantes, como son el fiordo Reloncaví y el mar interior de Chiloé, (iii) Evaluar posibles dinámicas fuente/sumidero a fin de establecer origen de semilla de *M. chilensis* en sitios de engorda, utilizando información genómica de bancos previamente identificados.

Cabe destacar que inicialmente, se había planteado una aproximación basada en Genotyping By Sequencing (GBS). Es importante mencionar que GBS pertenece a una de las técnicas de secuenciación de representación reducida y es un método para identificar SNPs. No obstante, GBS reduce en gran medida la información del genoma mediante el uso de enzimas de restricción, lo que potencialmente, puede impactar la identificación de la variación genética a nivel poblacional. Este hecho, sumado a la presencia en *Mytilus* del fenómeno de variación de presencia/ausencia descrita para *M. galloprovincialis*, derivó en modificar la aproximación utilizando el análisis de genoma completo.

6.2.5. Alineamiento de lecturas e identificación de variantes (Variant calling)

Se identificaron variantes polimórficas de los datos genómicos obtenidos para *M. chilensis* durante el presente estudio. Los datos mapeados y ensamblados contra el genoma de referencia de *M. chilensis* fueron utilizados de acuerdo con los siguientes parámetros: Los parámetros de mapeo fueron: puntaje de coincidencia: 1, costo de desajuste: 2, costo de inserción y eliminación: 3, fracción de longitud: 0,9

y fracción de similitud: 0,9. Las lecturas mapeadas, así como la anotación de los genes, fue utilizada para la identificación de variantes tipo SVN o SNP, insertion, deletion, replacement y variantes múltiples nucleotídicas o MNV a través de la “herramienta de detección de variantes básicas” de CLC Genomics Workbench, estableciendo los parámetros de cobertura mínima: 25, recuento mínimo: 10 y frecuencia mínima: 25%. Las variantes polimórficas obtenidas fueron a su vez anotadas sobre las diferentes regiones de cada gen. Las variantes nucleotídicas no sinónimos se analizaron a través de la herramienta “cambios de aminoácidos” de CLC Genomics Workbench con configuraciones predeterminadas en las secuencias completas de cada gen.

Para la identificación de las distintas variantes nucleotídicas polimórficas se definieron dos estrategias de análisis (Figura 4.11). Primero se evaluó todo el genoma utilizando datos generados por el estudio para las 3 poblaciones analizadas a fin de identificar las variantes para cada individuo. Es importante mencionar que el genoma de *M. chilensis* posee un tamaño de 1.93 Gb es decir, 1,930,000,000 de nucleótidos o pares de bases (pb). El análisis de la frecuencia de mutaciones polimórficas evidencia que existe en promedio una variante nucleotídica cada 200 pb, es decir el genoma de *M. chilensis* a nivel individual podría poseer casi 10 millones de SNPs. Esta masividad de información puede generar ruido a momento de realizar las aproximaciones estadísticas que permitan evaluar la estructura genética a nivel poblacional, así como estimadores asociados a flujo genético. Alternativamente, el equipo de investigadores realizó paralelamente un análisis de resecuenciación basado en las regiones exónicas de los genes anotados en el genoma de *M. chilensis*. De esta forma, se evaluó el carácter no neutral de la respuesta adaptativa que posiblemente puede observarse en el genoma de los ejemplares muestreados desde los bancos naturales de chorito.

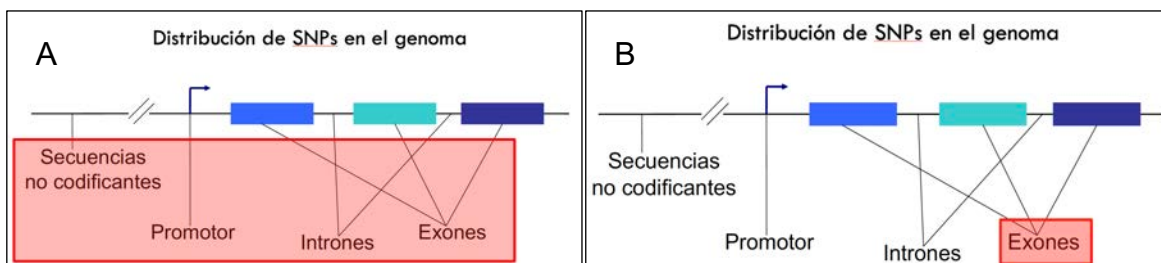


Figura 4.11. Identificación de variantes nucleotídicas únicas (SNPs o SVN) utilizando dos estrategias para la caracterización genética de las poblaciones en estudio. A) Identificación y análisis de SNPs en todo el genoma utilizando tanto regiones intrónicas como exónicas. B) Identificación y análisis de SNPs en todo el genoma utilizando regiones solo exónicas.

Las herramientas que se utilizan actualmente para analizar datos de variantes genéticas de la población generalmente requieren diferentes entornos, parámetros y formatos de los datos de entrada, dificultando la implementación de herramientas bioinformáticas. Para abordar este punto, se implementó para el presente análisis, el flujo de trabajo denominado PAPipe (Park et al., 2024) (Figura 4.12) para análisis genéticos de población utilizando datos NGS de población. El flujo de trabajo implementado en PAPipe interconecta y serializa sin problemas múltiples pasos, como el recorte y

mapeo de lecturas, la llamada de variantes genéticas, el filtrado de datos y la conversión de formatos, junto con nueve análisis genéticos de población como el análisis de componentes principales, el análisis filogenético, análisis del árbol de población, análisis de la estructura de la población, análisis de desintegración del desequilibrio de ligamiento, análisis de barrido selectivo, análisis de mezcla de poblaciones, el análisis de coalescencia secuencial markoviana y análisis del índice de fijación.

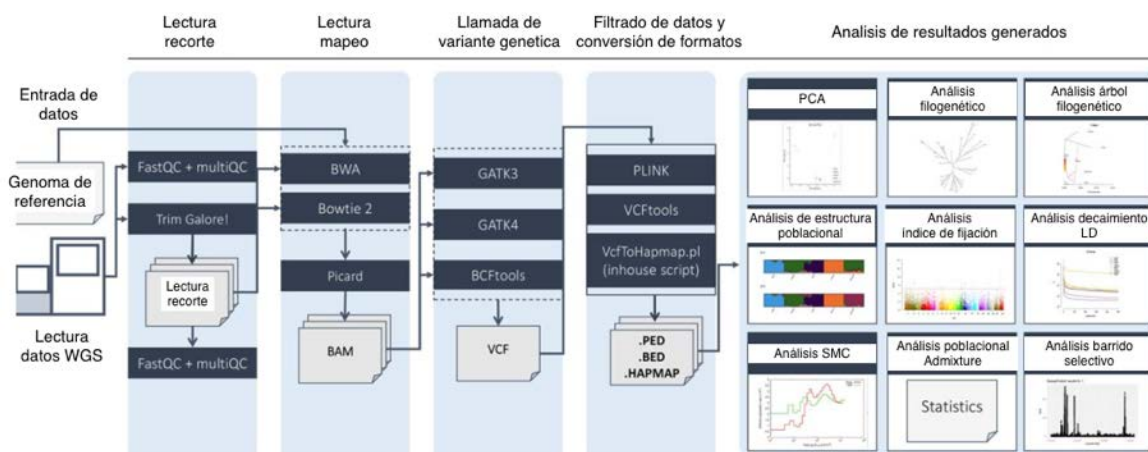


Figura 4.12. Flujo de trabajo del pipeline PAPIpe. Las lecturas de WGRS de la población de *Mytilus chilensis* y los datos del genoma de referencia se procesan en serie en cinco pasos: recorte de lecturas, mapeo de lecturas, identificación de variantes genéticas, filtrado de datos y conversión de formato, y generación de resultados de análisis (Park et al., 2024).

Adicionalmente, con la finalidad de identificar variaciones nucleotídicas exclusivas y compartidas para cada población analizada de *M. chilensis*, se utilizó el programa CLC Genomic Workbench (v24.0, Quiagen Bioinformatics) para separar los genes diferencialmente anotados con SNPs. El número de SNPs utilizados para el análisis de conectividad corresponde a los generados por comparación entre individuos a nivel poblacional y localizados solo en los exosomas, y el que varía a nivel poblacional.

Posterior al mapeo de secuencias para cada individuo analizado utilizando parámetros por defecto, se procedió a realizar un procedimiento de "Realineamiento local". El objetivo de este paso es mejorar las alineaciones de las lecturas en un mapeo de lecturas existente. El algoritmo de realineación local funciona explotando la información disponible en las alineaciones de otras lecturas cuando intenta realinear una lectura determinada. La mayoría de los mapeadores no utilizan información de lecturas cruzadas, ya que hacerlo dentro del algoritmo de mapeo sería prohibitivo desde el punto de vista computacional. Sin embargo, una vez que se han mapeado las lecturas, los procedimientos de realineación local pueden explorar esta información. La realineación generalmente se producirá en áreas alrededor de inserciones y eliminaciones en las lecturas de la muestra en relación con la referencia. Como resultado, se puede generar una asignación de variantes polimórficas mejorada.

Finalmente, para la detección de variantes, se utilizó el modelo de detección de variantes con ploidía conocida o fijada (Fixed Ploidy Variant Detection) implementada en CLC Genomic Workbench (v24.0, Quiagen Bioinformatics). Esta herramienta de detección se basa en dos modelos: (i) Un modelo para los posibles 'tipos de sitio', dependiente del parámetro de ploidía especificado por el usuario: para un organismo diploide hay dos alelos y, por lo tanto, los tipos de sitio son A/A, A/C, A/G, A/T, A/-, C/C, y así sucesivamente hasta -/-, (ii) Un modelo para los errores de secuenciación, que especifica las probabilidades de tener una base determinada en la lectura, pero anotada a una base diferente. El modelo de error se estima a partir de los datos antes de anotar las variantes. De esta forma, dicho algoritmo calculará en base al modelo estimado de error y los datos observados en el sitio del alineamiento, las probabilidades de cada uno de los tipos de variaciones encontradas en la posición de la variación. Uno de esos tipos es el sitio que es homocigoto para la referencia, es decir, estipula que cualquier diferencia que se observe con respecto al nucleótido de referencia en las lecturas se debe a errores de secuenciación. Los tipos de sitio restantes son aquellos que estipulan que al menos uno de los alelos en la muestra es diferente de la referencia. Los datos de salida del modelo serán la identificación de las variantes nucleotídicas polimórficas, su probabilidad de ocurrencia, localización en el genoma, zigocidad, y cambios aminoacídicos. Es decir, la herramienta permite además identificar y explorar las variaciones nucleotídicas con cambios no-sinónimos. La información derivada de los análisis de identificación de variantes permitió identificar genes enriquecidos con mutaciones puntuales y diferencialmente segregados a nivel poblacional. De esta forma, a partir de la lista de genes diferencialmente enriquecidos con mutaciones puntuales, se procedió a realizar una inferencia funcional utilizando la herramienta ShinyGO (Ge et al., 2020) integrada con el genoma de referencia de *M. chilensis*.

6.2.6. Validación de SNP mediante análisis de HRM identificados a nivel poblacional para la identificación del origen de semillas de *Mytilus chilensis*

Con la finalidad evaluar SNP candidatos identificados a nivel poblacional, se diseñaron pares de partidores para la amplificación selectiva de cada SNP utilizando la herramienta Primer3 incluida en Geneious Pro (v8.0.4, Biomatters) (Tabla 4.1). Los SNPs utilizados corresponden a los identificados por WGS a nivel de exomas, los que varían entre individuos y poblaciones, tanto en término de frecuencia como de localización a nivel de genoma. La estimación de conectividad se realizó utilizando la data WGS. No obstante, la validación se realizó utilizando HRM.

Los partidores se estandarizaron mediante PCR de punto final. Las reacciones de PCR se realizaron en un volumen final de 12,5 µl. Cada reacción contenía tampón de PCR 1X (Fermentas, Maryland, EE. UU.), 0,2 µg/µl de BSA, 200 µM de dNTP, 1,5 mM de Mg₂Cl, 0,5 µM de cada cebador, 0,1 U/µl de Taq Polimerasa (Fermentas) y 13 ng/µl de ADN. La amplificación se realizó en un termociclador Verity (Applied Biosystems Inc., Carlsbad, EE. UU.). Las condiciones de PCR fueron: desnaturalización inicial de 4 min a 94 °C; seguido de 35 ciclos de desnaturalización de 45 s a 94 °C, hibridación de 45 s a 60 °C, 1 min de extensión a 72 °C y una extensión final de 10 min a 72 °C durante 10 min. Los productos amplificados fueron finalmente visualizados mediante electroforesis en gel. Para la cuantificación de las variantes identificadas por los partidores de PCR, se utilizó un equipo de qPCR QuantStudio™ (Thermo Fisher Scientific). Cada reacción se llevó a cabo con un volumen final de 20

µl y la mezcla incluyó: 10 µl de Melt Doctor HRM Master Mix (Thermo Fisher Scientific, EE. UU.), 10 µM de primers directos e inversos, 20 ng/µl de ADN molde y 5,4 µl de agua libre de ARNasa. Las condiciones de amplificación fueron las siguientes: desnaturalización inicial durante 10 min a 95 °C, luego 40 ciclos de desnaturalización durante 15 s a 95 °C y annealing durante 1 min a 60 °C. Las condiciones de la etapa de curva de fusión de HRM consisten en desnaturalización durante 15 s a 95 °C, hibridación durante 1 min a 60 °C y fusión de alta resolución a 95 °C durante 15 s. Los resultados de la amplificación se analizaron utilizando el software High-Resolution Melt (versión 3.1). Finalmente, para determinar diferencias estadísticamente significativas entre los grupos, los datos se evaluaron para la distribución normal utilizando la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk. Para los datos paramétricos, después de verificar la homogeneidad de varianzas (prueba de Bartlett), las medias de los grupos se probaron mediante análisis de varianza (ANOVA).

Tabla 4.1. Lista de partidores diseñados para la identificación semillas en bancos naturales de *Mytilus chilensis*.

Partidor	Secuencia	Amplicón (pb)	Eficiencia (%)	Temperatura (°C)
CC_SNP3_F1	ATGAAGACAGCATTCCCGGTT	207	115.1	60
CC_SNP3_R1	TCGACAGTGCTTCACTCGTG			
CC_SNP7_F1	ATTGGTGGAGGAAGCTGGAG	197	117.8	63
CC_SNP7_R1	CCATGTGGCCAAGTGGTCTA			
CC_SNP11_F2	TTCCGGGTTTGGCGATCAAT	130	179.8	60
CC_SNP11_R2	TTTTCTGCTTTTCTTTCCTTTACAT			
CY_SNP2_F1	AAGCAGTGATAATGGGACCACC	102	103.6	60
CY_SNP2_R1	GCAAGGGATGACGATTTCAGA			
CY_SNP3_F1	TGTCAACTTCACGTGAACAAACA	328	120	60
CY_SNP3_R1	AGCTTCCCCTCTTTGGATAGT			
CY_SNP4_F2	GCGAGATGAAGGAGGTTGGG	111	107.4	60
CY_SNP4_R2	CCTCTTCGTGCTTTGATGCA			
HL_SNP3_F1	CGGTTTCCGGTTTAAATCTCGT	140	105.5	60
HL_SNP3_R1	TGCATCGCTTCTACAGGGAA			
HL_SNP6_F2	ATTCGGGATGGCGGGATTT	244	128.5	60
HL_SNP6_R2	ATGCACGGTGTCACAGACTT			
HL_SNP9_F1	CTCAAGGCAGTCCCAGCTTT	187	106.5	60
HL_SNP9_R1	TTTGCAGGCAAGTCTTGATTAGT			
HP_SNP1_F2	ACCGCACAATCTGGTGAAGA	280	111.9	60
HP_SNP1_R2	GACTACGCTGCATAGGAGCC			
HP_SNP3_F1	TAACATCAGACGCAAGCCCA	111	103.6	57
HP_SNP3_R1	AGACTGTCTTTCTGAGCCTCA			
HP_SNP4_F1	AAGCATCACAAACAGCTGCT	190	80.4	60
HP_SNP4_R1	AGCCGTCCCGCTAGACATAT			
RL_SNP2_F1	CGAACCAGAGAGCGTTTTGC	136	109	60
RL_SNP2_R1	CGGGTTAACAACATGCGGTC			
RL_SNP12_F1	CCCCAAAAGTACGTTCCGA	261	200	60
RL_SNP12_R1	TGTCCAATGTAAAACGCCCAA			

6.3. Resultados

6.3.1. Análisis genómico poblacional utilizando WGRS entre ejemplares de *Mytilus chilensis* recolectados en las zonas Reloncaví, Castro y Hualaihué

La exploración de los datos genómicos obtenidos desde 60 individuos de *M. chilensis* recolectados desde las tres zonas evidenció una alta diversidad polimórfica entre ejemplares de las seis estaciones analizados. Esta alta variabilidad no permite discriminar o agrupar la dispersión de la varianza determinada como la frecuencia de SNPs para individuo a nivel poblacional, en grupos de acuerdo con su origen de colecta. El análisis de PCA muestra que al comparar el PC1 con PC2, agrupando un 13,3 y 10,3% de la varianza no fue posible evidenciar una agrupación clara con respecto a la zona o estación (Figura 4.13). No obstante, el análisis exploratorio de los componentes PC1 y PC3 muestra una ligera conformación de al menos los individuos pertenecientes a las zonas de Castro y Hualaihué (Figura 4.13). Cabe destacar que los ejemplares de Reloncaví se observan dispersos entre ambos componentes y centroides de las agrupaciones a nivel de zona/estación.

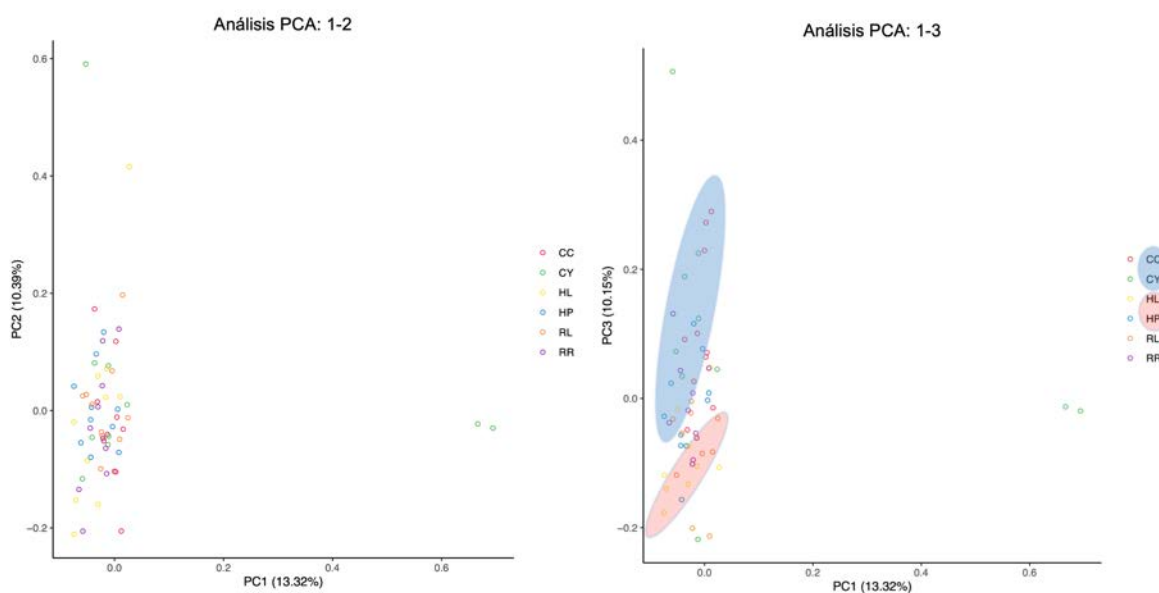


Figura 4.13. Análisis de Componentes Principales (PCA) entre PC1 y PC2 (derecha) y PC1 y PC3 (Izquierda) para 60 individuos de las poblaciones evaluadas de *Mytilus chilensis*. La grafica muestra ejemplares de estaciones Reloncaví-Llaguape (RL), Reloncaví- Rollizo (RR), Castro-Chañihué (CC), Castro-Yutuy (CY). Hualaihué-Llancahué (HL) y Hualaihué-Puntilla Quillón (HP).

Es importante destacar que la exploración de los datos genómicos fue realizada primariamente utilizando la estrategia descrita en la Figura 4.12. Es decir, utilizando todas las variantes polimórficas de un único nucleótido identificado utilizando la estrategia GATK3/4 y BCFtools implementada en el flujo de trabajo PAPipe. Es decir, se utilizaron como datos de entradas todos los SNPs identificados, independiente de su región genómica. Este hecho, permite suponer que la gran cantidad de SNPs

anotados y posiblemente su heterogeneidad en la localización física en el genoma de *M. chilensis* genera un desbalance que impide visualizar una clara estructura a nivel poblacional.

Con la finalidad de evaluar estructura poblacional, se analizó la frecuencia de los SNPs mediante Admixture, utilizando los parámetros configurados en el flujo de trabajo de Park et al. (2024). En este punto, es importante destacar que los cálculos de mezcla o Admixture proporcionan un análisis de ancestría genética a individuos evaluados para datos de polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) de alta densidad. Los diferentes métodos de identificación de SNPs (principalmente mediante NSG) necesitan una superposición sustancial de los SNP extraídos para permitir comparaciones significativas. No obstante, no existe evidencia si dicho tipo de análisis puede ser influenciado por SNPs localizados en regiones genómicas específicas o bien SNPs asociados con características de tipo adaptativas a nivel local. El análisis de Admixture generalmente construye componentes ancestrales también llamados clústeres mediante la comparación de un conjunto de datos de muestras.

La Figura 4.14 muestra el análisis de Admixture utilizando valores de K entre 2 a 5, generando 4 distintas aproximaciones. La evaluación genética no evidencia una clara relación de ancestría genética que permita agrupar a nivel de zona o estación. La evaluación del modelo cuando el valor de K es equivalente al número de zonas, es decir 3, no evidencia una estructura asociada a dichas poblaciones. No obstante, es posible apreciar una leve tendencia en similitud de los ejemplares muestreados entre las estaciones de Reloncaví-Rollizo (RR) con Hualaihué-Llancahué (HL) y Hualaihué-Puntilla Quillón (HP). De igual forma, se observa una leve estructuración entre ejemplares de Reloncaví-Llaguape (RL), con Castro-Chañihué (CC) y Castro-Yutuy (CY). El análisis del modelo con valores mayores de K no permite mejorar las agrupaciones observadas. Contrariamente, aumenta el nivel de estructuración.

K=2



K=3



K=4



K=5



Figura 4.14. Análisis de Admixture generado para 4 diferentes valores de K (del 2 al 5). Las gráficas muestran los datos de NGS generados para 60 individuos de las poblaciones evaluadas de *Mytilus chilensis*. La grafica muestra ejemplares de estaciones Reloncaví-Llaguete (RL), Reloncaví- Rollizo (RR), Castro-Chañihué (CC), Castro-Yutuy (CY). Hualaihué-Llancahué (HL) y Hualaihué-Puntilla Quillón (HP).

Con el objetivo de explorar SNPs a través del genoma de *M. chilensis*, se estimaron los valores de F_{st} entre los ejemplares de las poblaciones evaluadas. La Figura 4.15 muestra los valores de $Z(F_{st})$ por cromosoma para la comparación entre el genoma de cada zona vs todas las estaciones. De esta forma, se puede estimar el nivel de variabilidad de los SNPs identificados con respecto al número total de ejemplares evaluados a nivel poblacional. El análisis muestra que con un umbral de $Z(F_{st})$ igual a 5 para detectar SNPs en desequilibrio, no evidencia una gran cantidad de mutaciones polimórficas entre las poblaciones. No obstante, SNPs localizados en los cromosomas 1, 2, 13 y 14 muestran mayores valores de $Z(F_{st})$ en las poblaciones de Castro, mientras de los SNPs localizados en los cromosomas 2, 3, 6 y 14 son más enriquecidos en los ejemplares de Hualaihué. En referencia a los ejemplares de Reloncaví, la distribución de valores $Z(F_{st})$ en los cromosomas es más heterogenea comparado con las demás poblaciones. Por ejemplo, los SNPs con valores de $Z(F_{st})$ mayores de 5 están altamente localizados en el cromosoma 14 de las poblaciones Reloncaví-Llaguepe (RL), no así en Reloncaví-Rollizo (RR).

Adicionalmente, el presente estudio exploró los patrones de recombinación en las poblaciones de choritos, así como sus posibles relaciones filogenéticas (Figura 4.16). En primera instancia se estimaron los valores de decaimiento del desequilibrio de ligamiento (LD decay) (Figura 4.16A). El análisis muestra que casi todas las poblaciones presentan un mismo patrón de LD decay estabilizado hasta una distancia de las 300 Kb. No obstante, la población de Reloncaví-Llaguepe (RL) evidenció un patrón de decaimiento distinto a las otras poblaciones a distancias menores de 50Kb. Los resultados demuestran un alto nivel de heterocigosidad en la población de *M. chilensis* analizados, lo que puede reflejar un alto flujo genético entre poblaciones. No obstante, los ejemplares de Reloncaví-Llaguepe (RL) sugieren un comportamiento diferencial en los patrones de recombinación de los loci analizados. Adicionalmente, la evaluación de agrupaciones filogenéticas mostro una alta dispersión, evidenciando al menos 4 clados mayores relacionados a las poblaciones estudiadas. Dentro de los clados es posible observar una leve tendencia en la agrupación de ejemplares de Reloncaví-Rollizo (RR) con Hualaihué-Llancahué (HL) y Hualaihué-Puntilla Quillón (HP), mientras que Castro-Chañihué (CC) y Castro-Yutuy (CY) con Reloncaví-Llaguepe (RL) (Figura 4.16B).

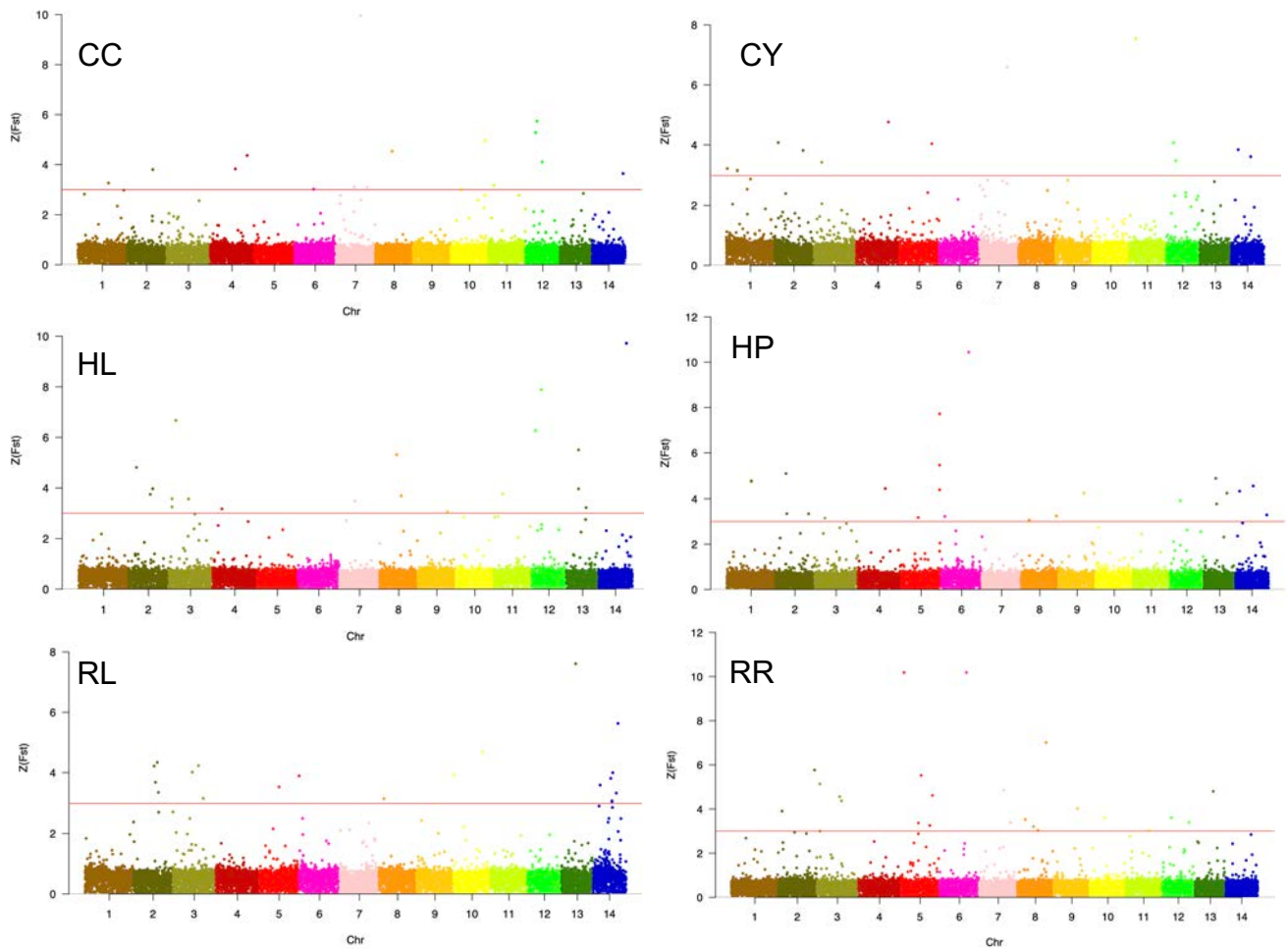


Figura 4.15. Análisis de índice de fijación (F_{st}) a partir de datos generados para 60 individuos de las poblaciones evaluadas de *Mytilus chilensis*. Las gráficas muestran la comparación de las variantes nucleotídicas identificadas utilizando los datos de NGS generados para cada zona y estación. Para cada zona/estación se comparó con la variación total poblacional. Reloncaví- Rollizo (RR), Castro-Chañihué (CC), Castro-Yutuy (CY). Hualaihué-Llancahué (HL) y Hualaihué-Puntilla Quillón (HP).

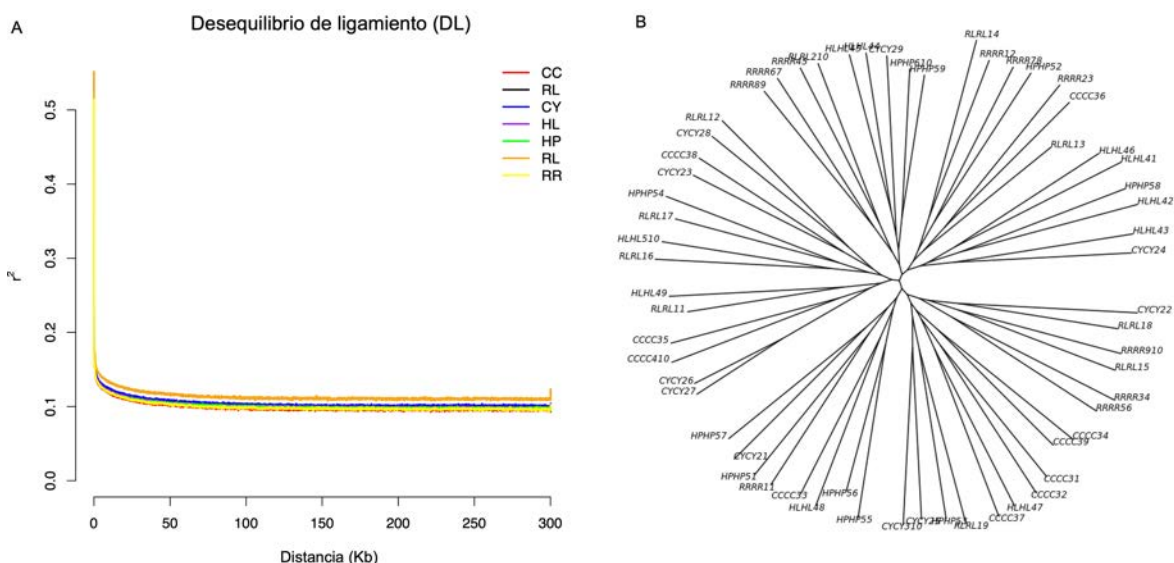


Figura 4.16. Análisis de (A) LD decay con máximo de distancia de 300 pb. (B) Análisis filogenético a partir de datos generados para 60 individuos de las poblaciones evaluadas de *Mytilus chilensis*. Las gráficas muestran los datos de NGS generados para cada zona y estación.

Un objetivo común de la genómica de poblaciones y la ecología molecular es reconstruir la historia demográfica de una especie de interés. En este punto, es de interés para la comunidad el desarrollo e implementación de herramientas basadas en el método de coalescencia secuencial Markoviana (PSMC por sus siglas en INGLÉS) para inferir tamaños de poblaciones pasadas utilizando secuencias genómicas. Estos métodos son más útiles cuando las secuencias están disponibles solo para un número limitado de genomas y cuando el objetivo es estudiar eventos demográficos antiguos. Los resultados de estos análisis pueden ser difíciles de interpretar con precisión, porque para ello es necesario comprender la base molecular de las interacciones entre el genotipo y el ambiente, a fin de asignar cambios demográficos a eventos particulares. No obstante, es interesante para evaluar la expansión demográfica reciente de una población, y especialmente en *M. chilensis*, debido a su alteración poblacional por la actividad productiva de la mitilicultura. Para ello, se analizaron los datos utilizando la estrategia de identificación y evaluación de variantes SNPs solo en exones a lo largo del genoma de *M. chilensis*. Esta estrategia fue utilizada a fin de evaluar el comportamiento de estas variaciones puntuales nucleotídicas en términos de estructuración poblacional y expansión demográfica. La Figura 4.17 muestra los análisis genómicos realizados utilizando SNPs en regiones exónicas para tres poblaciones en estudio. Esta exploración de los datos fue realizada a fin de buscar distintas estrategias de análisis con la finalidad de responder los requerimientos técnicos de la propuesta. La aplicación de modelos de Admixture para un valor de K igual a 3 muestra una clara diferenciación entre las tres poblaciones analizadas, mostrando a Hualaihué-Llancahué (HL) y Reloncaví-Rollizo (RR) con una mayor proporción de ejemplares con genotipos distintos (Figura 4.17A). En referencia a Castro el análisis evidencia una menor mezcla de genotipos, probablemente

relacionada a su carácter de recepción de semillas o zonas de retención larval de *M. chilensis*. Esta inferencia puede ser relacionada con el tamaño efectivo poblacional calculado mediante un modelo PSMC donde es posible observar la trayectoria del tamaño poblacional efectivo (Figura 4.17B). El análisis evidencia que alrededor de 100.000 años los tamaños poblacionales efectivos eran bajos y estables, pero posterior a ello se observa un cambio drástico de expansión demográfica, siendo Hualaihué la mayor población con tamaño efectivo poblacional desde hace 10.000 años.

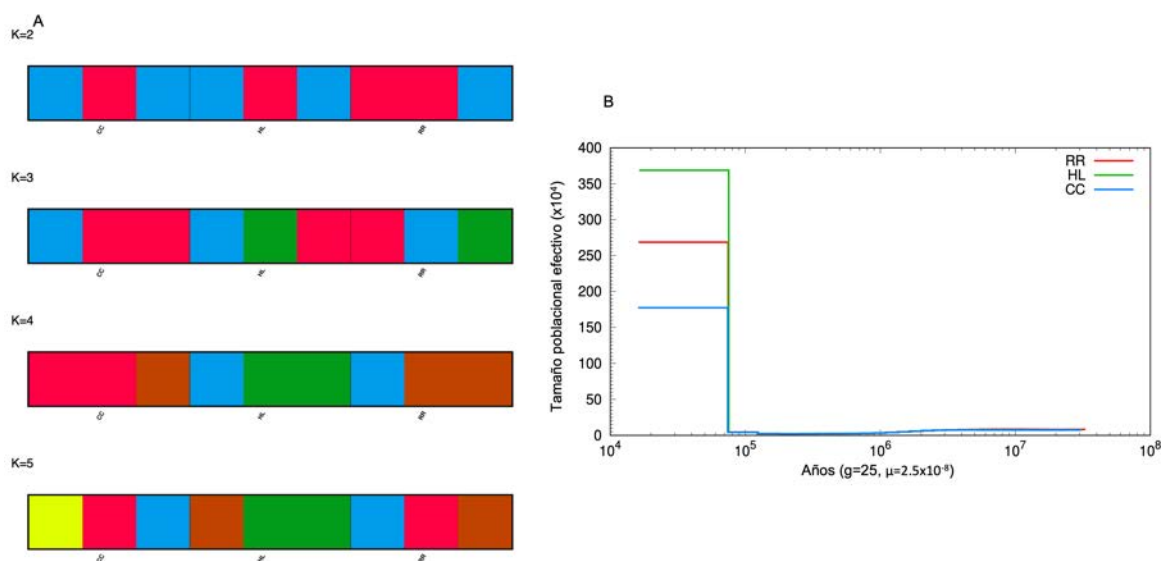


Figura 4.17. (A) Análisis de Admixture generado para 4 diferentes valores de K (del 2 al 5). Las gráficas muestran los datos de NGS generados para 60 individuos utilizando solo SNPs anotados en regiones exónicas de las poblaciones evaluadas de *Mytilus chilensis*. (B) Análisis de PSMC para la estimación demográfica de las poblaciones de *Mytilus chilensis* estudiadas. La grafica muestra ejemplares de las estaciones Reloncaví- Rollizo (RR), Castro-Chañihué (CC), y Hualaihué-Llancahué (HL).

6.3.2. Análisis de variantes nucleotídicas y zigocidad en las tres poblaciones de *Mytilus chilensis* del estudio.

Con la finalidad de explorar los datos de WGR, se analizaron los tipos de mutaciones puntuales identificadas en los 60 genomas re-secuenciados de *M. chilensis*. Para ello se identificaron mutaciones puntuales de un único nucleótido (SNV), deleciones, inserciones, múltiples variantes nucleotídicas (MNV) y "replacement" o sustitución. La Figura 4.18 muestra la distribución de los distintos polimorfismos promedios (n=60) para cada población. El análisis evidencia un enriquecimiento para todas las poblaciones en mutaciones tipo SNVs, constituyendo cerca de un 95% de las anotaciones identificadas. Con respecto a las otras mutaciones, mostraron valores promedio por individuo/genoma menor a las 60.000 anotaciones. De manera muy interesante, los individuos de las poblaciones de Castro-Yutuy (CY), Castro-Chañihué (CC) y Reloncaví-Llaguape (RL) mostraron los mayores valores

de ocurrencia, comparado con los genomas secuenciados desde individuos recolectados en Reloncaví-Rollizo (RR), Hualaihué-Llancahué (HL) y Hualaihué-Puntilla Quillón (HP). Un aspecto interesante, es la mayor dispersión de todas las variantes identificadas en los ejemplares de Reloncaví-Llaguepe (RL). Este análisis permite explorar posibles asociaciones, agrupando las poblaciones de Castro con Reloncaví-Llaguepe (RL), y Hualaihué con Reloncaví- Rollizo (RR). El análisis estadístico del número de variantes SNVs por población permite sugerir asociaciones diferencias de dichas mutaciones. La Figura 4.19 muestra las comparaciones estadísticas realizadas.

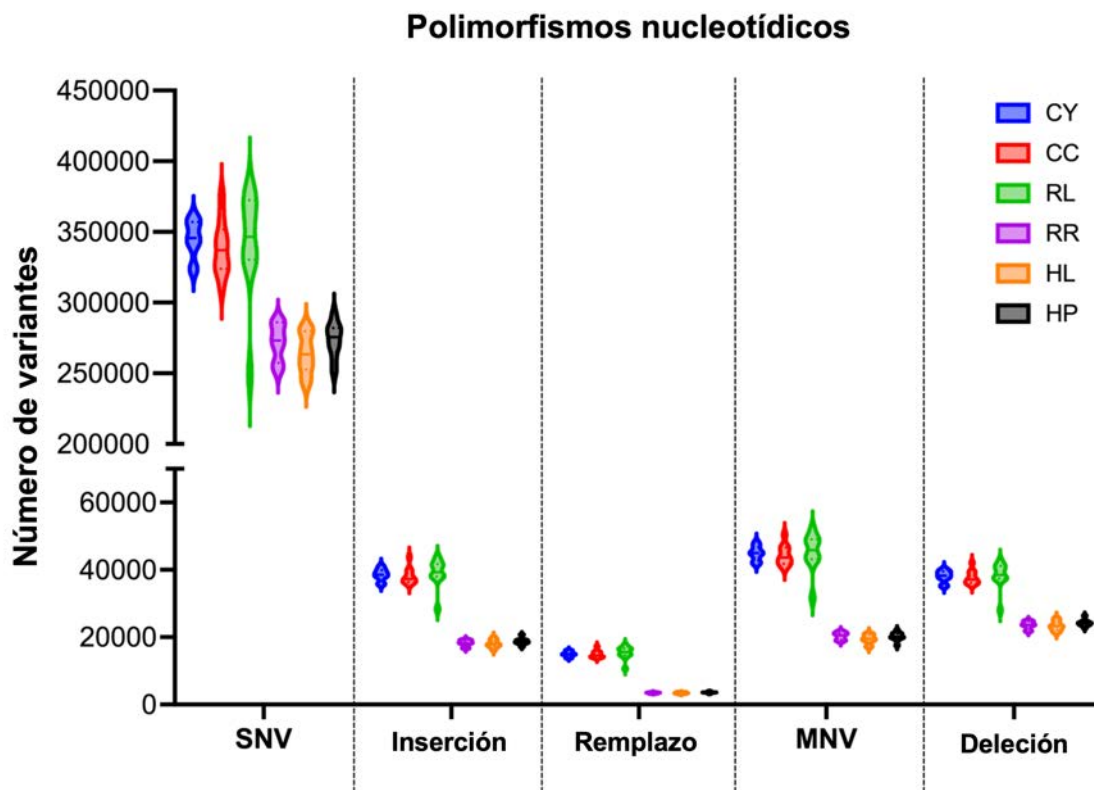


Figura 4.18. Comparación de 5 tipos de variantes polimórficas desde datos entre poblaciones de *Mytilus chilensis*. La comparación entre los ejemplares de estaciones Reloncaví-Llaguepe (RL), Reloncaví- Rollizo (RR), Castro-Chañihué (CC), Castro-Yutuy (CY). Hualaihué-Llancahué (HL) y Hualaihué-Puntilla Quillón (HP).

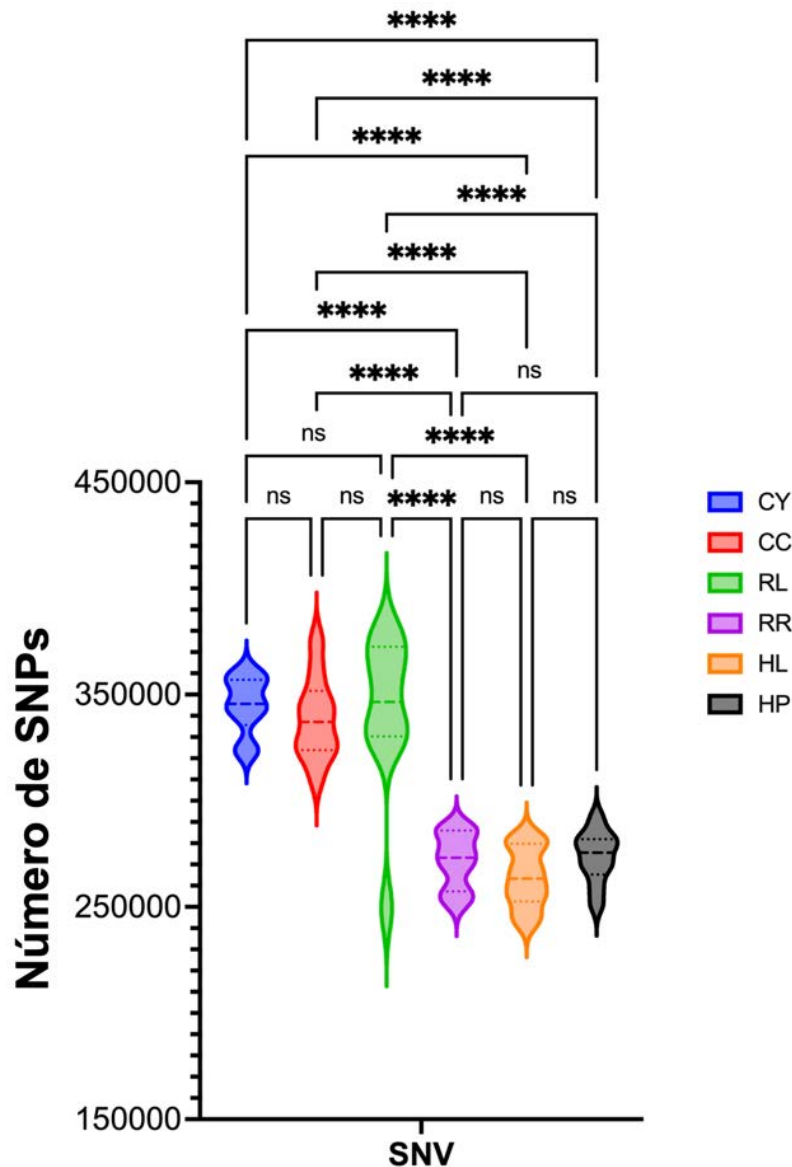


Figura 4.19. Comparación estadística de variantes polimórficas únicas (SNV) desde datos entre poblaciones de *Mytilus chilensis*. La comparación fue realizada entre los ejemplares de estaciones Reloncaví-Llaguepe (RL), Reloncaví- Rollizo (RR), Castro-Chañihué (CC), Castro-Yutuy (CY). Hualaihué-Llancahué (HL) y Hualaihué-Puntilla Quillón (HP).

Con la finalidad de explorar posibles asociaciones a nivel poblacional de las variantes polimórficas identificadas, se realizó un análisis de componentes principales (PCA). Las Figuras 4.20 y 4.21 muestran la agrupación de SNVs en el PC1, evidenciado una mayor asociación entre las poblaciones de Castro y Reloncaví-Llaguepe (RL), mientras que Hualaihué con Reloncaví- Rollizo (RR) fueron

significativamente agrupadas. Las demás mutaciones no evidenciaron un patrón de agrupación estadísticamente significativo.

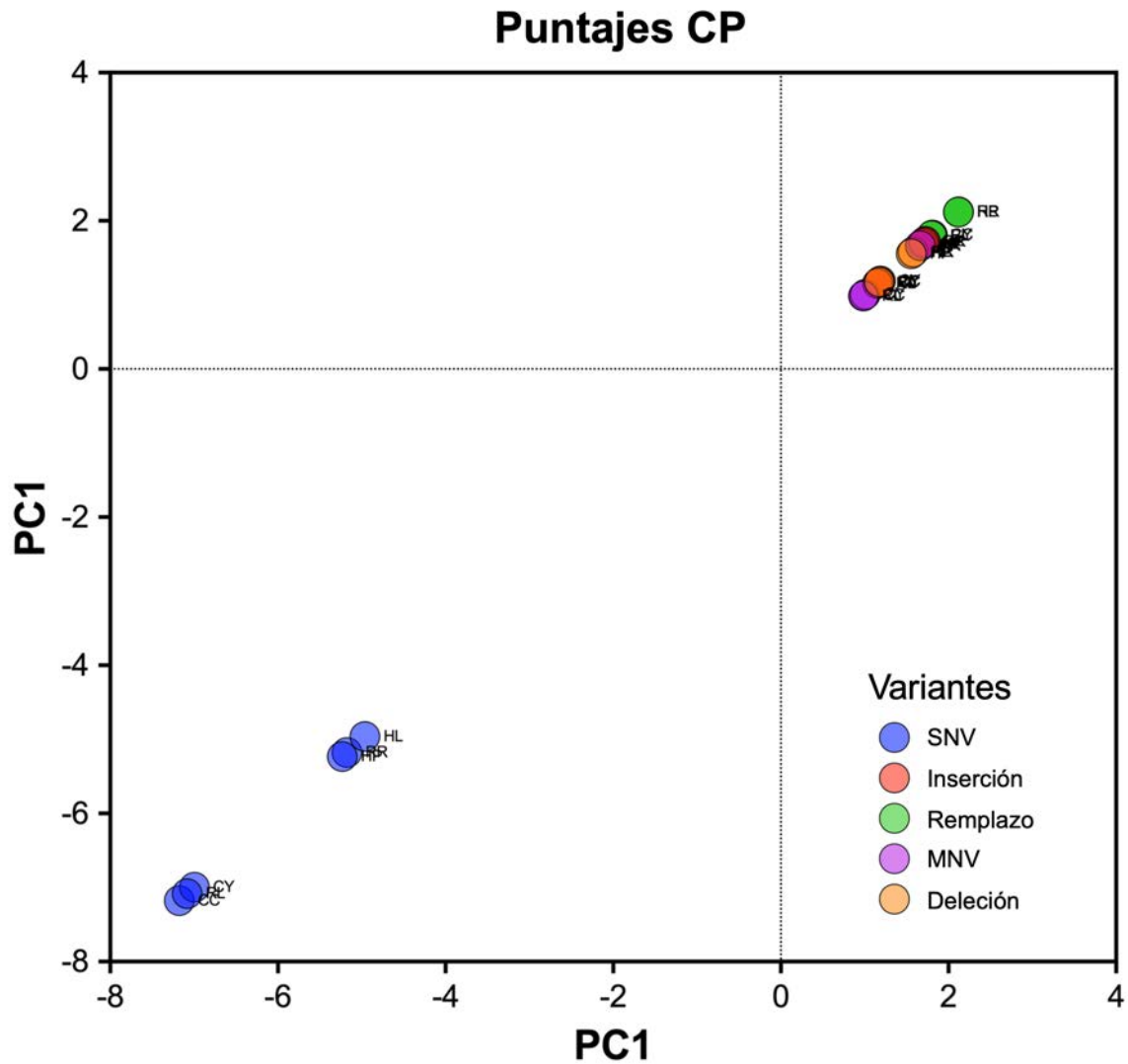


Figura 4.20. Análisis de Componentes Principales (PCA) para los factores de población y variantes polimórficas. El PCA fue realizado entre los ejemplares de estaciones Reloncaví-Llaguepe (RL), Reloncaví- Rollizo (RR), Castro-Chañihué (CC), Castro-Yutuy (CY). Hualaihué-Llancahué (HL) y Hualaihué-Puntilla Quillón (HP).

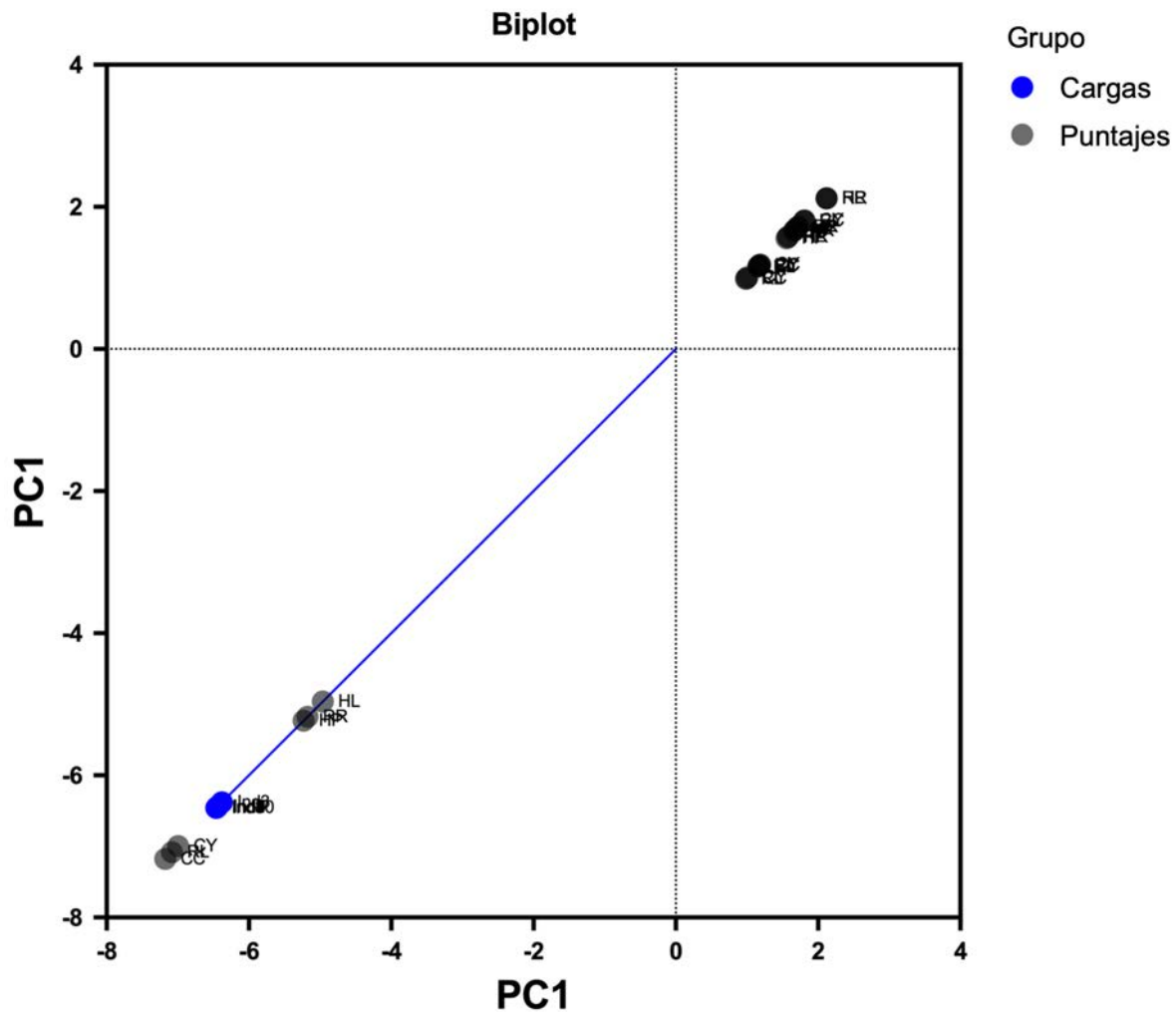


Figura 4.21. Análisis de Componentes Principales (Biplot) para los factores de población y variantes polimórficas. El PCA fue realizado entre los ejemplares de las estaciones Reloncaví-Llaguepe (RL), Reloncaví- Rollizo (RR), Castro-Chañihué (CC), Castro-Yutuy (CY). Hualaihué-Llancahué (HL) y Hualaihué-Puntilla Quillón (HP).

Adicionalmente, con la finalidad de comparar entre poblaciones utilizando los datos de variantes polimórficas, se realizó una prueba de comparación múltiple utilizando una prueba de ANOVA de 2-vías para identificar posibles asociaciones estadísticas. Las principales diferencias encontradas fueron entre ejemplares de Castro con Hualaihué y Reloncaví (Figura 4.22). En general, los individuos de Hualaihué y Reloncaví mostraron bajas diferencias en los promedios de polimorfismos identificados, excepto en ejemplares de la estación de Reloncaví-Llaguepe (RL), quienes poseen mayor significancia estadística al momento de evaluar diferencias entre mutaciones puntuales a nivel genómico. En

síntesis, basándose en los resultados de asociaciones estadísticas entre ejemplares de *M. chilensis*, para las tres poblaciones muestreadas y 6 puntos de muestreo, los individuos de Castro muestran diferencias significativas con todos los otros ejemplares, excepto para aquellos recolectados en Reloncaví-Llaguepe (RL).

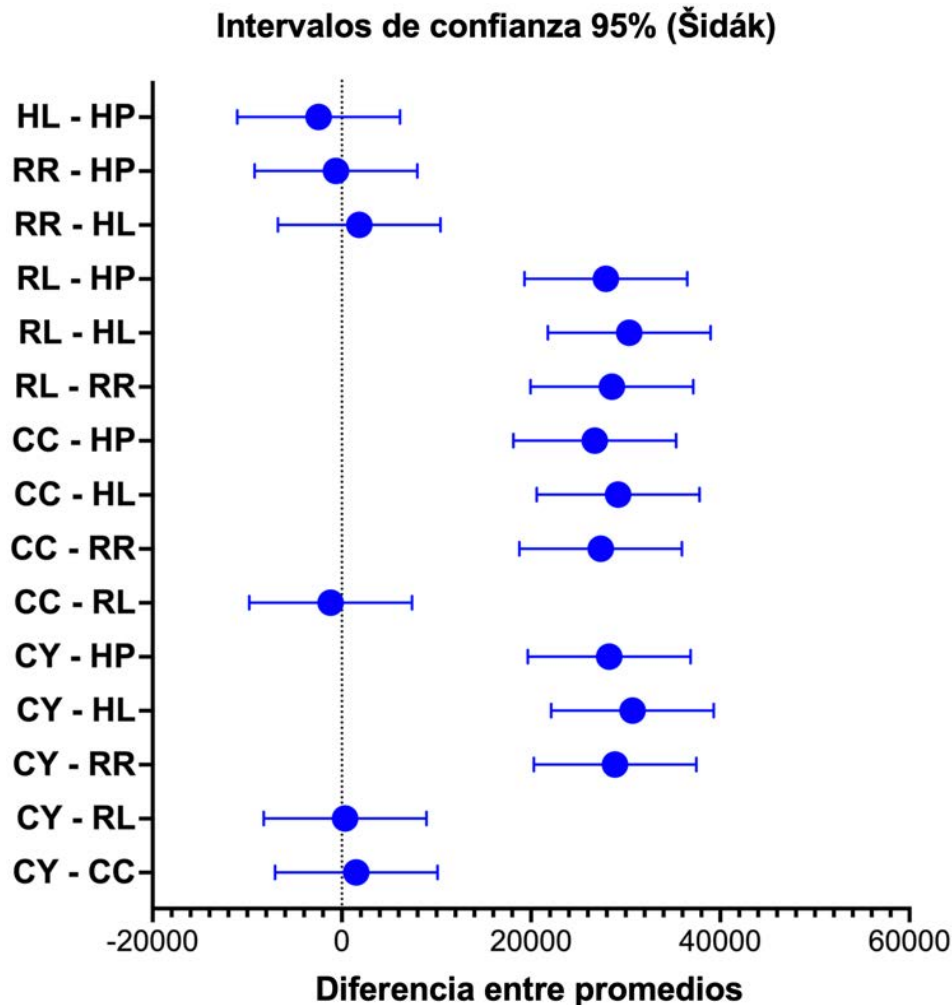


Figura 4.22. Prueba de comparación múltiple mediante test de ANOVA de 2-vías para identificar posibles asociaciones estadísticas de SNVs entre los ejemplares de las estaciones Reloncaví-Llaguepe (RL), Reloncaví- Rollizo (RR), Castro-Chañihué (CC), Castro-Yutuy (CY), Hualaihué-Llancahué (HL) y Hualaihué-Puntilla Quillón (HP).

Con el objetivo de evaluar la distribución de la zigocidad en las poblaciones de *M. chilensis*, se identificaron bioinformáticamente a partir de los datos WGR y las variantes polimórficas anotadas, la ocurrencia de mutaciones heterocigotas y homocigotas. Los análisis y comparaciones estadísticas

fueron realizadas entre ejemplares de las estaciones de Reloncaví-Llaguepe (RL), Reloncaví-Rollizo (RR), Castro-Chañihué (CC), Castro-Yutuy (CY), Hualaihué-Llancahué (HL) y Hualaihué-Puntilla Quillón (HP). La Figura 4.23 muestra la proporción de SNVs, identificados como heterocigotos u homocigotos. En general, es posible observar que la proporción de heterocigotos es mayor con respecto a la proporción de SNVs homocigotos. Es en congruencia con los tamaños poblacionales descritos y la estrategia de reproducción de la especie. No obstante, este análisis exploratorio muestra una mayor proporción de zigocidad en ejemplares recolectados desde Castro y Reloncaví, siendo la mayor proporción de heterocigotos asociadas a ejemplares recolectados en Reloncaví-Llaguepe (RL). Por otra parte, la menor proporción de heterocigotos fue evidenciada en individuos muestreados en la zona de Hualaihué.

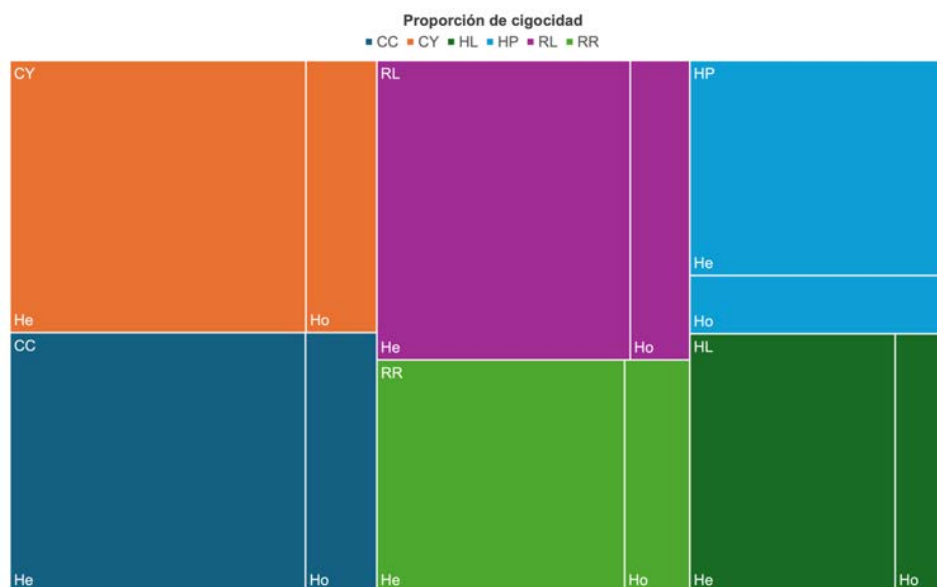


Figura 4.23. Proporción de zigocidad, heterocigotos (He) y homocigotos (Ho), entre ejemplares de las estaciones Reloncaví-Llaguepe (RL), Reloncaví- Rollizo (RR), Castro-Chañihué (CC), Castro-Yutuy (CY), Hualaihué-Llancahué (HL) y Hualaihué-Puntilla Quillón (HP).

El análisis estadístico del número de zigocidad entre ejemplares de *M. chilensis* recolectados en las tres zonas analizadas, evidenció diferencias significativas para los SNVs heterocigotos (Figura 4.24). El general el estudio mostró que no existen diferencias entre ejemplares recolectados de la misma zona, incluyendo los dos puntos de muestreos analizados. Es decir, no hay diferencias en el número de loci heterocigotos entre Castro-Chañihué (CC) y Castro-Yutuy (CY) o Hualaihué-Llancahué (HL) y Hualaihué-Puntilla Quillón (HP). De manera interesante, se evidenciaron diferencias estadísticas entre el número de loci heterocigotos entre ejemplares de Reloncaví. La comparación entre poblaciones o zonas, mostró que Castro es diferente a Hualaihué y Reloncaví, excepto para Reloncaví-Llaguepe (RL). Con respecto a los loci homocigotos identificados en los ejemplares muestreados, el análisis

evidenció bajas diferencias significativas entre estaciones. No obstante, Castro mostró diferencias con ambas estaciones de Hualaihué-Llancahué (HL) y Hualaihué-Puntilla Quillón (HP), respectivamente. Con respecto a Reloncaví-Rollizo (RR), los loci homocigotos mostraron diferencias estadísticas con Castro-Yutuy (CY).

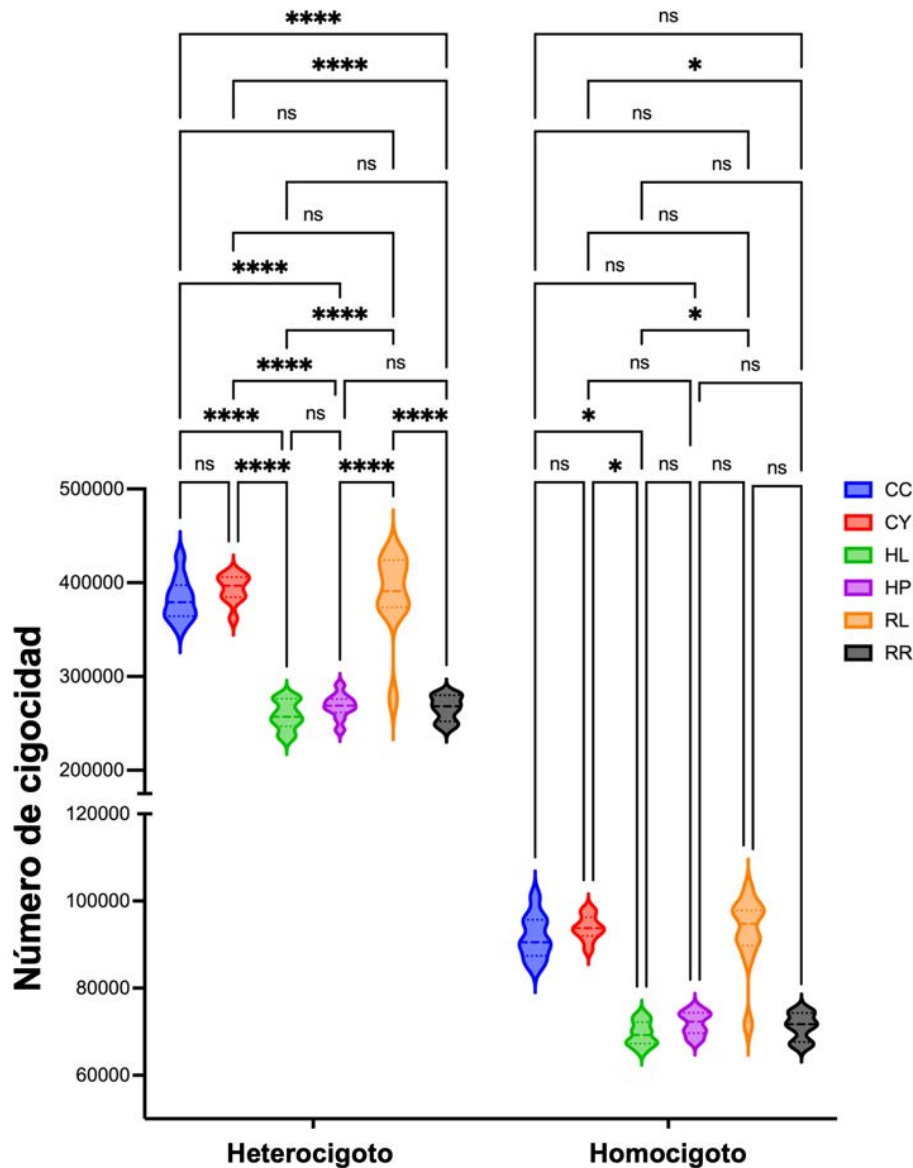


Figura 4.24. Comparación estadística de zigocidad entre poblaciones de *Mytilus chilensis*. La comparación fue realizada entre los ejemplares de las estaciones Reloncaví-Llaguape (RL), Reloncaví- Rollizo (RR), Castro-Chañihué (CC), Castro-Yutuy (CY), Hualaihué-Llancahué (HL) y Hualaihué-Puntilla Quillón (HP).

Intervalo de confianza 95% (Tukey)

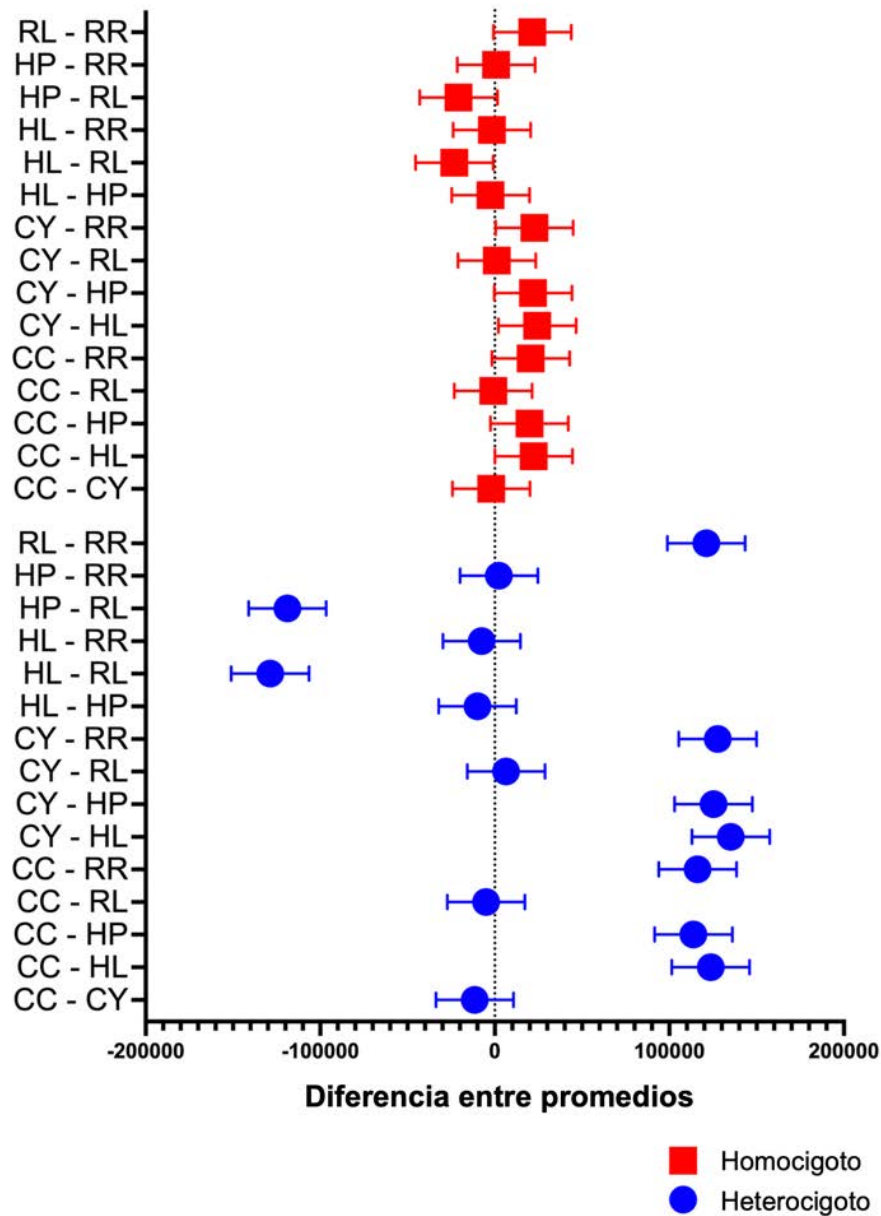


Figura 4.25. Prueba de comparación múltiple mediante test de ANOVA de 2-vías para identificar posibles asociaciones estadísticas de zigocidad entre los ejemplares de las estaciones Reloncaví-Llaguepe (RL), Reloncaví- Rollizo (RR), Castro-Chañihué (CC), Castro-Yutuy (CY). Hualaihué-Llancahué (HL) y Hualaihué-Puntilla Quillón (HP).

Con objetivo de evaluar posibles asociaciones estadísticas entre el número de loci heterocigotos y homocigotos, se realizó una prueba de comparación múltiple mediante una prueba ANOVA. El estudio mostró que no existen diferencias de los loci homocigotos entre las poblaciones analizadas, excepto para Castro-Yutuy (CY)-Hualaihué-Llancahué (HL), Castro-Yutuy (CY)-Reloncaví-Llaguepe (RL), Castro-Chañihué (CC)-Hualaihué-Llaguepe (HL) y Castro-Chañihué (CC)-Hualaihué-Puntilla Quillón (HP) (Figura 4.25). Con respecto al análisis de loci heterocigotos, se evidenciaron mayores asociaciones estadísticas basados en las diferencias de medias entre individuos analizados. En general, se observa que ejemplares heterocigotos para los loci analizados son significativamente distintos con respecto a los ejemplares de las demás poblaciones analizadas. Un hecho interesante, son las diferencias estadísticas de las medias de los loci heterocigotos encontradas para la zona de Reloncaví, mientras que Hualaihué-Puntilla Quillón (HP) y Reloncaví-Llaguepe (RL) mostraron el mismo patrón de diferencias (Figura 4.25).

Derivado de los resultados obtenidos de las diferencias estadísticas encontradas en la zigocidad de los ejemplares de *M. chilensis*. Se analizó posibles agrupaciones de la frecuencia de dichos loci a nivel poblacional. El Análisis de Componentes Principales (PCA) evidenció que no es posible discriminar grupos de individuos a partir de los loci homocigotos (Figura 4.26). No obstante, el análisis de los loci heterocigotos evidenció dos grupos significativamente asociados al componente principal 1, agrupando los ejemplares Castro con Reloncaví-Llaguepe (RL), y de Hualaihué con Reloncaví-Rollizo (RR) (Figura 4.27).

Los resultados obtenidos permiten sugerir una posible diferenciación poblacional de *M. chilensis* a partir de los datos de WRG generados en el presente estudio. Es posible evidenciar que las variantes únicas o SNVs aportan con más información polimórfica que permita explorar las diferencias poblacionales. De igual forma, aquellos SNVs heterocigotos fueron asociados significativamente con la discriminación de las poblaciones analizadas. El siguiente paso de análisis fue extraer aquellos SNVs informativos a nivel poblacional a fin de identificar funcionalidad de las variantes identificadas. Es decir, identificar qué variantes diferencialmente anotadas están asociadas con genes, y putativamente, si es posible observar procesos biológicos o funciones moleculares asociadas a cada población de estudio. Esta aproximación permitiría evidenciar si los SNVs identificados poseen un efecto fenotípico a nivel poblacional. De igual forma, la utilización del genoma de *M. chilensis* permite evidenciar si existen cromosomas particulares que concentran mayor nivel de polimorfismos y, por tanto, un componente importante en las relaciones microevolutivas de la especie.

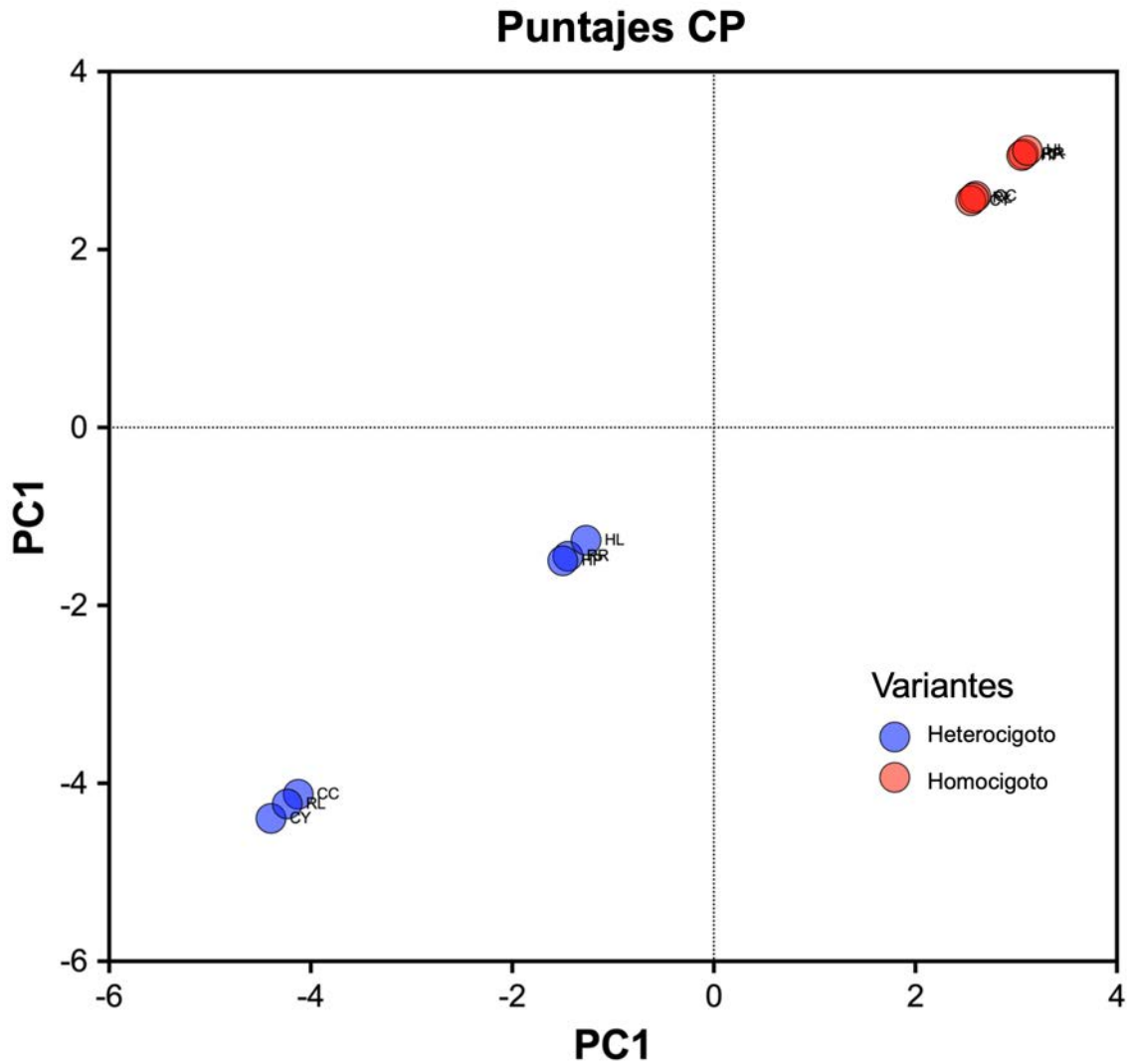


Figura 4.26. Análisis de Componentes Principales (PCA) para los factores de población y zigocidad. El PCA fue realizado entre los ejemplares de las estaciones Reloncaví-Llaguepe (RL), Reloncaví-Rollizo (RR), Castro-Chañihué (CC), Castro-Yutuy (CY), Hualaihué-Llancahué (HL) y Hualaihué-Puntilla Quillón (HP).

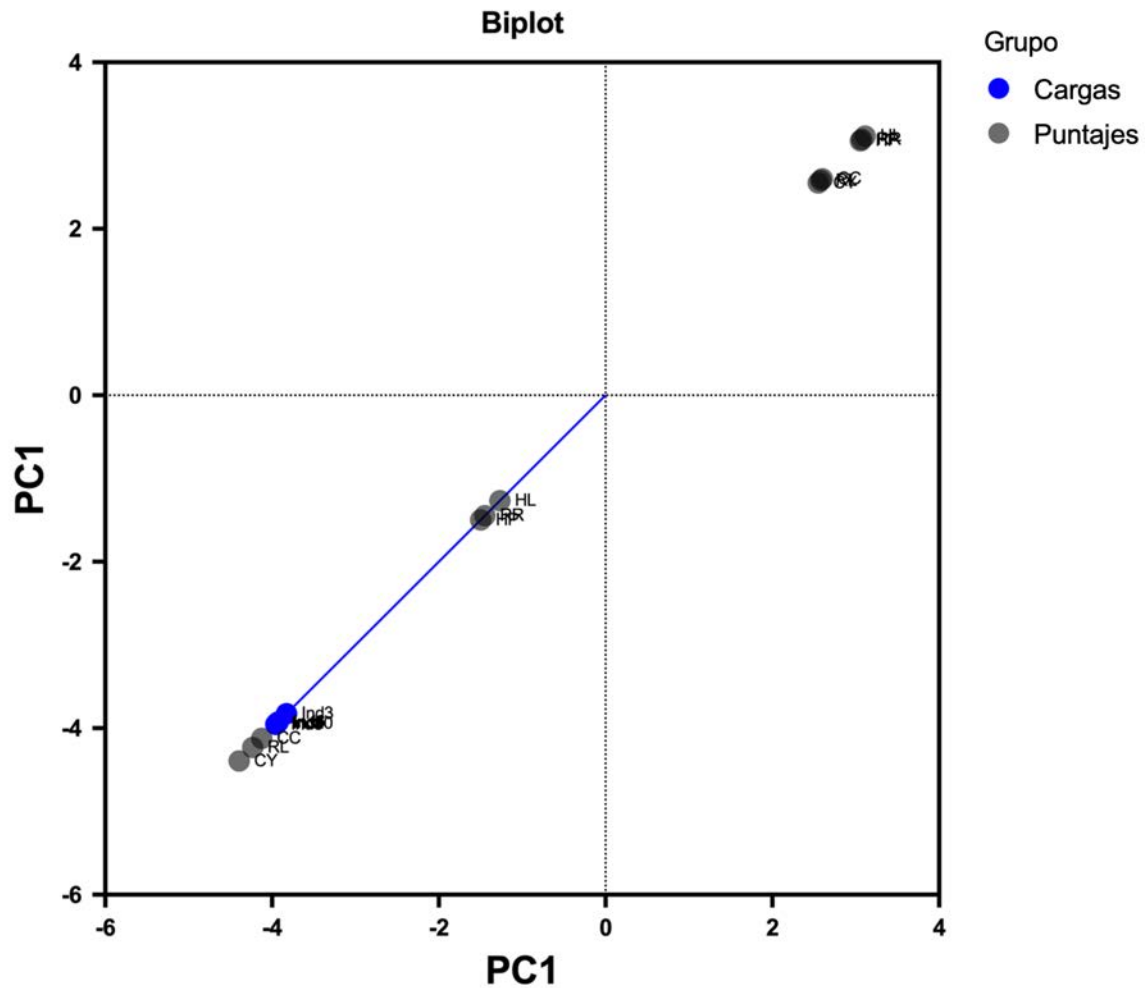


Figura 4.27. Análisis de Componentes Principales (PCA) para los factores de población y zigocidad. El PCA fue realizado entre los ejemplares de las estaciones Reloncaví-Llaguepe (RL), Reloncaví-Rollizo (RR), Castro-Chañihué (CC), Castro-Yutuy (CY), Hualaihué-Llancahué (HL) y Hualaihué-Puntilla Quillón (HP).

6.3.3. Análisis funcional de SNPs anotados en regiones codificantes del genoma de *Mytilus chilensis* diferencialmente asociados a nivel poblacional.

La estrategia de análisis de variantes polimórficas localizadas en regiones exónicas permitió identificar genes exclusivos y compartidos para cada población. Los análisis genómicos de este estudio evidencian agrupaciones de variantes y zigocidad entre las zonas/estaciones asociadas a Castro y Reloncaví-Llaguepe (RL), así como entre Hualaihué y Reloncaví-Rollizo (RR). De esta forma, los análisis posteriores se realizaron agrupando dichas estaciones como CCY_RL (Castro-Chañihué/Castro-Yutuy/Reloncaví-Llaguepe) y HPL_RR (Hualaihué-Puntilla Quillón/Hualaihué-Llancahué/Reloncaví-Rollizo). La Figura 4.28 muestra el número de genes exclusivos y compartidos para cada agrupación. Fue posible observar que HPL_RR mostró la mayor cantidad de genes exclusivos anotados con SNPs contabilizando un total de 5,096 genes. Para la agrupación de CCY_RL se observó un total de 3,342 genes exclusivos con variantes polimórficas, mientras que 19,666 fueron anotadas como compartidas entre todas las poblaciones.

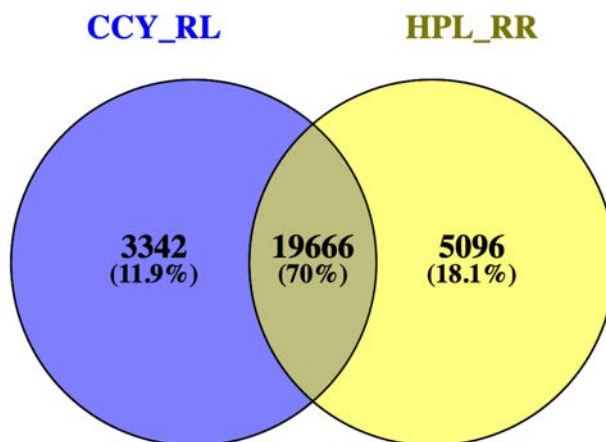


Figura 4.28. Grafica de Venn para SNPs anotados sobre genes exclusivos y compartidos entre las agrupaciones de las estaciones de CCY_RL (Castro-Chañihué/Castro-Yutuy/Reloncaví-Llaguepe/Reloncaví-Llaguepe y HPL_RR (Hualaihué-Puntilla Quillón/Hualaihué-Llancahué/Reloncaví-Rollizo).

Utilizando la herramienta ShinyGO para predecir funcionalidad a partir de análisis de enriquecimiento mediante herramientas de GO y KEGG, se analizaron los genes exclusivos identificados para SNPs en las agrupaciones de estaciones CCY_RL y de HPL_RR. La Figura 4.29 grafica los principales resultados obtenidos del análisis. Se observa que para la población HPL_RR los SNPs identificados enriquecen funciones moleculares asociadas con integridad de membrana (Tight junction) y regulación del sistema inmunológico (Figura 4.29A). El análisis de las redes de vías moleculares evidencia una alta interacción de genes relacionados con respuesta inmune de tipo bacteriano y viral, dejando de

manera aislada y enriquecidas funciones de integridad de membrana celular (Figura 4.29B). Estos resultados pueden ser interpretados bajo un aspecto ambiental. Existe evidencia que las poblaciones de *M. chilensis* en las zonas de Reloncaví y Hualaihué experimentan una intensa variabilidad ambiental derivada de los aportes de agua dulce. De esta forma, el incremento de sedimentos puede generar mayor carga microbiológica en la columna de agua de dichas zonas. Asimismo, las variabilidad térmica y osmótica requiere de una mayor respuesta de elementos genéticos asociados con integridad de las membranas celulares. Esta señal genómica de SNPs asociadas a genes exclusivos de las poblaciones HPL_RR, sugiere algún tipo de adaptación genómica local. En referencia a las poblaciones de CCY_RL, la anotación de SNPs exclusivos sobre genes de *M. chilensis*, el análisis de ontología muestra una menor cantidad de funciones enriquecidas. No obstante, se observan funciones reparación de DNA (double-strand break repair), regulación de ciclo circadiano y adhesión celular. Estos resultados pueden interpretarse como una señal genómica asociada a estrés de tipo antropogénico, principalmente sobre aquellos genes relacionados con reparación de DNA frente a hidrocarburos y otros contaminantes ambientales en el ambiente marino (Figura 4.29C). El análisis de redes de vías de señalización muestra una fuerte asociación con respuesta a estrés, sustentando el hecho que dichos organismos pueden estar asociados con firmas genómicas y mutaciones asociadas a la respuesta antropogénica (Figura 4.29D).

6.3.4. Análisis del origen de la semilla y Conectividad

Se realizó un análisis de asignación de tal forma de estimar el origen de las semillas ubicadas en los colectores y también en los bancos naturales, para determinar su origen al comparar con reproductores de bancos naturales cercanos y distantes y con reproductores de centros de engorda. Para cumplir con este requerimiento se diseñaron y validaron marcadores SNP discriminantes para las poblaciones en estudio (Tabla 4.2 y 4.3). El detalle del desarrollo de estos nuevos marcadores para *M. chilensis* siguiendo la metodología especificada en el trabajo de Jiliberto et al. (2017) se muestra en el Anexo 4.1. Posteriormente, a partir de la información generada por el genotipificado de las muestras obtenidas de colectores y bancos identificados en la propuesta se procedió al análisis genético de ellas.

Para esto se utilizó el software GeneClass 2.0 (Piry et al., 2004) que realiza análisis de asignación con estadística bayesiana. El criterio de asignación utilizado fue la observación de un valor mayor a un 95%. Para definir conectividad y parentesco se utilizaron modelos de análisis de genética poblacional. Para esto se realizó un análisis de la estructura poblacional mediante estimadores de diferenciación genética entre zonas/estaciones. Se realizó un análisis de varianza molecular AMOVA para determinar el origen de la diferenciación genética entre los diferentes niveles de muestreo mediante Arlequin 3.5 (Excoffier and Lischer, 2010). Cabe destacar que debido a la alta variabilidad encontrada con los marcadores SNPs a nivel de todo el genoma, es decir, aquellos localizados a nivel de intrones, exones y regiones intergénicas, no fue posible generar resultados que permitieran asociar zonar y origen de la semilla. No obstante, el análisis de SNPs solo en regiones exónicas permite desarrollar una herramienta basada en secuenciación masiva que permita identificar relaciones de conectividad genética. Por otra parte, el proyecto demuestra la alta tasa de relocalización o trasplante de semillas desde Reloncaví, lo que evidentemente altera este tipo de análisis. No obstante, el desarrollo y validación de nuevos marcadores SNPs, así como su aplicación mediante HRM permite de una forma rápida la exploración de origen de semilla en colectores o zonas de engorda.

Los resultados de conectividad de *M. chilensis* utilizando marcadores SNPs mediante HRM, así como la información generada desde datos de WGRS para las tres zonas (fiordo Reloncaví, Hualaihué y Castro) y zonas/estaciones analizadas, permiten sugerir la existencia de un flujo de semillas diferencial desde Reloncaví hacia Castro y Hualaihué. Específicamente, los antecedentes sugieren una mayor conectividad genética entre Castro (Chañihué-Yutuy) con Reloncaví-Llaguape (RL) (Figura 4.30). Por otra parte, los datos sugieren que Hualaihué (Puntilla Quillón-Llancahué) estaría más relacionado con el sector de Reloncaví-Rollizo (RR). Asimismo, los datos sugieren que existiría un flujo genético entre Hualaihué y Castro, pero de menor escala comparado con la conectiva desde Reloncaví hacia ambas zonas (Figura 4.30).



Figura 4.30. Ilustración referencial de conectividad genética para las poblaciones en estudio de *Mytilus chilensis* de Reloncaví, Castro y Hualaihué.

Tabla 4.2. Genotipificación de marcadores SNPs desarrollados para la identificación de semillas en bancos naturales de *Mytilus chilensis*.

Sample	CC_SNP3	CC_SNP7	CY_SNP2	CY_SNP3	CY_SNP4-2	HL_SNP3	HL_SNP6-2	HL_SNP9	HP_SNP1-2	HP_SNP3	HP_SNP4	RL_SNP2	RL_SNP12
CC1	HTZ	HMZ 1	HTZ	HMZ 2	HMZ 1	OMITIDA	HMZ 2	OMITIDA	HMZ 2	HMZ 1	HTZ	HMZ 1	HTZ
CC2	HTZ	HMZ 1	HTZ	HTZ	HTZ	HTZ	HMZ 1	HTZ	HMZ 2	HMZ 1	HTZ	HMZ 1	HMZ 2
CC3	HMZ 1	HTZ	HTZ	HTZ	HTZ	HMZ 2	HMZ 1	HMZ 1	HMZ 2	HTZ	HTZ	HMZ 1	HTZ
CC4	HMZ 1	HMZ 1	HTZ	HTZ	HMZ 1	HMZ 2	HMZ 1	HMZ 1	HMZ 2	HMZ 1	HTZ	OMITIDA	HMZ 1
CC5	HMZ 2	HMZ 1	HMZ 2	HTZ	HMZ 2	OMITIDA	HTZ	HMZ 2	HMZ 2	HTZ	HTZ	HMZ 1	HMZ 2
CC6	HMZ 1	HMZ 1	HMZ 1	HTZ	HMZ 2	HTZ	HMZ 1	HMZ 2	HMZ 2	HTZ	HMZ 1	HTZ	HTZ
CY1	HMZ 1	HMZ 1	HTZ	OMITIDA	OMITIDA	HMZ 2	HMZ 1	HMZ 1	HMZ 2	OMITIDA	HTZ	HMZ 1	HMZ 1
CY2	HMZ 1	HMZ 1	HTZ	HTZ	HTZ	HMZ 2	HMZ 1	HMZ 1	HMZ 2	HMZ 2	HTZ	HMZ 1	HTZ
CY3	HMZ 2	HMZ 2	HMZ 2	HMZ 2	HMZ 2	HMZ 2	HTZ	HTZ	HMZ 2	HMZ 2	HTZ	HMZ 1	HTZ
CY4	HMZ 2	HTZ	HTZ	HMZ 2	HMZ 2	HMZ 2	HTZ	HMZ 1	HMZ 1	HMZ 2	HMZ 2	HMZ 1	HTZ
CY5	HMZ 1	HTZ	HMZ 2	HTZ	HMZ 2	HMZ 2	HMZ 1	HMZ 1	HTZ	HMZ 1	HTZ	OMITIDA	HMZ 2
CY6	HTZ	HTZ	HTZ	HMZ 2	OMITIDA	HMZ 2	OMITIDA	HTZ	HTZ	HTZ	HTZ	HTZ	OMITIDA
CY7	HMZ 1	HMZ 1	HTZ	OMITIDA	HMZ 2	HMZ 2	HMZ 2	HMZ 1	HMZ 2	HMZ 2	HMZ 1	HTZ	HTZ
CY8	HTZ	HMZ 1	HTZ	OMITIDA	HTZ	HMZ 2	HTZ	OMITIDA	OMITIDA	OMITIDA	HMZ 1	HMZ 1	HMZ 1
HL1	HTZ	HTZ	HMZ 1	OMITIDA	HMZ 2	HMZ 2	HTZ	HMZ 1	HMZ 2	HMZ 1	HMZ 2	HMZ 1	HMZ 1
HL2	HMZ 2	HTZ	HTZ	OMITIDA	HMZ 2	HMZ 2	HTZ	HMZ 1	HMZ 2	HTZ	HMZ 2	HMZ 1	HMZ 2
HL3	HMZ 2	HMZ 1	HTZ	HTZ	HMZ 1	HTZ	HTZ	HTZ	HTZ	HMZ 2	HMZ 2	HMZ 1	HMZ 1
HL4	HTZ	HTZ	HTZ	HTZ	HTZ	HTZ	HMZ 1	HMZ 2	HTZ	HMZ 1	HMZ 2	HTZ	HMZ 1
HL5	HMZ 2	HTZ	HTZ	HTZ	HTZ	HTZ	HMZ 1	HTZ	HTZ	HMZ 1	HMZ 2	HTZ	HTZ
HL6	HMZ 1	HMZ 1	HTZ	HTZ	HMZ 1	HTZ	HMZ 1	HMZ 1	OMITIDA	OMITIDA	HMZ 1	HMZ 1	HTZ
HL7	HMZ 1	HTZ	HMZ 1	HMZ 2	HTZ	HMZ 2	HMZ 1	HMZ 1	HMZ 2	OMITIDA	HMZ 2	HMZ 2	HTZ
HL8	HMZ 1	HTZ	HTZ	HTZ	HTZ	HMZ 2	HMZ 1	HMZ 1	HMZ 2	HMZ 1	HTZ	HTZ	HTZ
HP1	HMZ 2	HTZ	HTZ	HTZ	OMITIDA	HTZ	HMZ 2	HMZ 1	HTZ	HMZ 1	HMZ 2	HTZ	HTZ
HP2	HMZ 1	HTZ	HTZ	HTZ	HTZ	HTZ	HMZ 1	HTZ	HTZ	HMZ 1	HMZ 1	HMZ 1	HMZ 1
HP3	HMZ 1	HTZ	HMZ 1	HTZ	HMZ 1	HMZ 2	HMZ 1	OMITIDA	HTZ	HMZ 1	HMZ 1	HMZ 1	HTZ
HP4	HMZ 1	OMITIDA	HMZ 1	HTZ	HMZ 1	HTZ	HMZ 1	HMZ 1	HMZ 2	HMZ 2	HMZ 1	HMZ 1	HMZ 1
HP5	HMZ 1	HTZ	HMZ 1	HMZ 1	HTZ	HTZ	HMZ 1	HMZ 1	3	HMZ 1	HTZ	HMZ 1	OMITIDA
HP6	HMZ 1	HTZ	HMZ 1	HTZ	HMZ 1	HMZ 2	OMITIDA	HMZ 1	HMZ 2	HTZ	HTZ	HTZ	HTZ
HP7	HMZ 1	HTZ	HMZ 1	OMITIDA	HTZ	HTZ	HMZ 1	HMZ 1	HTZ	OMITIDA	HTZ	OMITIDA	HMZ 1
HP8	HMZ 1	HTZ	HMZ 1	HMZ 1	HMZ 1	HMZ 1	HMZ 1	HMZ 1	HMZ 2	OMITIDA	HMZ 2	HMZ 2	OMITIDA
RL1	HMZ 1	HTZ	HMZ 1	OMITIDA	HMZ 1	HMZ 1	HMZ 1	HMZ 1	HTZ	HMZ 1	OMITIDA	HMZ 1	HMZ 1
RL2	HMZ 1	HMZ 1	HTZ	OMITIDA	HMZ 1	HMZ 2	HMZ 1	OMITIDA	HTZ	HMZ 1	HTZ	HMZ 1	OMITIDA
RL3	HMZ 1	HMZ 1	HTZ	OMITIDA	HMZ 2	HMZ 2	HTZ	HTZ	HTZ	HMZ 1	HMZ 1	HMZ 1	HMZ 1
RL4	HTZ	HTZ	HTZ	HTZ	HMZ 2	HMZ 2	OMITIDA	HTZ	HMZ 2	HMZ 2	HTZ	OMITIDA	HMZ 2
RL5	HMZ 1	HMZ 1	OMITIDA	HTZ	HTZ	HMZ 2	HMZ 2	HTZ	HMZ 2	HMZ 1	HTZ	HMZ 1	HTZ
RL6	HMZ 1	HMZ 1	HMZ 2	HTZ	HMZ 2	HTZ	HMZ 1	HTZ	HTZ	HMZ 1	HTZ	HMZ 2	HTZ
RL7	HMZ 1	HTZ	HMZ 2	HTZ	HMZ 2	HMZ 2	HMZ 2	HMZ 1	HMZ 2	HMZ 1	HTZ	HTZ	HMZ 1
RL8	OMITIDA	HMZ 2	HMZ 2	HMZ 2	HMZ 2	HTZ	HMZ 2	HTZ	HTZ	HTZ	HTZ	HTZ	HMZ 1

Tabla 4.3. Análisis de zigocidad de marcadores SNPs desarrollados para la identificación de semillas en bancos naturales de *Mytilus chilensis*.

Población	Zigosidad	CC_SNP3	CC_SNP7	CY_SNP2	CY_SNP3	CY_SNP4-2	HL_SNP3	HL_SNP6-2	HL_SNP9	HP_SNP1-2	HP_SNP3	HP_SNP4	RL_SNP2	RL_SNP12
CC	Heterocigoto	33,3	16,7	66,7	83,3	33,3	33,3	16,7	16,7	0,0	50,0	83,3	16,7	50,0
CC	Homocigoto 1	50,0	83,3	16,7	0,0	33,3	0,0	66,7	33,3	0,0	50,0	16,7	66,7	16,7
CC	Homocigoto 2	16,7	0,0	16,7	16,7	33,3	33,3	16,7	33,3	100,0	0,0	0,0	0,0	33,3
CY	Heterocigoto	25,0	37,5	75,0	25,0	25,0	0,0	37,5	25,0	25,0	12,5	62,5	25,0	50,0
CY	Homocigoto 1	50,0	50,0	0,0	0,0	0,0	0,0	37,5	62,5	12,5	12,5	25,0	62,5	25,0
CY	Homocigoto 2	25,0	12,5	25,0	37,5	50,0	100,0	12,5	0,0	50,0	50,0	12,5	0,0	12,5
HL	Heterocigoto	25,0	75,0	75,0	62,5	50,0	50,0	37,5	25,0	37,5	12,5	12,5	37,5	50,0
HL	Homocigoto 1	37,5	25,0	25,0	0,0	25,0	0,0	62,5	62,5	0,0	50,0	12,5	50,0	37,5
HL	Homocigoto 2	37,5	0,0	0,0	12,5	25,0	50,0	0,0	12,5	50,0	12,5	75,0	12,5	12,5
HP	Heterocigoto	0,0	87,5	25,0	62,5	37,5	62,5	0,0	12,5	50,0	12,5	37,5	25,0	37,5
HP	Homocigoto 1	87,5	0,0	75,0	25,0	50,0	12,5	75,0	75,0	0,0	50,0	37,5	50,0	37,5
HP	Homocigoto 2	12,5	0,0	0,0	0,0	0,0	25,0	12,5	0,0	37,5	12,5	25,0	12,5	0,0
RL	Heterocigoto	12,5	37,5	37,5	50,0	12,5	25,0	12,5	62,5	62,5	12,5	75,0	25,0	25,0
RL	Homocigoto 1	75,0	50,0	12,5	0,0	25,0	12,5	37,5	25,0	0,0	75,0	12,5	50,0	50,0
RL	Homocigoto 2	0,0	12,5	37,5	12,5	62,5	62,5	37,5	0,0	37,5	12,5	0,0	12,5	12,5

7. DISCUSION

Los mitílidos predominantes en el fiordo Reloncaví y Hualaihué fueron *M. chilensis* y *A. atra*, aunque con características de distribución espacial diferente. Mientras en el fiordo Reloncaví se observó *M. chilensis* hasta el submareal somero, en Hualaihué esta especie estuvo restringida al intermareal. Por otro lado, en Estero Castro, *M. chilensis* se restringió al intermareal, compartiendo el espacio con *P. purpuratus*, mientras que en el submareal fue abundante *C. chorus*.

Las estaciones fiordo Reloncaví presentaron una biomasa promedio de 4,5 t por estación, mientras que en Hualaihué la biomasa por estación fue de 1,7 t por estación y en Castro, sólo se registró 0,6 t por estación en sólo 5 estaciones. Esto sugiere que la zona más importante en abundancia de mitílidos, de las zonas estudiadas es el fiordo Reloncaví.

El patrón de distribución vertical de *M. chilensis* y *A. atra* observada en este estudio es coincidente con lo reportado por Viviani (1979). Además, en el fiordo Reloncaví, se observa una profundización de los bancos desde la boca (sector Boca) hacia la cabecera de fiordo, modulado por la profundización de la picnoclina Molinet et al. (2015). Los cambios observados en la distribución vertical de los bancos de mitílidos podrían producirse en escalas de tiempo interanuales, a través de procesos de expansión explicados por reproducción y reclutamiento (Toro et al., 2004; Oyarzún et al., 2011) y contracción explicados por pesca (Molinet et al., 2015) y variaciones en la salinidad superficial. La clara diferenciación del cinturón de *M. chilensis* y *A. atra* se ha descrito asociada a efectos de la salinidad (en la capa superficial) y a competencia y depredación a mayores profundidades. La competencia entre ambas especies (sugerida por Molinet et al., 2021b), en sistemas de salinidad aproximadamente > 28 psu restringiría la disponibilidad de hábitat para *M. chilensis* (Häuseermann y Försterra 2009; Zaixso, 2004; Molinet et al., 2015; Viviani, 1979), tal como se observa entre el fiordo Reloncaví y Hualaihué. *Aulacomya atra* desplazaría a *M. chilensis* usando su habilidad para producir un biso que se adhiere fuertemente al sustrato (Molinet et al., 2021b; Burzio et al., 1997). Por otro lado, la estructura de las comunidades intermareales y submareales poco profundas en sistemas rocosos es modulada por competencia intra e interespecífica entre organismos que se adhieren al sustrato, así como la depredación, por ejemplo, por Echinodermata y Mollusca (Connell, 1961; Hunt y Scheibling, 2001; Paine, 1974; Reusch y Chapman 1997; Molinet et al., 2015; Curelovich et al., 2016).

Ya que los mitílidos son capaces de secretar nuevo biso (Babarro et al., 2008) y al menos en estados juveniles desprenderse del sustrato y volver a fijarse en otros ambientes (Langley et al., 1980; South et al., 2020), es posible que existan otros mecanismos de cambio interanual de la distribución espacial de mitílidos, lo que debería ser estudiado en específico para *M. chilensis* y *A. atra*.

En sistemas estuarinos, como el fiordo Reloncaví, una fracción importante de la variabilidad ambiental se vincula a las descargas de agua dulce de los ríos y al aporte directo de aguas lluvia, ingresos que influyen la estructura superficial de la columna de agua (Lewis, 1997). Luego, cambios en la estratificación de la columna de agua pueden influir en el reclutamiento y sobrevivencia de los invertebrados bentónicos que allí habitan (Cameron y Schroter, 1980; Harrold, et al., 1991; Wing et al., 2003). En este sentido, se hace necesario mantener un monitoreo de la relación entre la variabilidad ambiental, los bancos naturales de mitílidos y la captación de semillas en estas zonas,

que permita: primero entender las relaciones que se producen y segundo, proponer medidas de manejo para proteger los bancos más importantes.

Por otro lado, particularmente en el fiordo Reloncaví existe alta presión de captura de semillas evidenciada por el incremento en la cantidad de long lines entre 2005 y 2020 (Molinet et al., 2021b) en el fiordo Reloncaví, desde donde se estima proviene el 50% de la captación para la mitilicultura chilena (Segura et al., 2022).

Las distribuciones de tamaños de los bancos estudiados muestran que en el nivel superior de fiordo Reloncaví y Hualaihué se habría registrado reclutamiento significativo (aproximadamente 20%) en los bancos, mientras que en Castro no se observaron individuos pequeños.

La información disponible sobre la distribución de las etapas juveniles de *M. chilensis* y *A. atra* (Molinet et al., 2017; Molinet et al., 2021b; Avendaño et al., 2011; Barría et al., 2012) y las variaciones en la salinidad de la columna de agua permiten explicar la distribución espacial de las distintas especies de mitílicos observadas en este estudio. A la vez, permiten explicar la mayor presencia de otras especies de mitílicos en colectores del Hualaihué y Castro, comparado con el fiordo Reloncaví (Segura et al., 2022). En este sentido, el fiordo Reloncaví parece representar la mejor área de captación en términos de la pureza (relativa a otras especies) de la semilla y es clave entender y conservar (hasta donde sea posible) esta propiedad para la mitilicultura chilena.

A nivel práctico, y acotado a la realidad de la mitilicultura chilena, este tipo de alteraciones debiese condicionar a los productores a instalar colectores de semillas cada vez más superficiales, como estrategia para acceder a una menor presencia de semillas de *A. atra*.

Los cambios en la salinidad descritos en el ambiente pueden amenazar la actual distribución de los bancos y restringirlos hacia el intermareal, disminuyendo los reproductores y por lo tanto las semillas disponibles (Molinet et al., no publicado). La pérdida de bancos semilleros debido al cambio climático pone en riesgo también la producción industrial y exportaciones de este molusco (Soto et al., 2020). Esto es aún más urgente si se consideran las proyecciones hidro-climáticas, las cuales para la Patagonia norte de Chile indican una transición hacia un clima más cálido y seco, donde los aportes fluviales debiesen tender a ser menores a los actuales (Aguayo et al., 2019).

Para afrontar este potencial riesgo, la primera necesidad es continuar monitoreando los cambios en la distribución espacial vertical de mejillones. Esto permitirá avanzar en la comprensión del rol de los cambios de salinidad de la columna de agua, poniendo en relevancia la necesidad de evaluar los efectos de sequías sobre los ecosistemas marinos (e.g. Blanchard et al., 2008) y por sobre todo la urgencia de proteger y conservar las cuencas de los ríos que alimentan y diluyen el SFC de Chile.

Tanto en el fiordo Reloncaví, como en Hualaihué, se registró abundante cobertura de *M. senile*, una anémona invasora que homogeneizó el sustrato en canal Chacao, desplazando al menos una población local de erizos (Molinet et al., 2023). Por lo anterior se sugiere considerar en los monitoreos de bancos naturales (incluidas las AMERB) a esta especie que es considerada una amenaza para la biodiversidad bentónica.

En base a los resultados genéticos para identificación de especies, fue posible corroborar la presencia de la única especie *Mytilus chilensis* en todos los bancos analizados, esto en base al uso del marcador

citocromo oxidasa I, el cual se ha estandarizado como marcador universal de especies a través del proyecto de códigos de barras de ADN (Hebert et al., 2003). Este proyecto promueve el uso de un enfoque estandarizado de códigos de barras de ADN, que implica identificar un espécimen como perteneciente a una especie animal específica, basándose en un único marcador universal: la secuencia del código de barras de ADN. Estos resultados coinciden con lo ya observado por Astorga et al. (2015) donde se detecta la presencia de solo *M. chilensis* desde Puerto Saavedra a Punta Arenas y se detecta la presencia de la especie introducida *M. galloprovincialis* solo en las costas de la Región del Bio-Bio. Sin embargo, esto es diferente a lo detectado por Oyarzun et al. (2016) y Larraín et al. (2018), quien indican la posible presencia de *Mytilus trossulus* en la zona de canales y mar interior de Chiloé, ambos autores utilizan otro tipo de marcadores de ADN, por lo cual nosotros consideramos que debido a la reciente especiación del complejo de especies del género *Mytilus*, no todos los marcadores resuelven la identificación de la especie de la forma más adecuada.

Las diferencias entre zonas mareales muestran diferencias significativas entre ellas, lo cual coincide con lo ya encontrado por Astorga et al. (2018), donde solo el marcador correspondiente a un gen mostraba diferencias (Gen COI), y el marcador neutral no las mostraba, lo cual puede entenderse que este marcador identificaba la presencia de selección natural diferencial entre zonas mareales, lo cual se vuelve a repetir en este trabajo, seis años después del primer trabajo. El marcador COI utilizado es un gen codificante de una enzima implicada en generar ATP, por lo que pueden marcar diferencias posiblemente atribuibles a un proceso de selección diferencial entre ambientes. Como ha sido reportado, el uso de marcadores basados en genes codificantes mitocondriales puede revelar procesos de respuesta selectiva por parte de la población (Consuegra, et al., 2015; Meiklejohn et al., 2007) y su polimorfismo puede mantenerse por acción natural selección, presentando una relación entre reproducción y aptitud características (Dowling et al., 2008). Molinet et al. (2015), establecieron que los individuos de *M. chilensis* ubicados en la zona intermareal del fiordo Reloncaví presentaron un mayor índice de condición reproductiva que aquellos de la zona submareal, esto coincide con la mayor diversidad genética observada en este estudio para los individuos de la zona intermareal.

Como especie de gran importancia en el sur de Chile debido a su amplio uso en acuicultura, *M. chilensis* es un modelo fundamental para investigar el papel de la translocación, una práctica industrial común, sobre la variación genética y la expresión génica asociada a la adaptación local. Este ingeniero de ecosistemas (Hargrave et al., 2008; Vinagre et al., 2015) que habita sustratos rocosos en zonas intermareales y submareales a lo largo de las costas del Océano Pacífico Sur desde Bío-Bío (38°S) hasta Magallanes (53°S) (Molinet et al., 2017), ha sido ampliamente estudiado para abordar cuestiones ecológicas, ecofisiológicas y genómicas adaptativas (Yévenes et al., 2024). Como especie gonocórica, experimenta un ciclo gametogénico anual y alcanza la madurez sexual durante la primavera-verano. Luego de la fertilización, sus larvas planctónicas se desplazan en la columna de agua durante 20 a 45 días antes de asentarse (Toro et al., 2004), pudiendo llegar a cubrir distancias de hasta 30 km desde su origen, dependiendo de las condiciones oceanográficas (Barría et al., 2012). Dicha capacidad de dispersión facilita el flujo genético entre localidades (Araneda et al., 2016; Astorga et al., 2018; Larraín et al., 2018). Debido a esto, se reporta baja divergencia genética y estructuración poblacional con marcadores genéticos neutrales entre individuos de varias localidades, evaluados a través de marcadores genéticos neutrales, exhiben un nivel significativo, pero relativamente bajo de

estructuración genética ($p\text{-value} < 0,05$), contingente al marcador específico bajo consideración. Por ejemplo, el análisis que utilizó aloenzimas estimó un valor F_{st} de 0,03 (Toro et al., 2006), mientras que los microsatélites arrojaron un F_{st} de 0,042 (Larraín et al., 2014), y las secuencias del gen mitocondrial citocromo oxidasa I mostraron un G_{st} de 0,02 (Astorga et al., 2018). Otro estudio basado en microsatélites propuso una unidad reproductiva singular en el sur de Chile, sin stocks regionales distintos a excepción de Punta Arenas en Magallanes (Díaz-Puente et al., 2020). A nivel genómico, la diferenciación entre ubicaciones fue baja cuando se evaluó con 891 SNP neutrales ($F_{st} = 0,005$), pero se observó una mayor diferenciación con un panel de 58 supuestos SNP atípicos ($F_{st} = 0,114$), lo que sugiere el potencial de adaptación local (Araneda et al., 2016). Recientemente, Haye & Segovia (2023) evaluaron la estructura genética temporal y espacial en seis bancos naturales de *M. chilensis* durante 4 años consecutivos. Los análisis incluyeron datos de >180 individuos por año, con un total de 751 (COI mitocondrial) y 747 (H1 nuclear) individuos, respectivamente. En general, ambos marcadores mostraron una alta diversidad de haplotipos y una baja diferenciación genética espacial y temporal. Probablemente, la alta capacidad de dispersión de *M. chilensis* mantiene la homogeneidad de la población y previene la erosión de la diversidad. Las ligeras diferencias en la varianza genética de COI se explicaron mejor por las diferencias entre sitios (espacio) y, a la inversa, la varianza genética de H1 se explicó mejor por las comparaciones interanuales (temporales), lo que podría explicar la variabilidad temporal en la disponibilidad de semillas. En síntesis, los estudios anteriores utilizando marcadores neutrales, son consistentes en evidenciar una baja estructuración genética poblacional tanto a nivel temporal como espacial. Dichos resultados son congruentes con la hipótesis de alto rendimiento reproductivo y capacidad de dispersión larval, como un forzante de las relaciones biogeográficas de la especie. No obstante, los análisis realizados en el presente estudio utilizando una aproximación basada en secuenciación de genoma completo, evidencia una señal genómica de ejemplares muestreados tanto en Reloncaví, Castro y Hualaihué. De manera específica, los análisis estadísticos implementados para estimar estructura poblacional en *M. chilensis* no permiten diferenciar claramente agrupaciones según la distribución geográfica de los sitios colectados e identificados como bancos naturales. Es probable que la alta homogeneidad genética a nivel poblacional derivado de la traslocación de semillas entre Reloncaví, Castro y Hualaihué genera una dificultad en los modelos implementados como Admixture. Esto especialmente, cuando los análisis son realizados sobre el genoma completo de *M. chilensis*, incluyendo regiones tanto intrónicas como exónicas. Por otra parte, la estrategia generada para identificar y analizar la estructura genética de *M. chilensis* utilizando solo las variantes polimórficas en regiones exónicas, permitió evidencia un patrón de agrupación poblacional entre Castro-Chañihué-Yutuy con Reloncaví-Llaguepe. Los datos sugieren que Hualaihué-Puntilla Quillón-Llancahué estaría más relacionado con el sector de Reloncaví-Rollizo. Asimismo, los datos sugieren que existiría un flujo genético entre Hualaihué y Castro. Un aspecto interesante del estudio fue determinar el rol funcional de los SNPs identificados diferencialmente entre las poblaciones, sugiriendo la existencia de SNPs fijados a nivel local, lo que permitiría hipotetizar asociaciones genómicas de adaptación local. Finalmente, utilizando esta aproximación es posible proponer la utilización de una herramienta de secuenciación masiva para diferenciar poblaciones de *M. chilensis* basada en secuenciación de exosomas.

8. CONCLUSIONES

- Los mitílidos predominantes en el fiordo Reloncaví y Hualaihué fueron *M. chilensis* y *A. atra*, con características de distribución espacial diferente. En el fiordo Reloncaví se observó *M. chilensis* hasta el submareal somero, en Hualaihué esta especie estuvo restringida al intermareal, y en Estero Castro, *M. chilensis* se restringió al intermareal, compartiendo el espacio con *P. purpuratus*, mientras que en el submareal fue abundante *C. chorus*.
- Las distribuciones de tamaños de los bancos muestran que en el nivel superior de fiordo Reloncaví y Hualaihué se habría registrado reclutamiento significativo en los bancos, mientras que en Castro no se observaron individuos pequeños.
- En el fiordo Reloncaví, como en Hualaihué, se registró abundante cobertura de *M. senile*, una anémona invasora, por lo que se sugiere considerar en los monitoreos de bancos naturales (incluidas las AMERB) esta especie que es considerada una amenaza para la biodiversidad bentónica.
- A partir del análisis HRM para el gene la proteína de adhesión (FP) y de secuenciación de ADN del gen mitocondrial Citocromo Oxidasa I (COI) fue posible identificar de forma adecuada la especie del género *Mytilus* presente en los bancos naturales de diferentes estaciones en tres zonas estudiadas, Fiordo Reloncaví, Hualaihué y Estero Castro. No se encontró la presencia de otras especies del género *Mytilus* y tampoco la presencia de híbridos entre especies.
- Se puede indicar que el uso del marcador universal, ya utilizado en el DNA barcoding de las especies marinas, el gen mitocondrial Citocromo oxidasa I es el marcador adecuado para corroborar la identificación de la especie de *Mytilus chilensis*.
- Por otro lado, al comparar los individuos de las diferentes zonas mareales estudiadas en el Fiordo de Reloncaví, se observó diferencias entre ellas, la que es explicada por la diferenciación de la zona intermareal, con relación a las otras dos zonas analizadas. Este patrón se mantiene igual cuando además se agrega los datos de las muestras (sólo intermareales) de Estero Castro y Hualaihué. Esta mayor diferenciación debe ser explicada principalmente por la mayor diversidad genética observada en las muestras submareales. Estudios preliminares que comparan zonas mareales (Astorga et al., 2018) han establecido diferenciación genética entre zonas mareales, lo cual era explicado por un posible proceso de selección diferencial entre intermareal y submareal, ya que la zona intermareal está más expuesta a agentes selectivos que generan presión en los individuos, generando mortalidad diferencial y procesos de selección diferencial.
- El presente estudio es el primero en evaluar la variabilidad genómica de poblaciones de *M. chilensis* utilizando una aproximación de resecuenciación de genoma completo.
- Los análisis estadísticos implementados para estimar estructura poblacional en *M. chilensis* no permiten diferenciar claramente agrupaciones según la distribución geográfica de los sitios colectados e identificados como bancos naturales. Es probable que la alta homogeneidad genética a nivel poblacional derivado de la traslocación de semillas entre Reloncaví, Castro y Hualaihué

genera una dificultad en los modelos implementados como Admixture. Esto especialmente, cuando los análisis son realizados sobre el genoma completo de *M. chilensis*, incluyendo regiones tanto intrónicas como exónicas.

- La estrategia generada para identificar y analizar la estructura genética de *M. chilensis* utilizando solo las variantes polimórficas en regiones exónicas, permitió evidenciar un patrón de agrupación poblacional entre Castro-Chañihué-Yutuy con Reloncaví-Llaguepe. Por otra parte, los datos sugieren que Hualaihué-Puntilla Quillón-Llancahué estaría más relacionado con el sector de Reloncaví- Rollizo. Asimismo, los datos sugieren que existiría un flujo genético entre Hualaihué y Castro.
- Los datos de estimación funcional utilizando el genoma de *M. chilensis* evidencian que los SNPs identificados diferencialmente entre las poblaciones, anotan para procesos biológicos y funciones moleculares distintas. Este hecho permite sugerir la existencia de SNPs fijados a nivel local, lo que permitiría hipotetizar asociaciones genómicas de adaptación local.
- La presente propuesta entrega un nuevo panel de SNPs mediante HRM para su evaluación en la identificación de semillas de *M. chilensis* con fines de trazabilidad genética.

9. BIBLIOGRAFÍA

- Aguayo, R., León-Muñoz, J., Vargas-Baecheler, J., Montecinos, A., Garreaud, R., Urbina, M., Soto, D., Iriarte, J.L. 2019. The glass half-empty: climate change drives lower freshwater input in the coastal system of the Chilean northern Patagonia. *Clim. Chang.* 155, 417–435. <https://doi.org/10.1007/s10584-019-02495-6>.
- Akaike, H. 1974. A new look at the statistical model identification. *IEEE T. Automat. Contr.* 19, 716–723. <https://doi.org/10.1109/TAC.1974.1100705>
- Anderson, R.O., Neumann, R.M. 1996. Length, weight, and associated structural indices. in: Murphy, B.R., Willis, D.J. (Eds.), *Fisheries Techniques*. American Fisheries Society, Bethesda, Maryland, pp. 447–481.
- Androuin, T., Barbier, P., Forêt, M., Meziane, T., Thomas, M., Archambault, P. & Olivier, F. 2022. Pull the trigger: interplay between benthic and pelagic cues driving the early recruitment of a natural bivalve assemblage. *Ecosphere*, 13(1), e03672.
- Aracena O. 1983. El cultivo de *Choromytilus chorus* (Choro zapato) en Chile central y sur. *Memorias Asociación Latinoamericana de Acuicultura* 5:231–240 .
- Araneda, C., Larraín, M.A., Hecht, B. and Narum, S. 2016, Adaptive genetic variation distinguishes Chilean blue mussels (*Mytilus chilensis*) from different marine environments. *Ecol Evol*, 6: 3632–3644. <https://doi.org/10.1002/ece3.2110>.
- Astorga, M. P., Cardenas, L., & Vargas, J. 2015. Phylogenetic approaches to delimit genetic lineages of the *Mytilus* complex of South America: How many species are there? *Journal of Shellfish Research*, 34, 1–12.
- Astorga MP, Vargas J, Valenzuela A, Molinet C, Marín SL. 2018. Population genetic structure and differential selection in mussel *Mytilus chilensis*. *Aquac Res.*; 49: 919–927. <https://doi.org/10.1111/are.13538>
- Astorga, M., L. Cárdenas, M. Pérez, J. Toro, V. Martínez, A. Farías, and I. Uriarte. 2020 Complex Spatial Genetic Connectivity of Mussels *Mytilus chilensis* Along the Southeastern Pacific Coast and Its Importance for Resource Management. *Journal of Shellfish Research* 39(1), 77–86. <https://doi.org/10.2983/035.039.0108>
- Avendaño, M., Cantillánez, M., Le Pennec, M., Varela, C., Garcías, C. 2011. Distribución temporal de larvas de *Mytilus chilensis* (Hupé, 1954) (Mollusca: Mytilidae), en el mar interior de Chiloé, sur de Chile. *Lat. Am. J. Aquat. Res.* 39, 416–426. <https://doi.org/10.3856/vol39-issue3-fulltext-3>
- Babarro JMF, Fernández Reiriz MJ, Labarta U. 2008. Secretion of byssal threads and attachment strength of *Mytilus galloprovincialis*: the influence of size and food availability. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*;88(4):783–791. doi:10.1017/S0025315408001367
- Barría, Aura, Gebauer, Paulina, & Molinet, Carlos. (2012). Variabilidad espacial y temporal del suministro larval de mitílicos en el Seno de Reloncaví, sur de Chile. *Revista de biología marina y oceanografía*, 47(3), 461–473. <https://dx.doi.org/10.4067/S0718-19572012000300009>

- Bayne, B. L. 1964. Primary and secondary settlement in *Mytilus edulis* L. (Mollusca). The Journal of Animal Ecology, 513-523.
- Bayne, B. L. 1975. Reproduction in bivalve molluscs under environmental stress. Physiological ecology of estuarine organisms. University of South Carolina Press, Columbia, 259-277.
- Bellolio, G., Toledo, P., & Campos, B. 1994. Morfología de la concha larval y postlarval del ostión *Argopecten purpuratus* (Lamarck, 1819) (Bivalvia, Pectinidae) en Chile. Rev. Chil. Hist. Nat, 67, 229-237.
- Beninger, P. G. 2017. Caveat observator: the many faces of pre-spawning atresia in marine bivalve reproductive cycles. Marine Biology, 164(8), 1-12.
- Bibby, R., Widdicombe, S., Parry, H., Spicer, J., & Pipe, R. 2008. Effects of ocean acidification on the immune response of the blue mussel *Mytilus edulis*. Aquatic Biology, 2(1), 67-74. doi:10.3354/ab00037
- Blanc, J., Molinet, C., Díaz, P.A. et al. 2019. Drastic difference in cadmium concentration in mussels (*Mytilus chilensis*) observed between seasons in natural bed and aquaculture systems in Chile. Environ Monit Assess 191, 53. <https://doi.org/10.1007/s10661-018-7169-2>
- Blanchard JL, Maxwell DL, Jennings S. 2008. Power of monitoring surveys to detect abundance trends in depleted populations: the effects of density-dependent habitat use, patchiness, and climate change. ICES J. Mar. Sci 65:111-120
- Bos, O. G., Hendriks, I. E., Strasser, M., Dolmer, P., & Kamermans, P. 2006. Estimation of food limitation of bivalve larvae in coastal waters of north-western Europe. Journal of Sea Research, 55(3), 191-206.
- Burnham, K.P., Anderson, D.R. 2004. Multimodel inference: Understanding AIC and BIC in model selection. Sociol. Method. Res. 33, 261-304. <https://doi.org/10.1177/0049124104268644>
- Burzio, L.O., Burzio, V.A., Silva, T., Burzio, L.A., Pardo, J. 1997. Environmental bioadhesion: themes and applications. Curr. Opin. Biotechnol. 8, 309-312. [https://doi.org/10.1016/S0958-1669\(97\)80008-0](https://doi.org/10.1016/S0958-1669(97)80008-0).
- Buzeta R, Winter J, Chaparro O, Toro J and others. 1988. Desarrollo de la Maricultura en Chiloé, Chile. Universidad Austral de Chile, Centro Internacional de Investigaciones para el Desarrollo (CIID-Canadá). Valdivia.
- Caley, M. J., Carr, M. H., Hixon, M. A., Hughes, T. P., Jones, G. P., & Menge, B. A. 1996. Recruitment and the local dynamics of open marine populations. Annual Review of Ecology and Systematics, 477-500.
- Cameron, R.A., Schroter, S.C. 1980. Sea urchin recruitment: effect of substrate selection on juvenile distribution. Mar. Ecol. Prog. Ser. 2, 243-247.
- Campos, B., & Ramorino, L. 1990. Larvas y postlarvas de Pholadacea de Chile (Mollusca: Bivalvia). Revista de Biología Marina, 25(1), 15-63

- Camus, C., Leal, P.P., Faugeton, S., Henríquez-Antipa, L.A., Fernández, P.A., Cook, S., Cárcamo, P.F., Vargas, J., Uribe, D., Buschmann, A.H. 2022. First report of the intentionally introduced kelp, *Saccharina japonica*, in the Pacific coast of southern Chile. *Algal Research*. 65, 102750. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.algal.2022.102750>
- Chaparro, O.R., Winter, J.E. 1983. Efectos de una pobre oferta alimentaria en *Mytilus chilensis* sobre el crecimiento, reproducción y standing stock en la mitilicultura de Yaldad (Chiloé, Sur de Chile). in: *Acuicultura, A.L.d. (Ed.), V Simposio de la Asociación Latinoamericana de Acuicultura. Asociación Latinoamericana de Acuicultura, Valdivia, Chile, pp. 190-203.*
- Clasing E, Oñate A, Arriagada H. 1998. Cultivo de choritos en Chile, Vol, Valdivia.
- Coelho-Caro, P.A., Saavedra-Rubilar, C.E., Staforelli, J.P., Gallardo-Nelson, M.J., Guaquin, V., Tarifeño, E. 2018. Mussel classifier system based on morphological characteristics. *IEEE Access*. 6, 76935-76941.
- Connell, J.H. 1961. The influence of interspecific competition and other factors on the distribution of the barnacle *Chthamalus stellatus*. *Ecology* 42:710–723, doi:10.2307/1933500
- Consuegra, S., John, E., Verspoor, E., & de Leaniz, C. G. (2015). Patterns of natural selection acting on the mitochondrial genome of a locally adapted fish species. *Genetics, selection, evolution : GSE*, 47(1), 58. <https://doi.org/10.1186/s12711-015-0138-0>
- Cooper, E.L., ed. (1996). Invertebrate immune responses: cells and molecular products. *Advances in Comparative Physiology and Biochemistry* 23, 1–216.
- Crain, C.M.; Kroeker, K.; Halpern, B.S. 2008. Interactive and Cumulative Effects of Multiple Human Stressors in Marine Systems. *Ecol. Lett.*, 11, 1304–1315.
- Curelovich J., Lovrich G. A., Calcagno J. A. 2016. The role of the predator *Trophon geversianus* in an intertidal population of *Mytilus chilensis* in a rocky shore of the Beagle Channel, Tierra del Fuego, Argentina. *Mar. Biol. Res.* 121053–1063. 10.1080/17451000.2016.1228976
- Detree C, Núñez-Acuña G, Roberts S, Gallardo-Escárate C. 2016. Uncovering the Complex Transcriptome Response of *Mytilus chilensis* against Saxitoxin: Implications of Harmful Algal Blooms on Mussel Populations. *PLOS ONE* 11(10): e0165231. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0165231>
- Díaz, P., & Campos, B. 2014. Ontogenia de la concha larval y postlarval de cuatro especies de bivalvos de la costa del Pacífico sureste. *Revista de biología marina y oceanografía*, 49(2), 175-191.
- Díaz-Puente B, Pita A, Uribe J, et al (2020) A biogeography-based management for *Mytilus chilensis*: The genetic hodgepodge of Los Lagos versus the pristine hybrid zone of the Magellanic ecotone. *Aquatic Conserv: Mar Freshw Ecosyst* 30:412–425. <https://doi.org/10.1002/aqc.3271>.
- Dolmer, P., & Stenalt, E. 2010. The impact of the adult blue mussel (*Mytilus edulis*) population on settling of conspecific larvae. *Aquaculture International*, 18(1), 3-17.

- Dowling, D. K., Friberg, U., & Lindell, J. (2008). Evolutionary implications of non-neutral mitochondrial genetic variation. *Trends in ecology & evolution*, 23(10), 546–554. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2008.05.011>
- Du, X.D.; Fan, G.Y.; Jiao, Y.; Zhang, H.; Guo, X.M.; Huang, R.L.; Zheng, Z.; Bian, C.; Deng, Y.W.; Wang, Q.H.; et al. 2017. The Pearl Oyster *Pinctada fucata martensii* Genome and Multi-Omic Analyses Provide Insights into Biomineralization. *Gigascience* 2017, 6, gix059.
- Ebert, T.A., Dixon, J.D., Schroeter, S.C., Kalvass, P.E., Richmond, N.T., Bradbury, W.A., Woodby, D.A. 1999. Growth and mortality of red sea urchins *Strongylocentrotus franciscanus* across a latitudinal gradient. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 190, 189-209. <https://doi.org/10.3354/meps190189>
- Enriquez, R., Frösner, G.G., Hochstein-Mintzel, V., Riedemann, S. and Reinhardt, G. 1992, Accumulation and persistence of hepatitis A virus in mussels. *J. Med. Virol.*, 37: 174-179. <https://doi.org/10.1002/jmv.1890370305>
- Excoffier, L. and Lischer, H.E.L. 2010, Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources*, 10: 564-567. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2010.02847.x>
- Fernández, F.J., Ponce, R.D., Vásquez-Lavin, F., Figueroa, Y., Gelcich, S., Dresdner, J. 2018. Exploring typologies of artisanal mussel seed producers in southern Chile. *Ocean & Coastal Management*. 158, 24-31. <https://doi.org/10.1016/j.ocecoaman.2018.03.013>
- Feuk L, Carson AR, Scherer SW. Structural variation in the human genome. *Nat Rev Genet.* 2006 Feb;7(2):85-97. doi: 10.1038/nrg1767. PMID: 16418744.
- Figueroa, Y., Dresdner, J. 2016. Are mussel seed producers responsive to economic incentives? Empirical evidence from the Benthic Resource Management Areas in Chile. *Aquaculture Economics & Management*. 20, 283-311. <https://doi.org/10.1080/13657305.2016.1180647>
- Folmer O, Black M, Hoeh W, Lutz R, Vrijenhoek R. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Mol Mar Biol Biotechnol.* 1994 Oct;3(5):294-9. PMID: 7881515.
- Fotel, F. L., Jensen, N. J., Wittrup, L., & Hansen, B. W. 1999. In situ and laboratory growth by a population of blue mussel larvae (*Mytilus edulis* L.) from a Danish embayment, Knebel Vig. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 233(2), 213-230.
- Fournier, D.A., Skaug, H.J., Ancheta, J., Ianelli, J., Magnusson, A., Maunder, M.N., Nielsen, A., Sibert, J., 2012. AD Model Builder: using automatic differentiation for statistical inference of highly parameterized complex nonlinear models. *Optimization Methods and Software*. 27, 233-249. <https://doi.org/10.1080/10556788.2011.597854>.
- Gaitán-Espitia, J. D., Quintero-Galvis, J. F., Mesas, A., & D'Elia, G. 2016. Mitogenomics of southern hemisphere blue mussels (*Bivalvia: Pteriomorpha*): Insights into the evolutionary characteristics of the *Mytilus edulis* complex. *Scientific reports*, 6(1), 1-10.
- Gallager, S.M., Yamazaki, H., Davis, C.S. 2004. Contribution of fine-scale vertical structure and

- swimming behavior to formation of plankton layers on Georges Bank. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 267, 27-43.
- Gallant, A.R. 1975. Nonlinear regression. *Am. Stat.* 29, 73-81.
- Gallardo-Escárate, C. Valenzuela-Muñoz, Valentina & Núñez-Acuña, Gustavo & Valenzuela-Miranda, Diego & Tapia, Fabian & Yévenes, Marco & Gajardo, Gonzalo & Toro, Jorge & Oyarzun, Pablo & Arriagada, Gloria & Novoa, Beatriz & Figueras, Antonio & Roberts, Steven & Gerdol, Marco. 2022. The native mussel *Mytilus chilensis* genome reveals adaptative molecular signatures facing the marine environment. 10.1101/2022.09.06.506863.
- Gazeau, F., Gattuso, J. P., Dawber, C., Pronker, A. E., Peene, F., Peene, J., ... & Middelburg, J. J. 2010. Effect of ocean acidification on the early life stages of the blue mussel *Mytilus edulis*. *Biogeosciences*, 7(7), 2051-2060.
- Ge SX, Jung D, Yao R. ShinyGO: a graphical gene-set enrichment tool for animals and plants. *Bioinformatics*. 2020 Apr 15;36(8):2628-2629. doi: 10.1093/bioinformatics/btz931. PMID: 31882993; PMCID: PMC7178415.
- Gerdol, M.; Moreira, R.; Cruz, F.; Gomez-Garrido, J.; Vlasova, A.; Rosani, U.; Venier, P.; Naranjo-Ortiz, M.A.; Murgarella, M.; Greco, S.; et al. 2020. Massive Gene Presence-Absence Variation Shapes An Open Pan-Genome in the Mediterranean Mussel. *Genome Biol.*, 21, 275.
- Glon, H.E., Costa, M., de Lecea, A.M., Goodwin, C., Cartwright, S., Díaz, A., Brickle, P., Brewin, P.E. 2020. First record of the plumose sea anemone, *Metridium senile* (Linnaeus, 1761), from the Falkland Islands. *BiolInvasions Records*. 9, 461-470. <https://doi.org/https://doi.org/10.3391/bir.2020.9.3.02>
- Gompertz, B. 1825. On the nature of the function expressive of the law of human mortality, and on a new mode of determining the value of life contingencies. *Phil. Trans. R. Soc. Lond.* 115, 513-583.
- González-Poblete, E., Hurtado, F.C., Rojo, C., & Norambuena, R. 2018. Blue mussel aquaculture in Chile: Small or large scale industry?. *Aquaculture*, 493, 113-122.
- Gosselin, L. A., & Qian, P. Y. 1997. Juvenile mortality in benthic marine invertebrates. *Marine Ecology Progress Series*, 146, 265-282.
- Gosling, E. 2021. *Marine Mussels: Ecology, Physiology, Genetics and Culture*. John Wiley & Sons.
- Grant, W.S., Cherry, M.I. 1985. *Mytilus galloprovincialis* Lmk. in southern Africa. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 90, 179-191.
- Gray MW, Burger G, Lang BF. Mitochondrial evolution. *Science*. 1999 Mar 5;283(5407):1476-81. doi: 10.1126/science.283.5407.1476. PMID: 10066161.
- Gunderson, A. R., Armstrong, E. J., & Stillman, J. H. 2016. Multiple Stressors in a Changing World: The Need for an Improved Perspective on Physiological Responses to the Dynamic Marine Environment. *Annual Review of Marine Science*, Vol 8, 8, 357-+. doi:10.1146/annurev-marine-122414-033953

- Hargrave B, Doucette L, Cranford P, et al (2008) Influence of mussel aquaculture on sediment organic enrichment in a nutrient-rich coastal embayment. *Mar Ecol Prog Ser* 365:137–149. <https://doi.org/10.3354/meps07636>.
- Harrison, P. J., Zingone, A., Mickelson, M. J., Lehtinen, S., Ramaiah, N., Kraberg, A. C., ... & Jakobsen, H. H. 2015. Cell volumes of marine phytoplankton from globally distributed coastal data sets. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 162, 130-142.
- Harrold, C., Lisin, S., Light, K.H., Tudor, S. 1991. Isolating settlement from recruitment of sea urchins. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 147, 81–94.
- Harvell, C.D.; Mitchell, C.E.; Ward, J.R.; Altizer, S.; Dobson, A.P.; Ostfeld, R.S.; Samuel, M.D. 2002. Climate Warming and Disease Risks for Terrestrial and Marine Biota. *Science*, 296, 2158–2162.
- Häussermann, V., Försterra, G. 2005. Distribution patterns of Chilean shallow-water sea anemones (Cnidaria: Anthozoa: Actiniaria, Corallimorpharia); with a discussion of the taxonomic and zoogeographic relationships between the actinofauna of the South East Pacific, the South West Atlantic and the Antarctic. *Sci. Mar.* 69, 91-102. <https://doi.org/10.3989/scimar.2005.69s291>
- Häussermann, V., G. Forsterra. 2009. Marine Benthic Fauna of Chilean Patagonia. Illustrated identification guide. 993 pp.
- Häussermann, V., Molinet, C., Díaz Gómez, M., Försterra, G., Henríquez, J., Espinoza Cea, K., Matamala Ascencio, T., Hüne, M., Cárdenas, C.A., Glon, H., Barahona Toledo, N., Subiabre Mena, D. 2022. Recent massive invasions of the circumboreal sea anemone *Metridium senile* in North and South Patagonia. *Biological Invasions*. <https://doi.org/10.1007/s10530-022-02878-4>
- Haye PA, Segovia NI (2023) Shedding light on variation in reproductive success through studies of population genetic structure in a Southeast Pacific Coast mussel. *Heredity* 130:402–413. <https://doi.org/10.1038/s41437-023-00615-8>.
- Hebert PD, Cywinska A, Ball SL, deWaard JR. Biological identifications through DNA barcodes. *Proc Biol Sci.* 2003 Feb 7;270(1512):313-21. doi: 10.1098/rspb.2002.2218. PMID: 12614582; PMCID: PMC1691236.
- Hixon, M. A., Pacala, S. W., & Sandin, S. A. 2002. Population regulation: historical context and contemporary challenges of open vs. closed systems. *Ecology*, 83(6), 1490-1508.
- Hüning, A.K., Melzner, F., Thomsen, J. et al. Impacts of seawater acidification on mantle gene expression patterns of the Baltic Sea blue mussel: implications for shell formation and energy metabolism. *Mar Biol* 160, 1845–1861 (2013). <https://doi.org/10.1007/s00227-012-1930-9>
- Hunt, H. L., & Scheibling, R. E. 1997. Role of early post-settlement mortality in recruitment of benthic marine invertebrates. *Marine Ecology Progress Series*, 155, 269-301.
- Hunt, H.L., Scheibling, R.E. 2001. Patch dynamics of mussels on rockyshores: Integrating process to understand pattern. *Ecology*. 82, 3213-3231.
- Jenkins, S. R., Marshall, D., & Fraschetti, S. 2009. Settlement and recruitment. In *Marine hard bottom communities* (pp. 177-190). Springer, Berlin, Heidelberg.

- Jilberto, F., Araneda, C., & Larraín, M. A. 2017. High resolution melting analysis for identification of commercially-important *Mytilus* species. *Food Chemistry*, 229, 716–720. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.02.109>
- Jørgensen, C. B. 1981. Mortality, growth, and grazing impact of a cohort of bivalve larvae, *Mytilus edulis* L. *Ophelia*, 20(2), 185-192.
- Kapsenberg, L., Miglioli, A., Bitter, M. C., Tambutté, E., Dumollard, R., & Gattuso, J. P. 2018. Ocean pH fluctuations affect mussel larvae at key developmental transitions. *Proceedings of the Royal Society B*, 285(1893), 20182381.
- Khaitov, V. M., & Lentsman, N. V. 2016. The cycle of mussels: long-term dynamics of mussel beds on intertidal soft bottoms at the White Sea. *Hydrobiologia*, 781(1), 161-180.
- Krapivka, S., Toro, J.E., Alcapán, A.C., Astorga, M., Presa, P., Pérez, M., Guíñez, R. 2007. Shell-shape variation along the latitudinal range of the Chilean blue mussel *Mytilus chilensis* (Hupe 1854). *Aquac. Res.* 38, 1770-1777.
- Langley, S., L.M. Guzmán and C. Ríos. 1980. Aspectos dinámicos de *Mytilus chilensis* (Hupe, 1840) en el Estrecho de Magallanes. I. Distribución, densidad y disposición espacial en el intermareal. *Ans. Inst. Patagonia*, 11: 319-332
- Largier, J. L. 2003. Considerations in estimating larval dispersal distances from oceanographic data. *Ecological Applications*, 13(sp1), 71-89.
- Larraín, M.A., N.F. Díaz, C. Lamas, C. Uribe & C. Araneda. 2014. Traceability of mussel (*Mytilus chilensis*) in Southern Chile using microsatellite molecular markers and assignment algorithms. *Exploratory survey. Food Res. Int.*, 62(0): 104-110.
- Larraín, M. A., Zbawicka, M., Araneda, C., Gardner, J. P. A. & Wenne, R. 2018. Native and invasive taxa on the Pacific coast of South America: Impacts on aquaculture, traceability and biodiversity of blue mussels (*Mytilus* spp.). *Evol. Appl.* 11, 298-311.
- Larraín, M.A.; González, P.; Pérez, C.; Araneda, C. 2019. Comparison between single and multi-locus approaches for specimen identification in *Mytilus* mussels. *Sci. Rep.* 9, 1-13.
- Lasiak, T. A., & Barnard, T. C. E. 1995. Recruitment of the brown mussel *Perna perna* onto natural substrata: a refutation of the primary/secondary settlement hypothesis. *Marine Ecology Progress Series*, 147-153.
- Lehane, C., & Davenport, J. 2004. Ingestion of bivalve larvae by *Mytilus edulis*: experimental and field demonstrations of larviphagy in farmed blue mussels. *Marine Biology*, 145(1), 101-107.
- Leiva, G., Santibañez, C., Bartheld, J.L. 2007. Definición de criterios biológicos, ambientales, sanitarios y operativos para la instalación de colectores de moluscos bivalvos en la X región, FIP 2005-18. Litoral Austral, <http://www.fip.cl/resultadosProyectos.aspx?sub=Nw&an=MjAwNQ&rec=&tit=>, pp. 161.
- Lewis, R. 1997. *Dispersion in Estuaries and Coastal Waters*. J. Wiley & Sons, New York.

- Lizama, O., 2003. Catastro de bancos naturales de mitílidos en el estuario Reloncaví, Cochamó, pp. 43.
- Lockwood, B.L.; Sanders, J.G.; Somero, G.N. 2010. Transcriptomic Responses to Heat Stress in Invasive and Native Blue Mussels (genus *Mytilus*): Molecular Correlates of Invasive Success. *J. Exp. Biol.* 2010, 213, 3548–3558.
- López, M.T., Rolleri, J., Aracena, O., Lozada, E. 1975. Captación y crecimiento de *Mytilus chilensis* en Putemun, Estero de Castro (Mollusca, Bivalvia, Mytilidae). *Boletín de la Sociedad de Biología de Concepción*. XLIX, 87-101.
- Lorenzen, S., Gallardo, C., Jara, C., Clasing, E. 1979. Pequeño, G., Moreno, C.A. Mariscos y peces de importancia comercial en el sur de Chile Universidad Austral de Chile, Valdivia.
- Lougee, L.A., Bollens, S.M., Avent, S.R. 2002. The effects of haloclines on the vertical distribution and migration of zooplankton. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 278, 111-134.
- Lovatelli, A. & Holthus, P. (2008). Capture-based aquaculture. Global overview. Rome (Italy) FAO.
- Malagoli, D.; Casarini, L.; Sacchi, S.; Ottaviani, E. 2007. Stress and Immune Response in The Mussel *Mytilus galloprovincialis*. *Fish Shellfish. Immunol*, 23, 171–177.
- Marambio J, Maturana S, Campos B. 2012. Modelo dinámico de crecimiento de la biomasa para *Mytilus chilensis* en sistemas de cultivo en líneas. *Rev Biol Mar Ocenog* 47:51-64
- Marshall, D. J., Krug, P. J., Kupriyanova, E. K., Byrne, M., & Emler, R. B. 2012. The biogeography of marine invertebrate life histories. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics*, 43(97).
- McCartney, M.A.; Auch, B., Kono, T., Mallez, S., Zhang, Y., Obille, A., Becker, A., Abrahante, J.E.; Garbe, J., Badalamenti, J.P., et al. 2022. The Genome of the Zebra Mussel, *Dreissena polymorpha*: A Resource for Comparative Genomics, Invasion Genetics, and Biocontrol. *G3 Genes Genom. Genet.* 12, jkab423.
- McGrath, D., King, P. A., & Gosling, E. M. 1988. Evidence for the direct settlement of *Mytilus edulis* larvae on adult mussel beds. *Marine ecology progress series*. Oldendorf, 47(1), 103-106.
- McInerney, J., McNally, A. & O'Connell, M. 2017. Why prokaryotes have pangenomes. *Nat Microbiol* 2, 17040. <https://doi.org/10.1038/nmicrobiol.2017.40>
- Medini D, Donati C, Tettelin H, Masignani V, Rappuoli R. 2005. The microbial pan-genome. *Curr Opin Genet Dev.* 2005 Dec;15(6):589-94. doi: 10.1016/j.gde.2005.09.006. Epub 2005 Sep 26. PMID: 16185861.
- Meiklejohn, C. D., Montooth, K. L., & Rand, D. M. (2007). Positive and negative selection on the mitochondrial genome. *Trends in genetics* : TIG, 23(6), 259–263. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2007.03.008>
- Menden-Deuer, S., & Lessard, E. J. 2000. Carbon to volume relationships for dinoflagellates, diatoms, and other protist plankton. *Limnology and oceanography*, 45(3), 569-579.

- Mitta, G.; Vandenbulcke, F.; Noel, T.; Romestand, B.; Beauvillain, J.C.; Salzet, M.; Roch, P. 2000. Differential Distribution and Defence Involvement of Antimicrobial Peptides in Mussel. *J. Cell Sci.*, 113, 2759–2769.
- Molinet, C., Diaz, M., Arriagada, C., Cares, L., Marin, S., Astorga, M., Niklitschek, E., 2015. Spatial distribution pattern of *Mytilus chilensis* beds in the Reloncaví fjord: hypothesis on associated processes. *Rev. Chil. Hist. Nat.* 88. <https://doi.org/10.1186/s40693-015-0041-7>
- Molinet, C., Díaz, M., Díaz, P., Matamala, T., Pino, L., Espinoza, K., Millanao, M.O., Astorga, M., Ruiz, P., Cares, L., Valencia, J., Almonacid, C., Muñoz, N., 2016. Prospección y evaluación de la condición de bancos naturales de mitílicos en la zona sur-austral de Chile, FIP 2014-57. Universidad Austral de Chile, Puerto Montt, pp. 1-196.
- Molinet, C., Díaz, M., Marín, S.L., Astorga, M.P., Ojeda, M., a, C.L., Asencio, E., 2017. Relation of mussel spatfall on natural and artificial substrates: Analysis of ecological implications ensuring long-term success and sustainability for mussel farming. *Aquaculture*. 467, 211-218. <https://doi.org/dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.09.019>
- Molinet, C., Soto, D., Espinoza, K., Henríquez, J., Díaz, M.A. 2021a. Propuesta metodológica para el monitoreo de bancos naturales de mejillones en áreas de captación de semillas para la mitilicultura. in: INCAR (Ed.), Contribución a las Políticas Públicas. Centro Interdisciplinario para la Investigación Acuícola (INCAR), Concepción, pp. 10.
- Molinet, C., Astorga, M., Cares, L., Diaz, M., Hueicha, K., Marín, S., ... & Soto, D. 2021b. Vertical distribution patterns of larval supply and spatfall of three species of Mytilidae in a Chilean fjord used for mussel farming: Insights for mussel spatfall efficiency. *Aquaculture*, 535, 736341.
- Molinet, C., Häussermann, V., Astorga, M., Barahona, N., Espinoza, K., Diaz, M., Díaz, P., Henríquez, J., Matamala, T., Soto, D., 2023. Population expansion of the invasive sea anemone *Metridium senile* in the spatial mesoscale of a sea urchin bed in north-western Patagonia. *Biological Invasions*. <https://doi.org/10.1007/s10530-022-02965-6>
- Morello, S. L., & Yund, P. O. 2016. Response of competent blue mussel (*Mytilus edulis*) larvae to positive and negative settlement cues. *Journal of experimental marine biology and ecology*, 480, 8-16.
- Murgarella, M.; Puiu, D.; Novoa, B.; Figueras, A.; Posada, D.; Canchaya, C. 2016. A First Insight into the Genome of the Filter-Feeder Mussel *Mytilus galloprovincialis*. *PLoS ONE* 2016, 11, e0151561.
- Navarro, J. y Winter, J. 1982. Ingestion rate, assimilation efficiency and energy balance in *Mytilus chilensis* in relation to body size and different algal concentrations. *Mar Biol* 67:255-266.
- Oyarzún, P.A., Toro, J.E., Jaramillo, R., Guíñez, R., Briones, C., Astorga, M. 2011. Ciclo gonadal del chorito *Mytilus chilensis* (Bivalvia: Mytilidae) en dos localidades del sur de Chile. *Lat. Am. J. Aquat. Res.* 39, 512-525.
- Oyarzún, P., J. Toro, J. Cañete, J. Gardner. 2016. Bioinvasion threatens the genetic integrity of native diversity and a natural hybrid zone: smooth-shelled blue mussels (*Mytilus* spp.) in the Strait of Magellan, *Biological Journal of the Linnean Society*, Volume 117, Issue 3, March 2016, Pages 574–

585, <https://doi.org/10.1111/bij.12687>

- Oyarzún, P. A., Toro, J. E., Nuñez, J. J., Ruiz-Tagle, G., & Gardner, J. P. A. 2024. The Mediterranean Mussel *Mytilus galloprovincialis* (Mollusca: Bivalvia) in Chile: Distribution and Genetic Structure of a Recently Introduced Invasive Marine Species. *Animals*, 14(6). <https://doi.org/10.3390/ani14060823>
- Opazo, D., Mejías, P., Herrera, M., Oyarzún, M., & Guzmán, L. 2015. Programa de monitoreo y vigilancia sobre la disponibilidad larval de mitílicos para la sustentabilidad de la actividad de acuicultura en el mar interior de Chiloé (X Región) y otras áreas de interés para la actividad mitilicultora en la XI Región. (Informe Final Convenio Desempeño 2014). Puerto Montt: IFOP.
- Opazo, D., Herrera, M., Stuardo, C., Oyarzún, M., Mejías, P. 2020. Programa de monitoreo y vigilancia sobre la disponibilidad larval de mitílicos para la sustentabilidad de la actividad de acuicultura en la zona sur austral de Chile, VII etapa, 2019-20. Instituto de Fomento Pesquero.
- Orensanz, J.M., Jamieson, G.S. 1998. The assessment and management of spatially structured stocks: an overview of the North Pacific Symposium on Invertebrate Stocks Assessment and Management. in: Jamieson, G.S., Campbell, A. (Eds.), Canadian Special Publication Fisheries and Aquatic Sciences Canadian Special Publication Fisheries and Aquatic Sciences, Proceedings of the North Pacific Symposium on Invertebrate Stocks Assessment and Management, Nanaimo, British Columbia, Canada., pp. 441-459.
- Orensanz, J.M., Parma, A., Turk, T., Valero, J. 2006. Dynamics, assessment and management of exploited natural populations in: Shumway, S., Parsons, G.J. (Eds.), *Scallops: Biology, Ecology and Aquaculture*. Elsevier pp. 765-868.
- Ouagajjou, Yassine & Presa, Pablo & Astorga, M. & Pérez, Montse. 2011. Microsatellites of *Mytilus chilensis*: A Genomic Print of Its Taxonomic Status within *Mytilus* sp. *Journal of Shellfish Research*. 30. 325-330. 10.2983/035.030.0218.
- Paine, R.T. 1974. Intertidal community structure: Experimental studies on the relationship between a dominant competitor and its principal predator. *Oecología* 15:93-120
- Park, N., Hyeonji Kim, Jeongmin Oh, Jinseok Kim, Charyeong Heo, Jaebum Kim, PAPIpe: A Pipeline for Comprehensive Population Genetic Analysis, *Molecular Biology and Evolution*, Volume 41, Issue 3, March 2024, msae040, <https://doi.org/10.1093/molbev/msae040>
- Pechenik, J. A., Eyster, L. S., Widdows, J., & Bayne, B. L. 1990. The influence of food concentration and temperature on growth and morphological differentiation of blue mussel *Mytilus edulis* L. larvae. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 136(1), 47-64.
- Pechenik, J. A., Wendt, D. E., & Jarrett, J. N. 1998. Metamorphosis is not a new beginning: larval experience influences juvenile performance. *Bioscience*, 48(11), 901-910.
- Pechenik, J. A. 1999. On the advantages and disadvantages of larval stages in benthic marine invertebrate life cycles. *Marine Ecology Progress Series*, 177, 269-297.

- Pedersen, T. M., Hansen, J. L., Josefson, A. B., & Hansen, B. W. 2008. Mortality through ontogeny of soft-bottom marine invertebrates with planktonic larvae. *Journal of Marine Systems*, 73(1-2), 185-207.
- Pereiro, P.; Moreira, R.; Novoa, B.; Figueras, A. 2021. Differential Expression of Long Non-Coding RNA (lncRNA) in Mediterranean Mussel (*Mytilus galloprovincialis*) Hemocytes under Immune Stimuli. *Genes* 2021, 12, 1393.
- Pérez-García, C.; Moran, P.; Pasantes, J.J. 2014. Karyotypic Diversification in *Mytilus* Mussels (Bivalvia: Mytilidae) Inferred from Chromosomal Mapping of rRNA and Histone Gene Clusters. *BMC Genet.* 2014, 15, 84.
- Phillips, N. E. 2002. Effects of nutrition-mediated larval condition on juvenile performance in a marine mussel. *Ecology*, 83(9), 2562-2574.
- Phillips, N. E. 2004. Variable timing of larval food has consequences for early juvenile performance in a marine mussel. *Ecology*, 85(8), 2341-2346.
- Phillips, N. E. 2007. High variability in egg size and energetic content among intertidal mussels. *The Biological Bulletin*, 212(1), 12-19.
- Pickard, G.L., 1971. Some physical oceanographic features of inlets of Chile. *J. Fish. Res. Board. Can.* 28, 1077-1106.
- Pickard, G.L., Stanton, B.R. 1980. Pacific fjords-a review of their water characteristics. Springer.
- Pineda, J. 2000. Linking larval settlement to larval transport: assumptions, potentials, and pitfalls. *Oceanography of the eastern Pacific*, 1 (2000), 84-105.
- Pineda, J., Hare, J. A., & Sponaugle, S. U. 2007. Larval transport and dispersal in the coastal ocean and consequences for population connectivity. *Oceanography*, 20(3), 22-39.
- Pineda, J., Reynolds, N. B., & Starczak, V. R. 2009. Complexity and simplification in understanding recruitment in benthic populations. *Population ecology*, 51(1), 17-32.
- Piry, S., Alapetite, J.-M. Cornuet, D. Paetkau, L. Baudouin, A. Estoup, GENECLASS2: A Software for Genetic Assignment and First-Generation Migrant Detection, *Journal of Heredity*, Volume 95, Issue 6, November/December 2004, Pages 536–539, <https://doi.org/10.1093/jhered/esh074>
- Porri, F., Jordaán, T., & McQuaid, C. D. 2008. Does cannibalism of larvae by adults affect settlement and connectivity of mussel populations?. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 79(4), 687-693.
- Quintrel M, Jilberto F, Sepúlveda M, Marín ME, Véliz D, Araneda C et al., Development and validation of a multi-locus PCR-HRM method for species identification in *Mytilus* genus with food authenticity purposes. *Foods* 10:1684 (2021).
- Qiu, J. W., Tremblay, R., & Bourget, E. 2002. Ontogenetic changes in hyposaline tolerance in the mussels *Mytilus edulis* and *M. trossulus*: implications for distribution. *Marine Ecology Progress Series*, 228, 143-152.
- R Core Team, 2023. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for

- Statistical Computing, Vienna, Austria. <https://www.R-project.org/>
- Raby, D., Lagadeuc, Y., Dodson, J. J., & Mingelbier, M. 1994. Relationship between feeding and vertical distribution of bivalve larvae in stratified and mixed waters. *Marine Ecology Progress Series*, 275-284.
- Raby, D., Mingelbier, M., Dodson, J. J., Klein, B., Lagadeuc, Y., & Legendre, L. 1997. Food-particle size and selection by bivalve larvae in a temperate embayment. *Marine biology*, 127(4), 665-672.
- Ramorino L. & B. Campos. 1983. Larvas y postlarvas de Mytilidae de Chile (Mollusca: Bivalvia). *Revista de Biología Marina*. 19(2), 143-192.
- Rayssac, N., Pernet, F., Lacasse, O., & Tremblay, R. 2010. Temperature effect on survival, growth, and triacylglycerol content during the early ontogeny of *Mytilus edulis* and *M. trossulus*. *Marine Ecology Progress Series*, 417, 183-191.
- Renaut, S.; Guerra, D.; Hoeh, W.R.; Stewart, D.T.; Bogan, A.E.; Ghiselli, F.; Milani, L.; Passamonti, M.; Breton, S. 2018. Genome Survey of the Freshwater Mussel *Venustaconcha ellipsiformis* (Bivalvia: Unionida) Using a Hybrid De Novo Assembly Approach. *Genome Biol. Evol.* 2018, 10, 1637–1646.
- Reusch, T, Chapman, A. 1997. Persistence and space occupancy by subtidal blue mussel patches. *Ecol Monogr* 67:65–87
- Rey-Campos, M.; Novoa, B.; Pallavicini, A.; Gerdol, M.; Figueras, A. 2021. Comparative Genomics Reveals 13 Different Isoforms of Mytimycins (A-M) in *Mytilus galloprovincialis*. *Int. J. Mol. Sci.* 2021, 22, 3235.
- Roa-Ureta, R.H. 2010. A Likelihood-Based Model of Fish Growth With Multiple Length Frequency Data. *Journal of Agricultural, Biological, and Environmental Statistics*. 15, 416-429. <https://doi.org/10.1007/s13253-009-0009-7>
- Roa-Ureta, R.H., Molinet, C., Barahona, N., Araya, P. 2015. Hierarchical statistical framework to combine generalized depletion models and biomass dynamic models in the stock assessment of the Chilean sea urchin (*Loxechinus albus*) fishery. *Fish. Res.* 171. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/j.fishres.2014.12.006>
- Rodríguez, S. R., Ojeda, F. P., & Inestrosa, N. C. 1993. Settlement of benthic marine invertebrates. *Marine Ecology Progress Series*, 193-207.
- Romero, A.; Novoa, B.; Figueras, A. 2022. Genomic and Transcriptomic Identification of The Cathepsin Superfamily in The Mediterranean Mussel *Mytilus galloprovincialis*. *Dev. Comp. Immunol.* 2022, 127, 104286.
- Rumrill, S.S. 1990. Natural mortality of marine invertebrate larvae. *Ophelia* 32:163–98.
- Saelzer, H., Ramirez, G. 1975. Estudio cuali y cuantitativo de los bancos de choros (*Choromytilus chorus*) y cholgás (*Aulacomya ater*) de la ensenada de Putemún, Castro, Chiloé. Universidad de Concepción, Concepción, pp. 1-24.

- Schnute, J. 1981. A versatile growth model with statistically stable parameters. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 38, 1128-1140. <https://doi.org/10.1139/f81-153>
- Segura, C., Opazo, D., Stuardo, C., Herrera, M., Oyarzún, M. 2022. Programa de monitoreo y vigilancia sobre la disponibilidad larval de mitílidos para la sustentabilidad de la actividad de acuicultura en la zona sur austral de Chile, IX etapa 2021-22. (Informe Final – Convenio de Desempeño entre la Subsecretaría de Economía y Empresas de Menor Tamaño y el Instituto de Fomento Pesquero, 2021) Valparaíso, Chile: Instituto de Fomento Pesquero.
- Segura, C., Stuardo, C., Opazo, D., Herrera, M., Oyarzún, M., Videla, J. 2023. Programa de monitoreo y vigilancia sobre la disponibilidad larval de mitílidos para la sustentabilidad de la actividad de acuicultura en la zona sur austral de Chile, X etapa 2022-23. (Informe Final – Convenio de Desempeño entre la Subsecretaría de Economía y Empresas de Menor Tamaño y el Instituto de Fomento Pesquero, 2022) Valparaíso, Chile: Instituto de Fomento Pesquero.
- Sendra, M.; Saco, A.; Yeste, M.P.; Romero, A.; Novoa, B.; Figueras, A. 2020. Nanoplastics: From Tissue Accumulation to Cell Translocation Into *Mytilus galloprovincialis* Hemocytes. Resilience of Immune Cells Exposed to Nanoplastics and Nanoplastics Plus *Vibrio Splendidus* Combination. *J. Hazard Mater.* 2020, 388, 121788.
- Sernapesca. 2022. Anuario estadístico de Pesca y Acuicultura, Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura. www.sernapesca.cl
- Shanks, A. L. 2009. Pelagic larval duration and dispersal distance revisited. *The biological bulletin*, 216(3), 373-385.
- Shindo, A., Nishihara, G.N., Borlongan, I.A., Terada, R. 2022. The effects of desiccation and salinity gradients in the PSII photochemical efficiency of a subtidal brown alga, *Saccharina japonica* (Laminariales) from Hokkaido, Japan. *Phycological Research*. 70, 89-96.
- Smith, J. R., & Strehlow, D. R. 1983. Algal-induced spawning in the marine mussel *Mytilus californianus*. *International journal of invertebrate reproduction*, 6(2), 129-133.
- Silva, N., Sievers, H.A., Prado, R. 1995. Características oceanográficas y una proposición de circulación para algunos canales Australes de Chile entre 41°20' S y 46°40' S. *Rev. Biol. Mar. Univ. Católica Valparaíso*. 30, 207-254.
- Soto, D., Molinet, C., Jara, F. 1999. Herramientas metodológicas para definir los usos de áreas con bancos naturales en XI región. Informe Final Proyecto FIP 2007-41. Universidad Austral de Chile, Puerto Montt, pp. 225.
- Soto, D.; León-Muñoz, J.; Molinet, C.; Soria-Galvarro, Y.; Videla, J.; Opazo, D.; Díaz, P.; Tapia, F. & Segura, C. 2020. Informe Proyecto ARClím: Acuicultura. INCAR, Universidad de Concepción, Universidad Católica de la Santísima Concepción, Universidad Austral de Chile, INFOP, Universidad de Los Lagos, e INTEMIT coordinado por Centro de Ciencia del Clima y la Resiliencia y Centro de Cambio Global UC para el Ministerio del Medio Ambiente a través de La Deutsche Gesellschaft für Internationale Zusammenarbeit (GIZ). Puerto Montt.
- South, P.M., Floerl, O., Jeffs, A.G. 2020. Magnitude and timing of seed losses in mussel (*Perna*

- canaliculus) aquaculture. Aquaculture. 515, 734528.
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734528>.
- Sponaugle, S., Cowen, R. K., Shanks, A., Morgan, S. G., Leis, J. M., Pineda, J., ... & Munro, J. L. 2002. Predicting self-recruitment in marine populations: biophysical correlates and mechanisms. *Bulletin of Marine Science*, 70(1), 341-375.
- Sprung, M. 1984a. Physiological energetics of mussel larvae (*Mytilus edulis*). I. Shell growth and biomass. *Marine Ecology Progress Series*, 17, 283-293.
- Sprung, M. 1984b. Physiological energetics of mussel larvae (*Mytilus edulis*). II. Food uptake. *Marine Ecology Progress Series*, 17, 295-305.
- Sprung, M. 1984c. Physiological energetics of mussel larvae (*Mytilus edulis*). III. Respiration. *Marine Ecology Progress Series*, 18, 171-178.
- Sprung, M. 1984d. Physiological energetics of mussel larvae (*Mytilus edulis*). IV. Efficiencies. *Marine Ecology Progress Series*, 18, 179-186.
- Starr, M., Himmelman, J. H., & Theriault, J. C. 1990. Direct coupling of marine invertebrate spawning with phytoplankton blooms. *Science*, 247(4946), 1071-1074.
- Sun, J., & Liu, D. 2003. Geometric models for calculating cell biovolume and surface area for phytoplankton. *Journal of plankton research*, 25(11), 1331-1346.
- Toro, J.E., Alcapán, A.C., Vergara, A.M., Ojeda, J.A. 2004. Heritability estimates of larval and spat shell height in the Chilean blue mussel (*Mytilus chilensis* Hupe 1854) produced under controlled laboratory conditions. *Aquac. Res.* 35, 56-61. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2004.00985.x>
- Toro, J. E., Ojeda, J. A., Vergara, A. M., Castro, G. C., & Alcapan, A. C. (2005). Molecular characterization of the Chilean blue mussel (*Mytilus chilensis* Hupe 1854) demonstrates evidence for the occurrence of *Mytilus galloprovincialis* in southern Chile. *Journal of Shellfish Research*, 24(4), 1117-1121.
- Toro JE, Castro GC, Ojeda JA, Vergara AM (2006) Allozymic variation and differentiation in the Chilean blue mussel, *Mytilus chilensis*, along its natural distribution. *Genet Mol Biol* 29:174–179. <https://doi.org/10.1590/S1415-47572006000100031>
- Toupoint, N., Gilmore-Solomon, L., Bourque, F., Myrand, B., Pernet, F., Olivier, F., & Tremblay, R. 2012. Match/mismatch between the *Mytilus edulis* larval supply and seston quality: effect on recruitment. *Ecology*, 93(8), 1922-1934.
- Troost, K., Kamermans, P., & Wolff, W. J. 2008a. Larviphagy in native bivalves and an introduced oyster. *Journal of Sea Research*, 60(3), 157-163.
- Troost, K., Veldhuizen, R., Stamhuis, E. J., & Wolff, W. J. 2008b. Can bivalve veligers escape feeding currents of adult bivalves?. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 358(2), 185-196.

- Troost, K., Gelderman, E., Kamermans, P., Smaal, A. C., & Wolff, W. J. 2009. Effects of an increasing filter feeder stock on larval abundance in the Oosterschelde estuary (SW Netherlands). *Journal of Sea Research*, 61(3), 153-164.
- Uliano-Silva, M.; Dondero, F.; Otto, T.D.; Costa, I.; Lima, N.C.B.; Americo, J.A.; Mazzoni, C.J.; Prosdocimi, F.; Rebelo, M.D. 2017. A Hybrid-Hierarchical Genome Assembly Strategy to Sequence the Invasive Golden Mussel, *Limnoperna fortunei*. *Gigascience* 2017, 7, gix128.
- Underwood, A. J., & Fairweather, P. 1989. Supply-side ecology and benthic marine assemblages. *Trends in Ecology & Evolution*, 4(1), 16-20.
- Valenzuela, A., Astorga, M., Oyarzún, P., & Toro, J. 2016. Caracterización genética de híbridos entre las especies *Mytilus edulis platensis* y *Mytilus galloprovincialis* (Mytilidae: Bivalvia) en la costa chilena. *Latin american journal of aquatic research*, 44(1), 171-176. <https://dx.doi.org/10.3856/vol44-issue1-fulltext-19>
- Valle-Levinson, A., Sarkar, N., Sanay, R., Soto, D., Leon, J. 2007. Spatial structure of hydrography and flow in a Chilean fjord, Estuario Reloncaví. *Estuar. Coast.* 30, 113-126.
- Valle-Levinson, A. 2021. Dynamics-based classification of semienclosed basins. *Regional Studies in Marine Science*, 46, 101866.
- Vaughn, D. and J. D. Allen. (2010). The Peril of the Plankton, *Integrative and Comparative Biology*, Volume 50, Issue 4, Pages 552–570, <https://doi.org/10.1093/icb/icq037>
- Ventura, A., Schulz, S., & Dupont, S. 2016. Maintained larval growth in mussel larvae exposed to acidified under-saturated seawater. *Scientific Reports*, 6(1), 1-9.
- Vihitakari, M.; Hendriks, I.E.; Holding, J.; Renaud, P.E.; Duarte, C.M.; Havenhand, J.N. 2013. Effects of Ocean Acidification and Warming on Sperm Activity and Early Life Stages of the Mediterranean Mussel (*Mytilus galloprovincialis*). *Water Sui*. 2013, 5, 1890–1915.
- Vinagre C, Mendonça V, Narciso L, Madeira C (2015) Food web of the intertidal rocky shore of the west Portuguese coast – Determined by stable isotope analysis. *Marine Environmental Research* 110:53–60. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2015.07.016>.
- Viviani, C. 1979. Ecogeografía del Litoral Chileno. *Stud Neotrop Fauna E.* 14, 65-123.
- von Bertalanffy, L. 1938. A quantitative theory of organic growth. *Hum. Biol.* 10, 181-213.
- Waldbusser, G. G., Hales, B., Langdon, C. J., Haley, B. A., Schrader, P., Brunner, E. L., ... & Hutchinson, G. 2015. Ocean acidification has multiple modes of action on bivalve larvae. *PloS one*, 10(6), e0128376.
- Wang, W. X., & Widdows, J. (1991). Physiological responses of mussel larvae *Mytilus edulis* to environmental hypoxia and anoxia. *Marine Ecology Progress Series*, 70(3), 223-236.
- Wang, S.; Zhang, J.B.; Jiao, W.Q.; Li, J.; Xun, X.G.; Sun, Y.; Guo, X.M.; Huan, P.; Dong, B.; Zhang, L.L.; et al. Scallop Genome Provides Insights into Evolution of Bilaterian Karyotype and Development. *Nat. Ecol. Evol.* 2017, 1, 0120.

- Widdows, J. (1991). Physiological ecology of mussel larvae. *Aquaculture*, 94(2), 147-163.
- Wing, S.R., Gibbs, M.T., Lamare, M.D., 2003. Reproductive sources and sink within a sea urchin *Evechinus chloroticus*, population of a New Zealand fjord. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 248, 109–123.
- Xu, T., Sun, J., Lv, J., Watanabe, H. K., Li, T. Q., Zou, W. W., Qiu, J. W. 2017. Genome-wide discovery of single nucleotide polymorphisms (SNPs) and single nucleotide variants (SNVs) in deep-sea mussels: Potential use in population genomics and cross-species application. *Deep-Sea Research Part II-Topical Studies in Oceanography*, 137, 318-326. doi:10.1016/j.dsr2.2016.03.011
- Yang, J.L.; Feng, D.D.; Liu, J.; Xu, J.K.; Chen, K.; Li, Y.F.; Zhu, Y.T.; Liang, X.; Lu, Y. 2021. Chromosome-Level Genome Assembly of The Hard-Shelled Mussel *Mytilus coruscus*, A Widely Distributed Species from The Temperate Areas of East Asia. *Gigascience* 2021, 10, giab024.
- Yévenes M, Gallardo-Escárate C, Gajardo G (2024) Epigenetic variation mediated by lncRNAs accounts for adaptive genomic differentiation of the endemic blue mussel *Mytilus chilensis*. *Heliyon* 10: e23695. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e23695>
- Young, C.M. 1995. Behavior and locomotion during the dispersal phase of larval life. in: McEdward, L. (Ed.), *Ecology of marine invertebrate larvae*. CRC Press, Boca Raton, pp. 249-278.
- Zagal, C., Hermosilla, C., Riedemann, A. 2001. *Guía de invertebrados marinos del litoral Valdiviano*. Quebecor World Chile S.A., Valdivia.
- Zaixso HE. 2004. Bancos de cholga *Aulacomya atra atra* (Molina) (Bivalvia: Mytilidae) del golfo San José (Chubut, Argentina): Diversidad y relaciones con facies afines. *Revista de Biología Marina y Oceanografía* 39(2): 61-78.
- Zhang, G.F.; Fang, X.D.; Guo, X.M.; Li, L.; Luo, R.B.; Xu, F.; Yang, P.C.; Zhang, L.L.; Wang, X.T.; Qi, H.G.; et al. The Oyster Genome Reveals Stress Adaptation and Complexity of Shell Formation. *Nature* 2012, 490, 49–54.

10. ANEXOS

10.1. Anexo 1. Personal participante por actividad.

PROFESIONAL	PROFESION	INSTITUCION	ACTIVIDAD
Dr. Carlos Molinet	Biólogo Marino, Dr. Ecología	Universidad Austral de Chile	Coordinación General
			Obj 1: Caracterización del borde costero del Fiordo Reloncaví y las comunas de Hualaihué y Castro
			Obj 1: Selección de sitios de muestreo de bancos naturales de mitílidos en el Fiordo Reloncaví y las comunas de Hualaihué y Castro
			Obj 2: Taller Metodológico
			Obj 2: Recolección y procesamiento de video transectos
			Elaboración de Informes
Dra. Marcela Astorga	Dr. Cs. Biológicas	Universidad Austral de Chile	Obj 3: Análisis genético poblacional
			Obj 3: Determinar la variabilidad genética de los distintos bancos naturales
			Obj 4: Diseño metodología o herramienta de identificación de origen de la semilla
			Elaboración de Informes
Dr. Cristian Gallardo	Dr. Ciencias	Centro INCAR - Universidad de Concepción	Obj 3: Análisis genético poblacional
			Obj 3: Determinar la variabilidad genética de los distintos bancos naturales
			Obj 4: Diseño metodología o herramienta de identificación de origen de la semilla
			Elaboración de Informes
Katherine Espinoza	Ingeniero en Acuicultura	Universidad Austral de Chile	Obj 1: Revisión bibliográfica sobre factores que afectan a bancos naturales de <i>M. chilensis</i>
			Obj 2: Taller Metodológico
			Obj 2: Recolección y procesamiento de video transectos
			Obj 2 Procesamiento de muestras biológicas
			Elaboración de Informes
Manuel Díaz	Ingeniero Naval	Universidad Austral de Chile	Obj 1: Caracterización del borde costero del Fiordo Reloncaví y las comunas de Hualaihué y Castro
			Obj 1: Análisis de información ambiental y despliegue de serie de datos ambientales
			Obj 2: Recolección y procesamiento de video transectos
			Obj 2: Recolección de Muestras biológicas
			Elaboración de Informes
Jorge Henríquez	Biólogo Marino	Universidad Austral de Chile	Obj 1: Información detallada y sistematizada sobre estado y ubicación de bancos naturales de mitílidos
			Obj 1: Análisis de información ambiental y despliegue de serie de datos ambientales

PROFESIONAL	PROFESION	INSTITUCION	ACTIVIDAD
			Obj 2: Estimación de abundancia, densidad, cobertura y ubicación de cada una de las especies de mitílidos y fauna acompañante en los diferentes estratos de profundidad
			Obj 2: Determinar la estructura de talla, peso, sexo, estado de salud y maduración de las diferentes especies de mitílidos
			Elaboración de Informes
Thamara Matamala	Bióloga Marina	Universidad Austral de Chile	Obj 2: Recolección y procesamiento de video transectos
			Obj 2: Procesamiento de muestras biológicas
			Elaboración de Informes
Jaime Vargas	Ingeniero en Acuicultura	Universidad Austral de Chile	Obj 2: Procesamiento de Muestras y Análisis Genético
			Elaboración de Informes
Cristian Segura	Dr. Ciencias	Instituto de Fomento Pesquero	Obj 1: Revisión bibliográfica sobre factores que afectan a bancos naturales de <i>M. chilensis</i>
			Obj 1: Análisis y sistematización de información que afecta y regulan el proceso de desove y asentamiento larval de mitílidos
			Elaboración de Informes
David Opazo	Mg. Ciencias	Instituto de Fomento Pesquero	Obj 1: Revisión bibliográfica sobre factores que afectan a bancos naturales de <i>M. chilensis</i>
			Obj 1: Análisis y sistematización de información que afecta y regulan el proceso de desove y asentamiento larval de mitílidos
			Elaboración de Informes

10.2. Anexo 1.1. Procedencias de pesca mitilidos del Programa el Seguimiento Bentónico de IFOP

Procedencias de pesca reportadas por Programa el Seguimiento Bentónico de IFOP, donde se registró viajes de pesca para los recursos chorito (*Mytilus chilensis*), cholga (*Aulacomya atra*) y choro zapato (*Choromytilus chorus*) en la Región de Los Lagos. El valor en cada recurso representa el número de años monitoreados y entre paréntesis el número de viajes de pesca muestreados entre 1997 y 2022.

N°	Región	Latitud	Longitud	Nombre	Chorito	Cholga	Choro zapato
1	Los Lagos	-40,7	-73,83333333	Huellehue			1 [1]
2	Los Lagos	-40,760248	-73,849004	Punta Condor			1 [1]
3	Los Lagos	-41,186289	-73,891207	San Juanito		1 [1]	
4	Los Lagos	-41,48333333	-72,95	Puerto Montt		1 [1]	
5	Los Lagos	-41,56666667	-73,66666667	Rio Quenuir			1 [1]
6	Los Lagos	-41,56722167	-72,96583333	Isla Maillen			1 [1]
7	Los Lagos	-41,61066333	-73,61123333	Dunas	1 [1]		
8	Los Lagos	-41,613296	-73,062978	Ilque			1 [1]
9	Los Lagos	-41,615429	-73,518553	Chullaquen	1 [2]		
10	Los Lagos	-41,64722222	-72,38888889	Sotomó	2 [3]	1 [2]	1 [1]
11	Los Lagos	-41,647308	-73,049354	Huelmo		10 [32]	7 [9]
12	Los Lagos	-41,6775	-73	Isla Guar	1 [1]	21 [483]	9 [21]
13	Los Lagos	-41,70472167	-73,03527778	Punta Guatral			1 [1]
14	Los Lagos	-41,705555	-73,1	Rulo	2 [2]	6 [8]	10 [384]
15	Los Lagos	-41,71666667	-72,68333333	Farellones Caicura		1 [3]	
16	Los Lagos	-41,71666667	-72,65	Estuario De Reloncaví	1 [1]		
17	Los Lagos	-41,722895	-73,252054	Canal San Antonio		1 [4]	1 [1]
18	Los Lagos	-41,726056	-73,05817	Tautil		1 [1]	5 [10]
19	Los Lagos	-41,73333333	-73,08333333	San Agustín	1 [1]	6 [10]	8 [38]
20	Los Lagos	-41,73333333	-73,06666667	San Ramón	1 [4]	7 [41]	9 [32]
21	Los Lagos	-41,74555556	-73,16083333	Estero Huito	1 [1]	1 [2]	4 [11]
22	Los Lagos	-41,75055556	-73,11666667	Rosario	2 [2]	1 [6]	7 [123]
23	Los Lagos	-41,761945	-72,68222222	Contao		1 [1]	
24	Los Lagos	-41,76611167	-73,11972222	Calbuco	3 [26]	3 [12]	
25	Los Lagos	-41,76666667	-73,10555556	Helvecia		4 [4]	1 [2]
26	Los Lagos	-41,775	-73,375	Colaco		2 [2]	2 [2]
27	Los Lagos	-41,777245	-73,096465	Punta Máchil	1 [3]	2 [2]	8 [76]
28	Los Lagos	-41,78333333	-73,16666667	Isla Caicaboy		1 [2]	
29	Los Lagos	-41,78333333	-72,68333333	Mañihueico	1 [1]		
30	Los Lagos	-41,788302	-73,367568	Challahue		1 [1]	
31	Los Lagos	-41,78972167	-73,10222222	Punta Chechil			1 [1]
32	Los Lagos	-41,790555	-73,02166667	Isla Puluqui	4 [4]	13 [34]	8 [227]
33	Los Lagos	-41,79722167	-73,19055556	Caicaen	2 [3]	11 [90]	10 [533]
34	Los Lagos	-41,79861167	-73,89361111	Punta Yuste		1 [1]	1 [1]
35	Los Lagos	-41,799091	-73,106754	Chope	1 [2]	3 [5]	7 [25]
36	Los Lagos	-41,806829	-73,057198	Estero Chauquiar	2 [11]	4 [9]	8 [68]
37	Los Lagos	-41,815277	-73,123865	Isla Chidhuapi	3 [3]	20 [214]	8 [118]
38	Los Lagos	-41,81805556	-73,3	Lagartija		1 [1]	1 [1]
39	Los Lagos	-41,819445	-73,62527778	Canal Caulin		1 [2]	
40	Los Lagos	-41,83065833	-73,841975	Ahui	1 [1]	2 [4]	
41	Los Lagos	-41,83111167	-73,20611111	Faro Corvio		10 [15]	
42	Los Lagos	-41,835555	-73,15666667	Quenu		14 [137]	6 [93]
43	Los Lagos	-41,844435	-72,987168	Punta Perhue		20 [627]	7 [7]

N°	Región	Latitud	Longitud	Nombre	Chorito	Cholga	Choro zapato
44	Los Lagos	-41,84727333	-73,80757222	Isla Cochino	1 [1]		
45	Los Lagos	-41,84806833	-73,86840556	Punta Chaicura		1 [2]	
46	Los Lagos	-41,85166667	-73,94388889	Golfo Quetalmahue		3 [4]	
47	Los Lagos	-41,86027	-73,7686	Mutrico	1 [1]	1 [1]	
48	Los Lagos	-41,863055	-73,86166667	Bahía Ancud		2 [4]	
49	Los Lagos	-41,86561167	-73,83454722	Ancud	1 [6]		
50	Los Lagos	-41,86666667	-73,79972222	Rio Pudeto	14 [227]		3 [3]
51	Los Lagos	-41,86968056	-73,93889444	Huentetique		1 [1]	
52	Los Lagos	-41,871634	-73,524711	Manao		1 [5]	
53	Los Lagos	-41,87222167	-72,81777778	Isla Aulen		1 [6]	
54	Los Lagos	-41,872441	-72,937555	Queullin		21 [279]	5 [6]
55	Los Lagos	-41,883055	-73,48305556	Punta Almanao		1 [1]	
56	Los Lagos	-41,89833333	-73,05888889	Isla Lin		9 [31]	1 [1]
57	Los Lagos	-41,906626	-73,163044	Isla Tabon		21 [329]	6 [15]
58	Los Lagos	-41,915795	-73,75865	Pupelde	1 [2]		
59	Los Lagos	-41,95833333	-73,55	Bahía Linao	1 [1]		
60	Los Lagos	-41,972047	-72,492941	Hornopiren	1 [1]	1 [2]	
61	Los Lagos	-41,980399	-72,809356	Rolecha	1 [8]	9 [55]	
62	Los Lagos	-41,982476	-72,779653	Lliquiman	1 [2]	3 [10]	
63	Los Lagos	-42,020031	-72,709745	Guailaihue		5 [7]	
64	Los Lagos	-42,02611167	-72,60027778	Pichicolo	1 [2]	6 [13]	1 [1]
65	Los Lagos	-42,05	-72,61666667	Los Toros	5 [14]	17 [462]	2 [2]
66	Los Lagos	-42,06666667	-72,6	Llancahue	2 [14]	4 [8]	1 [1]
67	Los Lagos	-42,07361167	-72,64916667	Isla Linguar		1 [1]	2 [3]
68	Los Lagos	-42,1	-73,38333333	Morro Lobo		2 [21]	1 [1]
69	Los Lagos	-42,108458	-73,432334	Puerto Huíte			1 [1]
70	Los Lagos	-42,11666667	-72,61666667	Isla Llanquihue		5 [6]	2 [2]
71	Los Lagos	-42,13333333	-72,46666667	Puerto Bonito	6 [21]	14 [909]	
72	Los Lagos	-42,13762	-73,460789	Sector Queler		2 [45]	1 [2]
73	Los Lagos	-42,15027833	-73,47666667	Puerto Quemchi	1 [7]	6 [32]	
74	Los Lagos	-42,16218333	-73,45934444	Guardiamó		1 [1]	
75	Los Lagos	-42,17222222	-72,555	Comau	3 [33]	4 [26]	1 [1]
76	Los Lagos	-42,180556	-73,376782	Isla Caucahue		2 [66]	3 [4]
77	Los Lagos	-42,243932	-73,363201	Chaurahue		2 [24]	
78	Los Lagos	-42,245092	-73,187165	Aulin	1 [3]	8 [37]	
79	Los Lagos	-42,261814	-73,080997	Isla Butachauques		20 [457]	12 [70]
80	Los Lagos	-42,272042	-73,265362	Isla Cheniao		1 [2]	
81	Los Lagos	-42,277342	-72,812096	Hueque		8 [63]	1 [1]
82	Los Lagos	-42,28003	-73,320962	Canal Quicavi		1 [5]	
83	Los Lagos	-42,289445	-73,1275	Islas Chauques	2 [4]	10 [37]	
84	Los Lagos	-42,301772	-72,83615	Chulao		1 [1]	
85	Los Lagos	-42,311945	-73,30444444	Isla Mechuque		2 [2]	1 [1]
86	Los Lagos	-42,31583333	-72,7925	Ayacara	3 [6]	11 [83]	1 [1]
87	Los Lagos	-42,327973	-73,274215	Isla Anihue	1 [2]	2 [20]	
88	Los Lagos	-42,33333333	-73,21666667	Estero Anihue	1 [1]	4 [18]	
89	Los Lagos	-42,33527833	-73,38444444	Punta Tenaun		3 [3]	
90	Los Lagos	-42,339612	-73,53828	Quetalco	2 [27]		
91	Los Lagos	-42,344079	-73,492406	Calen		2 [3]	1 [1]
92	Los Lagos	-42,344079	-73,492406	Puerto San Juan		1 [1]	1 [5]
93	Los Lagos	-42,365635	-73,591721	Punta Quiquel	1 [11]	8 [59]	2 [7]
94	Los Lagos	-42,36666667	-73,43333333	Isla Lin-Lin	1 [1]		
95	Los Lagos	-42,36888833	-72,77472222	Costa Pollollo	1 [2]	7 [10]	




N°	Región	Latitud	Longitud	Nombre	Chorito	Cholga	Choro zapato
96	Los Lagos	-42,38333333	-73,14555556	Isla Tac		2 [3]	
97	Los Lagos	-42,384472	-73,575468	Huyar		1 [2]	1 [10]
98	Los Lagos	-42,38472167	-73,65222222	Canal Dalcachue	5 [59]	20 [1584]	12 [199]
99	Los Lagos	-42,400109	-73,312469	Isla Meulin		4 [5]	3 [3]
100	Los Lagos	-42,41666667	-73,65833333	Punta Palqui		2 [2]	1 [1]
101	Los Lagos	-42,421763	-72,706277	Buill	1 [1]		
102	Los Lagos	-42,432492	-73,609465	Curaco De Velez	2 [18]	16 [494]	15 [613]
103	Los Lagos	-42,440479	-73,486814	Canal Quinchao	1 [1]		
104	Los Lagos	-42,456077	-73,252082	Isla Teuquelin		1 [2]	
105	Los Lagos	-42,462989	-73,477803	Achao		8 [24]	10 [31]
106	Los Lagos	-42,46666667	-73,66666667	Lincái	2 [5]		
107	Los Lagos	-42,46972167	-73,38583333	Isla Quenac		4 [11]	1 [1]
108	Los Lagos	-42,47083333	-73,73916667	Estero Castro	2 [19]	1 [3]	4 [14]
109	Los Lagos	-42,49384722	-73,52104444	Conchas Blancas		1 [3]	4 [6]
110	Los Lagos	-42,50083333	-72,80722222	Punta Chumilden	2 [2]	10 [54]	1 [1]
111	Los Lagos	-42,54166667	-73,63333333	Rilan		3 [9]	7 [28]
112	Los Lagos	-42,547725	-73,493839	Isla Chelin		4 [76]	8 [15]
113	Los Lagos	-42,556812	-72,552336	Estero Renihue		2 [10]	
114	Los Lagos	-42,559832	-73,224156	Apiao		3 [3]	1 [2]
115	Los Lagos	-42,561225	-73,43848056	Mateo			1 [2]
116	Los Lagos	-42,580038	-73,388553	Punta Cheguian		4 [19]	4 [7]
117	Los Lagos	-42,59354167	-73,78206111	Vilupulli	3 [23]	2 [11]	
118	Los Lagos	-42,594574	-73,678487	Puqueldon	3 [12]		
119	Los Lagos	-42,60222167	-73,06305556	Isla Chulin		16 [92]	9 [22]
120	Los Lagos	-42,60431	-73,261505	Isla Alao		3 [3]	
121	Los Lagos	-42,618138	-73,746661	Isla Lemuy	2 [10]	1 [1]	1 [1]
122	Los Lagos	-42,61861167	-73,765	Chonchi	8 [93]	3 [15]	3 [8]
123	Los Lagos	-42,62836389	-72,93361111	Piedra Del Canto		1 [1]	
124	Los Lagos	-42,643132	-73,534781	Isla Quehui		9 [26]	9 [40]
125	Los Lagos	-42,65222222	-73,685	Teupa	1 [4]		
126	Los Lagos	-42,65438889	-73,71611111	Canal Yal			2 [2]
127	Los Lagos	-42,65805556	-73,44222222	Coñab			1 [1]
128	Los Lagos	-42,66722167	-73,06333333	Isla Chuit		1 [1]	
129	Los Lagos	-42,69638833	-72,82055556	Bahia Pumalin		13 [33]	
130	Los Lagos	-42,70083333	-73,04	Isla Talcan	1 [2]	6 [11]	3 [5]
131	Los Lagos	-42,705581	-73,562447	Punta Detif			2 [2]
132	Los Lagos	-42,70833333	-73,56666667	Punta Bruja		1 [1]	1 [4]
133	Los Lagos	-42,712408	-73,076517	Isla Nayahue		1 [2]	
134	Los Lagos	-42,75582	-73,53899	Ahoni			1 [1]
135	Los Lagos	-42,813278	-73,467274	Aitui		1 [1]	2 [2]
136	Los Lagos	-42,856658	-73,690129	Caleta Pureo			5 [7]
137	Los Lagos	-42,86166667	-73,71611111	Estero Compu	7 [90]	3 [4]	6 [22]
138	Los Lagos	-42,881413	-73,50665	Ensenada Detico		4 [13]	8 [27]
139	Los Lagos	-42,885	-73,49166667	Punta Mechai	1 [2]		
140	Los Lagos	-42,886792	-73,466373	Chomio			1 [1]
141	Los Lagos	-42,886953	-73,551563	Quechu			2 [8]
142	Los Lagos	-42,89138833	-73,48166667	Queilen	3 [10]	1 [8]	3 [3]
143	Los Lagos	-42,897597	-72,743789	Ensenada Chaiten	1 [1]		
144	Los Lagos	-42,9	-73,65	Islote Conejo			1 [1]
145	Los Lagos	-42,9	-73,56666667	Estero Paildad		2 [2]	12 [108]
146	Los Lagos	-42,90333333	-73,47888889	Punta Queilen		1 [1]	1 [1]
147	Los Lagos	-42,91666667	-73,61666667	Punta Yatehua		1 [2]	

N°	Región	Latitud	Longitud	Nombre	Chorito	Cholga	Choro zapato
148	Los Lagos	-42,91666667	-73,53333333	San Jose			1 [1]
149	Los Lagos	-42,921094	-73,437446	Acui		2 [2]	5 [10]
150	Los Lagos	-42,927711	-73,494206	Quilun		1 [1]	8 [22]
151	Los Lagos	-42,93333333	-73,56666667	Chauco			4 [10]
152	Los Lagos	-42,939389	-73,57408	San José De Tranqui		1 [2]	6 [14]
153	Los Lagos	-42,948719	-73,575782	Ensenada Leutepu			1 [3]
154	Los Lagos	-42,960784	-73,592113	San Juan De Chadmo		1 [2]	4 [8]
155	Los Lagos	-42,987771	-73,54591	Auchac	5 [185]		2 [7]
156	Los Lagos	-43,00041667	-73,53682778	Curahue	1 [1]		
157	Los Lagos	-43,02388833	-72,81111111	Auchemo	1 [4]	3 [11]	1 [1]
158	Los Lagos	-43,03333333	-73,33333333	Punta Centinela			1 [1]
159	Los Lagos	-43,037432	-73,586415	Curanue	8 [319]		
160	Los Lagos	-43,051163	-73,513156	Huildad	2 [8]		
161	Los Lagos	-43,05699766	-73,56830563	Candelaria	5 [62]	3 [5]	
162	Los Lagos	-43,065465	-73,434829	Isla Chaullin		1 [1]	1 [1]
163	Los Lagos	-43,07270706	-73,51686596	Punta Tutil	1 [3]	2 [5]	
164	Los Lagos	-43,123569	-73,598122	Bahía Quellon	4 [44]	1 [1]	1 [2]
165	Los Lagos	-43,13116098	-73,74980701	Puerto Carmen	2 [6]		
166	Los Lagos	-43,132384	-73,715947	Estero Yaldad	8 [277]	1 [1]	
167	Los Lagos	-43,133832	-73,520015	Oqueldan	2 [2]		
168	Los Lagos	-43,13492363	-73,47851477	Barra Chaiguao	1 [5]	2 [3]	
169	Los Lagos	-43,13583	-73,61569	Punta Lapa			1 [1]
170	Los Lagos	-43,14111167	-73,66166667	Quellon Viejo	7 [283]	1 [1]	
171	Los Lagos	-43,15333333	-73,69333333	Trincao	3 [29]		
172	Los Lagos	-43,16361167	-73,54083333	Isla Cailin	8 [38]	3 [3]	
173	Los Lagos	-43,201945	-73,59388889	Canal Yelcho	2 [2]	2 [3]	
174	Los Lagos	-43,21484	-73,660545	Punta Paula	1 [1]	1 [1]	1 [1]
175	Los Lagos	-43,21861167	-73,66	Isla Coldita	1 [4]		
176	Los Lagos	-43,23388833	-73,62833333	Isla Laitec	1 [1]	2 [11]	3 [4]
177	Los Lagos	-43,261654	-72,971012	Corcovado		3 [7]	1 [1]
178	Los Lagos	-43,325474	-73,674164	Isla San Pedro		4 [4]	1 [1]
179	Los Lagos	-43,34353	-74,251899	Isla Guapiquilan	2 [2]	1 [1]	
180	Los Lagos	-43,35	-74,16666667	Punta Tiques			1 [1]
181	Los Lagos	-43,35	-74,08333333	Ensenada Quilanlar	1 [4]		
182	Los Lagos	-43,374445	-73,93083333	Asasao		1 [1]	2 [2]
183	Los Lagos	-43,381945	-74,12722222	Punta Inio		2 [2]	1 [1]
184	Los Lagos	-43,405555	-73,82277778	Ayentema	2 [7]		
185	Los Lagos	-43,61527833	-73,01527778	Bahia Tic-Toc	1 [1]	4 [27]	2 [2]

10.3. Anexo 1.2. Cartografía SIG.

Ver carpeta anexa.


10.4. Anexo 1.3. Presentación para la selección de sitios de muestreo



GENERANDO
CONOCIMIENTO Y
SUSTENTABILIDAD
INSTITUTO DE FOMENTO PESQUERO • CHILE

Caracterización y evaluación ecológica y genética de los bancos naturales de mitílidos y su aporte a la disponibilidad de larvas para la actividad de colecta de semillas. Etapa 1: fiordo Reloncaví y comunas de Hualaihué y Castro

FIPA 2023-01



Objetivo General

General: Realizar una evaluación ecológica y genética de los principales bancos naturales de mitílidos en el Estuario de Reloncaví y comunas de Hualaihué y Castro, y determinar su aporte a la disponibilidad larval para la actividad de colecta de semillas.

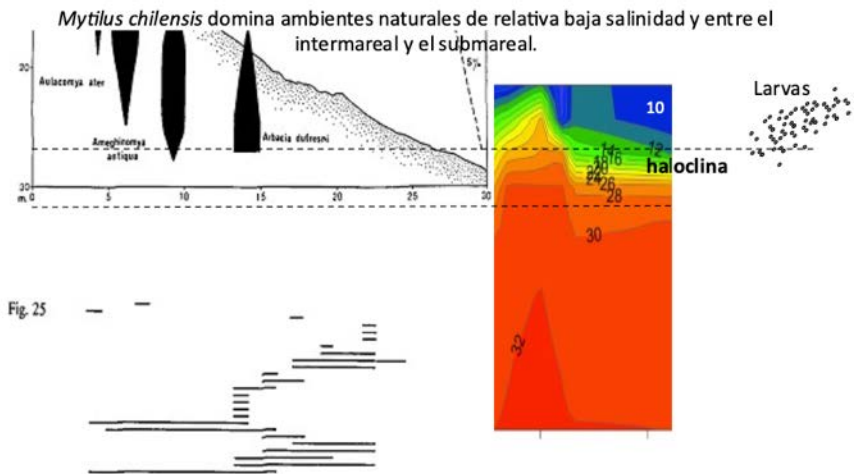
Específicos:

1. Identificar los principales bancos naturales de mitílidos en el Fiordo Reloncaví y comunas de Hualaihué y Castro.
2. Realizar una evaluación de estado general de los bancos naturales, considerando abundancia, cobertura, densidad, biomasa, distribución vertical, sexos, estructura de tallas y comunidad asociada, con énfasis en las diferentes especies que pudieran afectar los bancos de mitílidos.
3. Caracterizar genéticamente los bancos naturales, considerando el gradiente vertical, mediante marcadores SNP, para apoyar la trazabilidad de las diferentes especies del género *Mytilus* presentes en el área de estudio e identificar posibles bancos con poblaciones o individuos de especies exóticas.
4. Generar una herramienta de secuenciación masiva que permita establecer y relacionar el origen geográfico de los nuevos reclutas en los bancos naturales y de las semillas captadas en los colectores, respecto de los bancos naturales previamente identificados.

- **Requerimiento metodológico 5.1.9:** *"En base a la información recolectada en los puntos anteriores (revisión, información previa, recorrido) , el consultor deberá proponer a la contraparte técnica una selección de sitios de muestreo, en base a criterios fundados y presentar una propuesta ajustada con todas las actividades que se llevarán a cabo para el cumplimiento de los objetivos 4.2 (caracterización de bancos) y 4.3 de las bases de la licitación":*
- **Requerimiento metodológico 5.2.6 y 5.2.7:** *"Proponer y consensuar con la contraparte técnica, al menos, 3 bancos naturales en cada sector, que pudieran ser fuentes de semillas para el Fiordo Reloncaví y las comunas de Hualaihué y Castro, y la metodología para su seguimiento en el tiempo", y requerimiento metodológico 5.2.7. Realizar los muestreos en el tiempo de los bancos naturales consensuados con la parte técnica; se realizarán las siguientes actividades:*
 - Se realizará un primer muestreo en el **verano-otoño de 2023** para evaluar el asentamiento de nuevos reclutas
 - El segundo muestreo se realizará en la siguiente temporada, previo al desove (**agosto-septiembre 2023**), para evaluar la sobrevivencia y desarrollo de los mencionados reclutas
 - El último muestreo se realizará en **marzo de 2024** y en él se muestrearán los mismos elementos que en el muestreo 1 y 2
 - El preinforme final se presenta **7 de junio de 2024**

Qué sabemos de los Bancos de mitilidos

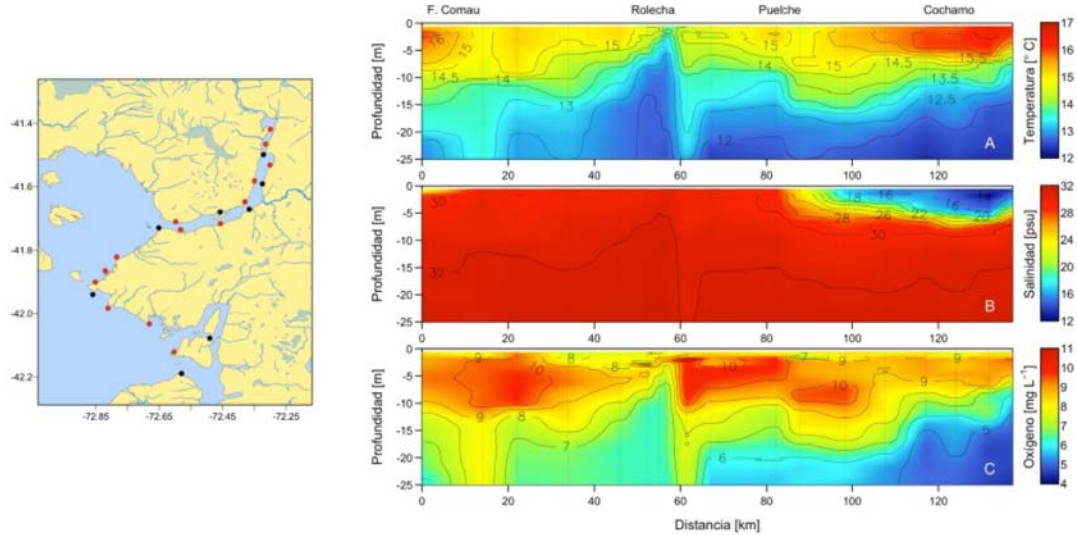
Efecto de la haloclina en *M. chilensis*?



Distribución batimétrica de especies bentónicas en fondos rocosos. Tomado de Viviani (1979)

5

Exploración 2020 INCAR



Qué sabemos de los bancos naturales en el área de estudio?

Área de estudio

Las actividades de muestreo en terreno deberán efectuarse a lo largo de todo el **Estuario Reloncaví**, comuna de **Hualaihue** (Canales **Hornopiren**, **Cholgo**, **llancahué**, **LLanchid**, **estero Pichicolo** y **ensenada Hualaihue**) y en la comuna de **Castro** (**Estero Castro** y **canal Lemuy**), considerando puntos de muestreo en ambos costados de fiordos y canales.

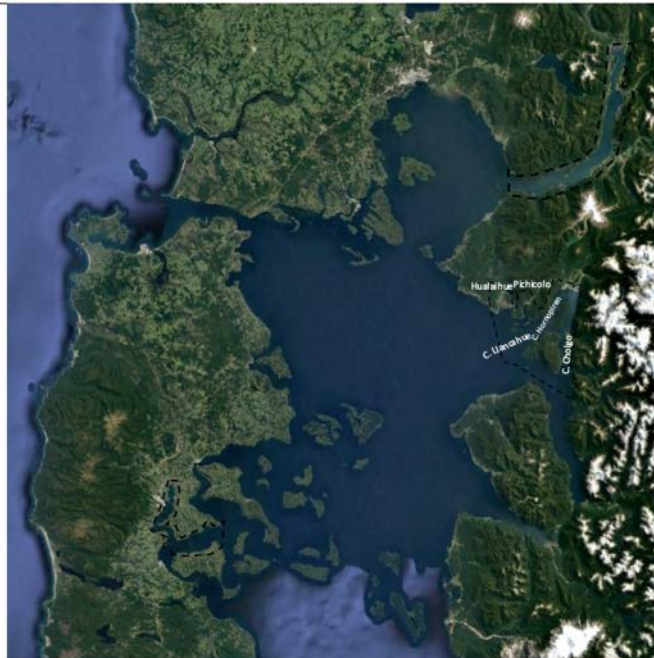


Tabla 1. Resumen de muestreos realizados en bancos de mitílicos en el Fiordo Reloncaví y comuna de Hualaihué. * Transectos para definir la posición de cuadrantes en intermareal y submareal (tres cuadrantes). ** Video transectos desde 0 a 15 m aproximadamente.

Año	Sector	Estaciones	Transectos
2003	Fiordo Reloncaví	23	46*
2007	Chaiquen, Fiordo Reloncaví	2	10*
2013	Fiordo Reloncaví	12 (5)	60**
2014	Fiordo Reloncaví	12 (5)	60**
2015	Fiordo Reloncaví	47 (6)	282**
2020	Fiordo Reloncaví	12 (3)	36**
2022	Fiordo Reloncaví	12 (5)	60**
2007	Pichicolo	2	10
2020	Comuna Hualaihué	4 (3)	12**

Tipos de bancos

Estuario tipo Fiordo, Reloncaví



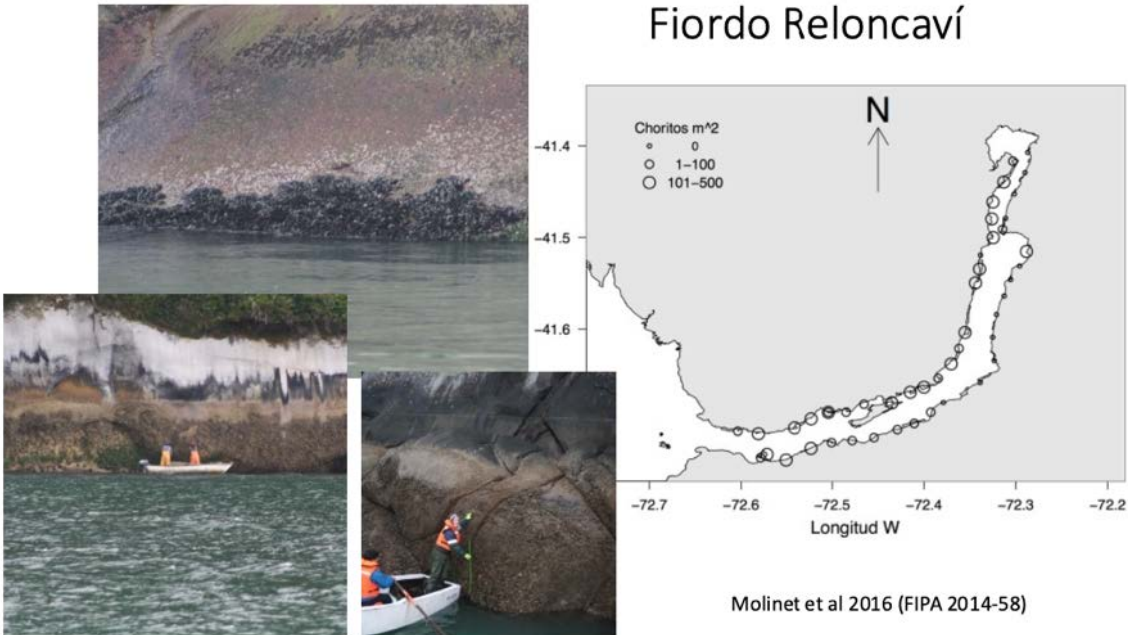
Estuario tipo Planicie, Yaldad

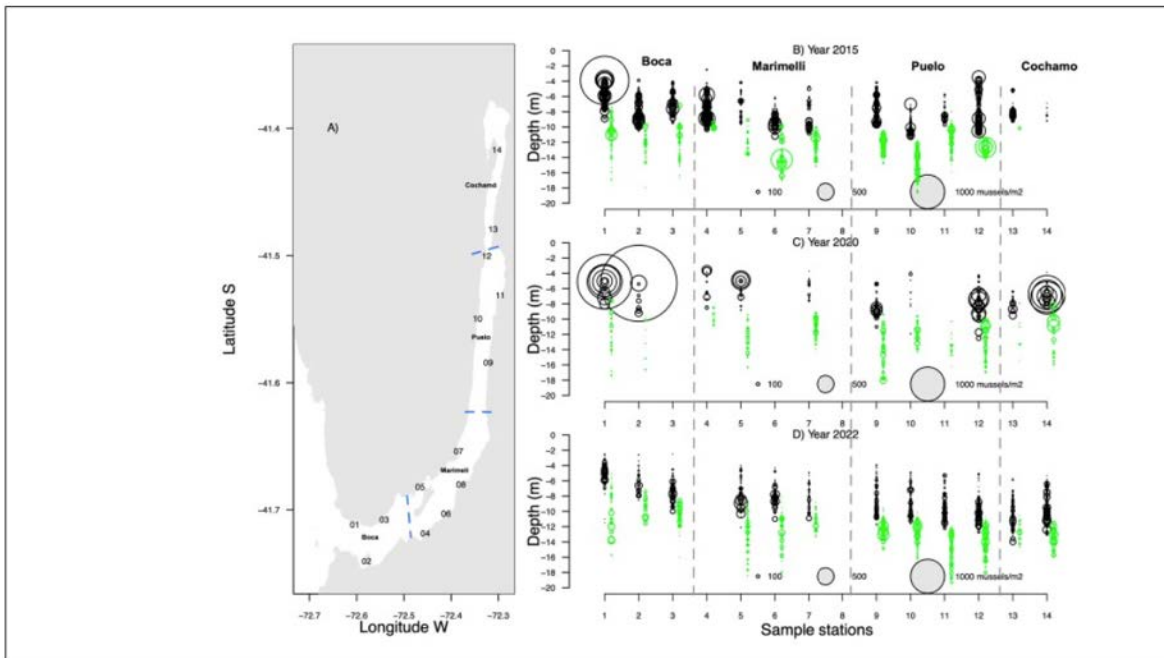
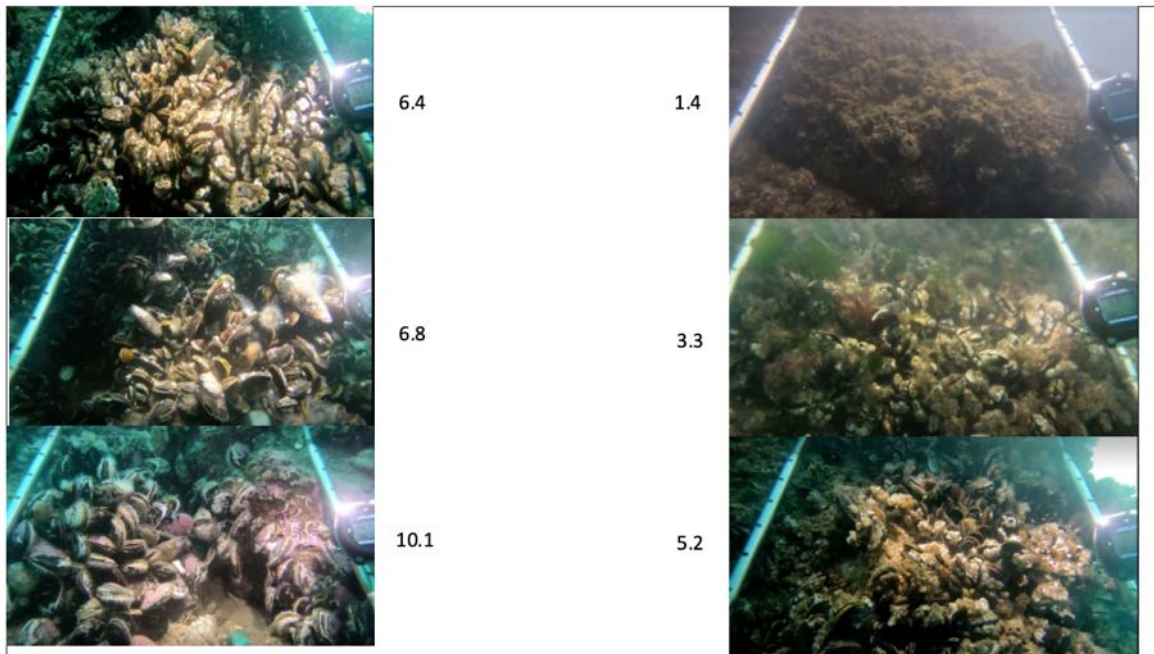


Otros “bancos”

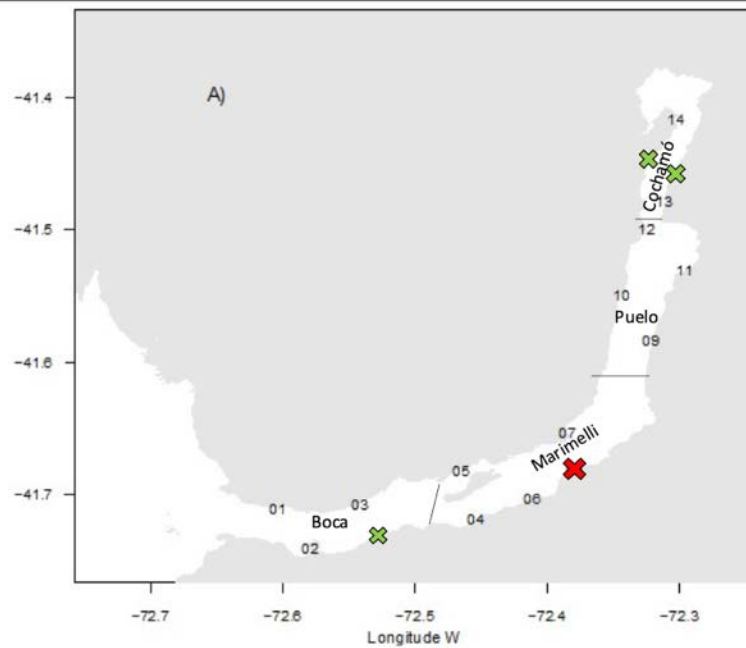


Fiordo Reloncaví

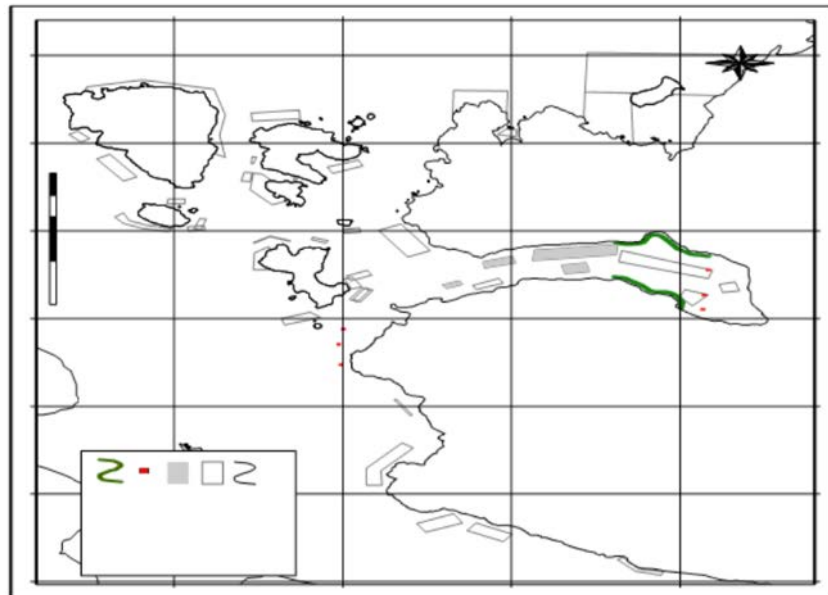




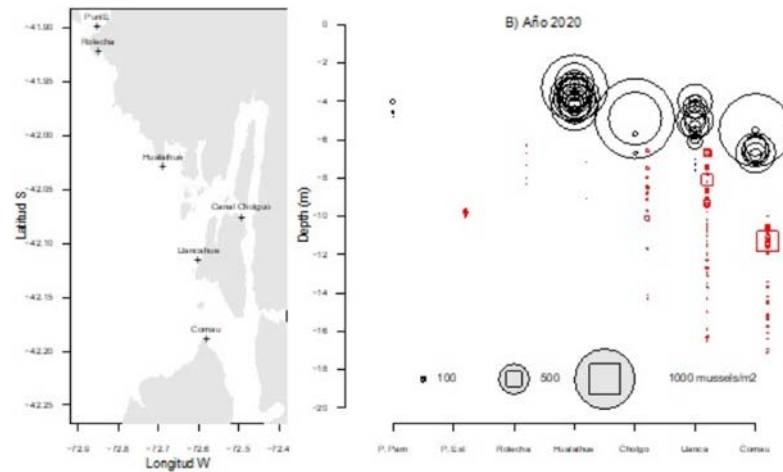
Propuesta Fiordo Reloncaví



Fipa 2005-18



Comuna de Hualaihue, 2020



Canal Cholgo



Intermareal Rolecha

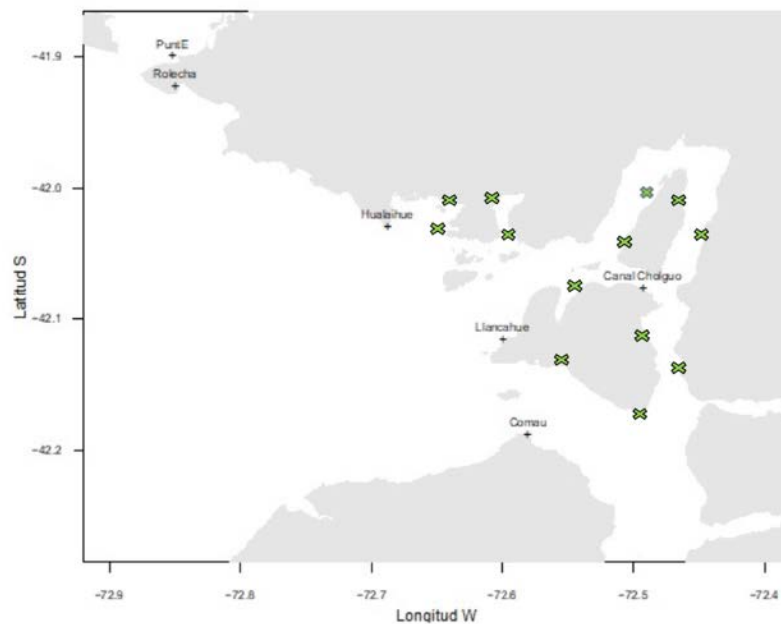
Perumytilus purpuratus



Mytilus chilensis?



Propuesta
Hualaihue





Prospección de bancos naturales en Estero Castro

10.5. Anexo 1.4. Acta de taller para la selección de sitios de muestreos



Acta de Reunión de selección de sitios de muestreo Proyecto FIPA 2023-01
“Caracterización y evaluación ecológica y genética de los bancos naturales de mitílidos y su aporte a la disponibilidad de larvas para la actividad de colecta de semillas. Etapa 1: Fiordo de Reloncaví y comunas de Hualaihué y Castro”

Fecha: 9 de agosto de 2023

Horario: 10:00 – 11:30 hrs

Modalidad: Virtual

Participantes

Subsecretaría de Pesca y Acuicultura	
Paulina Vera Torres	Profesional de la Unidad de Gestión Sanitaria y Plagas (UGSP), División de Acuicultura
Cristian Escalona Salazar	Profesional Unidad de Recursos Bentónicos

Equipo de Trabajo FIPA 2023-01

Carlos Molinet Flores, Director de proyecto	Universidad Austral de Chile
Manuel Díaz Gómez	Universidad Austral de Chile
Jorge Henríquez Moreira	Universidad Austral de Chile
Katherine Espinoza Cea	Universidad Austral de Chile
Joseline Büchner Miranda	Universidad Austral de Chile
Cristian Segura Rivera	Instituto de Fomento Pesquero

La presente corresponde al acta de la reunión de selección de sitios de muestreo del Proyecto FIPA 2023-01 y dar cumplimiento al requerimiento metodológico 5.1.9

La reunión estuvo dirigida por el Director del Proyecto don Carlos Molinet, quien realizó una breve presentación sobre antecedentes generales de *Mytilus chilensis* y sobre bancos de mitílidos en el Fiordo Reloncaví y en la comuna de Hualaihué desde el año 2003 (ver anexo 1, Presentación). Con estos antecedentes se propuso los sitios de muestreo tanto en el fiordo Reloncaví como en la comuna de Hualaihué (Figura 1 y 2).

En el fiordo Reloncaví se propuso 16 estaciones (de acuerdo con la oferta técnica) ubicadas a lo largo de éste. Doce de los sectores de muestreo propuesto han sido muestreados en 2003, 2013, 2015, 2020 y 2022, por distintos proyectos.

Por otro lado, en la comuna de Hualaihué se propusieron 16 estaciones de muestreo (según propuesta técnica), distribuidas en base a una campaña de muestreo realizada en 2020 en la zona e información del proyecto FIPA 2005-18. Además, desde la URB, don Cristian Escalona sugirió caracterizar el borde costero del sector de Pichicolo. En el caso de las estaciones en la comuna de Hualaihué, es posible que se registren más estaciones considerando que se buscará establecer los límites de los bancos a lo largo y ancho del área de estudio propuesta en las bases técnicas.

Para Estero Castro y Canal Lemuy don Cristian Segura de IFOP, realizó una presentación de la prospección realizada en el sector de Estero Castro y Canal Lemuy, por el equipo IFOP, para identificar posibles sitios de muestreo (Anexo 2, enlace a Google Earth)

Acuerdos sobre selección de sitios de muestreo.

- Se acuerda la selección de las 16 estaciones propuestas en la comuna de Hualaihué y el fiordo Reloncaví.
- Se debe pedir autorización a las organizaciones titulares de las áreas de manejo (en caso de que hubiera) antes de realizar los muestreos.
- Para el sector de Hualaihué se recomendó incluir el sector del Manzano, área de manejo Isla Manzano y San Pedro del Manzano.
- Se recalcó la importancia de muestrear los lugares en donde se realiza engorda de mitílidos.
- En Estero Castro, considerar para muestreo los sectores de Rauco, Nercón, Chañihue y Yutuy, además de las exploraciones de otros sitios.

Figura 1. Propuesta de sitios en Fiordo Reloncaví. Números indican estaciones muestreadas previamente, cruz de San Andrés roja muestra estaciones nuevas.

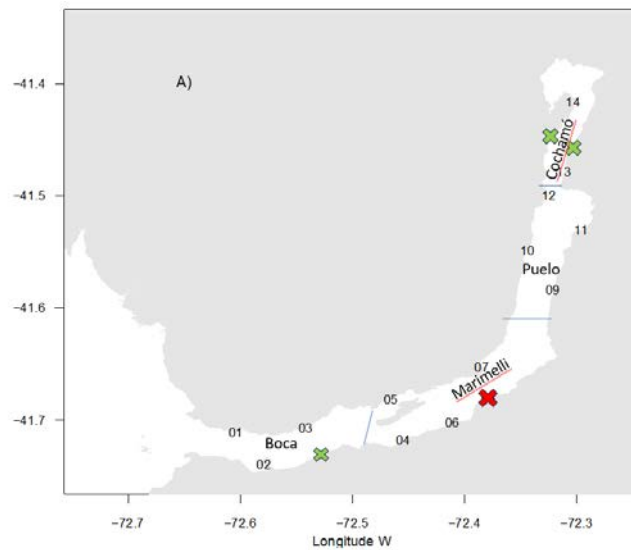


Figura 2. Propuesta de sitios en Hualaihué. En cruces negras son estaciones muestreadas en 2020. Cruces de San Andrés verdes muestran nuevas estaciones sugeridas para muestreo 2023

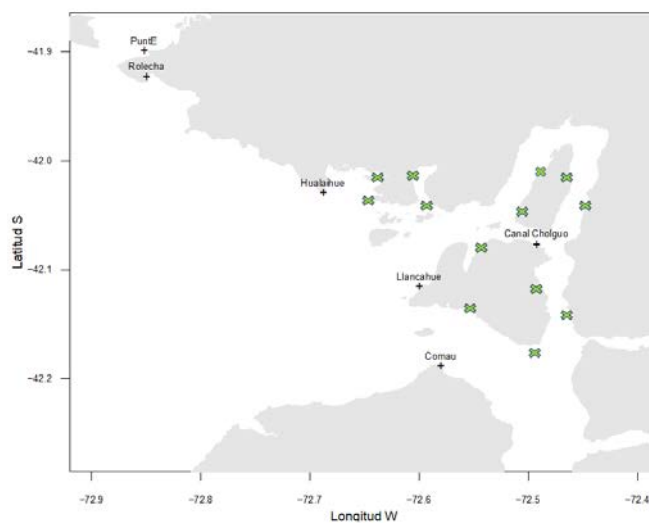
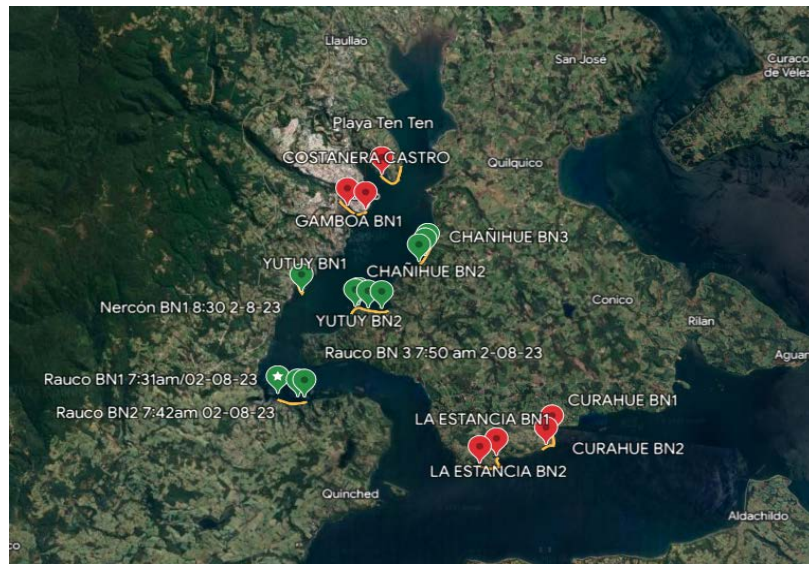
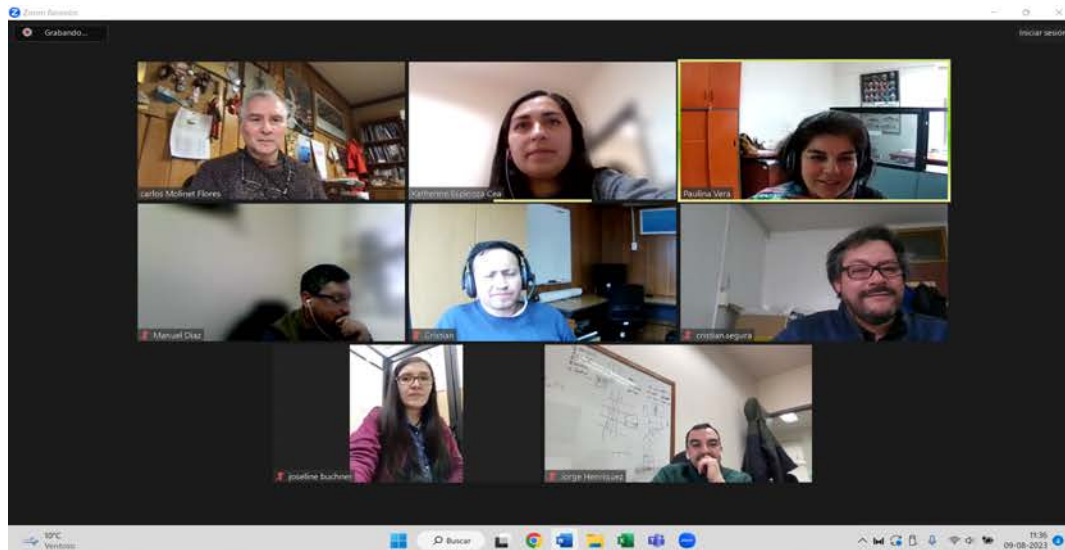


Figura 3. Prospección en Sector de Estero Castro y Canal Lemuy. Símbolos verdes indican presencia de bancos de *Mytilus chilensis*. Símbolos rojos indican ausencia de bancos de *M. chilensis*.



Captura de pantalla de Participantes de la reunión



Finalmente, se comentó el Requerimiento metodológico 5.2.6. “Proponer y consensuar con la contraparte técnica, al menos, 3 bancos naturales en cada sector, que pudieran ser fuentes de semillas para el Fiordo Reloncaví y las comunas de Hualaihué y Castro, y la metodología para su seguimiento en el tiempo”, y requerimiento metodológico 5.2.7. Realizar los muestreos en el tiempo de los bancos naturales consensuados con la parte técnica. Relevante a las fechas de muestreo, por lo que se enviara un documento con la propuesta.

En este sentido se aclaró, de parte de la contraparte técnica, que las fechas indicadas en las bases técnicas eran sólo referenciales, dados los tiempos de licitación y adjudicación de la propuesta. Una vez muestreados los bancos se espera definir las fechas de muestreos.

10.6. Anexo 2.1. Taller metodológico de recolección de video transectos

TALLER METODOLÓGICO DE RECOLECCIÓN DE INFORMACIÓN A TRAVÉS DE VIDEO TRANSECTOS

Proyecto FIPA 2023-01 **“Caracterización y evaluación ecológica y genética de los bancos naturales de mitílidos y su aporte a la disponibilidad de larvas para la actividad de colecta de semillas, etapa 1: Fiordo Reloncaví y comunas de Hualaihué y Castro”**

Objetivo general del taller: Presentar la metodología de registro de bancos de mitílidos a través de video transectos para su análisis y discusión

Jueves 10 de agosto

PROGRAMA

14:30 - 15:00 hrs	Contexto del taller y Presentación del diseño metodológico de la recolección de video transectos.
15:00 - 15:10 hrs	Preguntas
15:10 - 15:40 hrs	Como se lleva a cabo el procesamiento de los videos transectos y su validación.
15:40 - 15:50 hrs	Preguntas
15:50 - 16:20 hrs	Análisis de la información. Indicadores
16:30 - 17:30 hrs	Espacio de discusión, recomendaciones y sugerencias al diseño metodológico.

Lista de participantes Taller metodológico de recolección de información a través de video transectos

Participantes	Institución
Paulina Vera	Sub-Pesca
Andrés Venegas	Sub-Pesca
Cristian Escalona	Sub-Pesca
Loreto Gaviño	Sub-Pesca
Cristian Segura	IFOP
David Opazo	IFOP
Jorge Tilleria	Fundación Chiquihue
Alfonso Colil	Fundación Chiquihue
Marco Leal	Fundación Chiquihue
Marco Carvajal	Fundación Chiquihue
Marcelo Rivas	Fundación Chiquihue
Camila Miranda	Patagonia Rov
Pedro Sanzana	Patagonia Rov
Héctor Plaza	Fishing Partners
Grupo de trabajo	Fishing Partners
Leandro Plaza	Fishing Partners
Vicente Fernández	
Catalina Cisternas	
Thamara Matamala	Universidad Austral de Chile
Joseline Buchner	Universidad Austral de Chile



Objetivo General

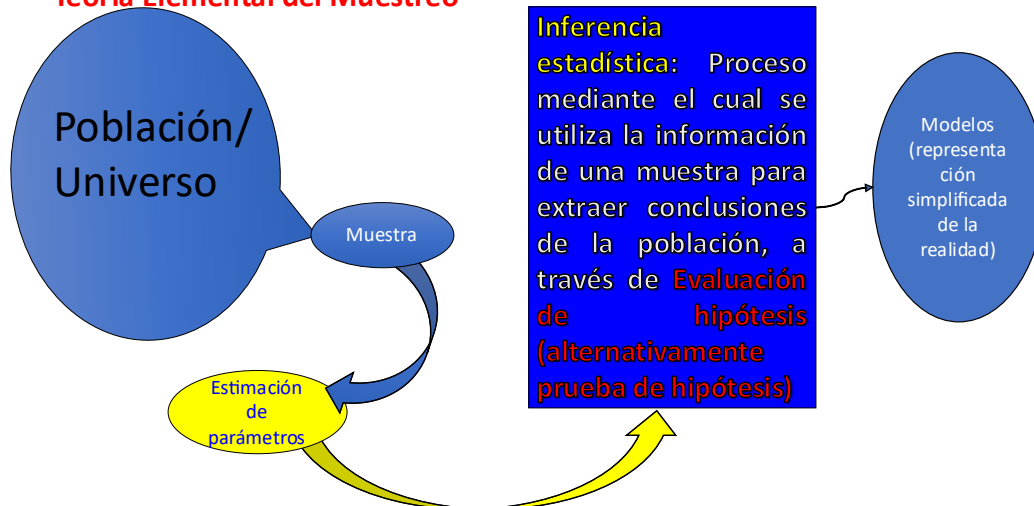
Presentar la metodología de registro de bancos de mitílidos (chorito y cholga principalmente) a través de video transectos, para su análisis y discusión

- Contexto
- Recolección de información
- Procesamiento de videos
- Indicadores y estimación

Diseño de muestreo

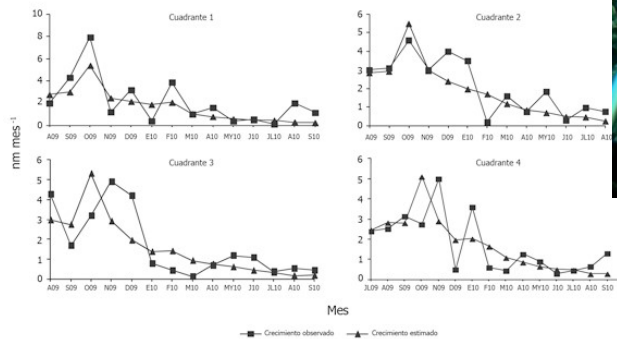
- El muestreo (Sampling): consiste de seleccionar una parte de una población para observarla, de forma de poder inferir algo acerca de la población completa (Thompson 1992).

Teoría Elemental del Muestreo



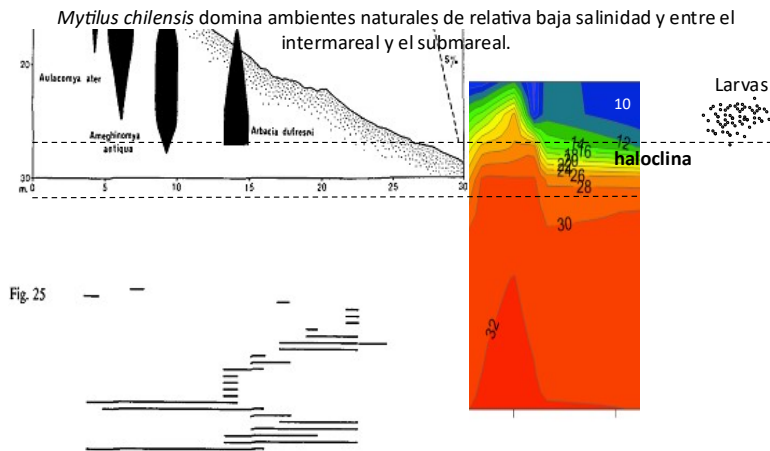
* La teoría del muestreo estudia la relación entre una población y las muestras obtenidas de ella. A partir del muestreo se pueden estimar parámetros desconocidos de una población, los que se denominan estadísticos.

Porqué las imágenes



Contexto: Qué sabemos de los Bancos de mitilidos

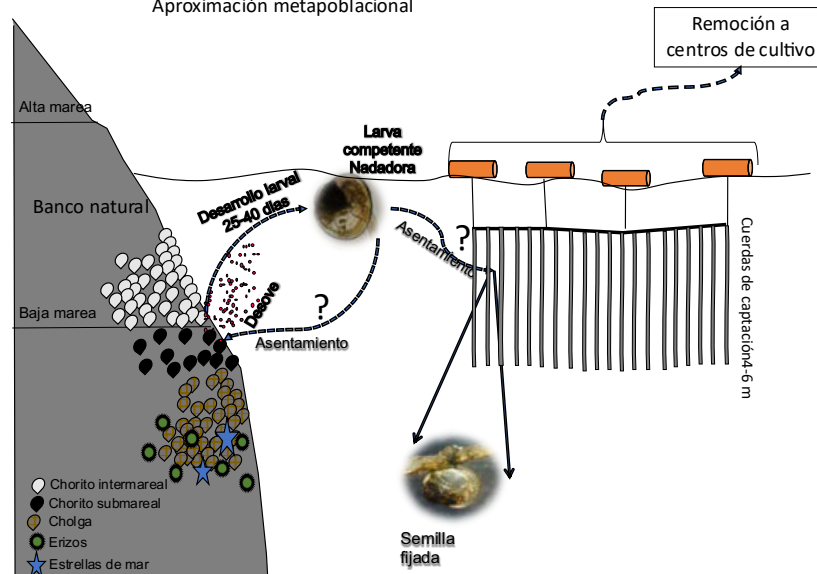
Efecto de la haloclina en *M. chilensis*?



Distribución batimétrica de especies bentónicas en fondos rocosos. Tomado de Viviani (1979)

7

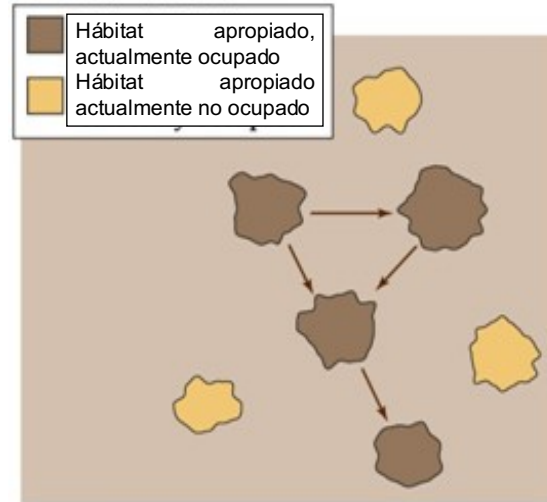
Aproximación metapoblacional



¿Cual es la aproximación teórica?

Subpoblaciones en una metapoblación

Esta es típicamente la escala de los bancos de pesca, unidades tradicionales usadas para evaluación de stock (Orensanz et al 2006)



Jerarquía de las escalas espaciales
(Orensanz and Jamierosn 1998)

- Megaescala
- Macroescala
- Mesoescala: procesos de expansión y contracción (extinciones locales)
- Microescala: fragmentación
- Nano escala: asentamiento

Banco=Mesoescala



Qué sabemos de los bancos naturales en el área de estudio?

Área de estudio

Las actividades de muestreo en terreno deberán efectuarse a lo largo de todo el **Estuario Reloncaví**, **comuna de Hualaihue** (Canales **Hornopiren**, **Cholgo**, **Ilancahué**, **LLanchid**, **estero Pichicolo** y **ensenada Gualaihué**) y en la comuna de **Castro** (**Estero Castro** y **canal Lemuy**), considerando puntos de muestreo en ambos costados de fiordos y canales.



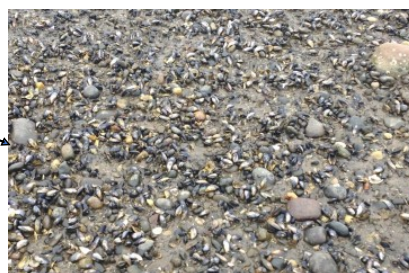
Estuario, Fiordo



Estuario tipo Planicie, Yaldad



Otros “bancos”



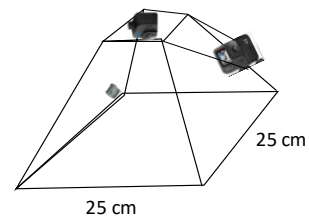
Recolección de muestras, video transectos (trineo)

5 transectos por estación,
Separados por 50 m app.



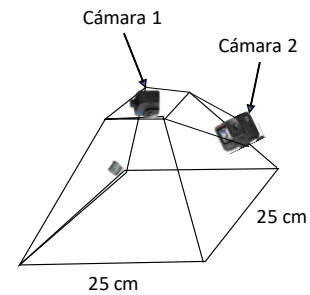
Recolección de muestras. Videos

- Uso de marco piramidal con dos cámaras (vertical (conteo) y transversal (identificación))
- Base de marco 25x25 cm
- Se comienza a muestrear en el límite inferior de cholga (12-18 m, dependiendo de la marea)
- Se graba todo el recorrido
- Como referencia buzo indica dónde identifica la choritos, para diferenciar de cholgas.



Recolección de muestras. Tallas, morfos y conteo calibración

- Uso de marco piramidal con dos cámaras (vertical y transversal)
- 4 cuadrantes (desde inicio de choritos) por transecto, en bolsas separadas (se identifica profundidad y hora).
- Se graba y luego se remueven todos los choritos del cuadro
- Se mide ancho y largo de choritos por morfo (con fotografía)

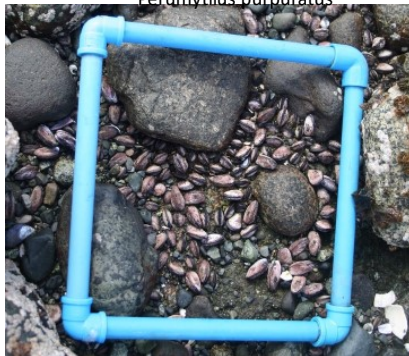


Morfos









Intermareal Rolecha

Perumytilus purpuratus



Mytilus edulis?



	6.4	1.4	
	6.8	3.3	
	10.1	5.2	

PROCESAMIENTO DE VIDEO TRANSECTOS

Datos generales

- El análisis de video transectos se realiza utilizando el programa VLC Media Player.
- Para el registro de la información de cada video se entrega en planilla de papel (la cual posee un formato único)
- Para comenzar con la identificación de especies se debe esperar que el trineo llegue por debajo del cinturón de mitílidos, una vez que este se detenga y comience a subir se da inicio a los registros hasta llegar al límite superior del intermareal. Es importante esperar que el trineo quede detenido en cada cuadro de muestreo para tener la mejor calidad de imagen que permita una correcta identificación de las especies.
- Cualquier anomalía en la revisión el video se debe registrar en las observaciones de cada video transecto.

Planilla de registro de identificación de video transectos

Nombre Sector		Número de Hoja	1	Procesado	
Nombre Video		N° de Transecto		Validado	
Fecha y Hora Inicio Video		Altura marea		Digitado	
Duración Video		Medida de Pantalla		Validación	
Punto GPS Transecto				Total Registros	

Nro	Hora.cuadro	Prof (m)	Sustrato	Especie	Abundancia	Cobertura	Observaciones
1							
2							
3							
4							
5							

Referencias de visualización

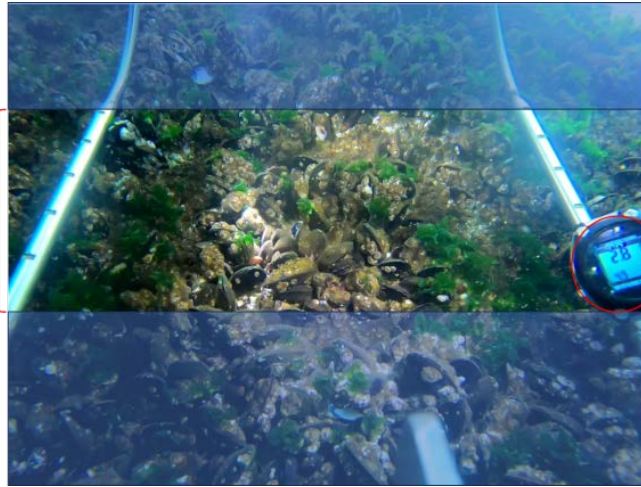
Una vez identificado el inicio del transecto se debe congelar la imagen en cada cuadro de muestreo (cuando el trineo se detenga), en el cual se debe registrar:

- Tiempo de grabación (hh:mm:ss)
- Profundidad (la cual estar dada por el profundímetro incorporado en el trineo)
- Tipo de sustrato:
 - i) Arena
 - ii) Grava
 - iii) Bolón
 - iv) Roca
 - v) Concha
 - vi) Conchilla
 - vii) Coralina
 - viii) combinaciones (ej. arena-grava, arena-bolón, arena-roca, grava-bolón, grava-roca, bolón-roca)

Referencias de visualización

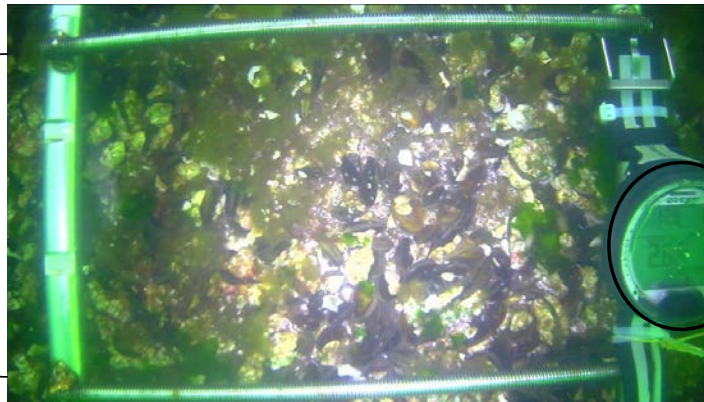
- Identificar presencia de especies registrando abundancia y cobertura (según corresponda), siempre y cuando se identifiquen claramente las especies presentes.
- Las especies a identificar son:
 - i) Mitílidos (chorito, cholga)
 - ii) Equinodermos
 - iii) Cirripedios
 - iv) Crepipatela
 - v) *Metridium senile*
 - vi) *Saccharina japonica*

Cuadro de
Muestreo

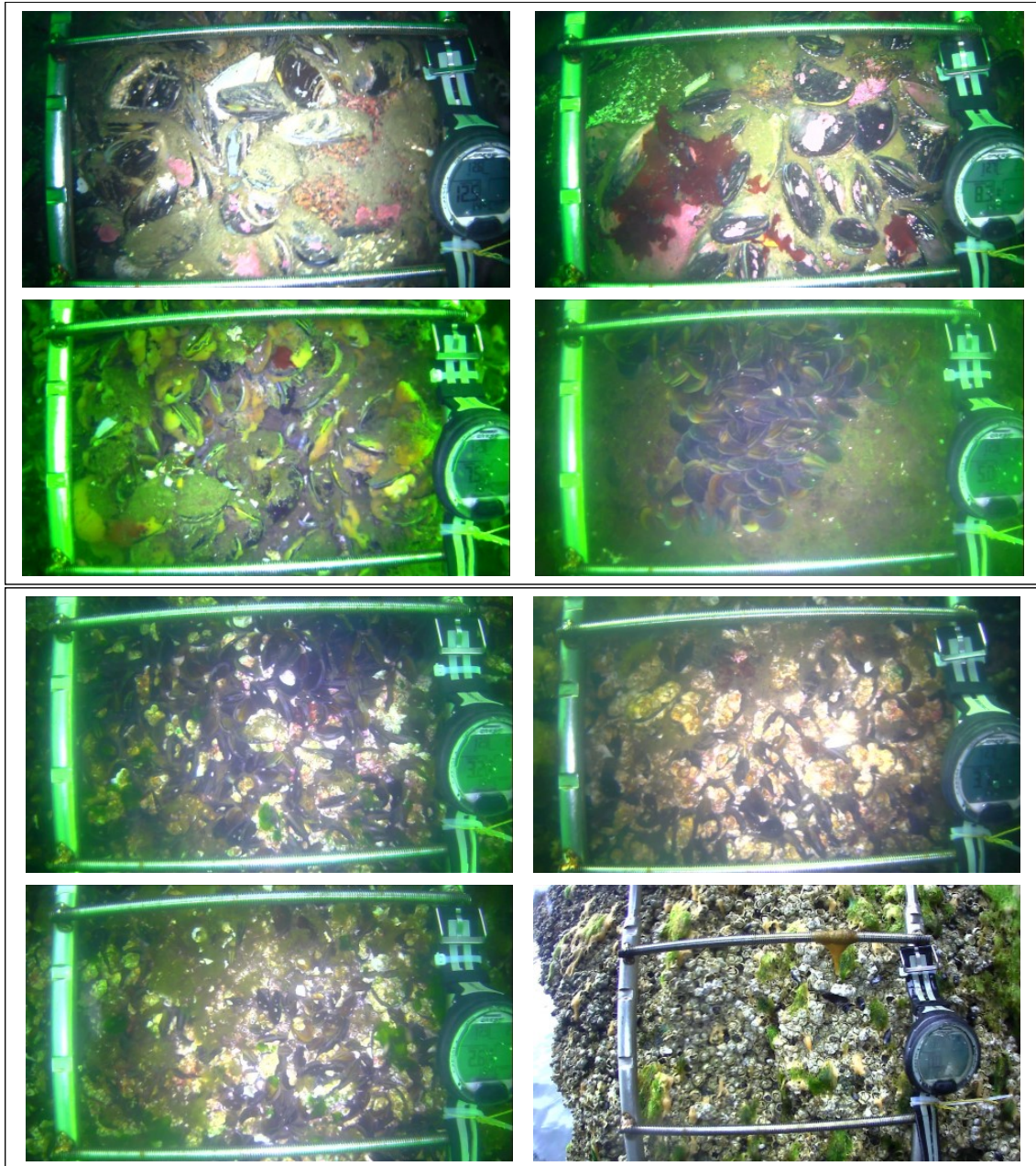


Profundímetro

Cuadro de
muestreo



Profundímetro



VALIDACIÓN









Una vez entregadas las planillas de video por parte del analista, el encargado de los videos hace una revisión de 10 cuadros de cada video transecto, en donde se evalúa concordancia. En el caso de no existir un 100% de concordancia el video es devuelto al analista para ser nuevamente revisado poniendo atención en las fuentes de error.

INGRESO BASE DE DATOS

POLIGONO	: No Asignado	FECHA	: 27-02-2020
PROYECTO	: 31024-2020	SECTOR	: Picothuen
TIPO DE MUESTRA	: TRINCO		

Presencia Asistencia	
Punto Inicial	Punto Final
Hora De Inicio	Hora De Fin
Duracion Del Video	
Distancia Recorrida	Profundidad
Nombre Video	
Responsable	Observador
Anotaciones	

Guardar

Registros asignados										
Item	Punto inicial	Punto final	H. Inicio	H. Fin	Distancia Recorrida	Profundidad	Estado	Nombre video	Responsable	Opciones
1)	S10	S11	10:45:00	10:47:02	12		✓	Capture0056-6	Jorge Henriquez	 
2)			10:47:03	10:47:32			✓	Capture0057-7	Jorge Henriquez	 
3)	S12	S13	10:53:00	10:57:11	11		✓	Capture0058-8	Jorge Henriquez	 
4)	S14	S15	11:14:00	11:16:43	12		✓	Capture0059-9	Jorge Henriquez	 

POLIGONO	: No Asignado	PUNTO INICIAL	: 514	NOMBRE VIDEO	: Capture0059-9
SECTOR	: Pochuhen	PUNTO FINAL	: 515	N° TRANSECTA	: 3
FECHA VIDEO	: 27-02-2020	ALTO PANTALLA	:	MODELO EQUIPO	: Seadrop HD 6000
HORA VIDEO	: 11:14:00	H.R.T. LASER	:	RESPONSABLE	: Jorge Henríquez
DURACION VIDEO	: 00:02:43	MEDIDA PANTALLA	: 477	OBSERVADOR	: Kathy Espinoza
OBSERVACIONES					

Agregar Detalle							
tiempo cuadro	MI lower cuadro	MI alto cuadro	substrato 1	substrato 2	especie	abundancia	cobertura
			Selección...	No Asignado	Selección...		

Registros Asignados

Estado Registro: Lista Guardar

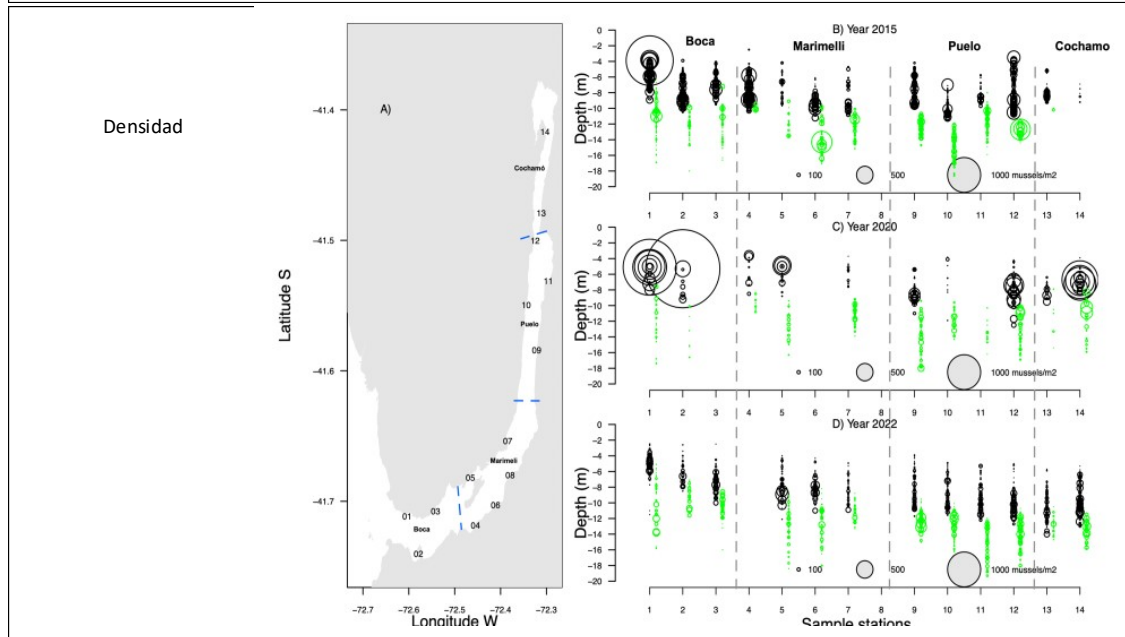
Viendo 1-10 de 71 resultados.

tiempo cuadro	MI lower cuadro	MI alto cuadro	substrato	substrato 2	Especie	Abundancia	Cobertura
00:02:36			roca	especie viva	Chlorophyta	30	
00:02:33			roca	especie viva	Chlorophyta	15	
00:02:32			roca	especie viva	Chlorophyta	20	
00:02:29			roca	especie viva	Chlorophyta	5	
00:02:27			roca	especie viva	Chlorophyta	5	
00:02:23			roca	especie viva	No Asignado		
00:02:22			roca	especie viva	No Asignado		
00:02:19			roca	especie viva	Chlorophyta	5	
00:02:17			roca	especie viva	Chlorophyta	10	
00:02:15			roca	especie viva	Chlorophyta	10	

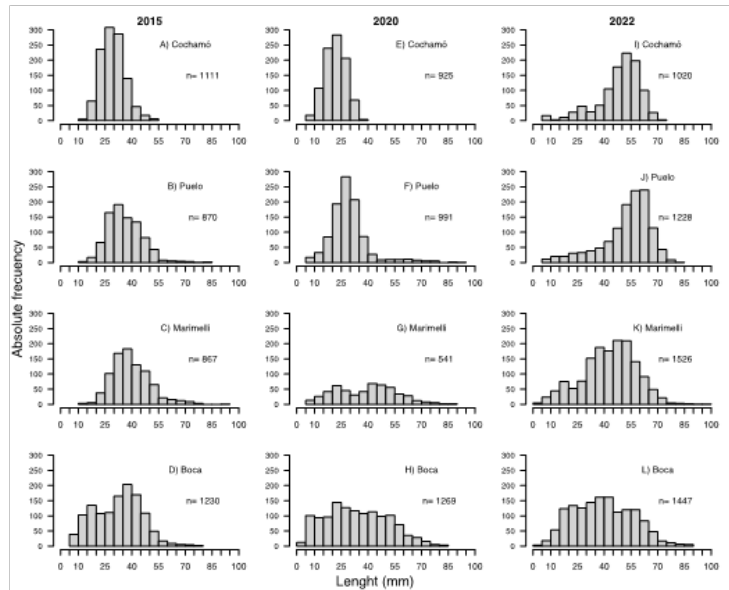
Indicadores

Indicadores

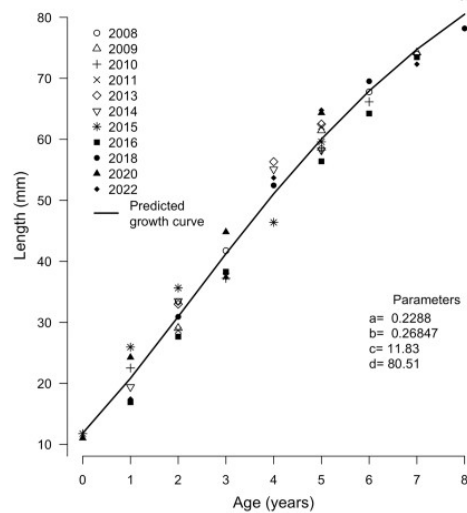
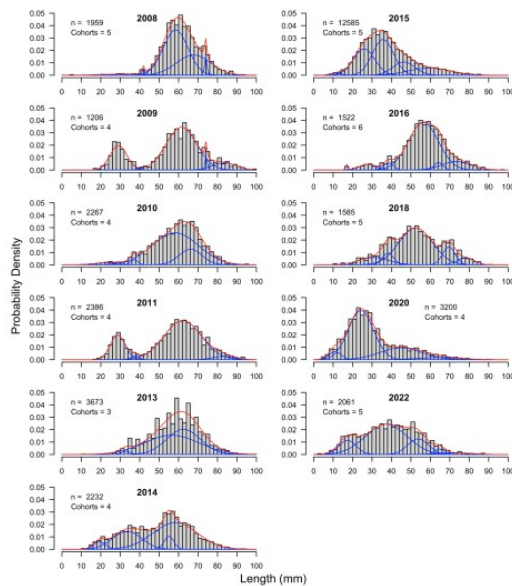
- Densidad, geoestadística o normal mixta
- Rango de parche o límites verticales (profundidad)
- Área con presencia
- Abundancia estimada
- Distribución de tamaños (reclutas, adultos)



Tamaños

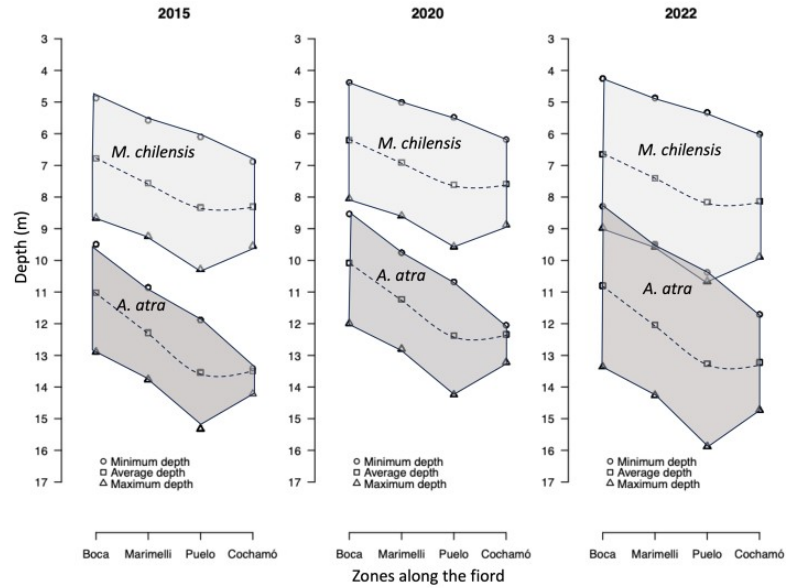


En progreso



Altura de bancos (ancho)

En progreso



Gracias

10.7. Anexo 2.2. Metodología procesamiento de videos

METODOLOGÍA VIDEOS MITÍLIDOS

RECOLECCIÓN DE VIDEOS

- Se utilizará una cámara GoPro Hero 7 montada en un trineo de 0.5 m de ancho por 0.25 m de alto, equipada con un profundímetro de 0.1 m de precisión, el cual debe quedar dentro del campo de visión de la cámara GoPro.
- El trineo será remolcado desde la embarcación, y un buzo mariscador ira manteniéndolo en posición para asegurar que este vaya siempre apoyado en la pared y evitar su volcamiento o trabas.
- La cámara GoPro debe ir en modo Gran Angular.
- Se debe registrar en la bitácora cada punto de muestreo marcado con GPS al inicio de cada video, la hora del comienzo de grabación y diferencia de altura de marea observada para su posterior corrección.

Figura 1. Bitácora de Muestreo.

FECHA: _____								
SECTOR	NUMERO TRANSECTA	WP INICIO	WP FIN	HORA INICIO GOPRO	HORA FIN VIDEO	NOMBRE VIDEO	ALTURA MAREA	OBSERVACIONES

PROCESAMIENTO DE VIDEOS

Datos generales

- Para el procesamiento de video transectos es necesario utilizar una pantalla estándar tipo monitor, de 440 mm de ancho de pantalla.
- El análisis de video transectos se realiza utilizando el programa VLC Media Player.

- El analista debe registrar la información de cada video entregada en la bitácora en planilla de papel (la cual poseerá un formato único, que será entregado junto con los video transectos), para reducir cualquier tipo de error.
- Cada uno de los videos procesados serán entregados al encargado en las planillas correspondientes para su validación, la cual consiste en revisar 10 cuadros de cada video transecto para revisar concordancia, en el caso de no existir un 100% de concordancia, el video es devuelto al analista para ser nuevamente revisado poniendo atención en las fuentes de error.
- Para comenzar con la identificación de especies se debe esperar que el trineo llegue por debajo del cinturón de mitílidos (≥ 15 m), una vez que este se detenga y comience a subir se da inicio a los registros hasta llegar al límite superior del intermareal. Es importante esperar que el trineo quede detenido en cada cuadro de muestreo para tener la mejor calidad de imagen que permita una correcta identificación de las especies.
- Cualquier anomalía en la revisión el video se debe registrar en las observaciones de cada video transecto.
- Una vez que el trineo sale a la superficie se debe seguir registrando la presencia de especies y la distancia observada en la guincha (en cm).

Figura 2. Planilla de procesamiento de videos.

Nombre Sector		Número de Hoja	1	Procesado	
Nombre Video		N°de Transecto		Validado	
Fecha y Hora Inicio Video		Altura marea		Digitado	
Duración Video		Medida de Pantalla		Validacion	
Punto GPS Transecto				Total Registros	

Nro	Hora.cuadro	Prof (m)	Sustrato	Especie	Abundancia	Cobertura	Observaciones
1							
2							
3							
4							
5							

Referencias de visualización

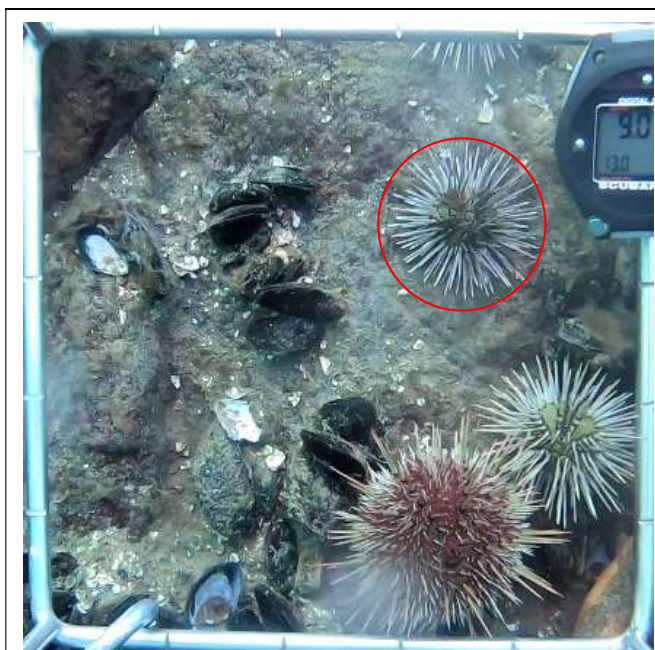
Una vez identificado el inicio del transecto se debe congelar la imagen en cada cuadro de muestreo (cuando el trineo se detenga), en el los cuales se debe registrar:

- Tiempo de grabación (hh:mm:ss)
- Profundidad (la cual estar dada por el profundímetro incorporado en el trineo)
- Tipo de sustrato:
 - i) Arena
 - ii) Grava
 - iii) Bolón
 - iv) Roca
 - v) Concha
 - vi) Conchilla
 - vii) Coralina
 - viii) combinaciones (ej. arena-grava, arena-bolón, arena-roca, grava-bolón, grava-roca, bolón-roca)
- Identificar presencia de especies registrando abundancia y cobertura (según corresponda), siempre y cuando se identifiquen claramente las especies presentes.
- Las especies a identificar son:
 - i) Mitílidos (chorito, cholga)
 - ii) Equinodermos
 - iii) Cirripedios
 - iv) Crepipatela
 - v) Metridium senile
 - vi) Saccharina japónica

Figura 3: Imagen de referencia de un cuadro de muestreo.



10.8. Anexo 2.3. Imágenes de fauna y flora acompañante en bancos de *Mytilus chilensis*



Arbacia dufresnii



Loxechinus albus



Aulacomya atra



Crepipatella dilatata



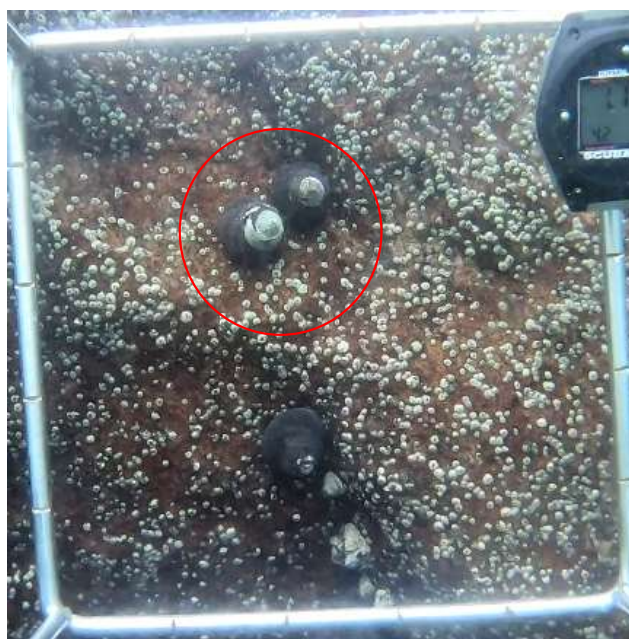
Asteroidea



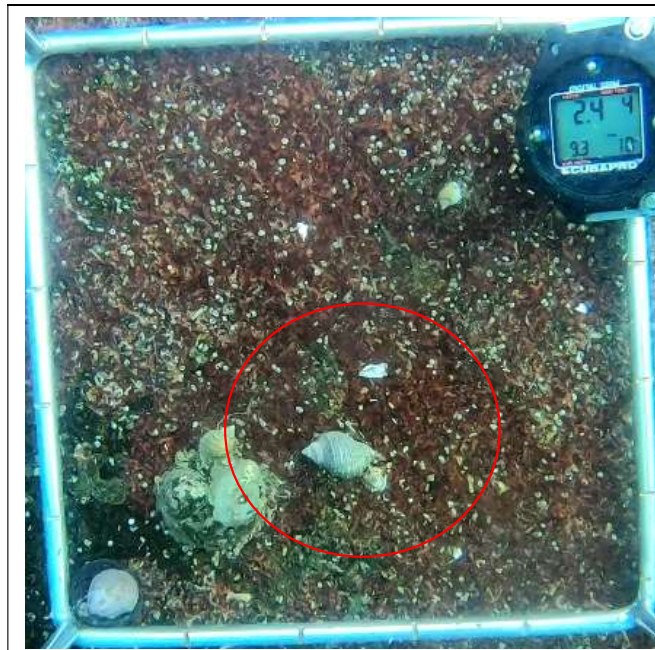
Metridium senile



Cirripedia



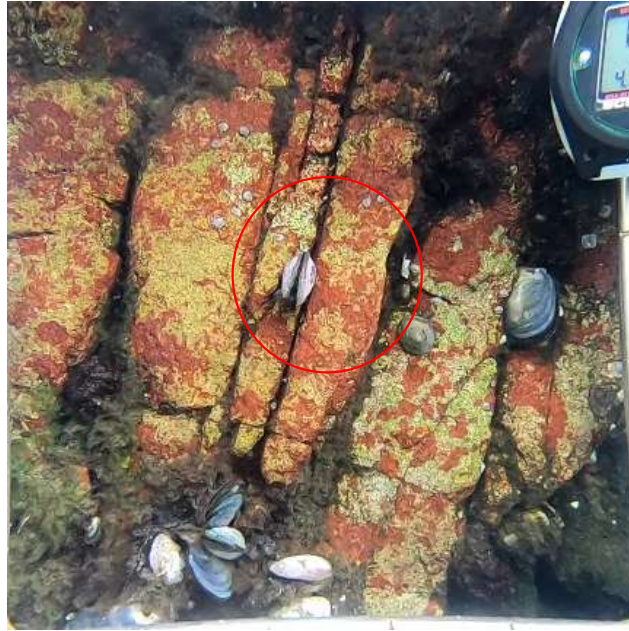
Tegula atra



Acanthina monodon



Mytilus chilensis

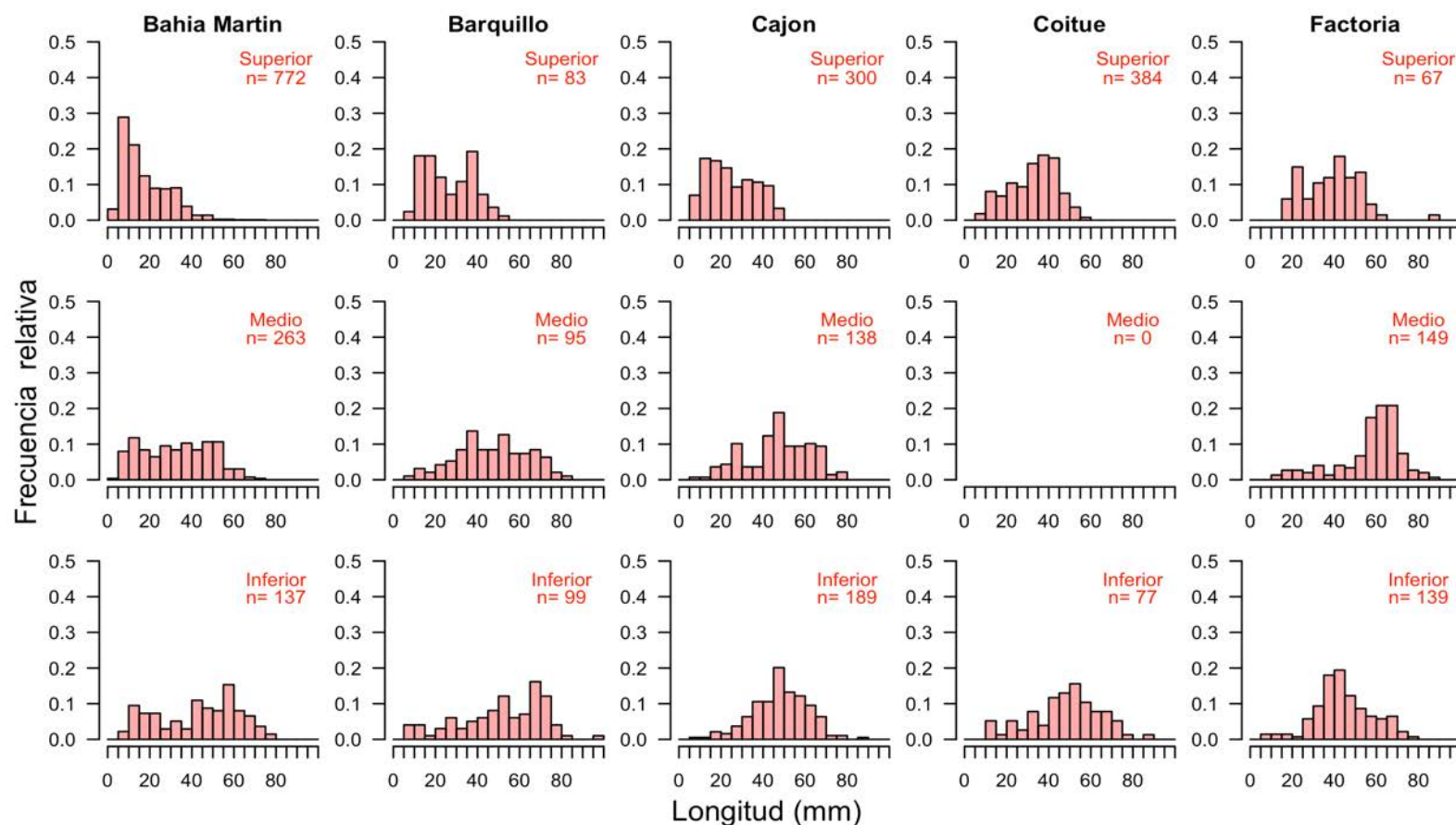


Perumytilus purpuratus

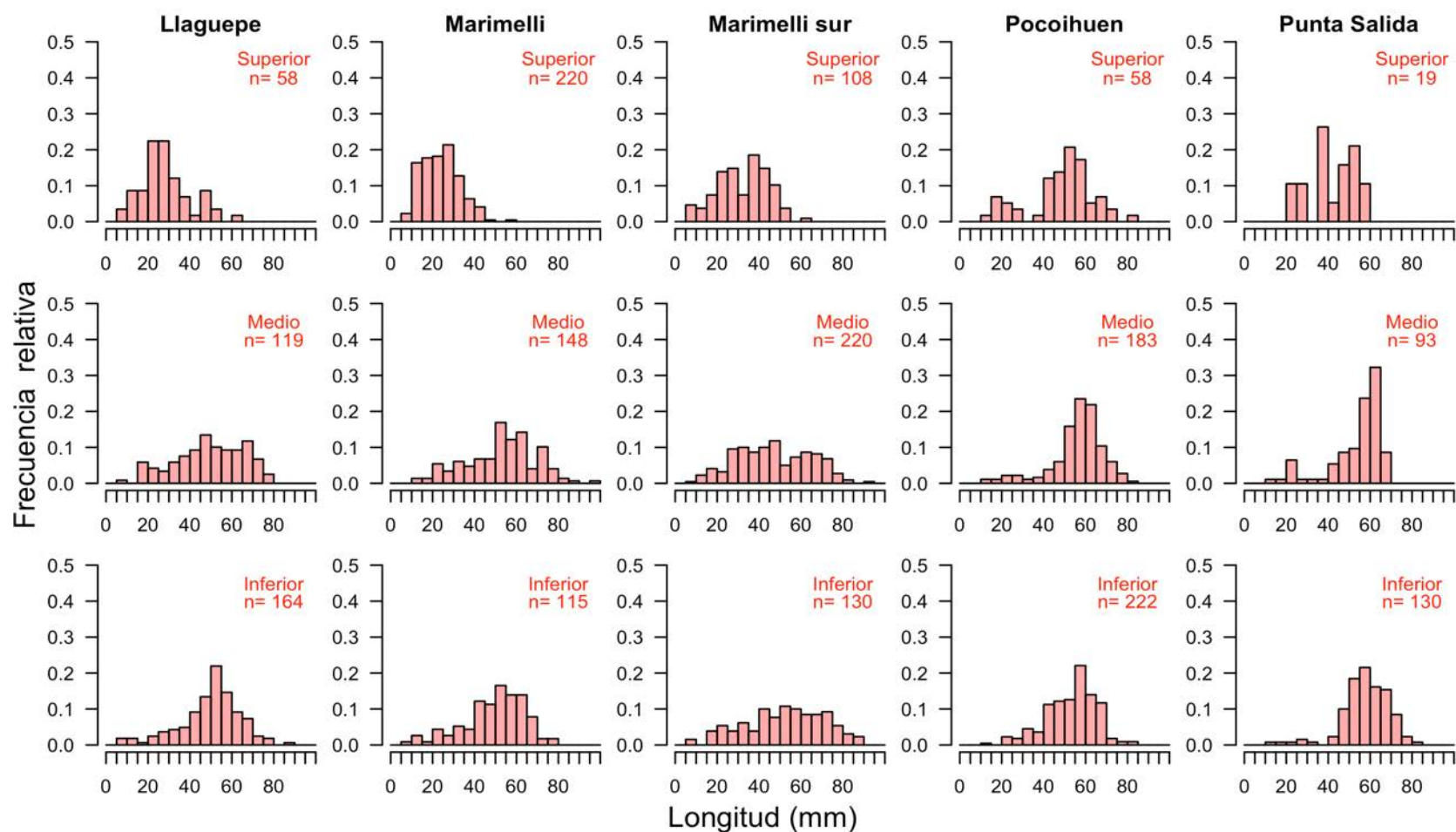


Choromytilus chorus

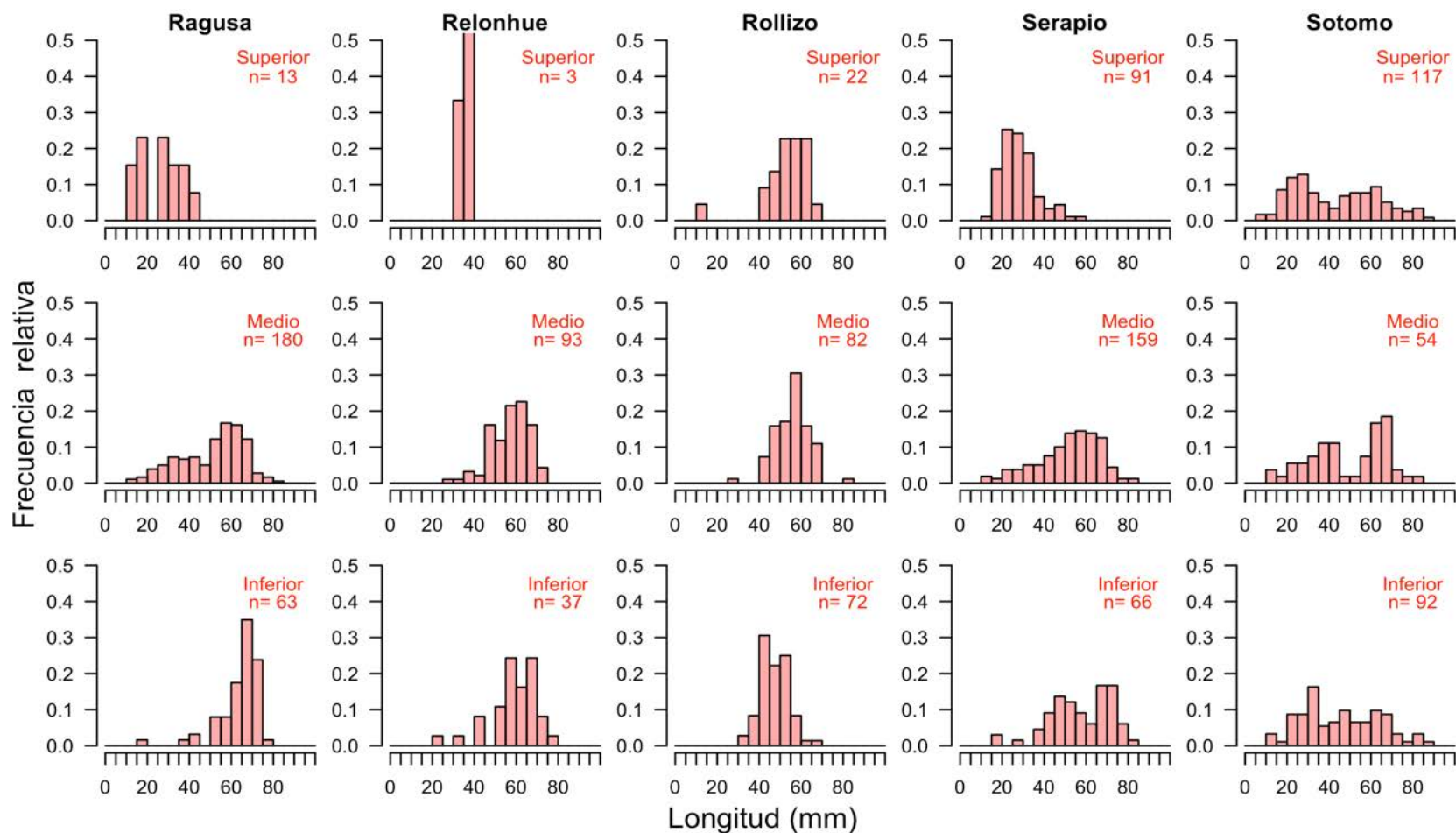
10.9. Anexo 2.4. Estructura de talla de *Mytilus chilensis* en las distintas estaciones



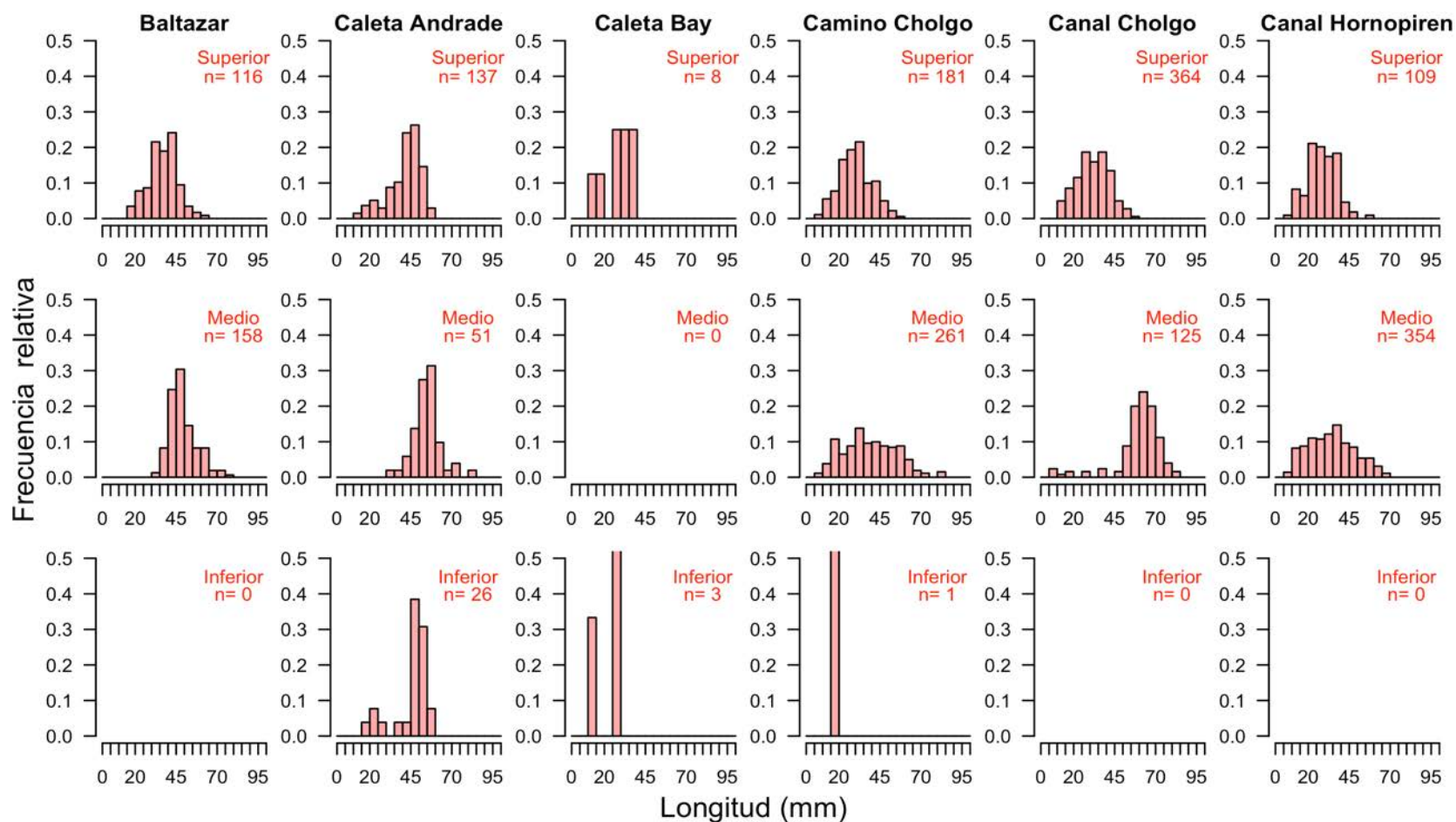
Estructura de talla de *M. chilensis* por estrato de profundidad superior, medio e inferior de las estaciones Bahía Martín, Barquillo, Cajón, Coitue y Factoría en la zona del Fiordo Reloncaví.



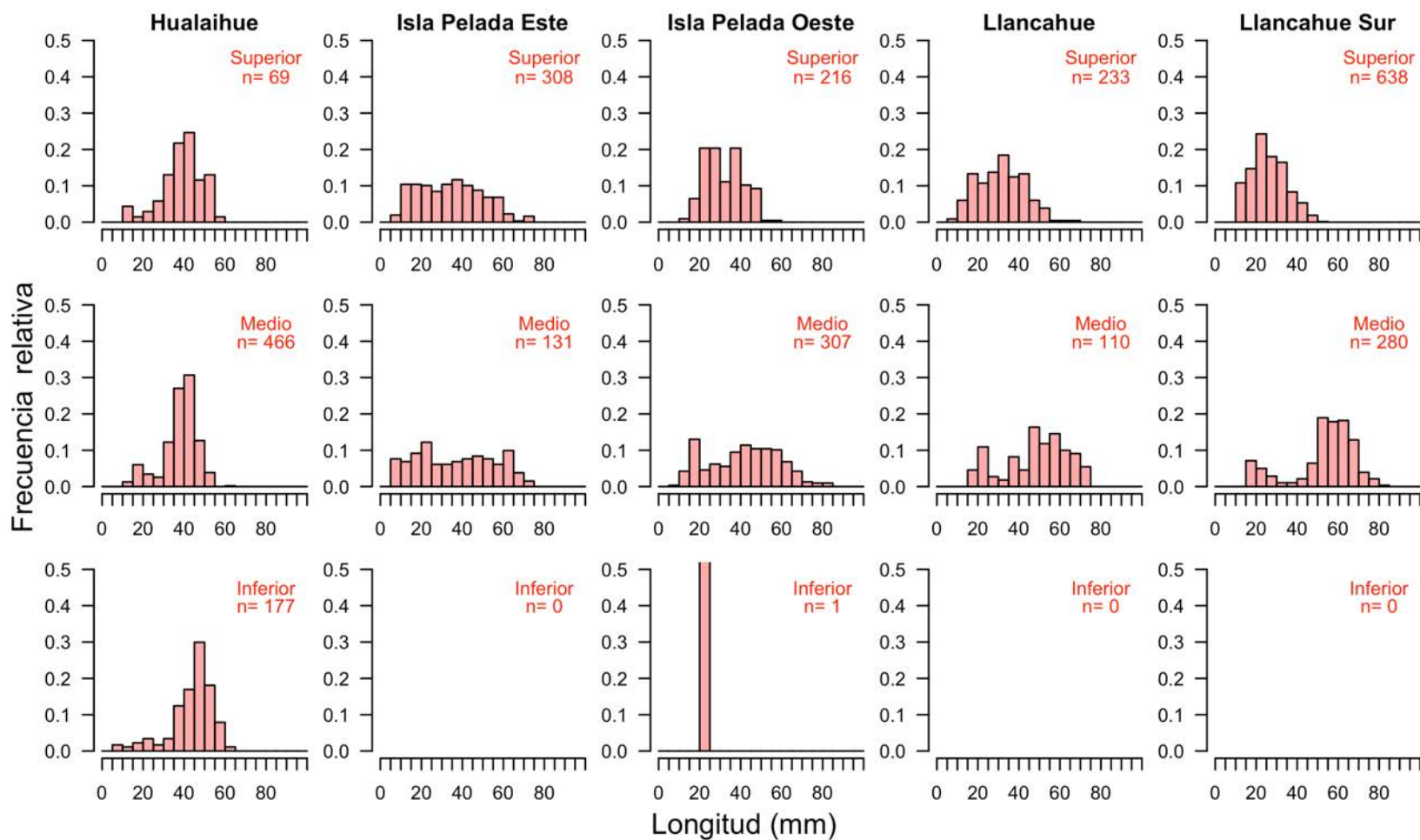
Estructura de talla de *M. chilensis* por estrato de profundidad superior, medio e inferior de las estaciones Llaguepe, marimelli, Marimelli Sur, Pocolihuen y Punta Salda en la zona del Fiordo Reloncaví.



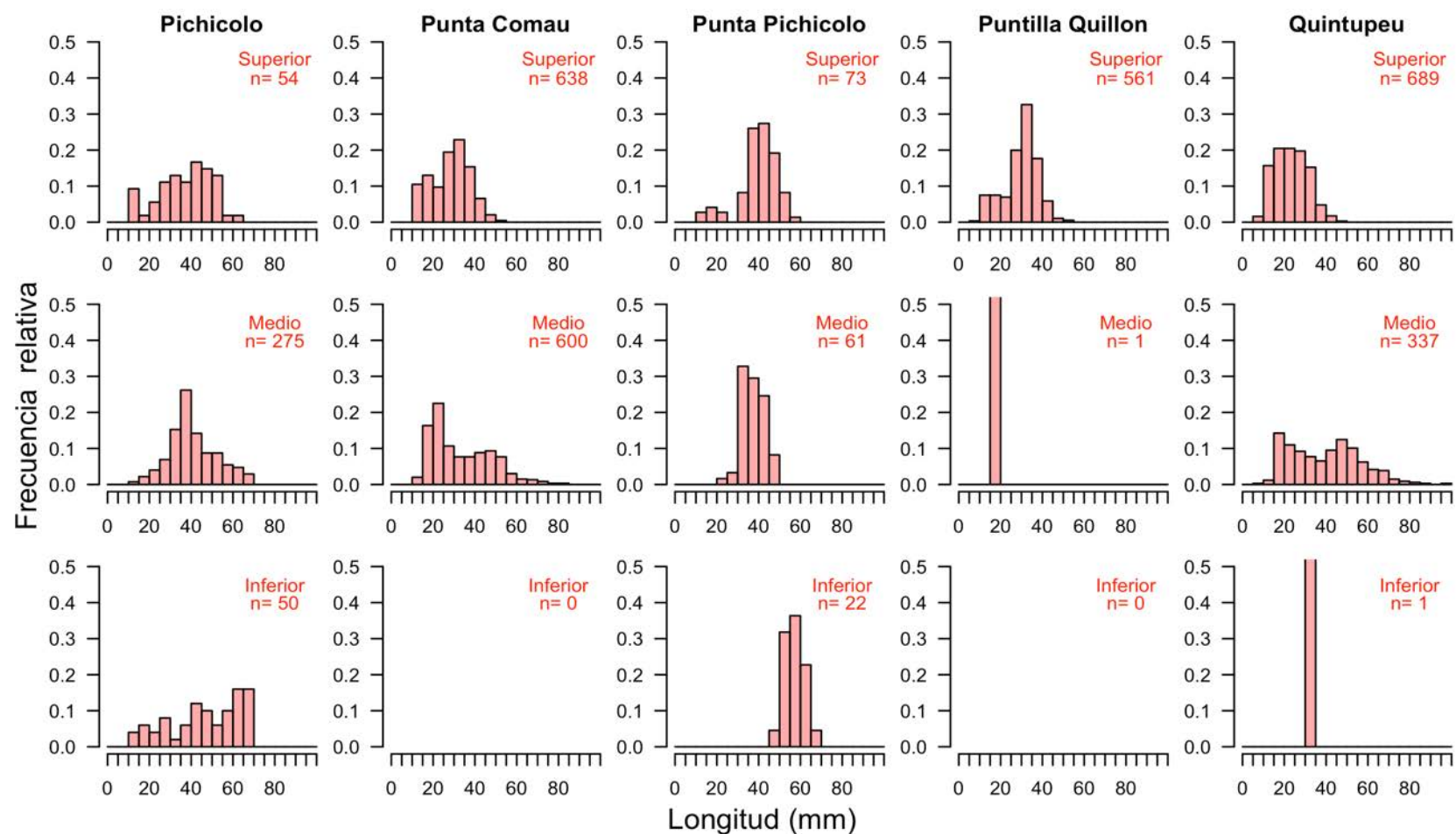
Estructura de talla de *M. chilensis* por estrato de profundidad superior, medio e inferior de las estaciones Ragusa, Relonhue, Rollizo, Serapio y Sotomó en la zona del Fiordo Reloncaví.



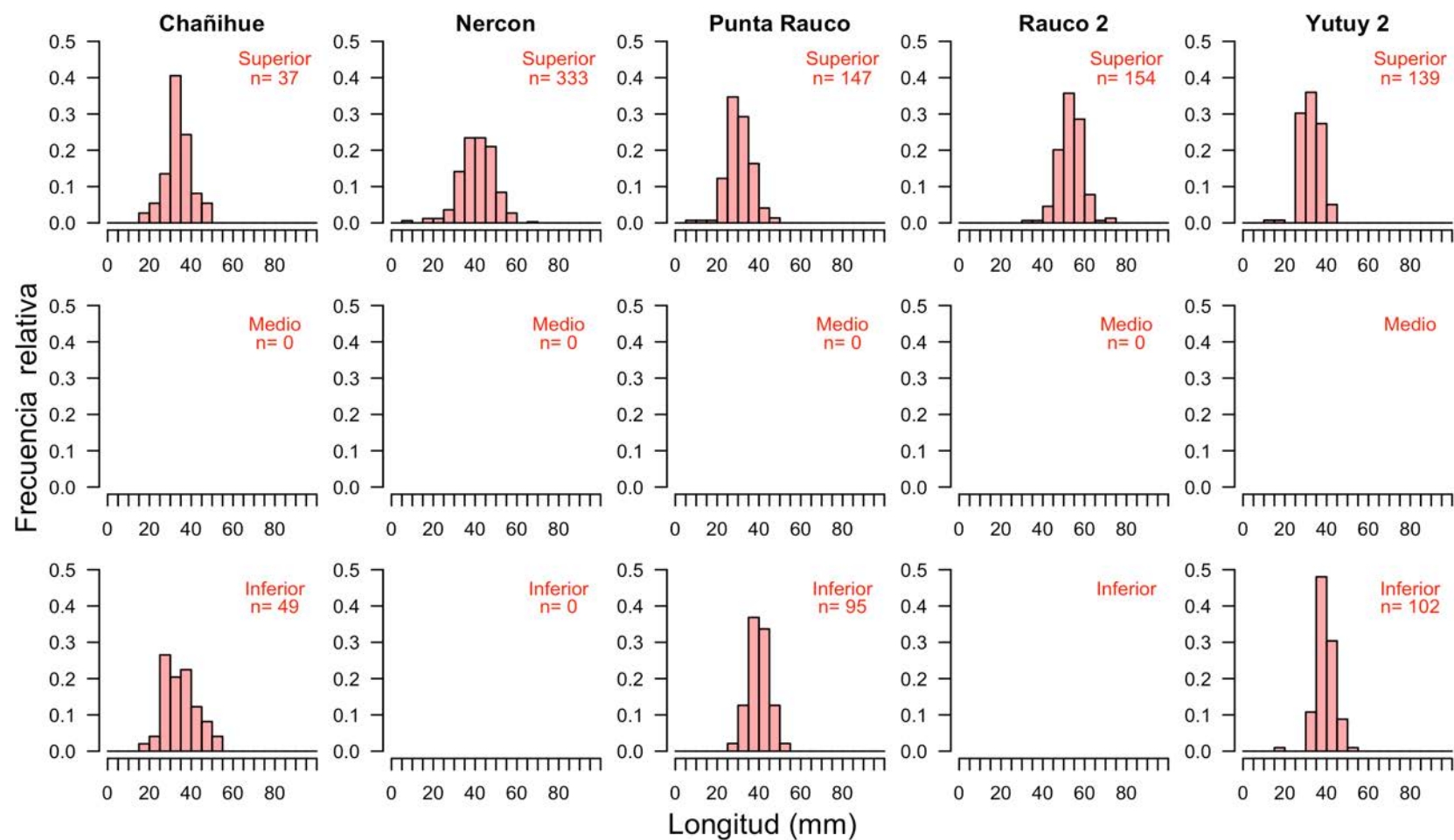
Estructura de talla de *M. chilensis* por estrato de profundidad superior, medio e inferior de las estaciones Baltazar, Caleta Andrade, Caleta Bay, Camino Cholgo, Canal Cholgo y Canal Hornopirén en la zona de Hualaihué.



Estructura de talla de *M. chilensis* por estrato de profundidad superior, medio e inferior de las estaciones Hualaihué, Isla Pelada Este, Isla Pelada Oeste, Llancahué y Llancahué Sur en la zona de Hualaihué.



Estructura de talla de *M. chilensis* por estrato de profundidad superior, medio e inferior de las estaciones Pichicolo, Punta Comau, Punta Pichicolo, Puntilla Quillón y Quintupeu en la zona de Hualaihué.



Estructura de talla de *M. chilensis* por estrato de profundidad superior, medio e inferior de las estaciones Chañihue, Nercón, Punta Rauco, Rauco 2, Yutuy 2 en la zona de Castro.

10.10. Anexo 2.5. Presentación y acta taller de consenso de bancos naturales para seguimiento FIPA 2023-01





Taller consenso de bancos naturales para seguimiento
“Caracterización y evaluación ecológica y genética de los bancos naturales de mitílicos y su aporte a la disponibilidad de larvas para la actividad de colecta de semillas. Etapa 1: fiordo Reloncaví y comunas de Hualaihué y Castro”
 FIPA 2023-01

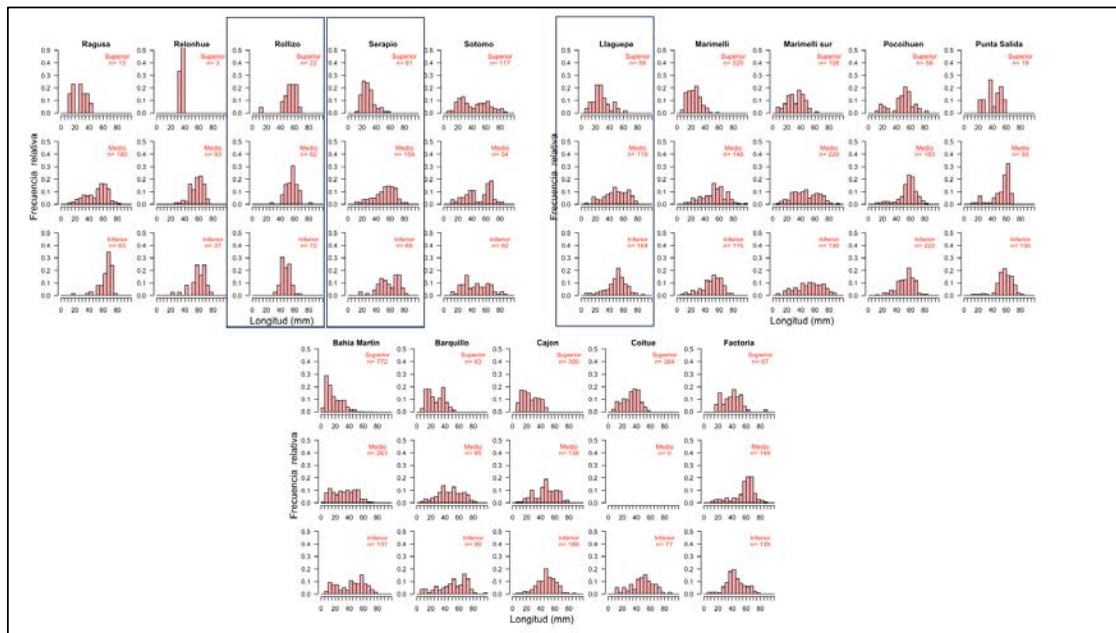
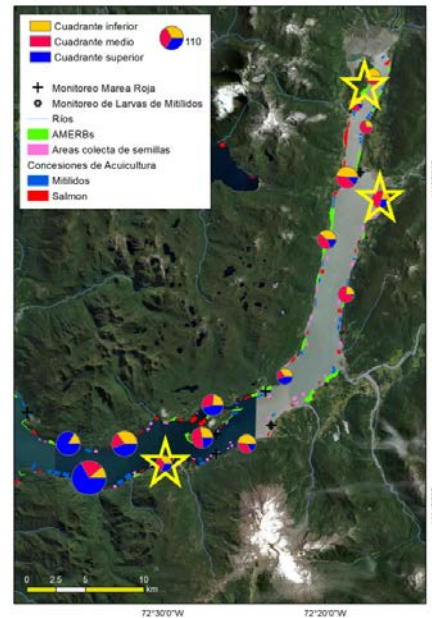
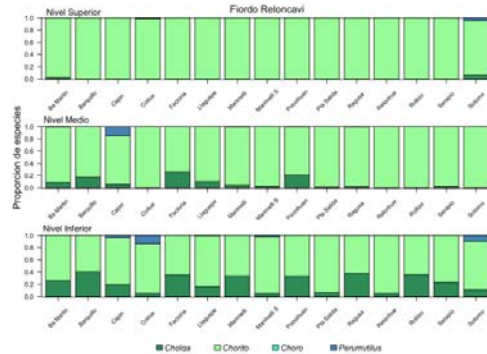


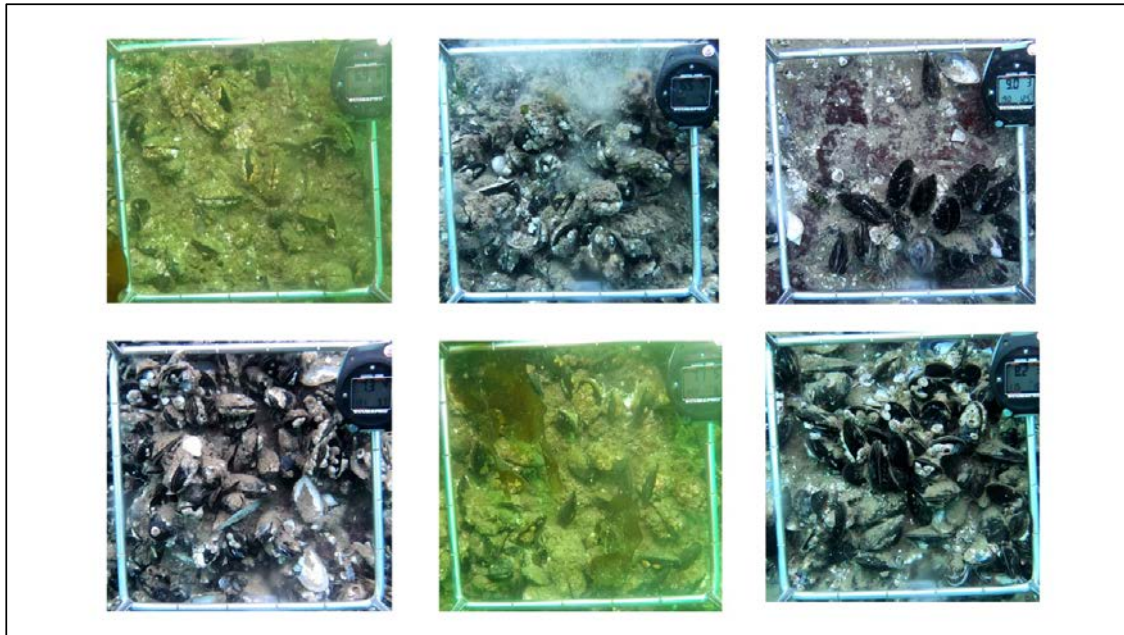
Objetivo 2

Requerimiento metodológico 5.2.6 y 5.2.7 de la bases técnicas

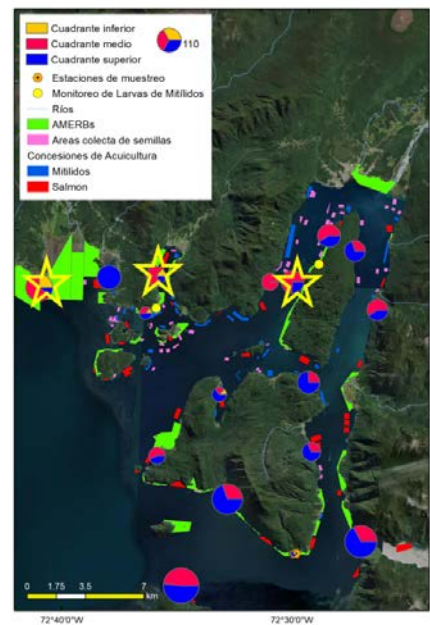
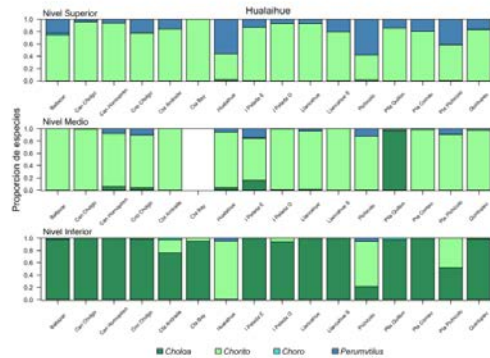
- Requerimiento metodológico 5.2.6: Proponer y consensuar con la contraparte técnica, al menos, 3 bancos naturales en cada sector, que pudieran ser fuentes de semillas para el Fiordo Reloncaví y las comunas de Hualaihué y Castro, y la metodología para su seguimiento en el tiempo.
- Requerimiento metodológico 5.2.7. Realizar los muestreos en el tiempo de los bancos naturales consensuados con la contraparte técnica.

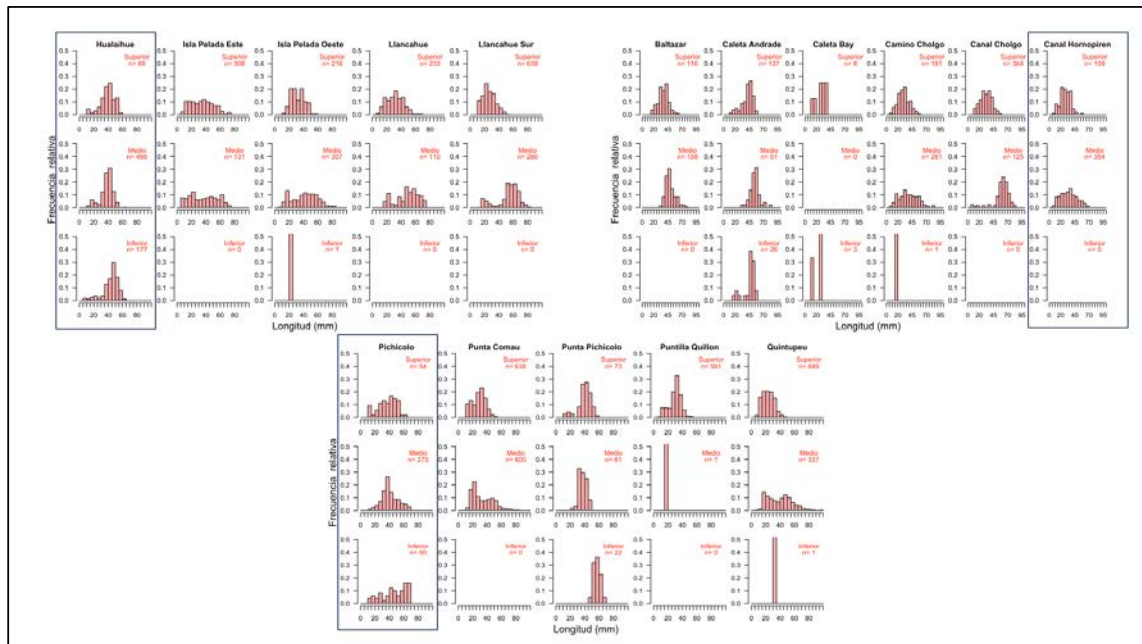
Fiordo Reloncaví



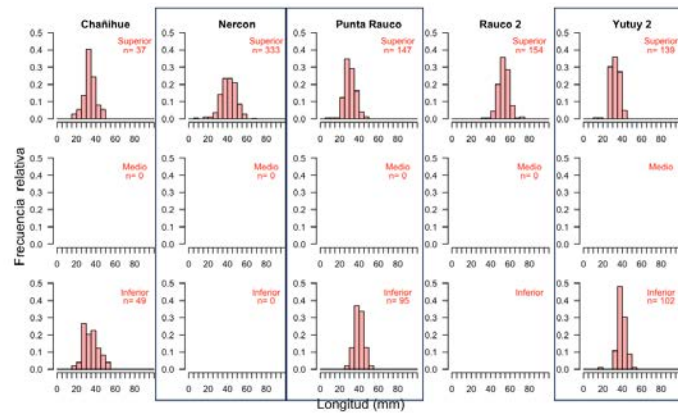
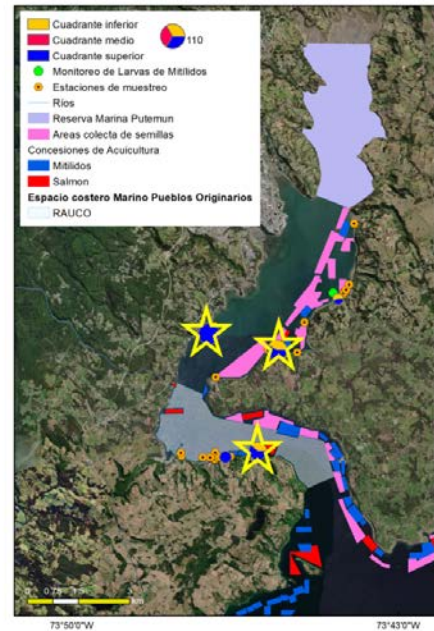
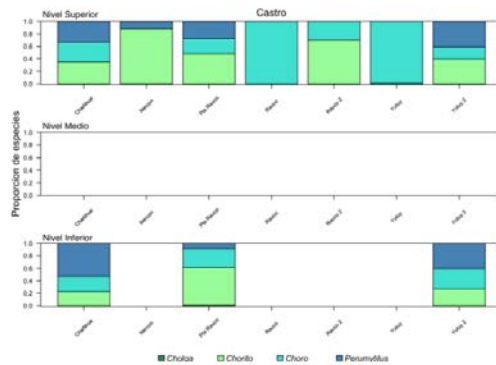


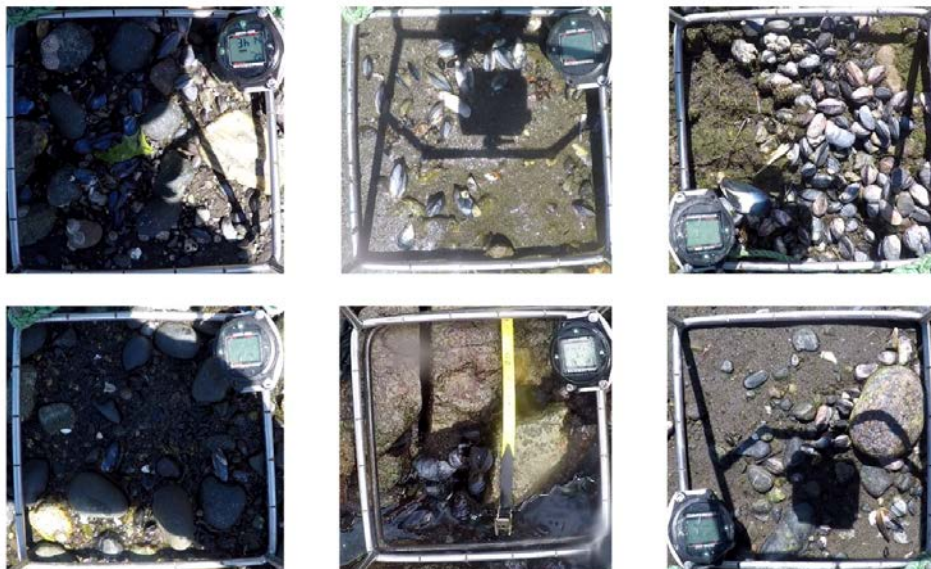
Hualaihué





Castro





Muestreo

Variables	banco	Colectores
Distribución de tamaños	X	X
Cambios en distribución y densidad (Videos)	X	
Densidad colectores		X

Acta de Reunión de consenso de bancos para seguimiento Proyecto FIPA 2023-01
“Caracterización y evaluación ecológica y genética de los bancos naturales de mitílidos y su aporte a la disponibilidad de larvas para la actividad de colecta de semillas. Etapa 1: Fiordo de Reloncaví y comunas de Hualaihué y Castro”

Fecha: 24 de noviembre de 2023

Horario: 11:30 a 12:30 horas

Modalidad: Virtual

Participantes

Subsecretaría de Pesca y Acuicultura	
Paulina Aguilera	Profesional FIPA
Paulina Vera Torres	Profesional de la Unidad de Gestión Sanitaria y Plagas (UGSP), División de Acuicultura
Cristian Escalona Salazar	Profesional Unidad de Recursos Bentónicos

Equipo de Trabajo FIPA 2023-01

Carlos Molinet Flores	Director de proyecto Universidad Austral de Chile
Jorge Henríquez Moreira	Universidad Austral de Chile
Katherine Espinoza Cea	Universidad Austral de Chile

La presente corresponde al acta de la reunión de consenso de bancos para seguimiento del Proyecto FIPA 2023-01 y dar cumplimiento al requerimiento metodológico 5.2.6 y 5.2.7.

La reunión estuvo dirigida por el director del Proyecto el cual realizó una presentación que incluyó los resultados parciales obtenidos del objetivo 2, con los cuales se propusieron los bancos a seguir y se indicaron los criterios de selección de estos (ver presentación adjunta).

Los bancos propuestos en el Fiordo Reloncaví fueron Rollizo, Serapio y Llaguepe; para la comuna de Hualaihué se propusieron los sectores de Hualaihué (El Manzano), Pichicolo y

Canal Hornopiren; en la comuna de Castro los sectores propuestos son Nercon, Punta Rauco y Yutuy 2.

Los criterios de selección de bancos fueron:

- Contar con presencia de individuos en los tres niveles (inferior, medio y superior) y mayor abundancia.
- Tener cerca un centro de captación de semillas y cultivadores que nos faciliten semillas.
- Contar con buen acceso terrestre para realizar el muestreo.

Acuerdos/Sugerencias

- Se solicita cambiar el nombre del sector Hualaihué por El Manzano para evitar confusiones.
- Se pide que si se observan algas verdes en el sector de El Manzano filmar la distribución de estas.
- Se acogen los sectores propuestos y criterios de selección.

Tabla 1. Sectores propuestos para seguimiento de bancos

Zona	Sector	Latitud (S)	Longitud (W)
Fiordo Reloncaví	Rollizo	41.443693	72.317245
	Serapio	41.516983	72.288923
	Llaguepe	41.705771	72.417873
Comuna de Hualaihué	Hualaihué (El Manzano)	42.030637	72.688711
	Pichicolo	42.021951	72.605302
	Canal Hornopiren	42.023487	72.522052
Comuna de Castro	Nercon	42.510686	73.784559
	Punta Rauco	42.54234	73.766549
	Yutuy 2	42.516197	73.760194



10.11. Anexo 4.1. Diseño y estandarización de partidores HRM para trazabilidad de semillas de *Mytilus chilensis*

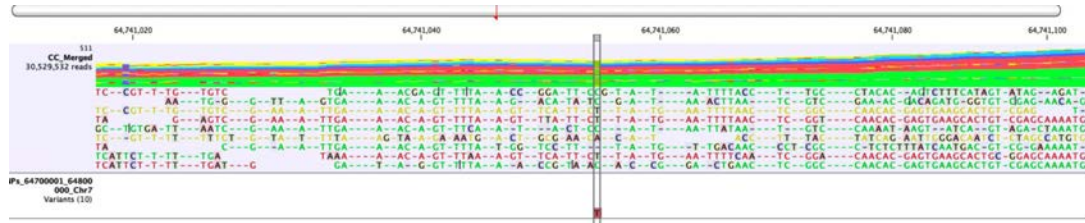
Anexo 1. Diseño y estandarización de partidores HRM para trazabilidad de semillas de *M. chilensis*

SNPs población CC

2

Búsqueda bioinformática CC_SNP3

Chr7_Región 64700001-64800000

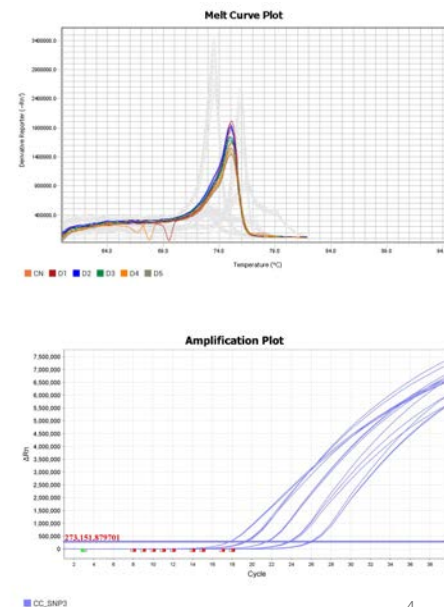
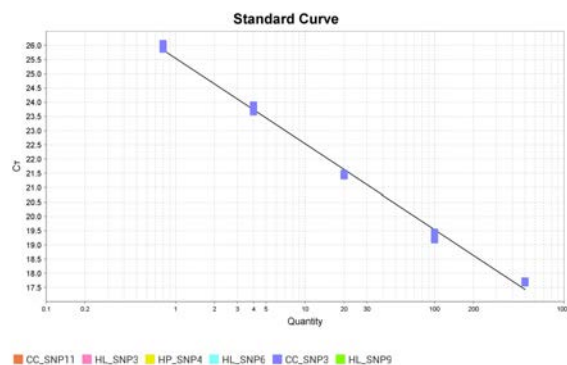


Region	Reference	Allele	Zygosity	Count	Coverage	Frequency
64741056	C	T	Homozygous	48	50	96

Población CC

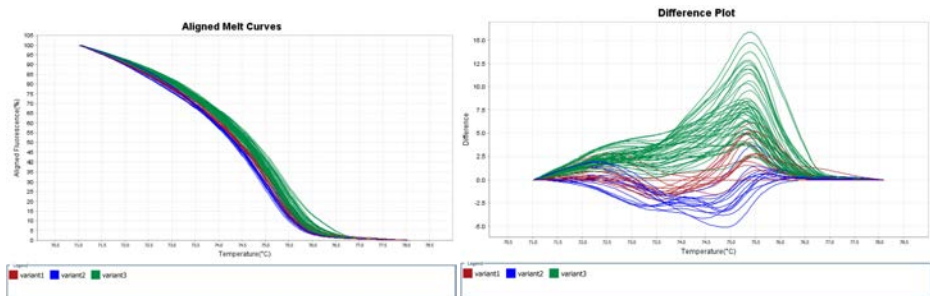
Estandarización qPCR

Partidor CC_SNP3



Sample	Variante
CC1	1
CC2	1
CC3	3
CC4	3
CC5	2
CC6	3
CY1	3
CY2	3
CY3	2
CY4	2
CY5	3
CY6	1
CY7	3
CY8	1
HL1	1
HL2	2
HL3	2
HL4	1
HL5	2
HL6	3
HL7	3
HL8	3
HP1	2
HP2	3
HP3	3
HP4	3
HP5	3
HP6	3
HP7	3
HP8	3
RL1	3
RL2	3
RL3	3
RL4	1
RL5	3
RL6	3
RL7	3
RL8	OMITIDA

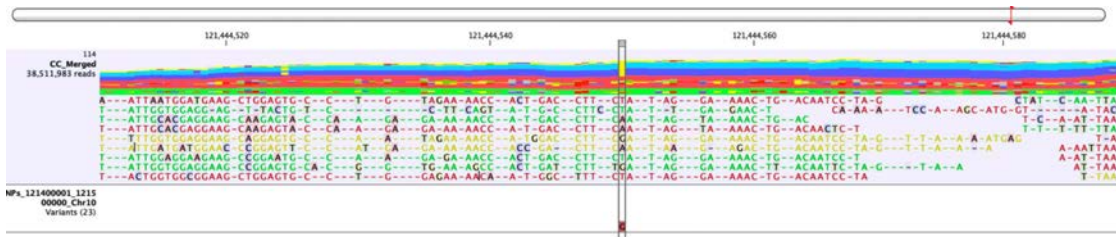
Resultados HRM CC_SNP3



5

Búsqueda bioinformática CC_SNP7

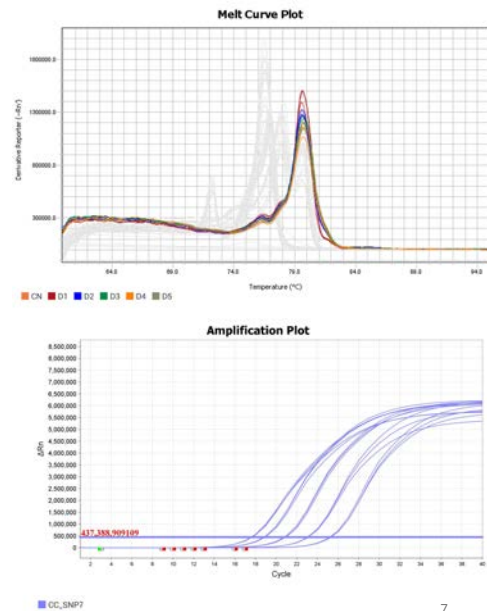
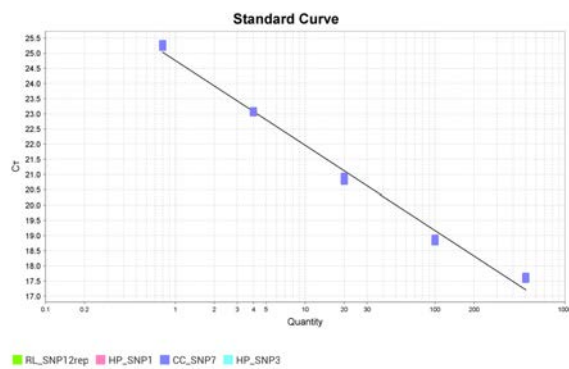
Chr10_Región 121400001-121500000



Region	Reference	Allele	Zygotity	Count	Coverage	Frequency
121444550	T	G	Homozygous	34	34	100

Población CC

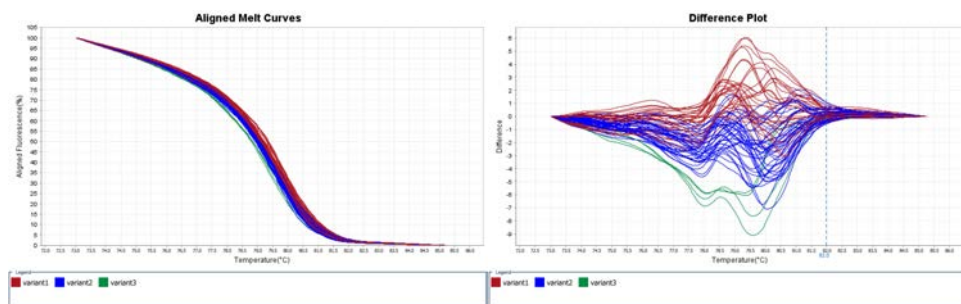
Estandarización qPCR Partidor CC_SNP7



7

Sample	Variante
CC1	1
CC2	1
CC3	2
CC4	1
CC5	1
CC6	1
CY1	1
CY2	1
CY3	3
CY4	2
CY5	2
CY6	2
CY7	1
CY8	1
HL1	2
HL2	2
HL3	1
HL4	2
HL5	2
HL6	1
HL7	12
HL8	22
HP1	22
HP2	22
HP3	22
HP4	OMITIDA
HP5	2
HP6	2
HP7	2
HP8	2
RL1	2
RL2	1
RL3	1
RL4	2
RL5	1
RL6	1
RL7	2
RL8	3

Resultados HRM CC_SNP7



8

Búsqueda bioinformática CC_SNP11

Chr10_Región 121400001-121500000



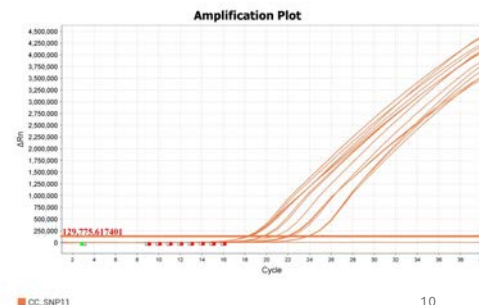
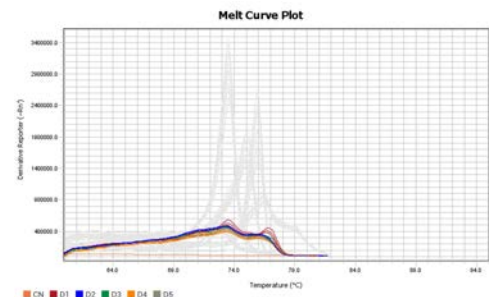
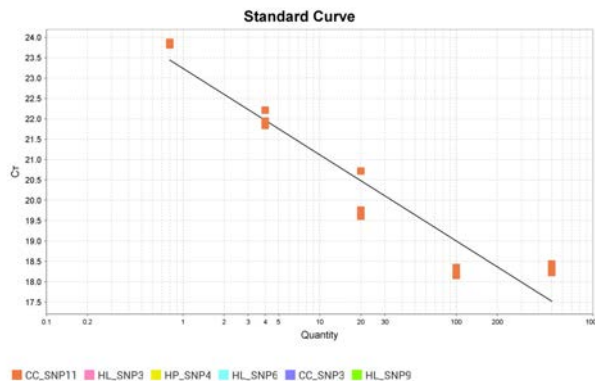
Region	Reference	Allele	Zygosity	Count	Coverage	Frequency
121441784	T	C	Homozygous	49	51	96.08

Población CC

Estandarización qPCR

Partidor CC_SNP11

Por la curva de Melt y eficiencia de 196.5% se decide evaluar el partidor 2 de este SNP



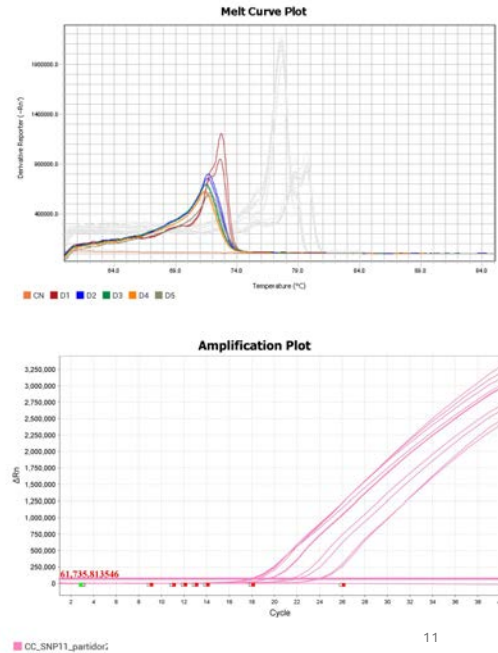
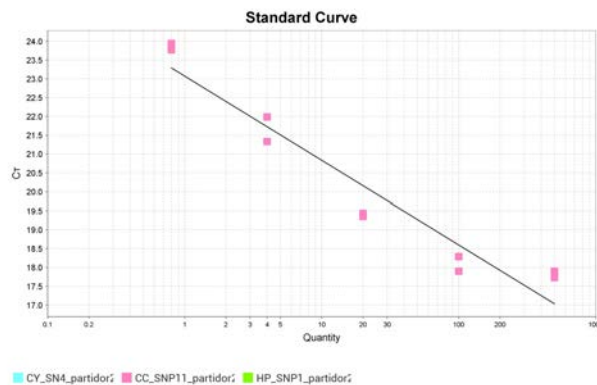
CC_SNP11 HL_SNP3 HP_SNP4 HL_SNP6 CC_SNP3 HL_SNP9

CC_SNP11

10

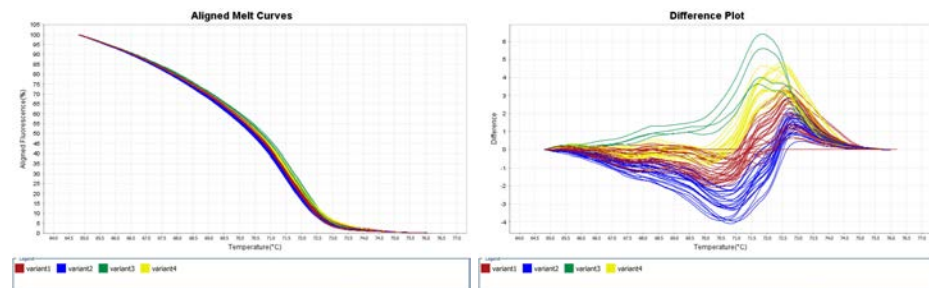
Estandarización qPCR Partidor CC_SNP11-2

La curva de Melt no es óptima y el % de eficiencia continúa alto
pero se decide evaluar con el resto de las muestras



Sample	Variante
CC1	1
CC2	1
CC3	1
CC4	3
CC5	1
CC6	1
CY1	4
CY2	1
CY3	1
CY4	2
CY5	2
CY6	2
CY7	1
CY8	1
HL1	2
HL2	2
HL3	2
HL4	1
HL5	1
HL6	1
HL7	1
HL8	4
HP1	1
HP2	1
HP3	3
HP4	4
HP5	4
HP6	1
HP7	4
HP8	1
RL1	4
RL2	4
RL3	2
RL4	2
RL5	4
RL6	2
RL7	1
RL8	2

Resultados HRM CC_SNP11-2



SNPs población CY

13

Búsqueda bioinformática CY_SNP2

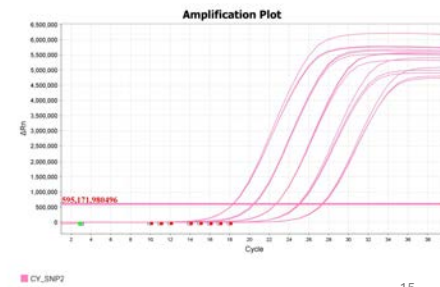
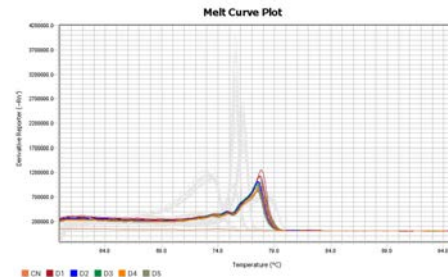
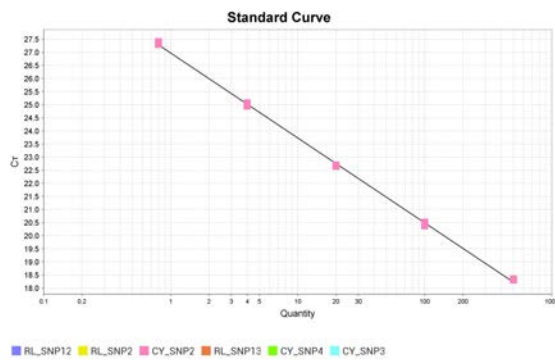
Chr12_Región 28200001-28300000



Region	Reference	Allele	Zygosity	Count	Coverage	Frequency
28226970	A	T	Homozygous	380	381	99.74

Población CY

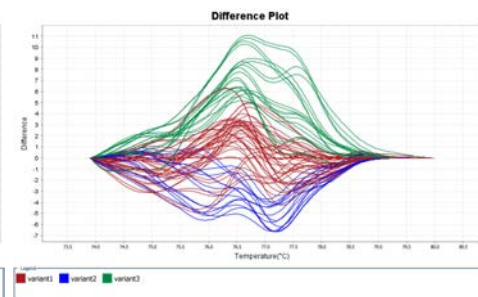
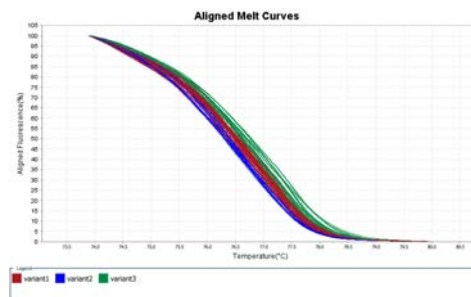
Estandarización qPCR Partidor CY_SNP2



15

Sample	Variante
CC1	1
CC2	1
CC3	1
CC4	1
CC5	2
CC6	3
CY1	1
CY2	1
CY3	2
CY4	1
CY5	2
CY6	1
CY7	1
CY8	1
HL1	3
HL2	1
HL3	1
HL4	1
HL5	1
HL6	1
HL7	3
HL8	1
HP1	1
HP2	1
HP3	3
HP4	3
HP5	3
HP6	3
HP7	3
HP8	3
RL1	3
RL2	1
RL3	1
RL4	1
RL5	OMITIDA
RL6	2
RL7	2
RL8	2

Resultados HRM CY_SNP2



16

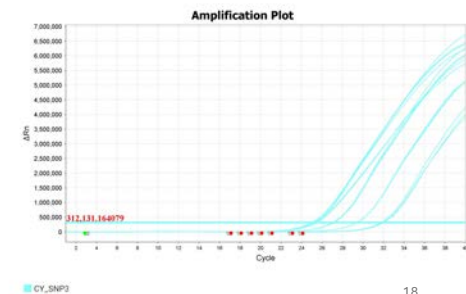
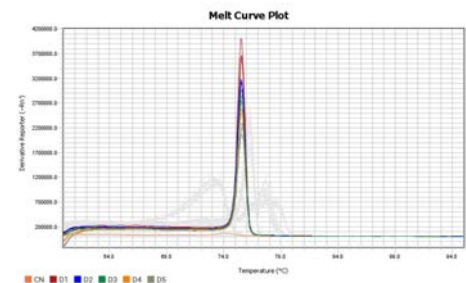
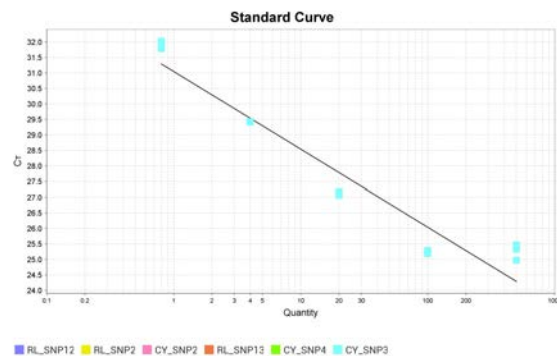
Búsqueda bioinformática CY_SNP3 Chr12_Región 28200001-28300000



Region	Reference	Allele	Zygosity	Count	Coverage	Frequency
28225780	A	G	Homozygous	42	51	82.35

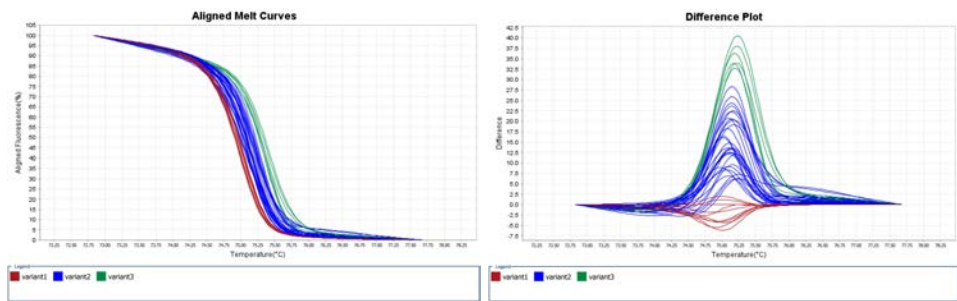
Población CY

Estandarización qPCR Partidor CY_SNP3



Sample	Variante
CC1	1
CC2	2
CC3	2
CC4	2
CC5	2
CC6	2
CY1	OMITIDA
CY2	2
CY3	1
CY4	1
CY5	2
CY6	1
CY7	OMITIDA
CY8	OMITIDA
HL1	OMITIDA
HL2	OMITIDA
HL3	2
HL4	2
HL5	2
HL6	2
HL7	1
HL8	2
HP1	2
HP2	2
HP3	2
HP4	2
HP5	3
HP6	2
HP7	OMITIDA
HP8	3
RL1	OMITIDA
RL2	OMITIDA
RL3	OMITIDA
RL4	2
RL5	2
RL6	2
RL7	2
RL8	1

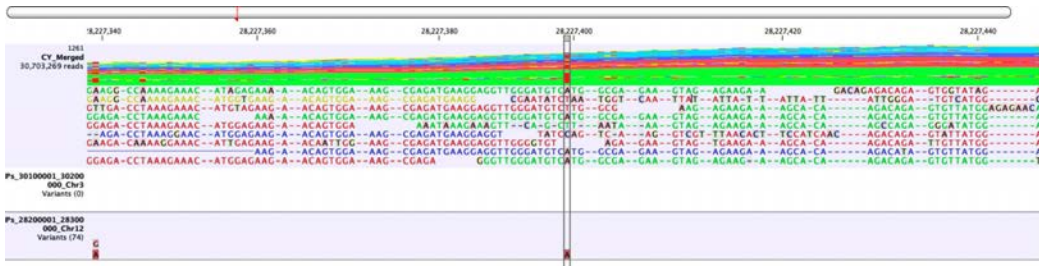
Resultados HRM CY_SNP3



19

Búsqueda bioinformática CY_SNP4

Chr12_Región 28200001-28300000

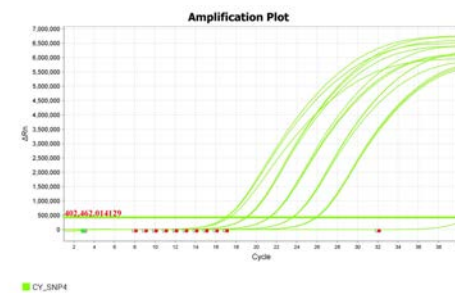
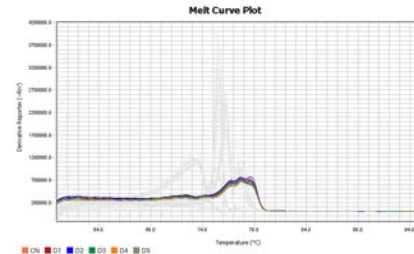
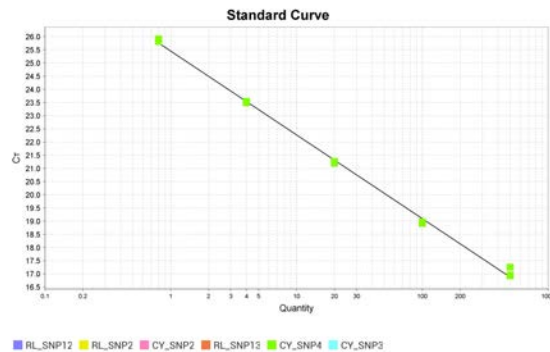


Region	Reference	Allele	Zygosity	Count	Coverage	Frequency
28227399	T	A	Homozygous	193	286	67.48

Población CY

Estandarización qPCR Partidor CY_SNP4

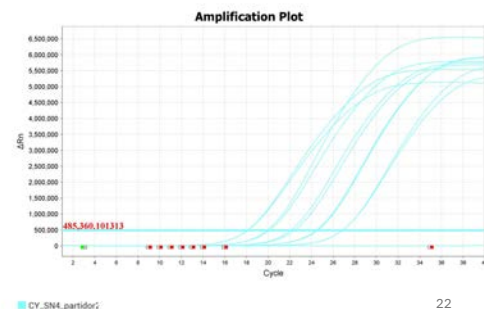
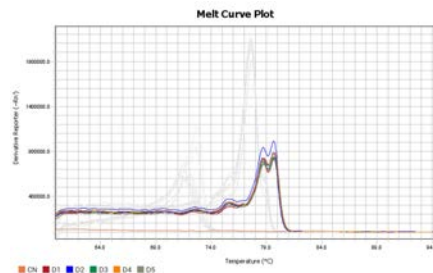
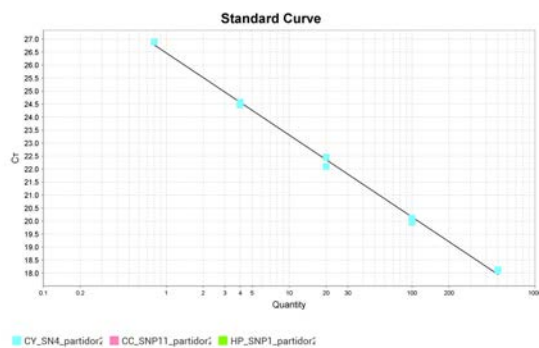
Por la curva de Melt se decide
evaluar el partidor 2 de este SNP



21

Estandarización qPCR Partidor CY_SNP4-2

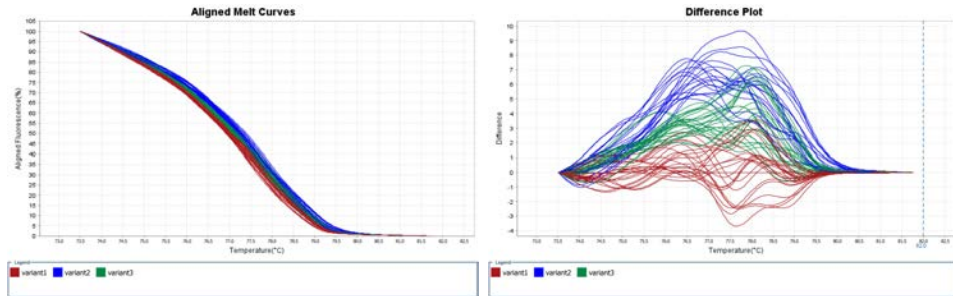
El peak es más alto que el partidor 1. Sin embargo, hay un
doble peak. Se utilizó este partidor con el resto de las
muestras para evaluar la amplificación



22

Sample	Variante
CC1	2
CC2	3
CC3	3
CC4	2
CC5	1
CC6	3
CY1	OMITIDA
CY2	3
CY3	1
CY4	1
CY5	1
CY6	OMITIDA
CY7	1
CY8	3
HL1	1
HL2	1
HL3	2
HL4	3
HL5	3
HL6	2
HL7	3
HL8	3
HP1	OMITIDA
HP2	3
HP3	2
HP4	2
HP5	3
HP6	2
HP7	3
HP8	2
RL1	2
RL2	2
RL3	1
RL4	1
RL5	3
RL6	1
RL7	1
RL8	1

Resultados HRM CY_SNP4-2



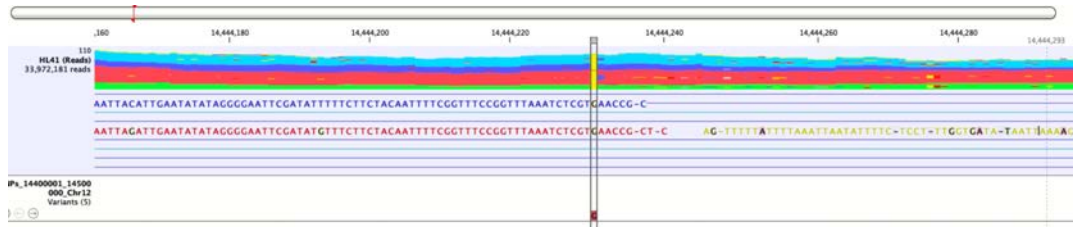
23

SNPs población HL

24

Búsqueda bioinformática HL_SNP3

Chr12_Región 14400001-14500000

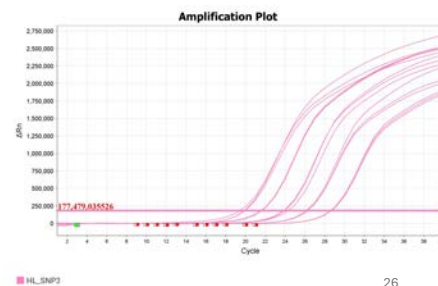
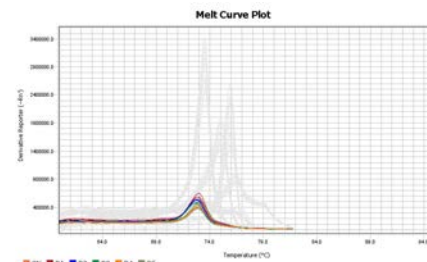
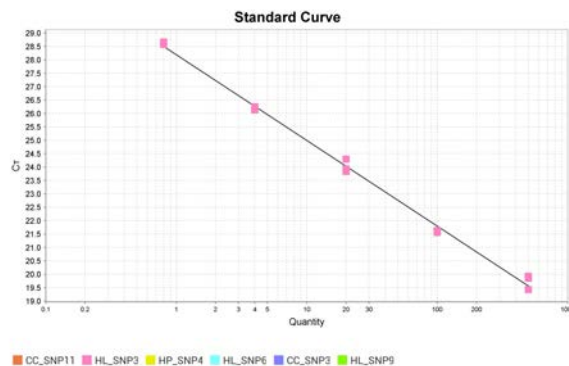


Region	Reference	Allele	Zygoty	Count	Coverage	Frequency
14444232	A	G	Homozygous	41	41	100

Población HL

Estandarización qPCR

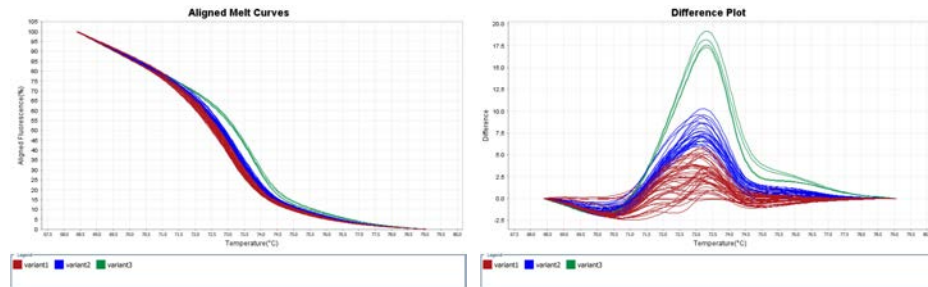
Partidor HL_SNP3



26

Sample	Variante
CC1	OMITIDA
CC2	2
CC3	1
CC4	1
CC5	OMITIDA
CC6	2
CY1	1
CY2	1
CY3	1
CY4	1
CY5	1
CY6	1
CY7	1
CY8	1
HL1	1
HL2	1
HL3	2
HL4	2
HL5	2
HL6	2
HL7	1
HL8	1
HP1	2
HP2	2
HP3	1
HP4	2
HP5	2
HP6	1
HP7	2
HP8	3
RL1	3
RL2	1
RL3	1
RL4	1
RL5	1
RL6	2
RL7	1
RL8	2

Resultados HRM HL_SNP3



27

Búsqueda bioinformática HL_SNP6

Chr12_Región 14400001-14500000

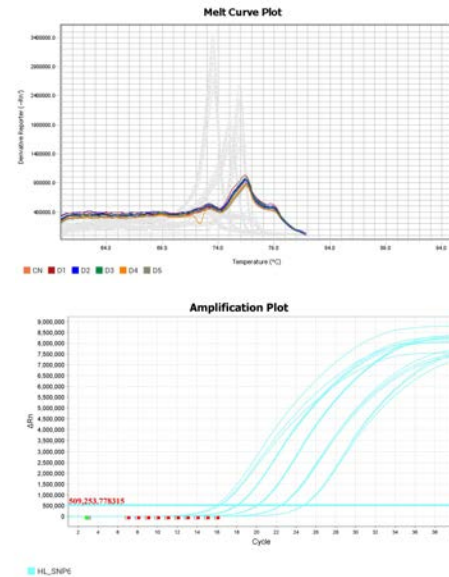
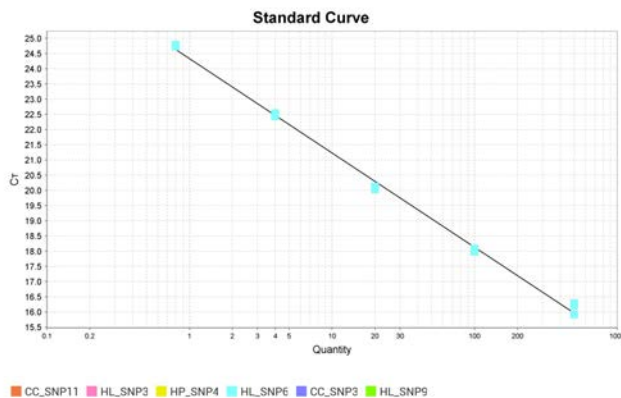


Region	Reference	Allele	Zygosity	Count	Coverage	Frequency
14446362	T	C	Homozygous	48	49	97.96

Población HL

Estandarización qPCR Partidor HL_SNP6

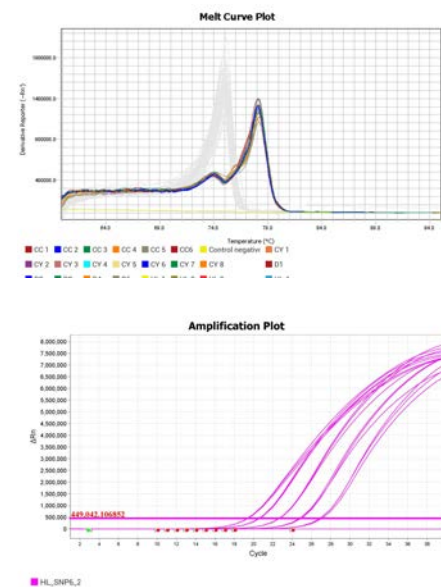
Por la curva de Melt (bajo peak y presencia de dímero) y eficiencia >100% se decide evaluar el partidor 2 de este SNP



29

Estandarización qPCR Partidor HL_SNP6-2

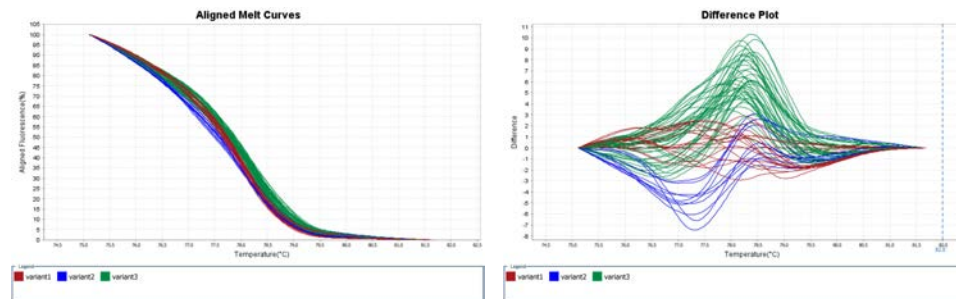
El peak es más alto que el partidor 1. Sin embargo, se mantiene la presencia de dímero y eficiencia >110%. Se utilizó este partidor con el resto de las muestras para evaluar la amplificación



30

Sample	Variante
CC1	1
CC2	3
CC3	3
CC4	3
CC5	1
CC6	3
CY1	3
CY2	3
CY3	1
CY4	1
CY5	3
CY6	OMITIDA
CY7	2
CY8	1
HL1	1
HL2	1
HL3	1
HL4	3
HL5	3
HL6	3
HL7	3
HL8	3
HP1	2
HP2	3
HP3	3
HP4	3
HP5	3
HP6	OMITIDA
HP7	3
HP8	3
RL1	3
RL2	3
RL3	1
RL4	OMITIDA
RL5	2
RL6	3
RL7	2
RL8	2

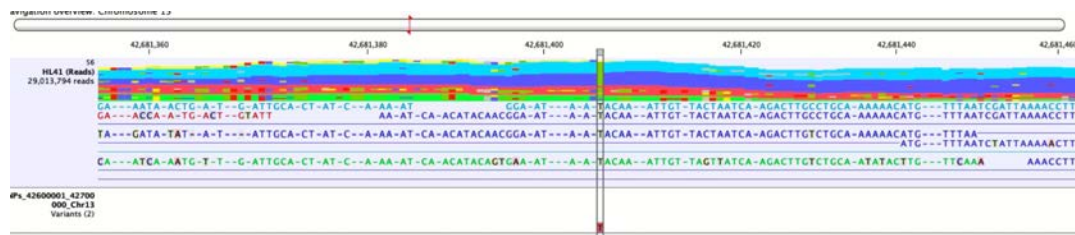
Resultados HRM HL SNP6-2



31

Búsqueda bioinformática HL_SNP9

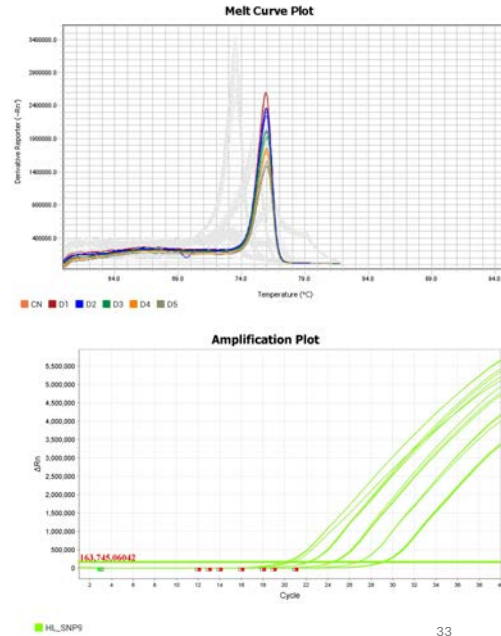
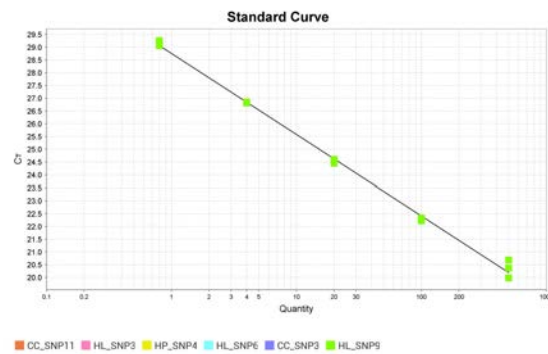
Chr13_Región – 42600001-42700000



Region	Reference	Allele	Zygosity	Count	Coverage	Frequency
42681403	C	G	Homozygous	31	31	100

Población HL

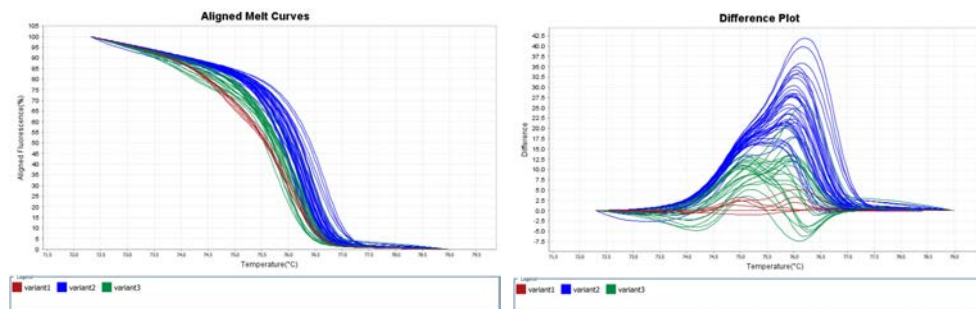
Estandarización qPCR Partidor HL_SNP9



33

Sample	Variante
CC1	OMITIDA
CC2	3
CC3	2
CC4	2
CC5	1
CC6	1
CY1	2
CY2	2
CY3	3
CY4	2
CY5	2
CY6	3
CY7	2
CY8	OMITIDA
HL1	2
HL2	2
HL3	3
HL4	1
HL5	3
HL6	2
HL7	2
HL8	2
HP1	2
HP2	3
HP3	OMITIDA
HP4	2
HP5	2
HP6	2
HP7	2
HP8	2
RL1	2
RL2	OMITIDA
RL3	3
RL4	3
RL5	3
RL6	3
RL7	2
RL8	3

Resultados HRM HL_SNP9

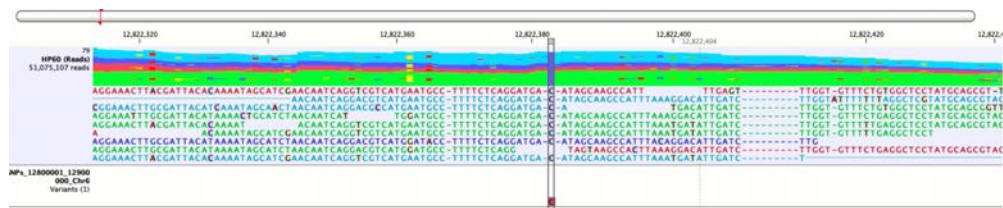


34

SNPs población HP

35

Búsqueda bioinformática HP_SNP1 Chr6_Región 12800001-12900000

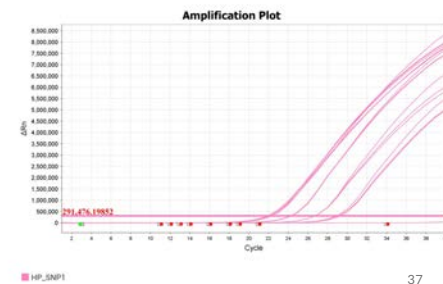
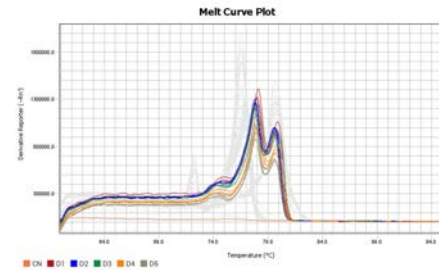
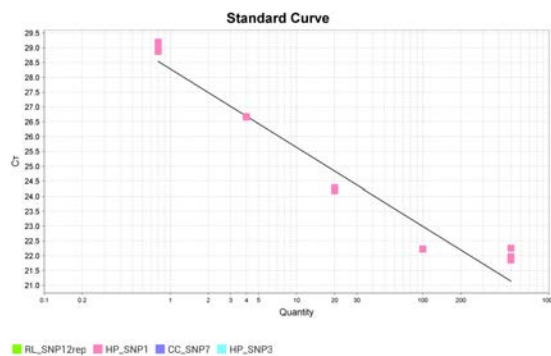


Region	Reference	Allele	Zygotity	Count	Coverage	Frequency
12822382	A	C	Homozygous	31	33	93.94

Población HP

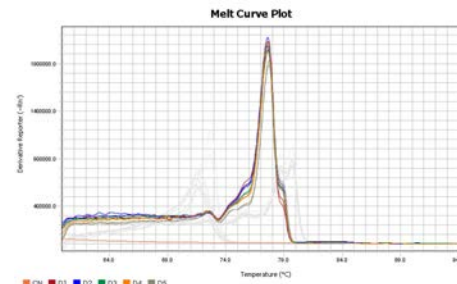
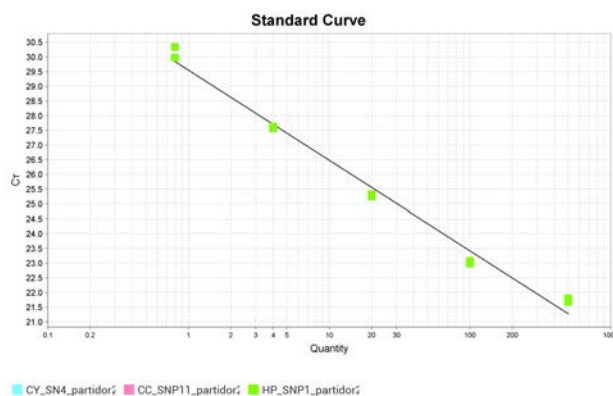
Estandarización qPCR Partidor HP_SNP1

Por la curva de Melt (doble peak) se decide evaluar el
partidor 2 de este SNP.



37

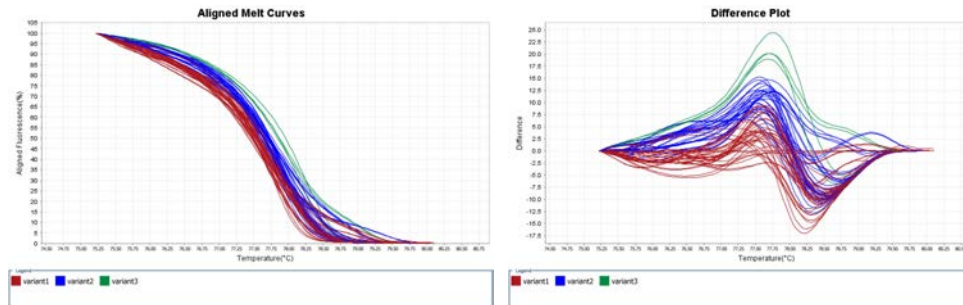
Estandarización qPCR Partidor HP_SNP1-2



38

Sample	Variante
CC1	1
CC2	1
CC3	1
CC4	1
CC5	1
CC6	1
CY1	1
CY2	1
CY3	1
CY4	3
CY5	2
CY6	2
CY7	1
CY8	OMITIDA
HL1	1
HL2	1
HL3	2
HL4	2
HL5	2
HL6	OMITIDA
HL7	1
HL8	1
HP1	2
HP2	2
HP3	2
HP4	1
HP5	3
HP6	1
HP7	2
HP8	1
RL1	2
RL2	2
RL3	2
RL4	1
RL5	1
RL6	2
RL7	1
RL8	2

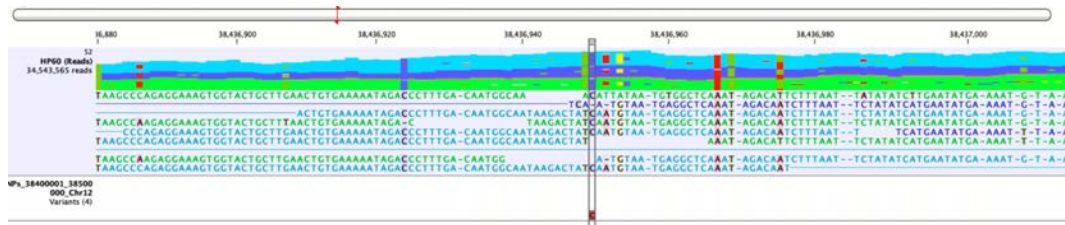
Resultados HRM HP SNP1-2



39

Búsqueda bioinformática HP_SNP3

Chr12_Región 38400001-38500000



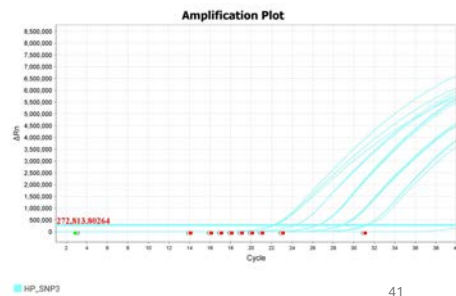
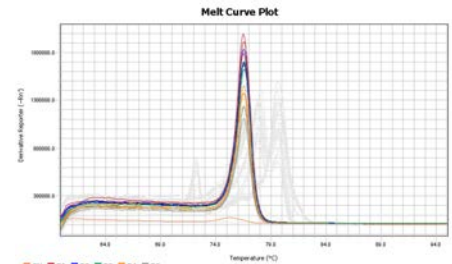
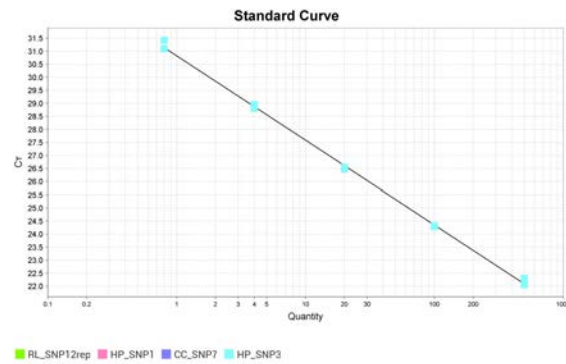
Region	Reference	Allele	Zygotity	Count	Coverage	Frequency
38436950	G	C	Homozygous	30	31	96.77

Población HP

“Caracterización y evaluación ecológica y genética de los bancos naturales de mitilidos y su aporte a la disponibilidad de larvas para la actividad de colecta de semillas. Etapa 1: Fiordo de Reloncaví y comunas de Hualaihué y Castro”

339

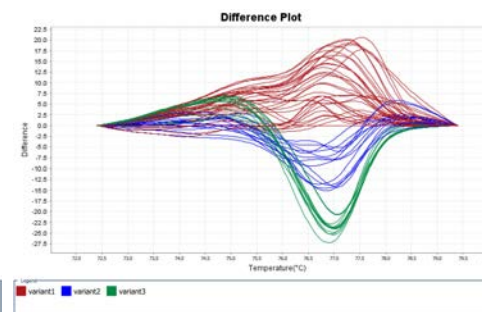
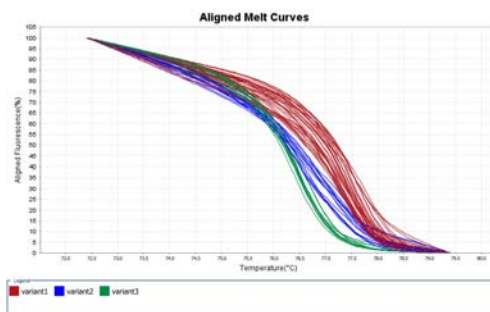
Estandarización qPCR Partidor HP_SNP3



41

Sample	Variante
CC1	1
CC2	1
CC3	2
CC4	1
CC5	2
CC6	2
CY1	OMITIDA
CY2	3
CY3	3
CY4	3
CY5	1
CY6	2
CY7	3
CY8	OMITIDA
HL1	1
HL2	2
HL3	3
HL4	1
HL5	1
HL6	OMITIDA
HL7	OMITIDA
HL8	1
HP1	1
HP2	1
HP3	1
HP4	3
HP5	1
HP6	2
HP7	OMITIDA
HP8	OMITIDA
RL1	1
RL2	1
RL3	1
RL4	3
RL5	1
RL6	1
RL7	1
RL8	2

Resultados HRM HP_SNP3



42

Búsqueda bioinformática HP_SNP4 Chr12_Región 38400001-38500000

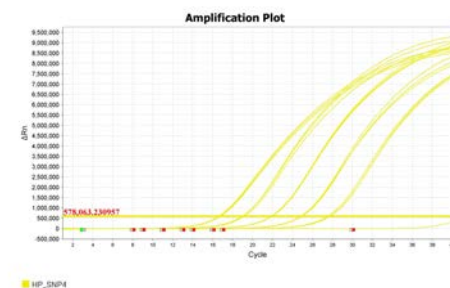
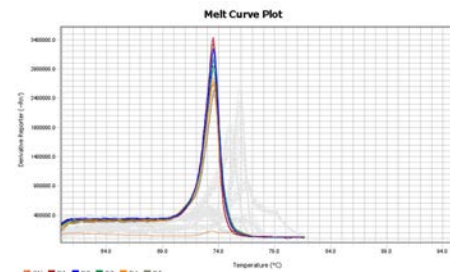
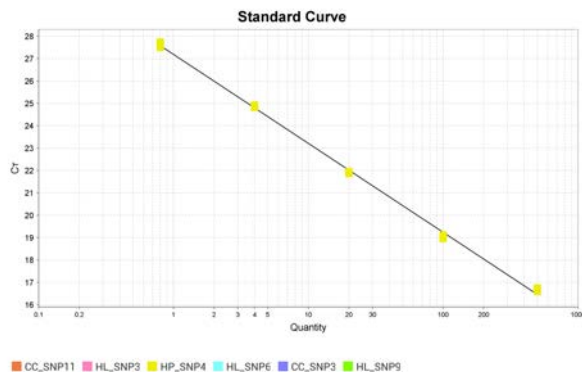


Region	Reference	Allele	Zygosity	Count	Coverage	Frequency
38456709	A	C	Homozygous	36	38	94.74

Población HP

Estandarización qPCR Partidor HP_SNP4

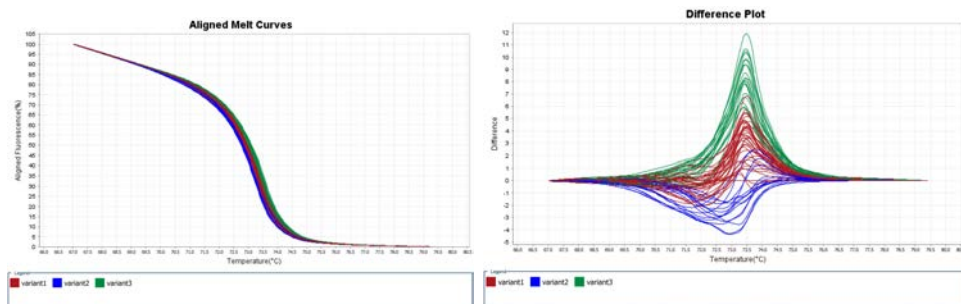
La eficiencia de este partidor es de 80%. Sin embargo, el partidor 2 presenta dímeros al momento de estandarizarlo por temperatura. Se decide continuar con este partidor y evaluar la totalidad de las muestras.



44

Sample	Variante
CC1	1
CC2	1
CC3	1
CC4	1
CC5	1
CC6	3
CY1	1
CY2	1
CY3	1
CY4	2
CY5	1
CY6	1
CY7	3
CY8	3
HL1	2
HL2	2
HL3	2
HL4	2
HL5	2
HL6	3
HL7	2
HL8	1
HP1	2
HP2	3
HP3	3
HP4	3
HP5	1
HP6	1
HP7	1
HP8	2
RL1	OMITIDA
RL2	1
RL3	3
RL4	1
RL5	1
RL6	1
RL7	1
RL8	1

Resultados HRM HP_SNP4



45

SNPs población RL

46

Búsqueda bioinformática RL_SNP2

Chr2_Región 74000001-74100000

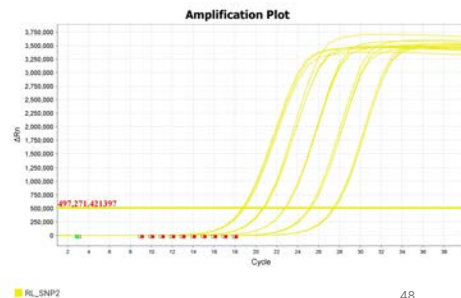
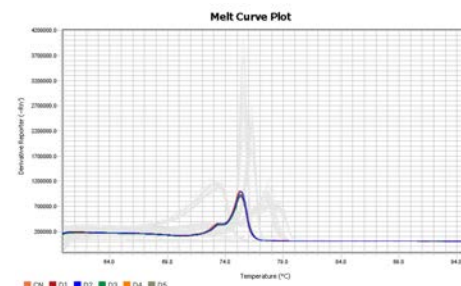
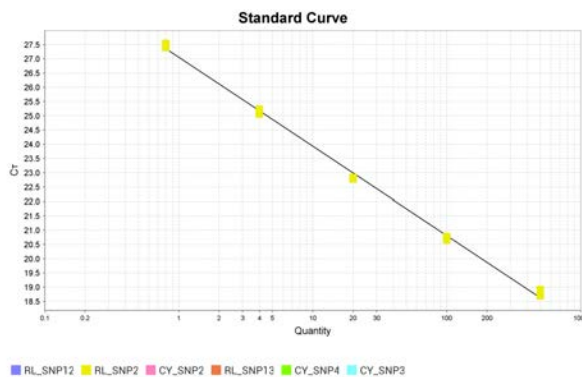


Region	Reference	Allele	Zygoty	Count	Coverage	Frequency
74030091	T	A	Homozygous	31	32	96.88

Población RL

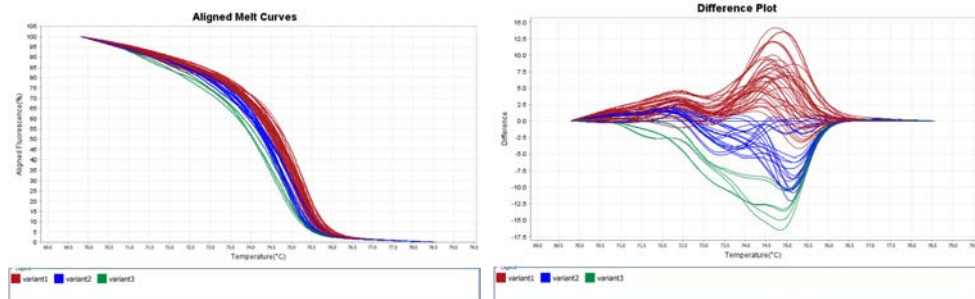
Estandarización qPCR

Partidor RL_SNP2



Sample	Variante
CC1	1
CC2	1
CC3	1
CC4	OMITIDA
CC5	1
CC6	2
CY1	1
CY2	1
CY3	1
CY4	1
CY5	OMITIDA
CY6	2
CY7	2
CY8	1
HL1	1
HL2	1
HL3	1
HL4	2
HL5	2
HL6	1
HL7	3
HL8	2
HP1	2
HP2	1
HP3	1
HP4	1
HP5	1
HP6	2
HP7	OMITIDA
HP8	3
RL1	1
RL2	1
RL3	1
RL4	OMITIDA
RL5	1
RL6	3
RL7	2
RL8	2

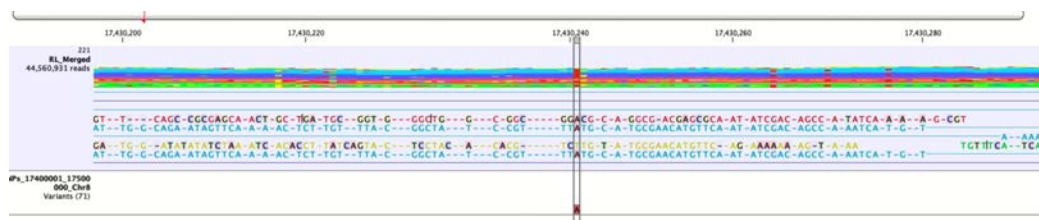
Resultados HRM RL_SNP2



49

Búsqueda bioinformática RL_SNP12

Chr8_Región 17400001-17500000

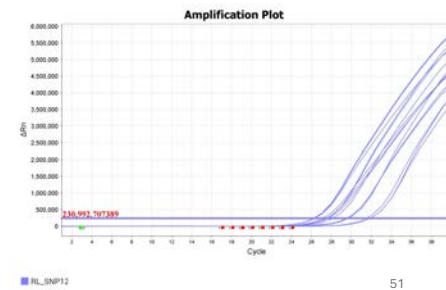
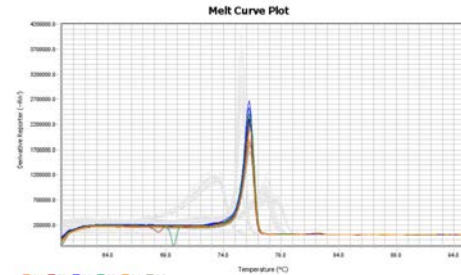
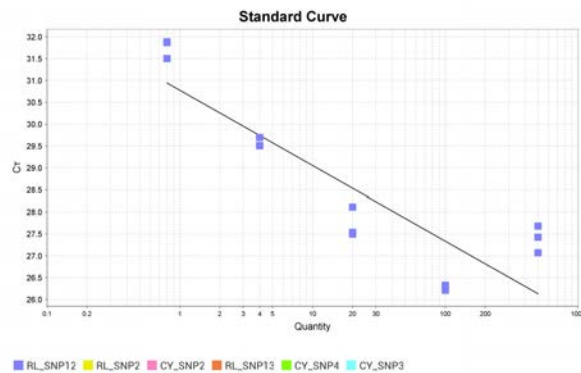


Region	Reference	Allele	Zygosity	Count	Coverage	Frequency
17430241	T	A	Homozygous	50	50	100

Población RL

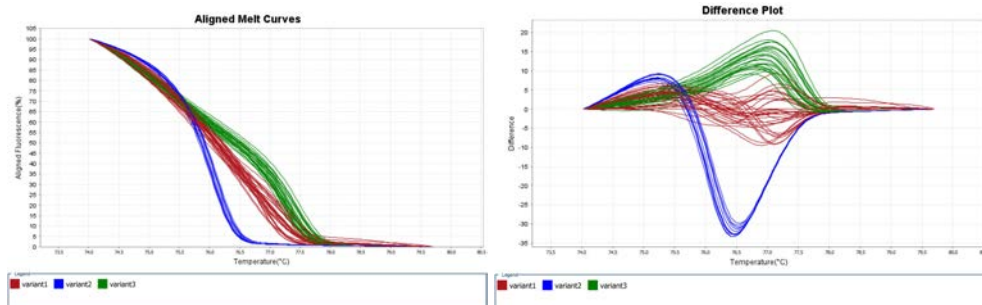
Estandarización qPCR Partidor RL_SNP12

- El % de eficiencia es alto, se probó con otras concentraciones y temperatura, sin embargo no hubo cambios.
- El partidor 2 presentó dímeros en la amplificación por PCR tiempo final (al momento de estandarizar temperaturas).
- Se decide continuar con este partidor ya que de los 3 de esta población ya se había eliminado 1.



Sample	Variante
CC1	1
CC2	2
CC3	1
CC4	3
CC5	2
CC6	1
CY1	3
CY2	1
CY3	1
CY4	1
CY5	2
CY6	OMITIDA
CY7	1
CY8	3
HL1	3
HL2	2
HL3	3
HL4	3
HL5	1
HL6	1
HL7	1
HL8	1
HP1	1
HP2	3
HP3	1
HP4	3
HP5	OMITIDA
HP6	1
HP7	3
HP8	OMITIDA
RL1	3
RL2	OMITIDA
RL3	3
RL4	2
RL5	1
RL6	1
RL7	3
RL8	3

Resultados HRM RL_SNP12



Búsqueda bioinformática RL_SNP13

Chr14_Región 67600001-67700000



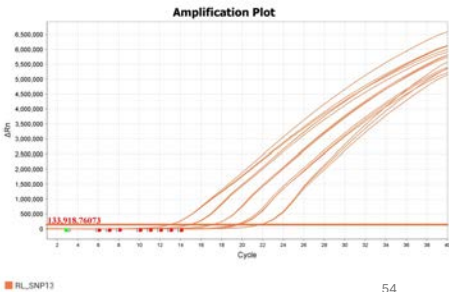
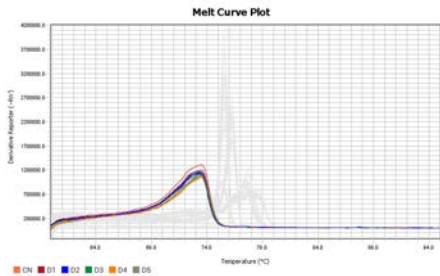
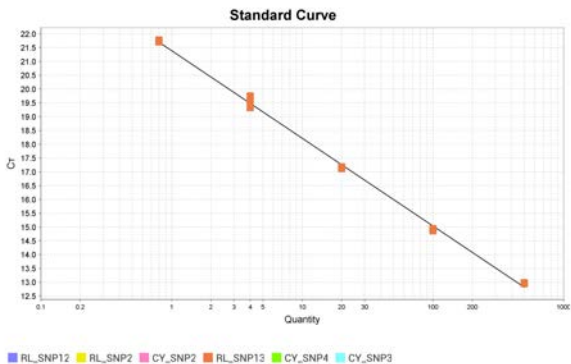
Region	Reference	Allele	Zygosity	Count	Coverage	Frequency
67635976	T	A	Homozygous	79	79	100

Población RL

Estandarización qPCR

Partidor RL_SNP13

- Por el % de eficiencia, curva de Melt, curvas de amplificación y CT de la curva estándar se eliminó este partidor.
- El 2 no se pudo estandarizar para qPCR ya que en PCR tiempo final se evidenciaron dímeros en el gel de agarosa.



10.12. Anexo 5. Taller Final de Resultados FIPA 2023-01



DIFUSIÓN DE RESULTADOS FIPA 2023-01

“Caracterización y evaluación ecológica y genética de los bancos naturales de mitilidos y su aporte a la disponibilidad de larvas para la actividad de colecta de semillas. Etapa 1: Fiordo de Reloncaví y comunas de Hualaihué y Castro”

Objetivo de la actividad: Realizar una presentación de los principales resultados del proyecto, enfocado en los resultados esperados del proyecto y su aplicación en el contexto de la mitilicultura chilena.

Modalidad: Híbrida, presencial en Castro, Hotel de Castro (Chacabuco 202) o se puede seguir la transmisión de la actividad online vía zoom enviando un e-mail a Katherine.espinosa@uach.cl.

Miércoles 04 de diciembre

PROGRAMA

14:30 – 14:40 hrs	Palabras de representante Subsecretaría de Pesca
14:40 – 14:45 hrs	Presentación del Proyecto. Carlos Molinet
14:45 - 15:15 hrs	Presentación de resultados obtenidos de Objetivo 1. “Identificar los principales bancos naturales de mitilidos en el Fiordo Reloncaví y comunas de Hualaihué y Castro” y Objetivo 2. “Realizar una evaluación de estado general de los bancos naturales, considerando abundancia, cobertura, densidad, biomasa, distribución vertical, sexos, estructura de tallas y comunidad asociada, con énfasis en las diferentes especies que pudieran afectar los bancos de mitilidos” Dr. Carlos Molinet
15:15 – 15:45 hrs	Presentación de resultados Objetivo 3, parte I. “Caracterizar genéticamente los bancos naturales, considerando el gradiente vertical, mediante marcadores SNP, para apoyar la trazabilidad de las diferentes especies del género” Dra. Marcela Astorga
15:45 - 16:15 hrs	Presentación de resultados Objetivo 3, parte II. Presentación de resultados Objetivo 4. “Generar una herramienta de secuenciación masiva que permita establecer y relacionar el origen geográfico de los nuevos reclutas en los bancos naturales y de las semillas captadas en los colectores, respecto de los bancos naturales previamente identificados” Dr. Cristian Gallardo-Escárate.
16:15 – 16:30	Café
16:30 – 17:00	Panel de preguntas y Discusión

Acta Taller Presentación de resultados Proyecto FIPA 2023-01 “Caracterización y evaluación ecológica y genética de los bancos naturales de mitílicos y su aporte a la disponibilidad de larvas para la actividad de colecta de semillas. Etapa 1: Fiordo Reloncaví y comunas de Hualaihué y Castro”

Fecha: 04 de diciembre 2024

Horario: 14:30 – 17:15 horas

Modalidad: Híbrida.

Participantes Presencial

Nombre	Institución
Francisco Castañeda	INTEMIT
Camila Barria	INTEMIT
M. Angelica Alarcón	IFOP
Vladimir Murillo	IFOP
René Rivero	SUDMARIS
Cristian Segura	IFOP
Rodrigo Carrasco	AmiChile
Sonia Medrano	INTEMIT
Claudio Mansilla	Camanchaca Cultivos Sur
Carolina Rojas	AmiChile

Participantes Online

Nombre	Institución
Daniela Sotomayor Gerding	Universidad Católica del Norte
David Escobar Riveaud	SUBPESCA
Maureen Alcayaga Godoy	SUBPESCA
Victoria Véliz Cardemil	independiente
Karenina Teiguel Castillo	Plancton Andino SpA.
Cristian Vásquez Flores	COPAS Coastal-UdeC
Francisco Cárcamo Vargas	IFOP
Luz Quinchao Neculman	SERNAPESCA
Álvaro Zabala V	SUBPESCA
Cristian Araneda	Universidad de Chile
Paulina Rojas W	SERNAPESCA
Alejandro Barrientos Puga	SUBPESCA
Ricardo Guerrero Ojeda	SERNAPESCA
Cristian Jara Medina	SERNAPESCA
Natalia Cámpora Contreras	SERNAPESCA
María Angélica Larraín	Universidad de Chile

Antonio Cáceres	
Camila Muñoz	UACh
Carlos I. Vargas	UChile
Carolina Oyarzo	
Catalina Reyes	PUC
Claudia Vargas	Independiente
Claudio Arcos	
Contao	
Cristian	
Cristian Gallardo	UdeC - INCAR
Daniel Arriagada	AquaPacífico
Daniel Ojeda	
Daniela Bolbaran	Directora Ejecutiva FIPA
Eduardo Anderson	SUBPESCA
Felix Howard	
Gonzalo Fuenzalida	IFOP
Jaime	
Jorge Henriquez	UACh
Luis Henriquez	IFOP
Manuel Cano	
Marcela Astorga	UACh
Marcos Galindo	Agromarina
Marina Oyarzun	Independiente
MLG	
M Olivares	
Oscar Trujillo	Camanchaca
Pablo Mena	
Pamela Vásquez	
Thamara Matamala	UACh
Valentina Cordova	UChile

La presenta corresponde al acta del taller de difusión de resultados del Proyecto FIPA 2023-01 y cuyo objetivo fue dar a conocer los principales resultados y su aplicación en el contexto de la mitilicultura chilena.

Al inicio el Sr. Alejandro Barrientos encargado de la unidad de Gestión Sanitaria y Plagas de la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura (contraparte técnica del proyecto) dirigió unas palabras a los asistentes, posteriormente el Director del proyecto Dr. Carlos Molinet realizó una breve presentación de los objetivos principales y específicos, para luego dar a conocer los resultados obtenidos de los Objetivos Específicos 1 “ Identificar los principales bancos naturales de mitílicos en el Fiordo Reloncaví y comunas de Hualaihué y Castro” y Objetivo 2 “Realizar una evaluación de estado general de los bancos naturales, considerando

abundancia, cobertura, densidad, biomasa, distribución vertical, sexos, estructura de tallas y comunidad asociada, con énfasis en las diferentes especies que pudieran afectar los bancos de mitílicos”, posteriormente la Dra. Marcela Astorga presento los resultados obtenidos de la primera parte del Objetivo Específico 3 “Caracterizar genéticamente los bancos naturales, considerando el gradiente vertical, mediante marcadores SNP, para apoyar la trazabilidad de las diferentes especies del género” , seguida del Dr. Cristian Gallardo-Escárate, quien presento la segunda parte de este objetivo junto con el Objetivo Específico 4 “Generar una herramienta de secuenciación masiva que permita establecer y relacionar el origen geográfico de los nuevos reclutas en los bancos naturales identificados”. En el taller participaron aproximadamente 55 personas, pertenecientes a las áreas de la industria, investigadores y representantes de Instituto de Fomento Pesquero, Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura y la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura.

Las principales interrogantes que se plantearon por parte de los participantes fueron:

¿Finalmente se logró cumplir con el objetivo de generar herramientas de secuenciación masiva para establecer el origen geográfico de las semillas?

R. Si, se logró y se esta proponiendo hacer una secuenciación del sosoma. Ya que se cree que ahí está la información relevante para la trazabilidad.

¿Es recomendable tener una zona de reserva genética del chorito en el estuario del Reloncaví?

R. Dentro de las conclusiones se propone como una idea a definir en conjunto, viendo cual es el lugar adecuado combinando datos de banco más abundante, sin captación.

¿Cada cuánto tiempo se debería considerar repetir este tipo de investigación, o con qué frecuencia se puede establecer un programa de monitoreo de diversidad genética?

R. Desde la ecología se observa variabilidad interanual con un bajo numero de estaciones por zona, la idea sería integrar la información con los seguimientos de área de manejo. Desde la perspectiva genética se recomienda cada dos años, pero depende de la herramienta que se utilice.

¿Ya que la semilla de la Zona de Cochamó tienen mayor variabilidad genética, tendría mayor engorda si es trasladada a la Zona de Chiloé, tendría un mayor valor agregado?

R. Esta variabilidad genética que se menciona no es tan lineal, esto no quiere decir que lo individuos tengan un mayor crecimiento o que tengas ciertas características de interés de los productores.

Finalmente, los productores se mostraron preocupados por la pérdida de semillas que han estado teniendo este último tiempo.

Diferentes especies de *Mytilus*

- *Mytilus edulis*
- Mytilus galloprovincialis*
- Mytilus californianus*

Participante (38)

Nombre	Estado
Thamara (Co-host, me)	✖
Katherine Angélica Espinoza (Co-host, me)	✖
Mariela Adorno	✖
Alejandro Barrientos - Subpesca	✖
Alvaro Zúñiga	✖
Arturo Caceres	✖
Carla Muñoz	✖
Carlos J. Vargas	✖
Verónica Ospina	✖
Catalina Rojas	✖
David Arce	✖
Orbán	✖
Orbán Jara	✖
Orbán Manuel Aranda Tolosa	✖
Orbán Valenzuela	✖
Daniel Arriagada	✖
Daniel Ospina	✖
Genaro Solarián	✖
Genaro Sotomayor	✖
David Jordán - SUBPESCA	✖
Felix Hernandez	✖



Caracterización y evaluación ecológica y genética de los bancos naturales de mitílidos y su aporte a la disponibilidad de larvas para la actividad de colecta de semillas. Etapa 1: fiordo Reloncaví y comunas de Hualaihué y Castro

FIPA 2023-01



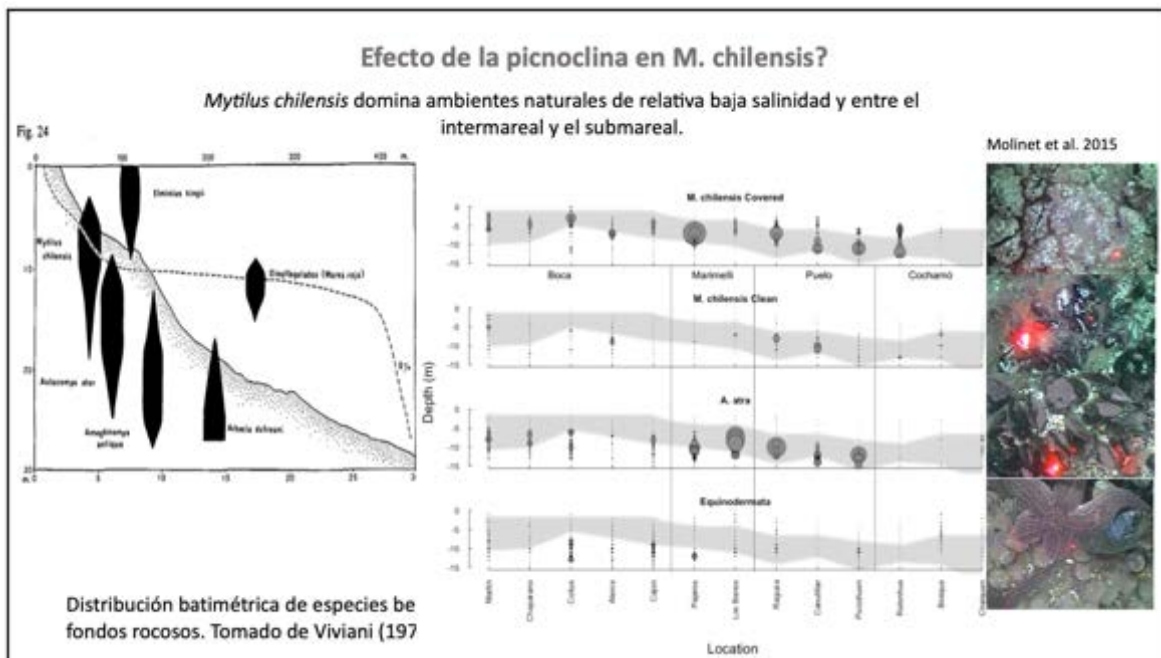
Objetivo General

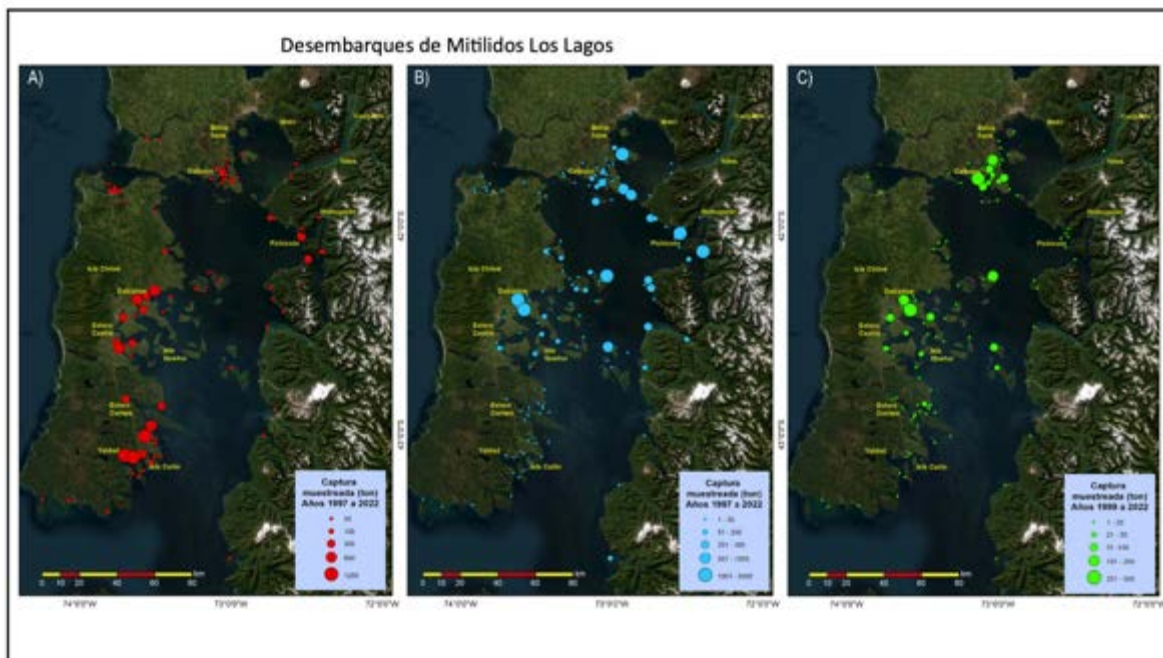
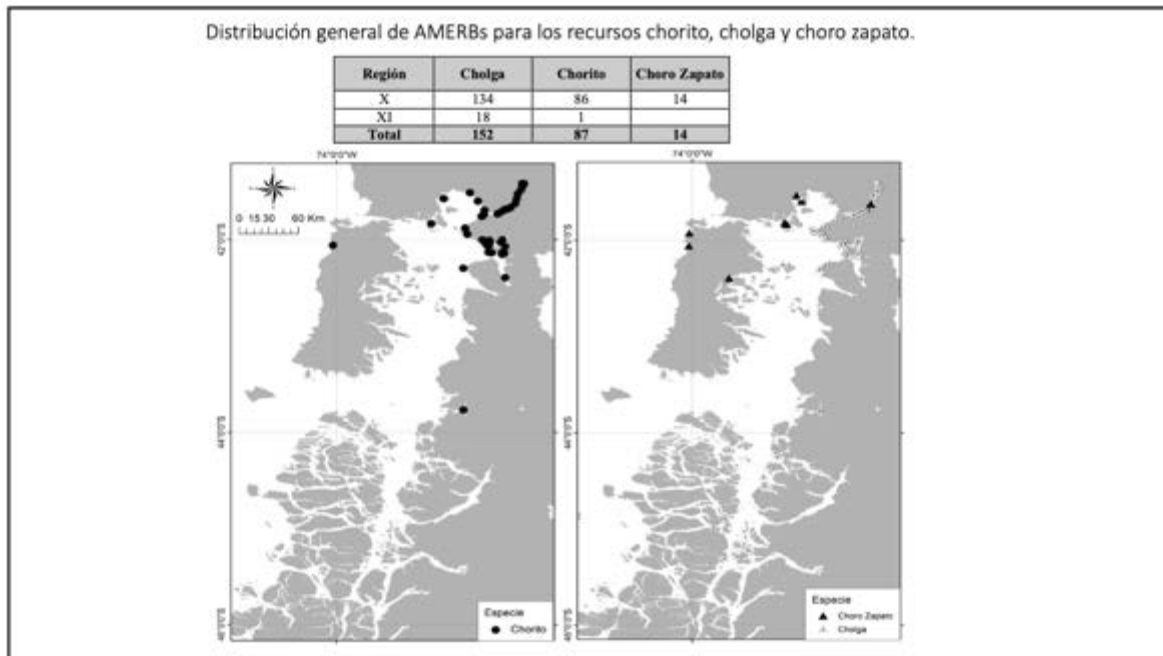
General: Realizar una evaluación ecológica y genética de los principales bancos naturales de mitílidos en el Estuario de Reloncaví y comunas de Hualaihué y Castro, y determinar su aporte a la disponibilidad larval para la actividad de colecta de semillas.

Específicos:

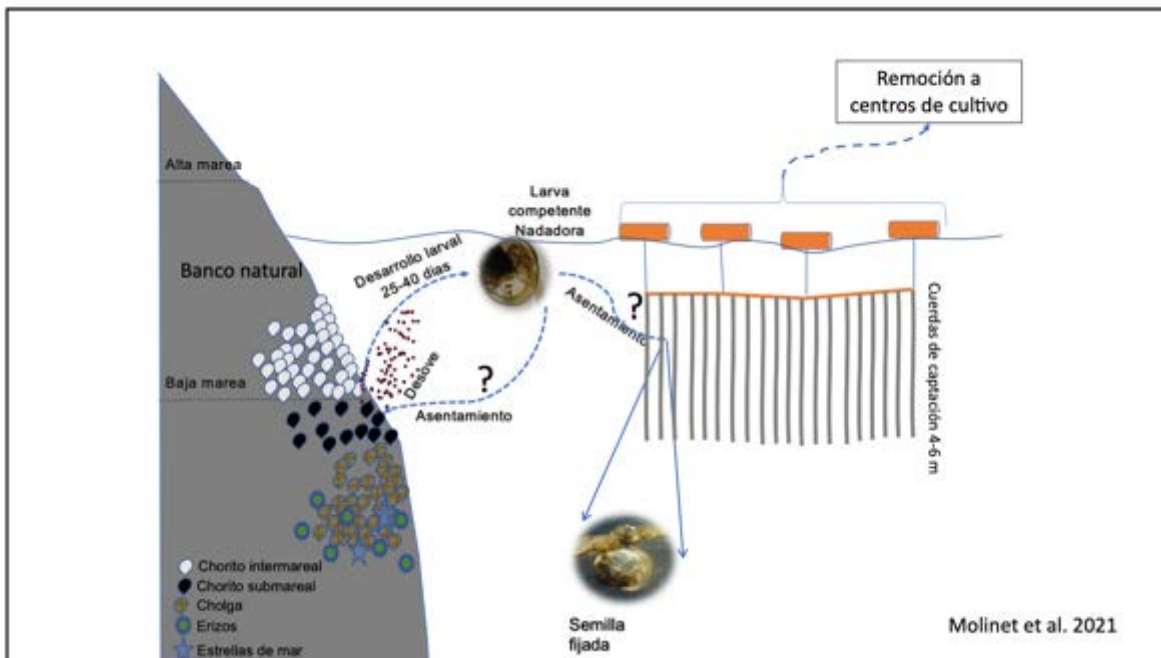
1. Identificar los principales bancos naturales de mitílidos en el Fiordo Reloncaví y comunas de Hualaihué y Castro.
2. Realizar una evaluación de estado general de los bancos naturales, considerando abundancia, cobertura, densidad, biomasa, distribución vertical, sexos, estructura de tallas y comunidad asociada, con énfasis en las diferentes especies que pudieran afectar los bancos de mitílidos.
3. Caracterizar genéticamente los bancos naturales, considerando el gradiente vertical, mediante marcadores SNP, para apoyar la trazabilidad de las diferentes especies del género *Mytilus* presentes en el área de estudio e identificar posibles bancos con poblaciones o individuos de especies exóticas.
4. Generar una herramienta de secuenciación masiva que permita establecer y relacionar el origen geográfico de los nuevos reclutas en los bancos naturales y de las semillas captadas en los colectores, respecto de los bancos naturales previamente identificados.

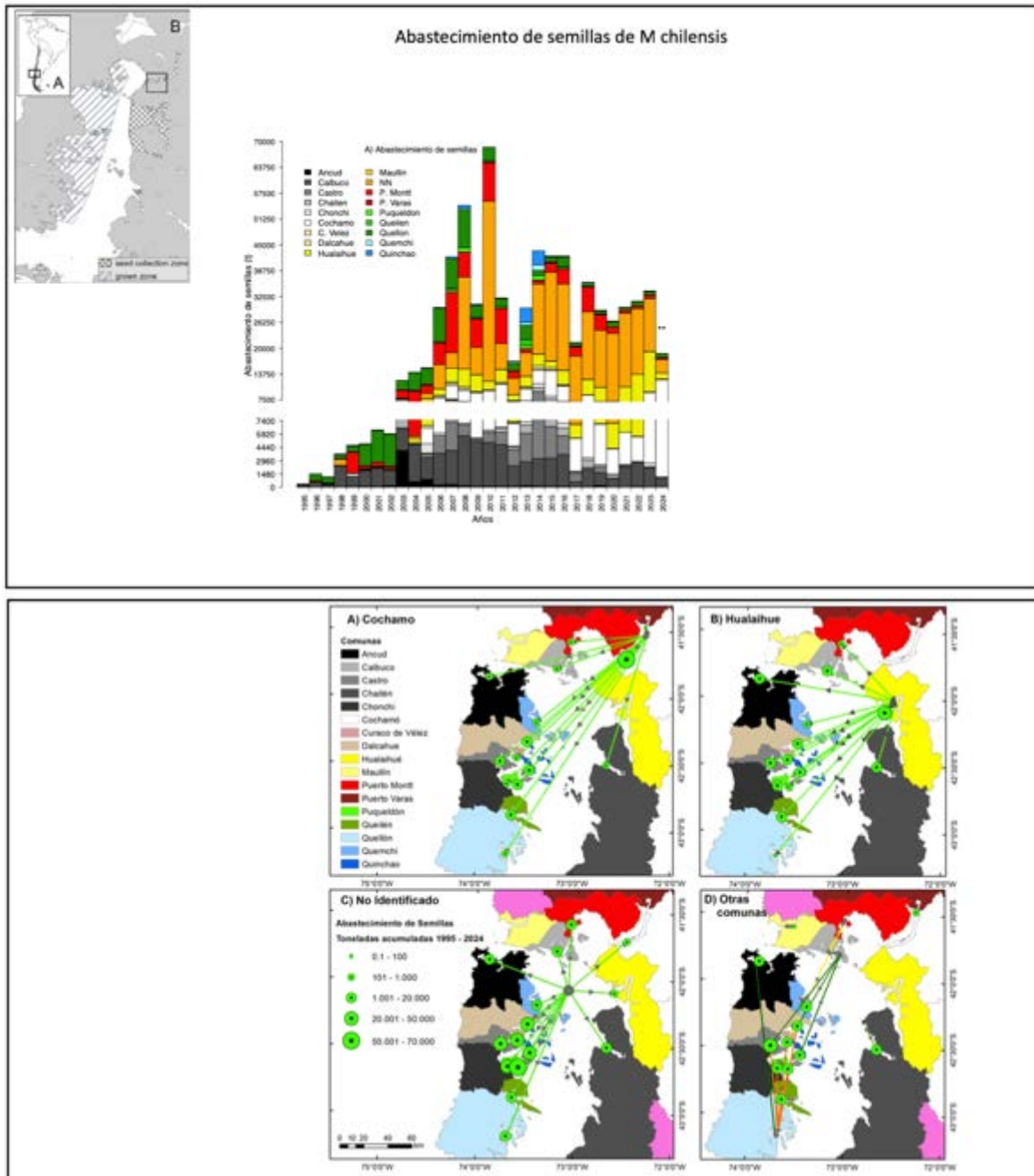
Qué sabemos de los Bancos de mitilidos





Qué sabemos del abastecimiento de semillas





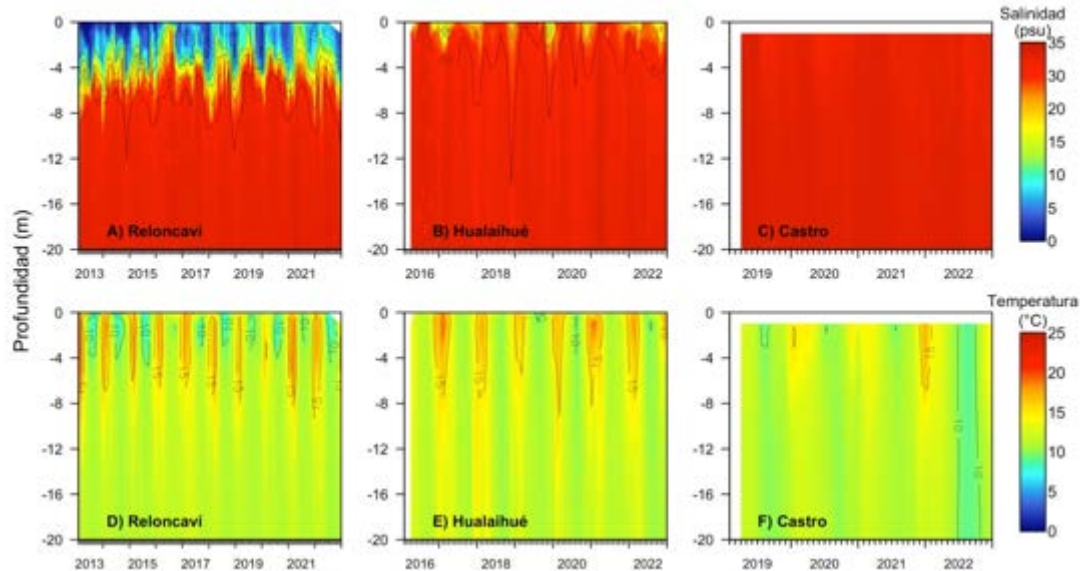
FIPA 2023-01: Caracterización y evaluación ecológica y genética de los bancos naturales de mitílicos y su aporte a la disponibilidad de larvas para la actividad de colecta de semillas

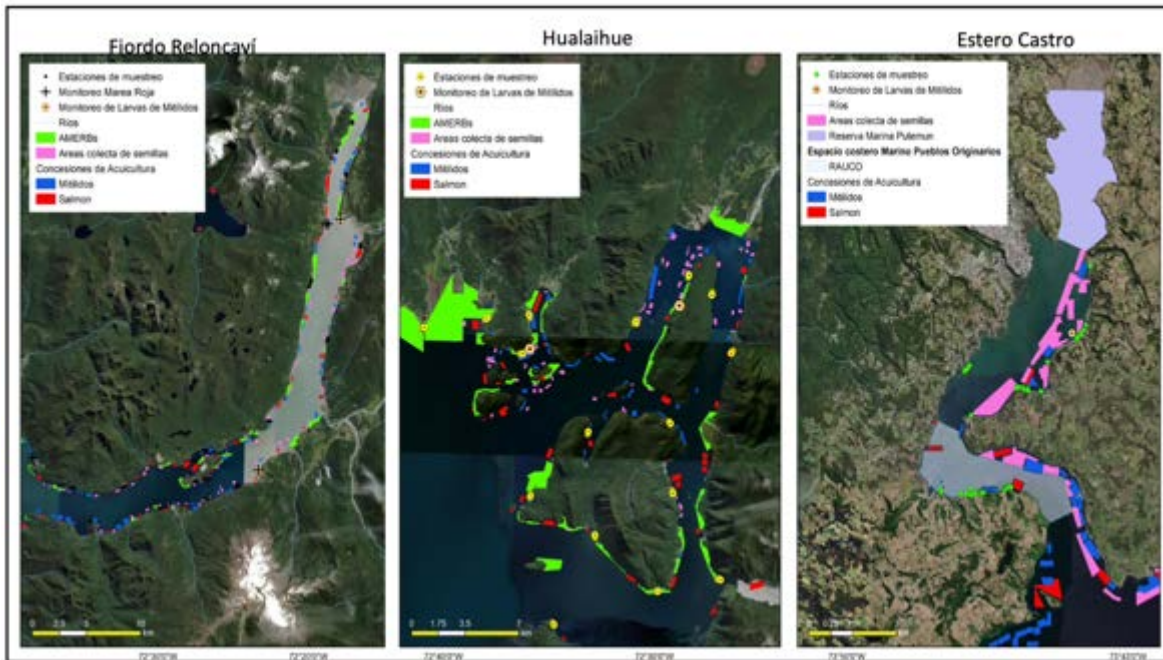
Area de estudio

Las actividades de muestreo en terreno deberán efectuarse a lo largo de todo el **Estuario Reloncaví**, comuna de **Hualaihue** (Canales Hornopiren, Cholgo, Ilancahué, LLanchid, estero Pichicolo y ensenada Gualaihué) y en la comuna de **Castro** (Estero Castro y canal Lemuy), considerando puntos de muestreo en ambos costados de fiordos y canales.



Temperatura y salinidad





Qué sabemos de los bancos
naturales en el área de estudio?

Tipos de bancos

Estuario tipo Fiordo, Reloncaví



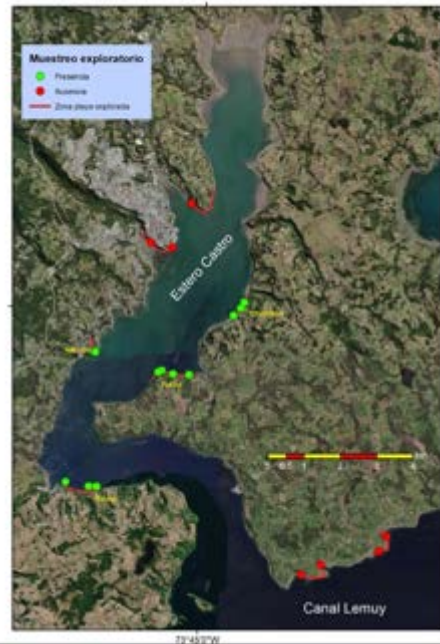
Estuario tipo Planicie, Yaldad

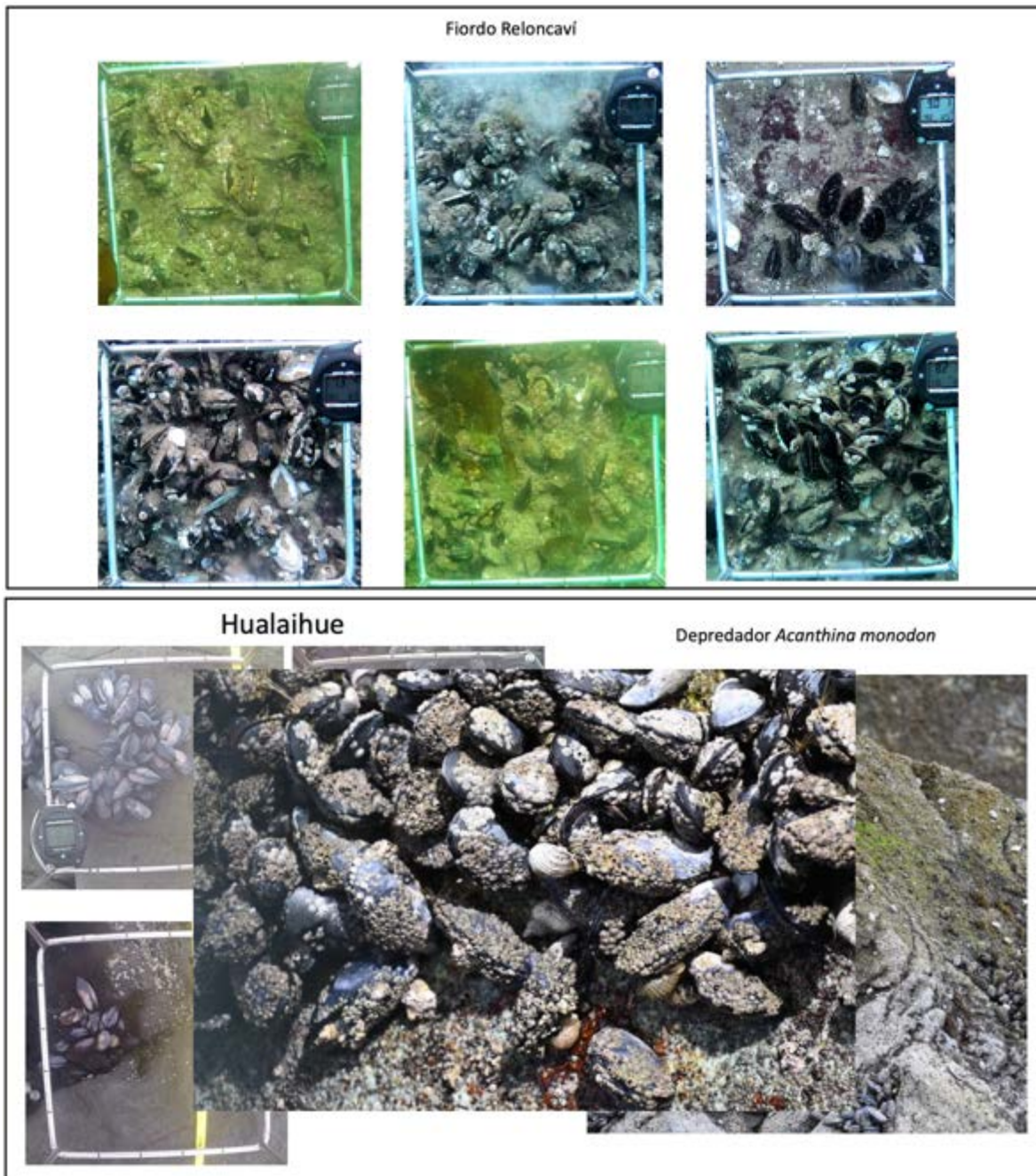


Bancos
"emergentes",
asociados a la
mitilicultura.
Intermareal y
bajo las líneas
de cultivo

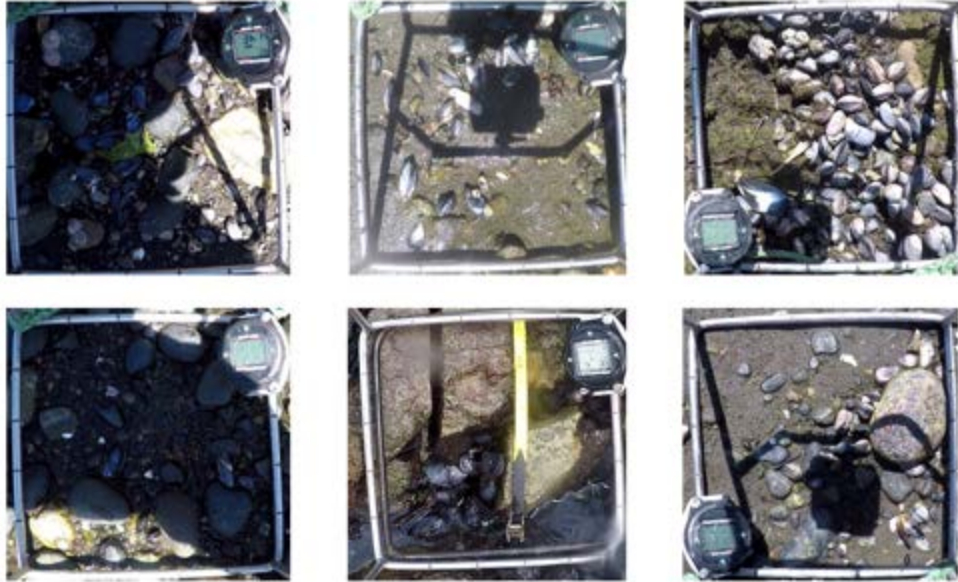


Primer registro de bancos de
Mytilus chilensis en Estero Castro
IFOP 2023.



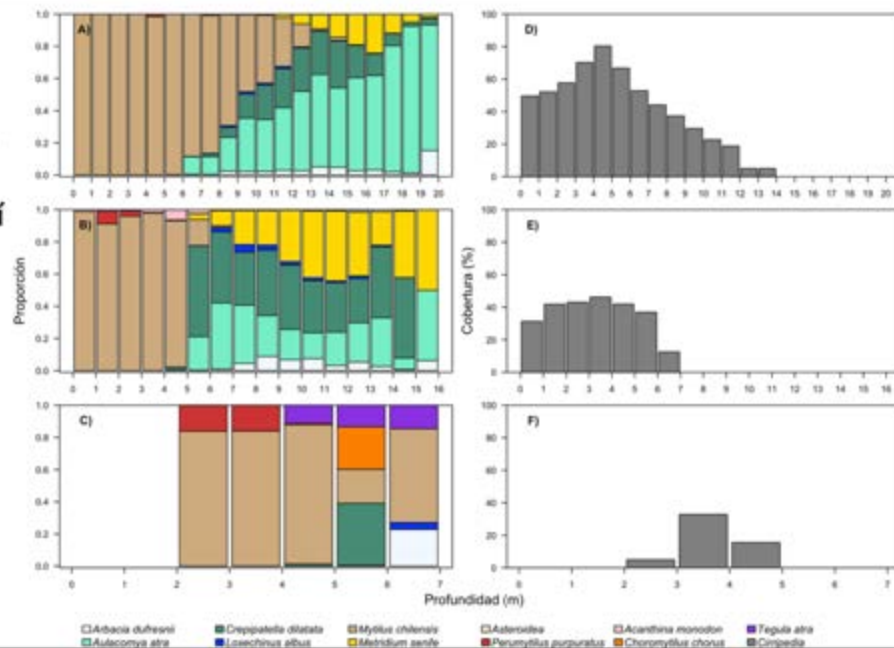


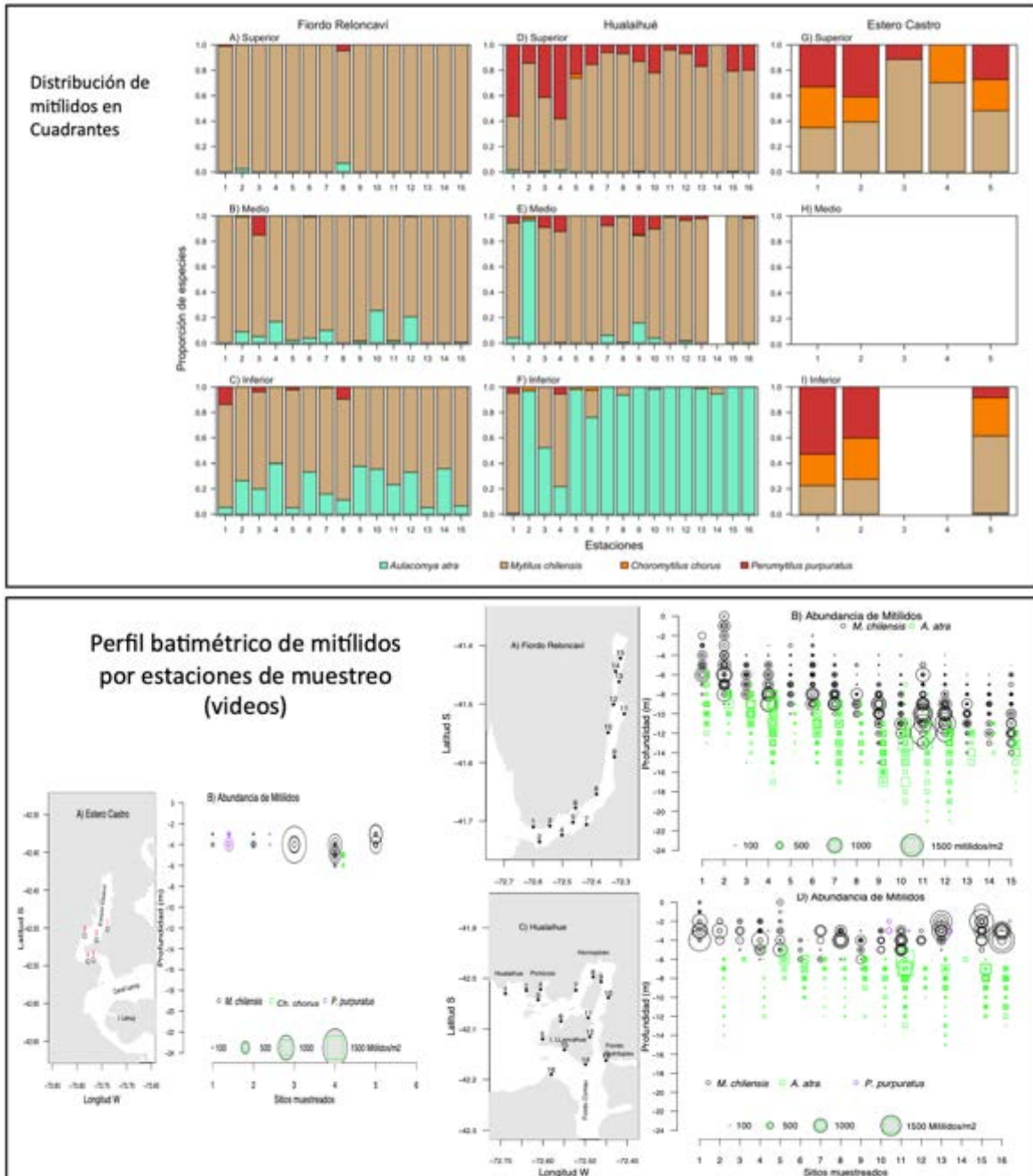
Estero Castro

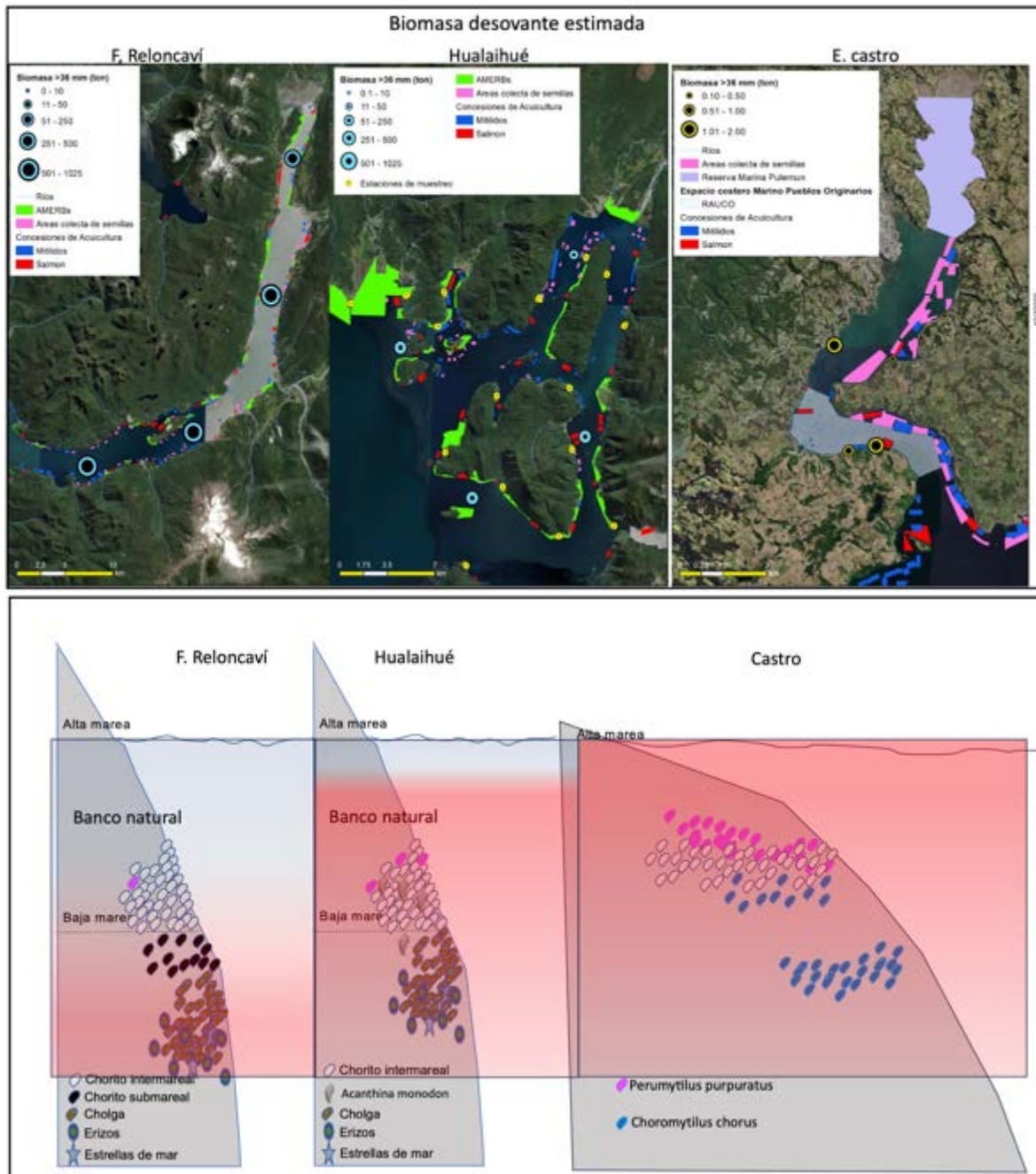


Distribución
general de
taxas (videos)
en:

- A) F. Reloncaví
B) Hualaihue
C) Castro







Conclusiones preliminares

- Los bancos de mitílidos de los tres sectores estudiados presentaron diferencias en su patrón vertical de distribución.
- *Mytilus chilensis* fue dominante en el intermareal y submareal somero en el fiordo Reloncaví, fue dominante en el intermareal de Hualaihue y en el intermareal de las estaciones de Castro.
- Coincidente con anteriores estudios la salinidad y los depredadores parecen modular la distribución de *M. chilensis* en Hualaihue y F. Reloncaví. Es necesario monitoreo para entender Castro.
- En el caso de Hualaihué, se observó abundante *Acanthina monodón*, en todo el rango batimétrico de *M. chilensis*, por lo que se estima que afecta a estas poblaciones.
- La anémona invasora *Metridium senile* fue más abundante en Hualaihué entre el límite superior del submareal y 16 m (límite de muestreo), mientras que en f. Reloncaví *M. senile* se registró entre 11 y 20 m

- Las mayores densidades de *M. chilensis* se registraron en estaciones de Hualaihué, con densidades promedio de hasta 600 ind./m² por estación.
- Sin embargo, la mayor biomasa desovante se estimó en el Fiordo Reloncaví con aproximadamente 2,950 t, mientras que en Hualaihué se estimó aproximadamente 1,460 t y en Estero Castro aproximadamente 4 t.
- Considerando la información disponible, es posible caracterizar al fiordo Reloncaví como zona más importante para la provisión de semilla silvestre para la mitilicultura, por lo que es clave su conservación y manejo en un contexto de cambio climático.
- El fiordo Reloncaví reúne características de hábitat fuente, probablemente acoplado a hábitat sumidero fuera del fiordo (ej. Seno Reloncaví), lo que debe ser evaluado.

Identificación genética de la especie de *Mytilus* en Reloncaví y Mar interior de Chiloé y diferenciación entre zonas mareales

Marcela P. Astorga, Jaime Vargas, Carlos Molinet

Fipa 2023-01
2024

Diferentes especies de *Mytilus*



• *Mytilus edulis*



Mytilus galloprovincialis



Mytilus californianus



• *Mytilus trossulus*



Mytilus chilensis

Objetivo 3. Proyecto

Incluye:

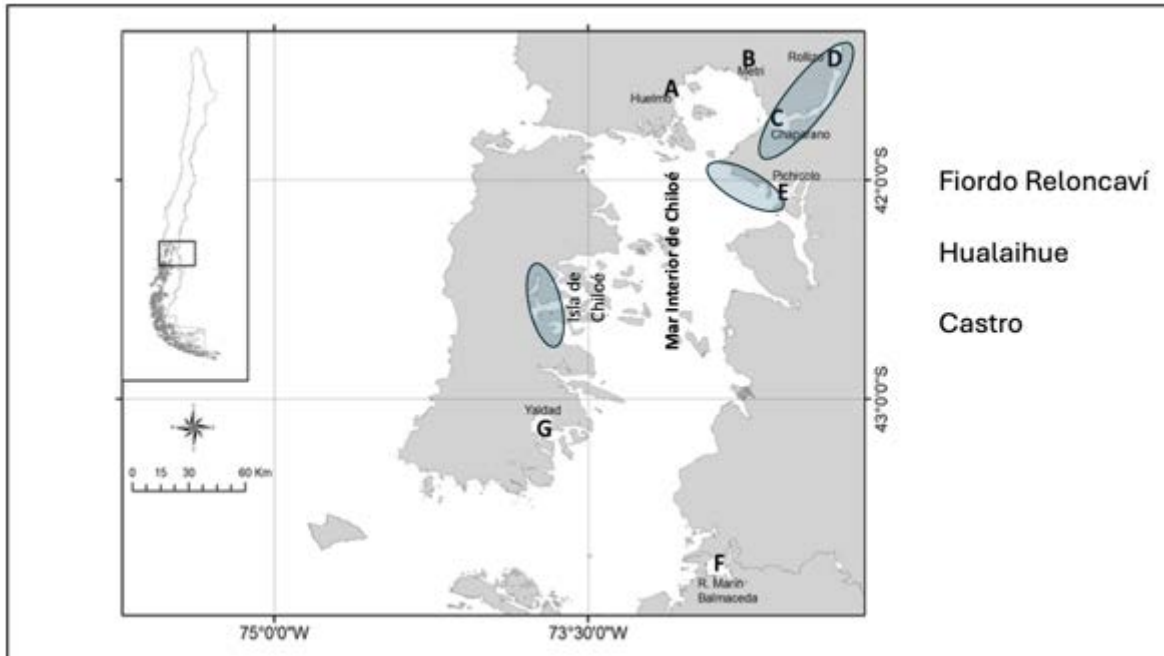
Apoyar la
trazabilidad de las
diferentes especies
del género *Mytilus*

Caracterizar los
bancos naturales
en un gradiente
vertical

Requerimiento metodológico 5.3.2 y 5.3.3

*“Identificar cada una de las especies de mitílidos presentes en los bancos naturales del área de estudio, considerando al menos 3 estratos en el sentido vertical, con especial énfasis en detectar la presencia de especies exóticas como *Mytilus galloprovincialis*”*

*“Identificar los sectores donde hay presencia en los bancos naturales de otras especies del género *Mytilus* diferentes a *Mytilus chilensis* o de bancos naturales de ellas y el grado de hibridación con *M. chilensis*, si lo hubiera.*

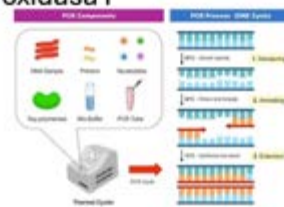


Aproximación Metodológica

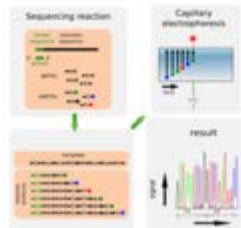
- Secuenciación del gen mitocondrial Citocromo oxidasa I



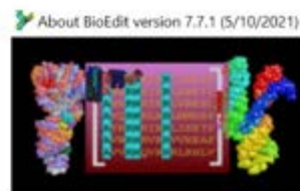
Extracción de ADN



Amplificación por PCR



Secuenciación



Edición



Análisis de datos

Resultados

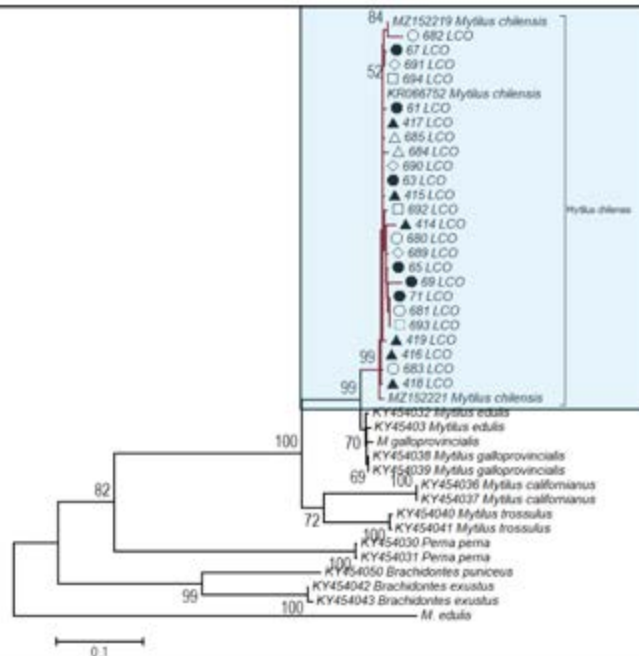
Que
encontramos en
la Región de Los
Lagos

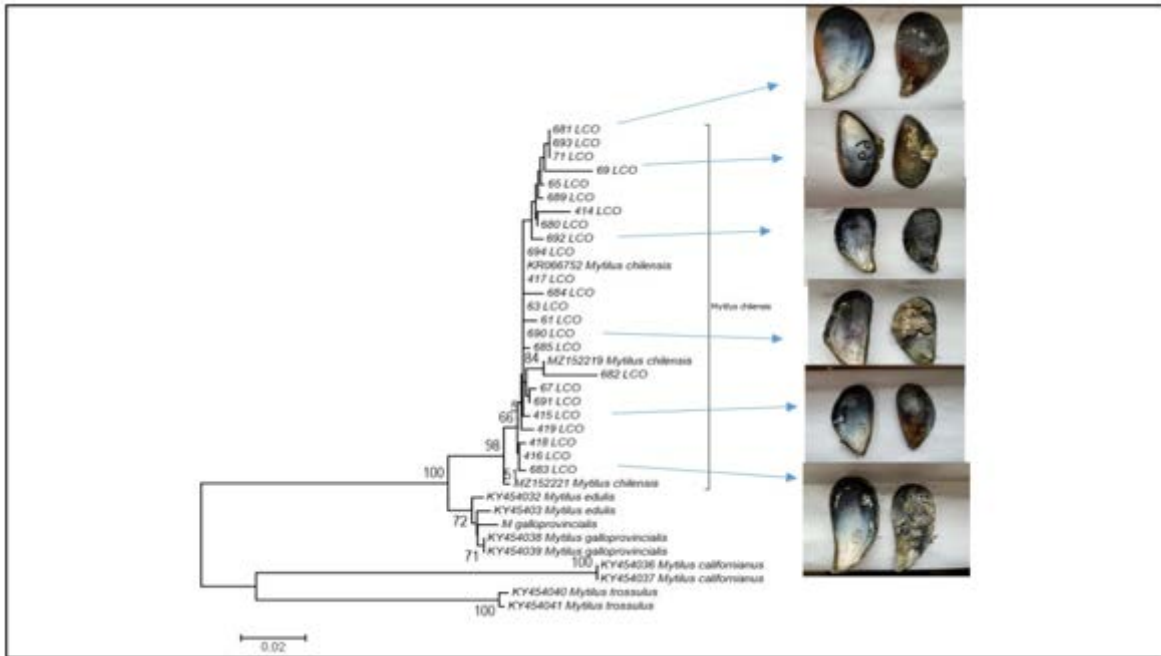




Morfotipos de la Región

Comparación
genética con
otras
especies de
Mytilidos





Conclusión

- Los morfotipos observados en bancos naturales del fiordo de Reloncaví y Mar interior de Chiloé (Castro y Hualaihue) corresponden a la misma especie, identificada como *Mytilus chilensis*
- No se encontró individuos de otras especies del género *Mytilus* en las muestras analizadas
- El método de secuenciación del gen Citocromo oxidasa I de ADN mitocondrial es adecuado para la identificación de la especie, como ya ha sido utilizado en el proyecto DNABarcoding de las especies marinas

Análisis entre localidades y zonas mareales

Gradiente en zona de marea

TABLE 3 Analysis of molecular variance (AMOVA) and degrees of freedom (*df*) for COI mitochondrial gene sequences and microsatellite markers in subtidal and intertidal strata of *M. chilensis* from Reloncavi Fjord, depicting the percentage of variation explained between subtidal and intertidal; within subtidal and intertidal separated by location (Coitue, Pajaros, Ragusa, Poicohuén, Bosque); and within locations

Sources of variation	COI				Microsatélites		
	<i>df</i>	% variation	F statistics		<i>df</i>	% variation	F statistics
Among sub/intertidal	1	1.58	$F_{1,1} = 0.016^{**}$		1	-0.58	$F_{1,1} = -0.006$ n.s.
Among locations	7	0.58	$F_{7,7} = 0.006$ n.s.		7	3.11	$F_{7,7} = 0.031^{***}$
Within sub/intertidal							
Within locations	250	97.84	$F_{250,250} = 0.022$ n.s.		647	97.47	$F_{647,647} = 0.025^{***}$

p* < .01; *p* < .001, after 1,023 permutations.

- Selección diferencial entre intermareal y submareal a lo largo del Fiordo de Reloncavi
- Selección purificante o negativa en individuos intermareales (menor diversidad genética que los submareales)

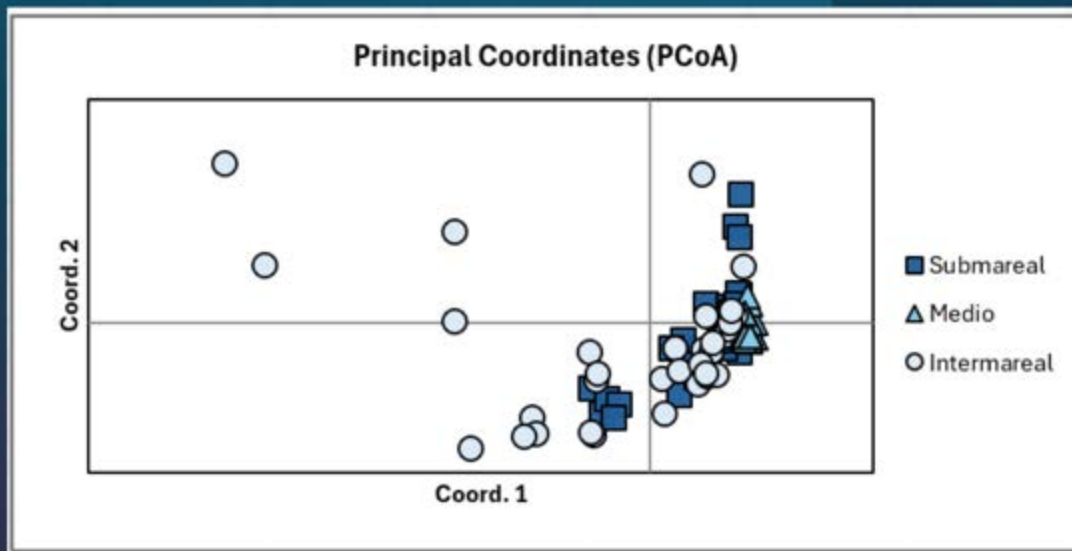
Astorga et al 2017



Diversidad genética entre zonas mareales (Fiordo de Reloncavi)

Mayor
➔

Zona	Sitios Variables	Número Haplotipos	Diversidad Haplotípica	Número de diferencias	Diversidad de nucleótidos
Submareal	52	26	0,958	7,704	0,016
Media	10	11	0,926	2,588	0,005
Intermareal	99	38	0,992	13,867	0,029
TOTAL	121	70	0,972	10,247	0,021



Diversidad genética en localidades y zonas mareales


	Localidad	Zona	Sitios Variables	Número Haplotipos	Diversidad Haplotípica	Número de diferencias	Diversidad de nucleótidos
Mayor ➔	Coitue	Submareal	11	6	1,0	4,6	0,0097
	Coitue	Intermareal	72	15	1,0	16,2	0,0348
	Bahía Martín	Submareal	20	11	1,0	6,1	0,0129
	Bahía Martín	Intermareal	17	12	1,0	5,3	0,0112
Menor ➔	Cajón	Submareal	6	4	1,0	3,5	0,0074
	Cajón	Medía	8	7	0,96	3,1	0,0065
	Cajón	Intermareal	13	8	0,89	3,3	0,0069
	Llaguepe	Submareal	32	8	0,97	11,6	0,0250
	Llaguepe	Medía	5	5	0,93	2,4	0,0050
	Llaguepe	Intermareal	17	3	1,0	11,6	0,0249
	TOTAL		120	68	0,97	10,4	0,0218

P-value: 0,8842 ns; (df = 670)

Análisis de varianza molecular (AMOVA)

Source of variation	df	Sum of squares	Variance components	Percentage of variation	Significance
Entre localidades	3	76,85	0,631	-7,25	0,863 ns
Entre zonas mareales dentro de localidades	7	229,890	3,595	41,27	0,0001 ***
Dentro de zonas	80	460,003	5,750	65,99	0,0001 ***

Diversidad entre sectores analizados

Mayor 

Zona	Sitios Variables	Número Haplotipos	Diversidad Haplotípica	Número de diferencias	Diversidad de nucleótidos
Reloncaví	121	70	0,972	10,247	0,021
Hualaihue	20	10	0,969	4,606	0,009
Castro	17	10	1,000	4,467	0,009
TOTAL	129	79	0,971	9,367	0,019

Diferencia entre áreas

- Fst bajo la diagonal
- Valor de p sobre la diagonal

Localidad	Reloncaví	Hualaihue	Castro
Reloncaví		0,072	0,036
Hualaihue	0,047		0,873
Castro	0,046	-0,033	

Matriz de significancia entre localidades

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	-	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-
2	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
4	-	+	-	-	+	-	+	+	+	+	-	-
5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
6	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+
7	-	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-
8	-	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-
9	-	+	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+
10	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-
11	-	+	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-
12	-	+	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-

Coitue intermareal Bahía Martín Intermareal

Localidades con mayor diferencia

Conclusión

Se mantiene diferenciación entre zonas mareales

Se observa mayor diversidad genética en zona intermareal

Leves diferencias entre localidades, alta movilidad de semillas

Fiordo Reloncaví mayor diversidad

- mayor presencia de bancos naturales??
- Fuente de la semilla, resto sumidero??

Propuesta de zonas de protección en Fiordo Reloncaví



PROYECTO FIPA 2023 – 01



Objetivo Específico N° 4. Generar una herramienta de secuenciación masiva que permita establecer y relacionar el origen geográfico de los nuevos reclutas en los bancos naturales y de las semillas captadas en los colectores, respecto de los bancos naturales previamente identificados.

Cristian Gallardo-Escárate¹ Carlos Molinet² & Marcela Astorga²

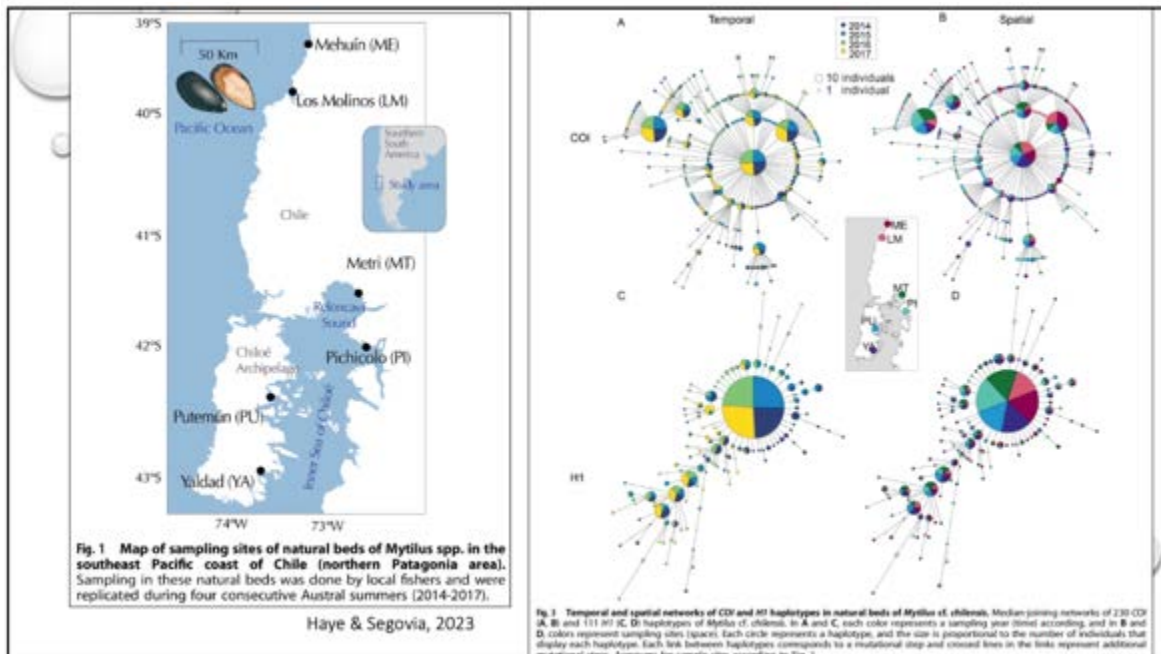
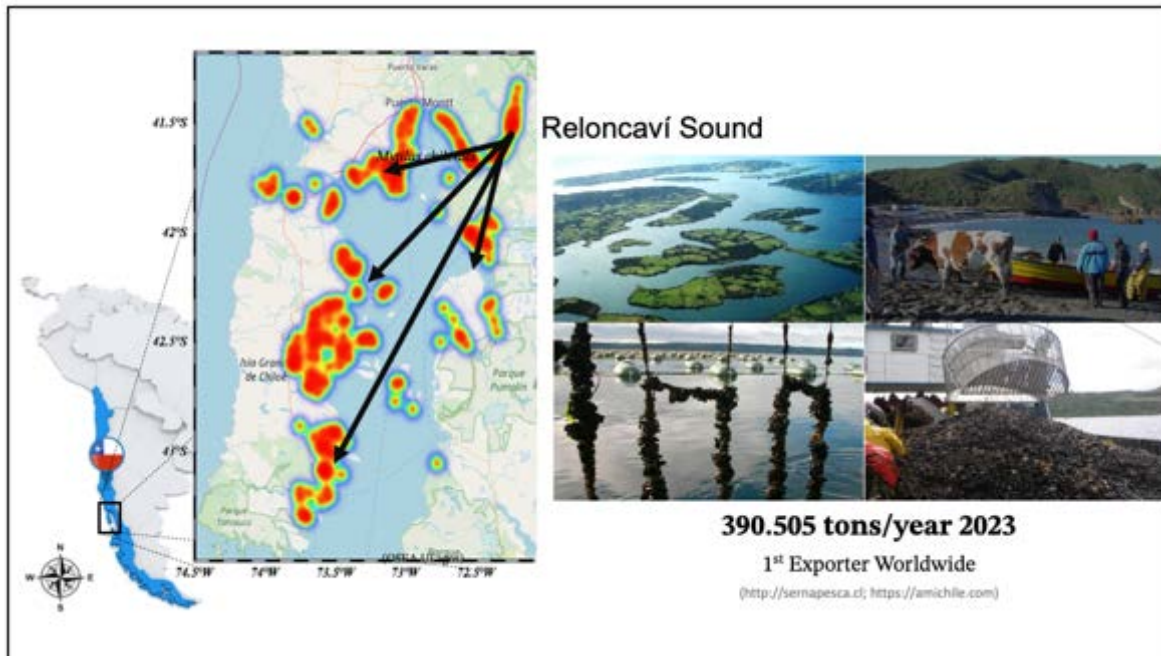
¹Centro Interdisciplinario para Investigación en Acuicultura, U. de Concepción, Concepción, Chile.

²Instituto de Acuicultura, U. Austral de Chile, Puerto Montt, Chile

04 de Diciembre, 2024



Mytilus chilensis



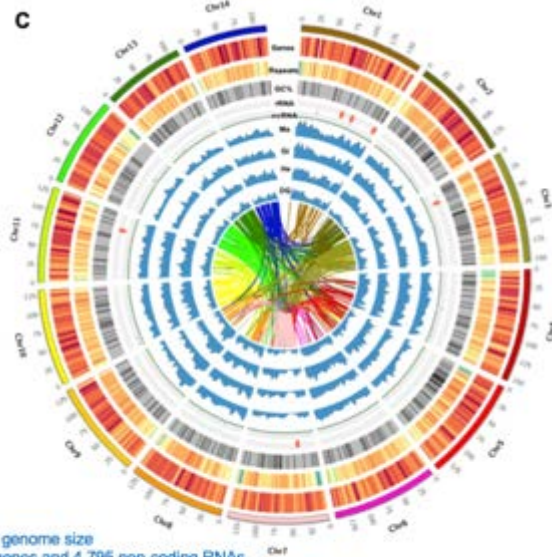
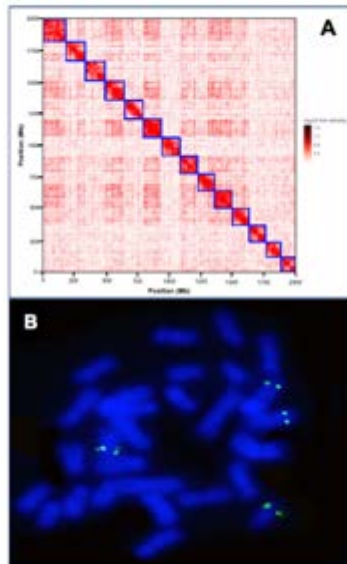
Article

Chromosome-Level Genome Assembly of the Blue Mussel *Mytilus chilensis* Reveals Molecular Signatures Facing the Marine Environment

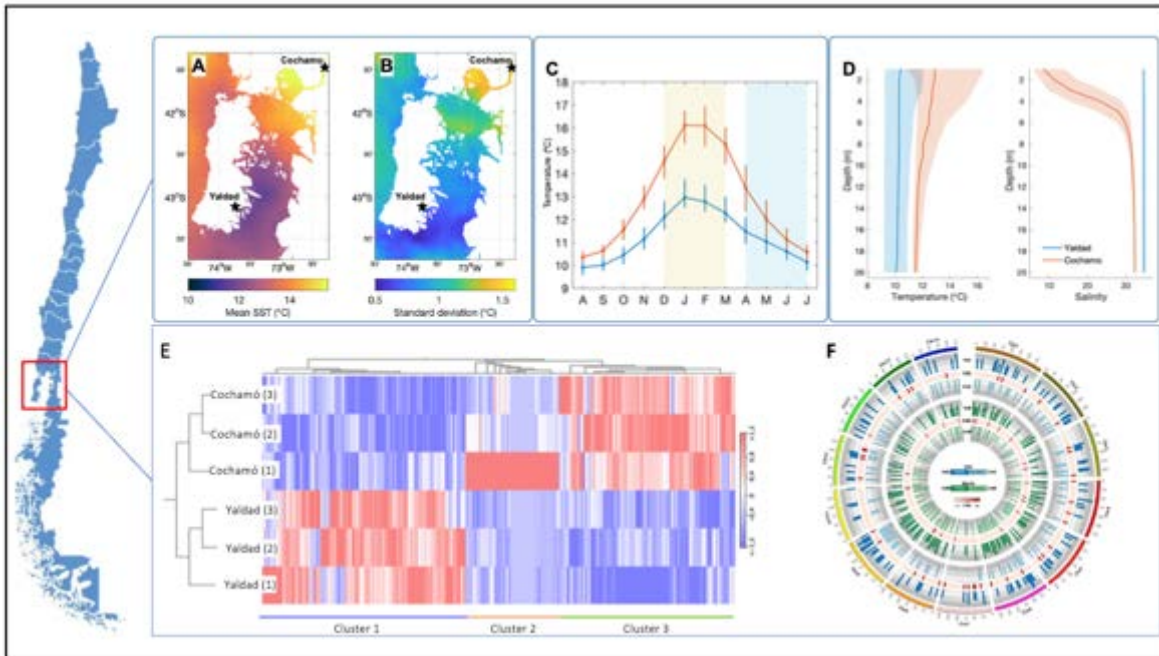
Cristian Gallardo-Escárate ^{1,*}, Valentina Valenzuela-Muñoz ¹, Gustavo Nuñez-Acuña ¹, Diego Valenzuela-Miranda ¹, Fabian J. Tapia ¹, Marco Yévenes ², Gonzalo Gajardo ², Jorge E. Toro ³, Pablo A. Oyarzún ⁴, Gloria Arriagada ^{5,6}, Beatriz Novoa ⁷, Antonio Figueras ⁷, Steven Roberts ⁸ and Marco Gerdol ⁹

- ¹ Center for Aquaculture Research, University of Concepción, Concepción 4070386, Chile
- ² Laboratorio de Genética, Acuicultura & Biodiversidad, Departamento de Ciencias Biológicas y Biodiversidad, Universidad de Los Lagos, Osorno 5310230, Chile
- ³ Facultad de Ciencias, Instituto de Ciencias Marinas y Limnológicas (ICML), Universidad Austral de Chile, Valdivia 5110566, Chile
- ⁴ Centro de Investigación Marina Quintay (CIMARQ), Universidad Andrés Bello, Quintay 2340000, Chile
- ⁵ Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad Andrés Bello, Santiago 8370186, Chile
- ⁶ FONDAF Center for Genome Regulation, Santiago 8370415, Chile
- ⁷ Instituto de Investigaciones Marinas (IIM), Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), 36208 Vigo, Spain
- ⁸ School of Aquatic and Fishery Sciences (SAFS), University of Washington, Seattle, WA 98195, USA
- ⁹ Department of Life Sciences, University of Trieste, 34127 Trieste, Italy

The *Mytilus chilensis* genome



- 1.93 Gb genome size
- 34,530 genes and 4,795 non-coding RNAs.
- 57% repetitive sequences with predominancy of LTR-retrotransposons.



Proyecto FIPA 2024

Se utilizaron datos de secuencias de genoma completo con objetivo de:

- (i) La diversidad genética y la estructura de tres poblaciones de *M. chilensis*, y dos sectores por localidad.
- (ii) Las posibles firmas de selección asociadas con la adaptación a ambientes contrastantes, como son el Seno de Reloncaví y el mar interior de Chiloé.
- (iii) Evaluar posibles dinámicas fuente/sumidero a fin de establecer origen de semilla de *M. chilensis* en sitios de engorda, utilizando información genómica de bancos previamente identificados.



Requisito: Tener banco natural y colectores de semillas

60 muestras de todas las localidades con bancos naturales
de los tres sectores de estudio

Semillas de similar tamaño (asumiendo una misma cohorte)
desde los bancos naturales cercanos a los colectores.

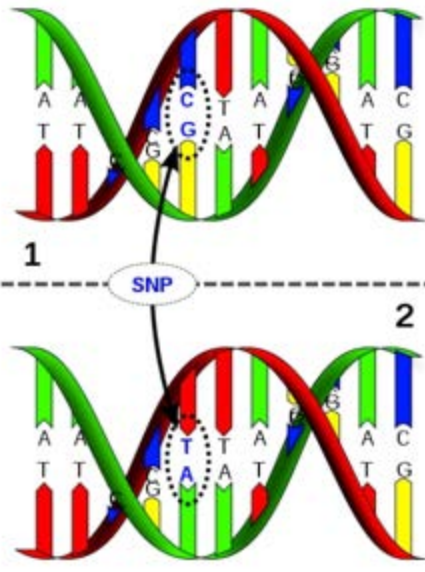
Para definir las posibles procedencias de las semillas: Se
muestrearon individuos adultos, mediante muestreo al azar
en diferentes cuelgas de engorda y se muestrearan adultos
de los bancos naturales,

Localidad	Sector	Código
RELONCAVI	Rollizo	RR
RELONCAVI	Llaguape	RL
HUALAIHUE	Llancahue	HL
HUALAIHUE	Puntilla Quilón	HP
CASTRO	Yubuy	CY
CASTRO	Chañihue	CC

9

Polimorfismos de un único nucleótido (SNP)

- Un cambio en una base dentro de una secuencia nucleotídica
- Polimorfismos estables
- Baja tasa de mutación (10^{-7})
- Muy frecuentes en el genoma (0.2 – 1.0 kb)
- Mutaciones sinónimas y no-sinónimas.
- Heredables y genéticamente estables



Individuo 1 TCGACTA**A**CTCTA ... CGTTCAGGCGT ... ACGCATTACGGCGTCC

Individuo 2 TCGACT**G**CTCTA ... CGTTTAGGCGT ... ACACATTAGGGCGTCC

Individuo 3 TCGACTA**A**CTCTA ... CGTTCAGGCGT ... ACACATTACGGCGTCC

Individuo 4 TCGACT**G**CTCTA ... CGTTCAGGCGT ... ACGCATTACGGCGTCC

Individuo 5 TCGACTA**A**CTCTA ... CGTTCAGGCGT ... ACACATTATGGCGTCC

Individuo 6 TCGACTA**A**CTCTA ... CGTTCAGGCGT ... ACACATTACGGCGTCC

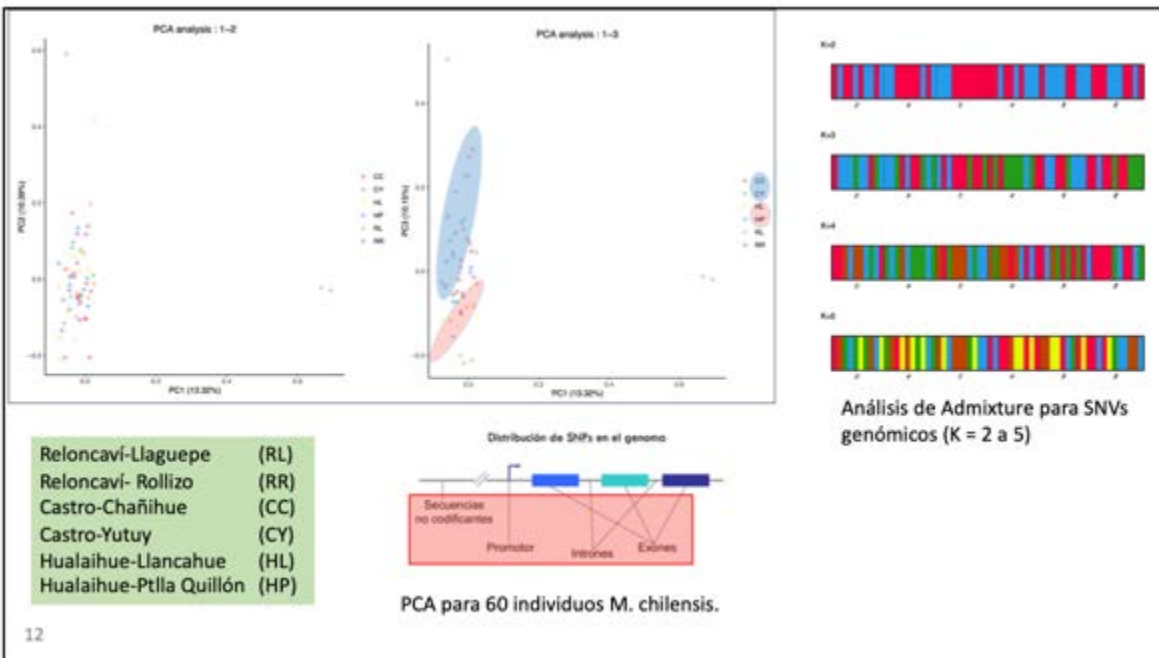
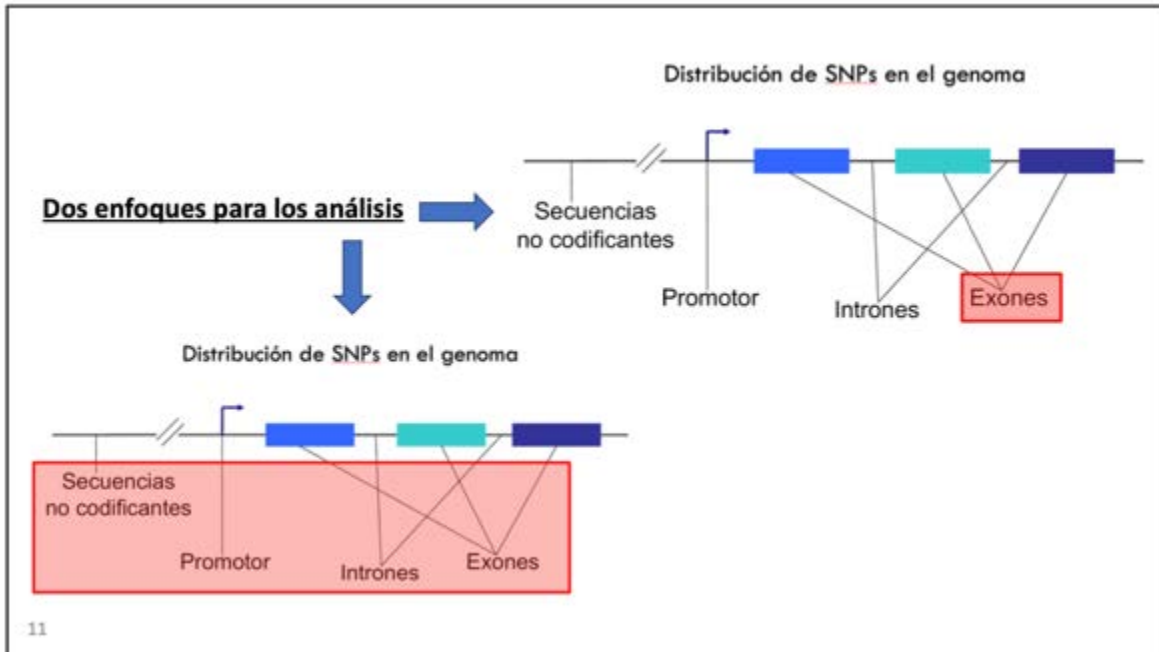
SNP

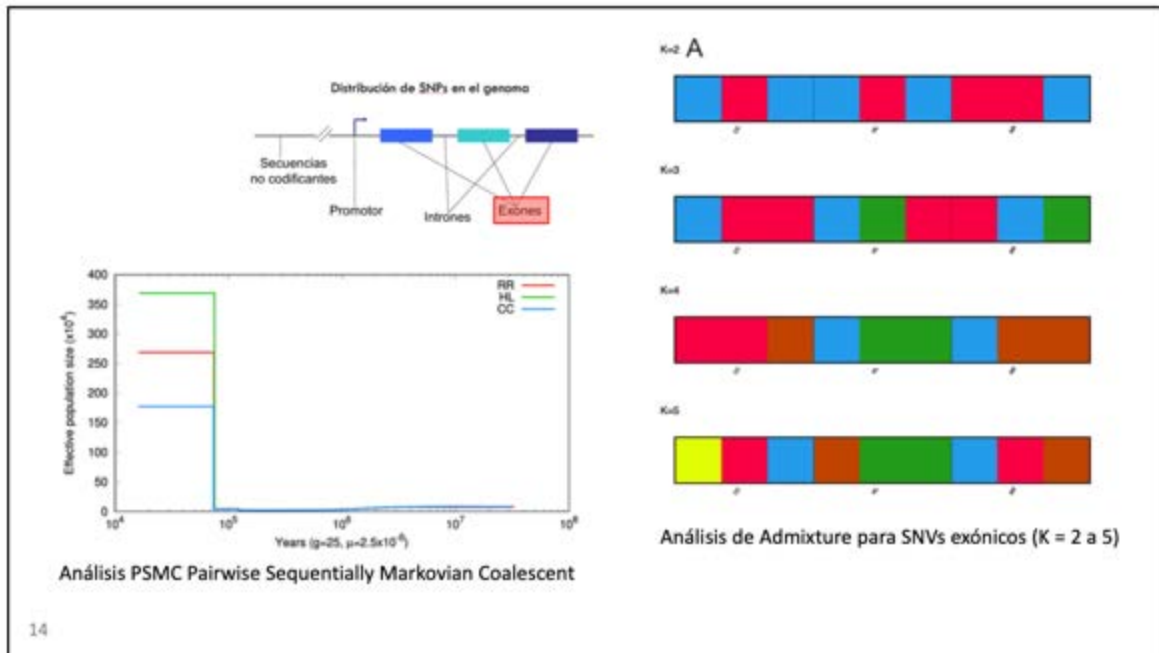
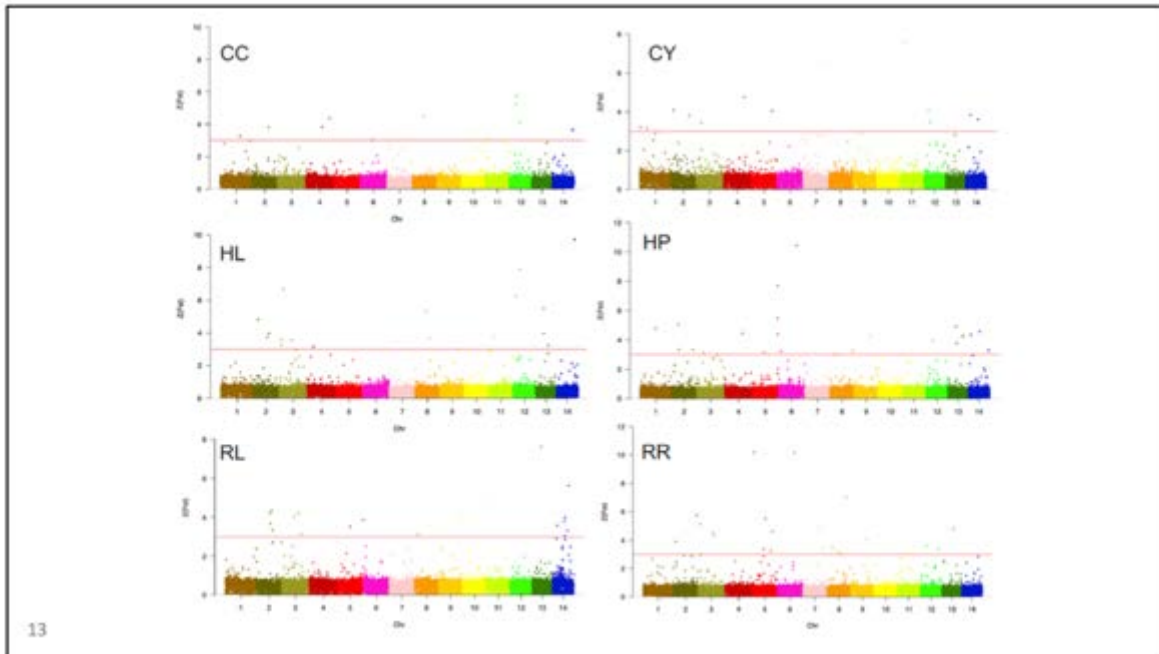
A/G

C/T

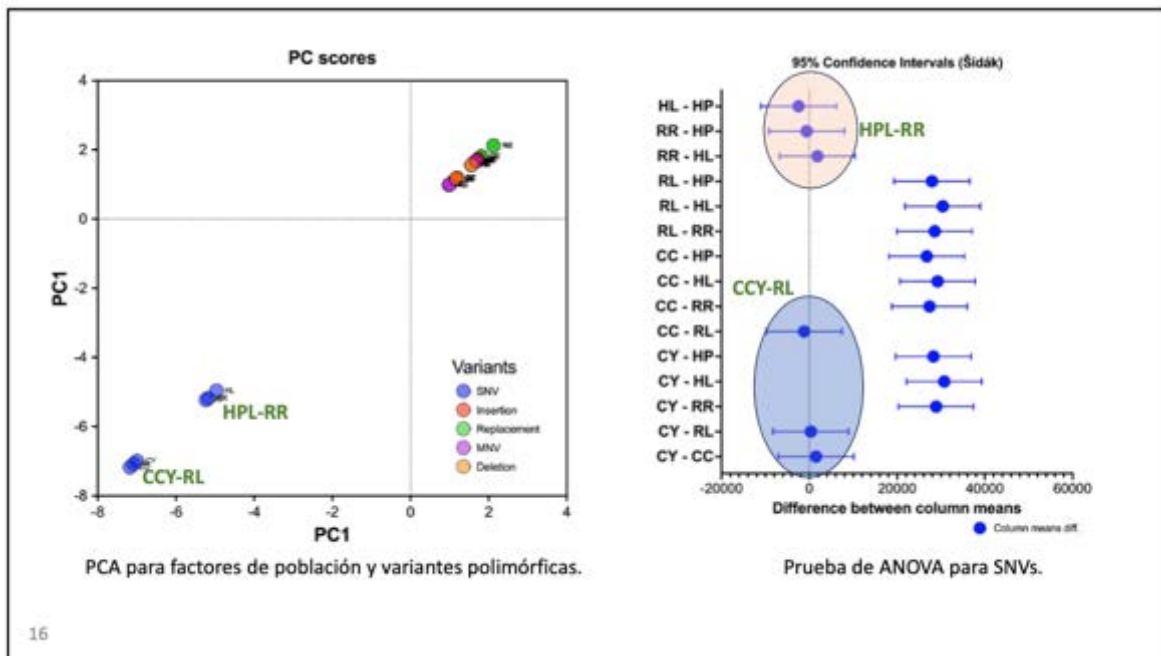
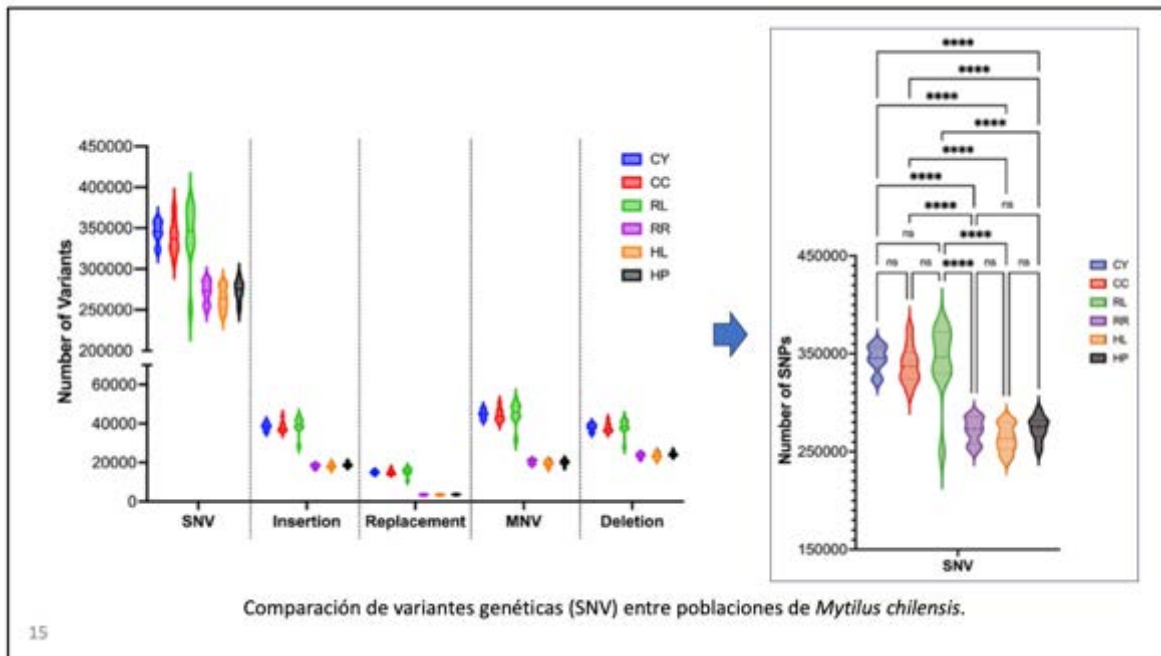
A/G

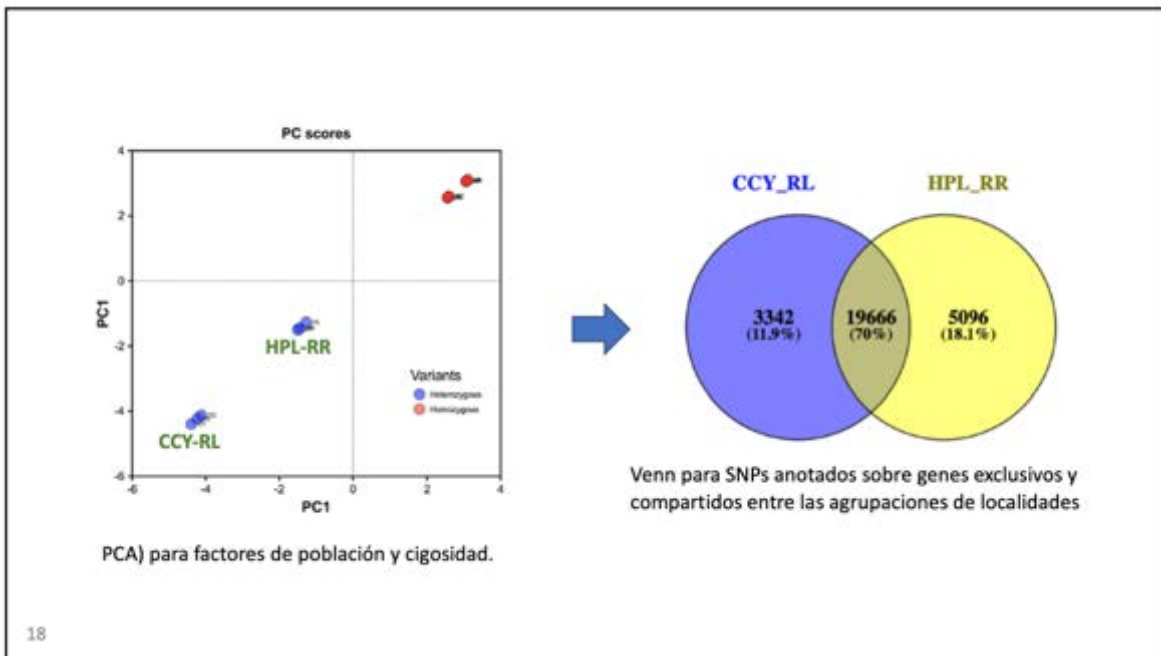
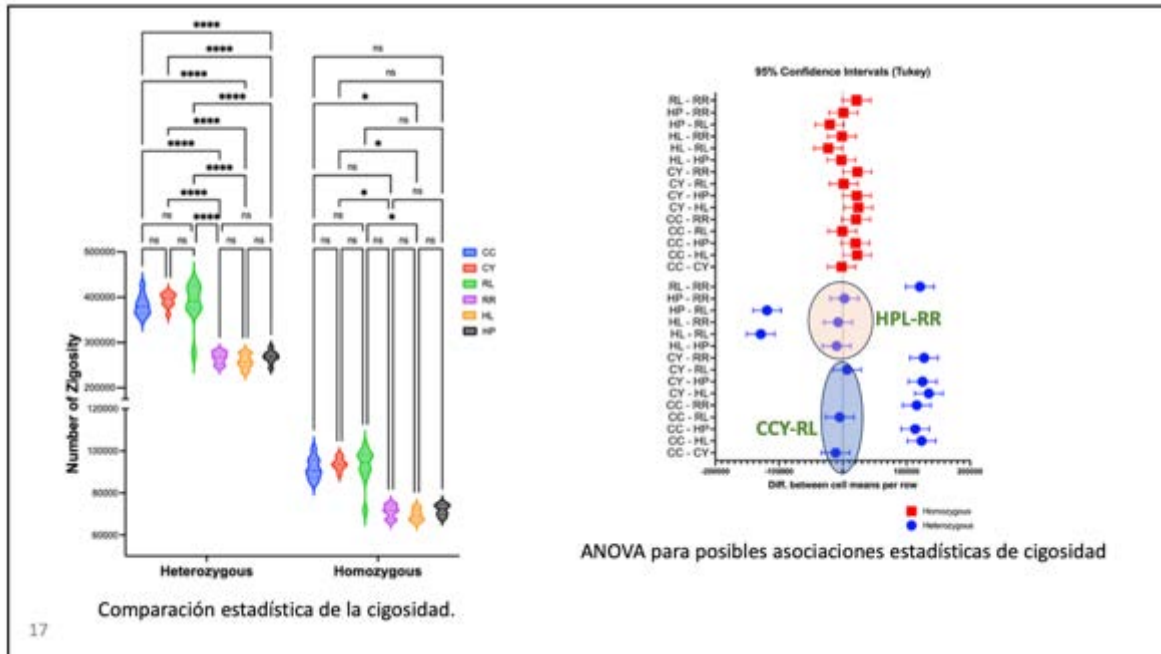
C/G/T

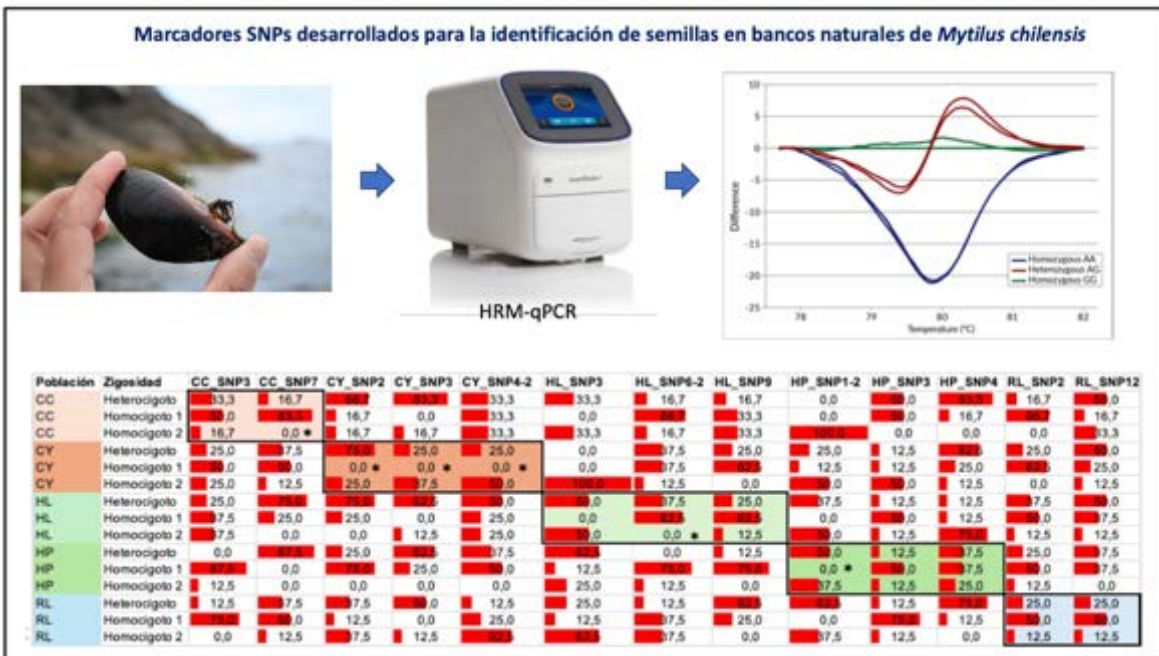
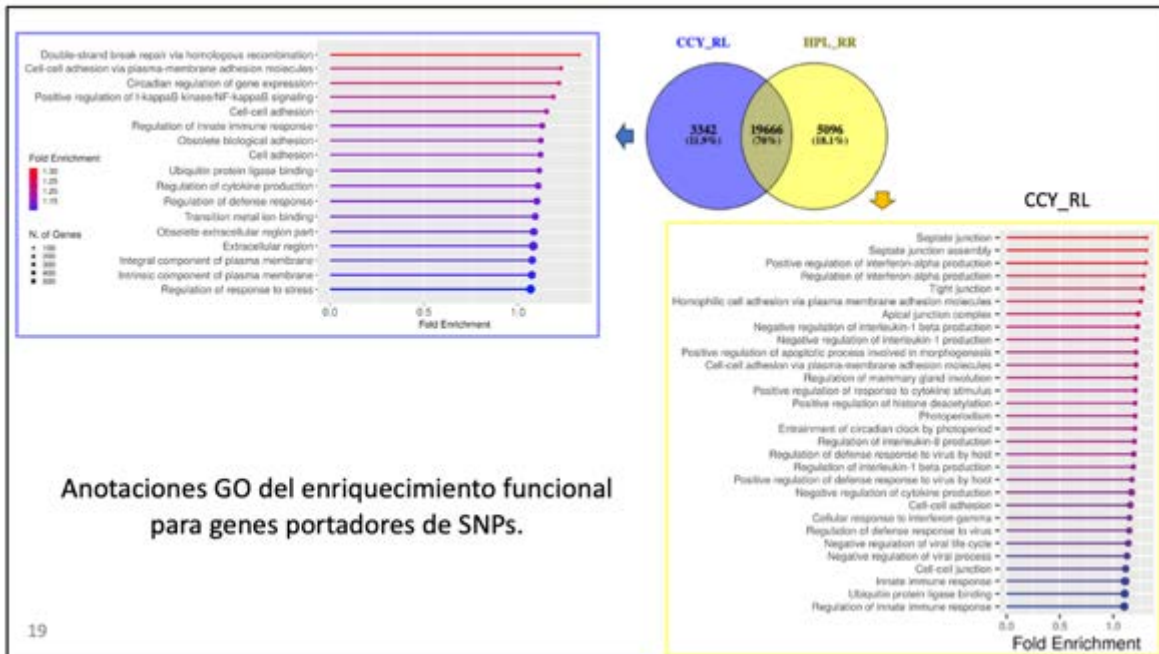




14







Análisis del origen de la semilla y Conectividad

Semillas de Colectores y bancos naturales.

Se compararon con:

Adultos de bancos naturales (cercaños y
distantes) y de centros de engorda.

Probable conectividad para las poblaciones de
Mytilus chilensis de Reloncaví, Castro y Hualaihué



21

Conclusiones

- Este estudio es pionero en evaluar la variabilidad genómica de poblaciones de *M. chilensis* mediante resecuenciación de genoma completo.
- Los análisis estadísticos no logran diferenciar claramente la estructura poblacional por la homogeneidad genética derivada de la traslocación de semillas entre Reloncaví, Castro y Hualaihué.
- El análisis de variantes en regiones exónicas muestra una agrupación entre Castro-Chañihue-Yutuy con Reloncaví-Llaguepe, y entre Hualaihué y Reloncaví-Rollizo, sugiriendo flujo genético entre Hualaihué y Castro.
- Los SNPs diferenciados entre poblaciones están asociados a funciones biológicas y moleculares distintas, lo que sugiere fijación local y posibles adaptaciones.
- Este trabajo propone un nuevo panel de SNPs mediante HRM para evaluar la trazabilidad genética de semillas de *M. chilensis*.

22