

Febrero, 2024

ESTUDIO DE LÍNEA BASE SECTOR LAGUNAS LA SEÑORAZA, EL PILLO Y SU DESCARGA, COMUNA DE LAJA, REGIÓN DEL BIOBÍO

Licitación: 3735-43-LE23



ILUSTRE
MUNICIPALIDAD
DE LAJA

ESTUDIO DE LÍNEA BASE SECTOR LAGUNAS LA SEÑORAZA, EL PILLO Y SU DESCARGA, COMUNA DE LAJA, REGION DEL BIOBÍO

ECOLOGÍA Y GENÉTICA AMBIENTAL SPA
Concepción, región del Biobío – Chile
www.ecogen.cl

Sistema de Gestión Integrado ISO 9001:2015 – ISO 14001:2015	Informe de resultados GEN-1161
--	-----------------------------------

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN	3
1. INTRODUCCIÓN	5
2. OBJETIVOS	6
2.1. Objetivo general	6
2.2. Objetivos específicos	6
3. METODOLOGÍA	7
3.1. Sitios de estudio	7
3.2. Caracterización del hábitat	8
3.3. Monitoreo de flora y vegetación	8
3.4. Monitoreo de vertebrados usando ADN ambiental	9
3.4.1. Extracción del material genético	10
3.4.2. Elaboración librerías genéticas y secuenciación masiva	10
3.4.3. Análisis bioinformático	10
3.5. Monitoreo complementario de avifauna	11
3.6. Análisis de diversidad	12
4. RESULTADOS	13
4.1. Caracterización del hábitat	13
4.2. Caracterización de la vegetación asociada al humedal	15
4.3. Índices de diversidad de flora y vegetación	17
4.4. Diversidad y asignación taxonómica vegetacional	18
4.5. Análisis de vertebrados usando ADN ambiental	19
4.5.1. Peces	21
4.5.2. Herpetozoa	23
4.5.3. Aves	24
4.5.4. Mamíferos	26
4.5.5. Comparación de la biodiversidad entre lagunas	28
4.6. Monitoreo visual complementario de aves	31
5. CONSIDERACIONES GENERALES	33
6. CONCLUSIONES	34
7. REFERENCIAS	35

RESUMEN

Las lagunas La Señoraza, El Pillo y su descarga son un complejo sistema acuático que forma parte de la cuenca del río Laja, la cual es un área prioritaria de conservación de biodiversidad. El objetivo del estudio fue caracterizar la biodiversidad de las lagunas La Señoraza, El Pillo y su descarga, en la comuna de Laja, región del Biobío. El estudio incluye monitoreo integrado de biodiversidad mediante técnicas tradicionales (flora, vegetación y avifauna) y ADN ambiental (vertebrados). El ADN ambiental (eDNA por su acrónimo en inglés), corresponde al material genético que es dejado por los organismos en el ambiente mediante procesos biológicos naturales (i.e., piel, pelo, excreción, orina, reproducción, saliva, entre otros) y el cual puede ser recuperado en su forma libre desde cualquier matriz ambiental (e.g., agua, suelo, sedimento). En general, fueron registradas 24 especies de plantas acuáticas o palustres en las lagunas La Señoraza, El Pillo y su descarga, las cuales corresponden a 18 especies helófitas o palustres emergidas (75%) y seis especies hidrófitas o acuáticas (25%). En términos de origen, fueron registradas 11 especies nativas (46%), 12 especies exóticas (50%) y un taxón fue identificado sólo hasta nivel de género (4%), pudiendo tener una condición nativa o exótica. La laguna El Pillo fue el área que mostró la mayor riqueza de especies (23), mostrando también la mayor riqueza promedio de especies ($S=5,4$) siendo el área más diversa en términos de valores de diversidad de flora y vegetación acuática. En total, fueron registradas 38 especies de flora y vegetación terrestre, la cual estuvo representada por 30 especies nativas (79%), ocho especies exóticas (21%). La laguna El Pillo fue el área que mostró la mayor riqueza de especies donde fueron registradas 36 especies (95%) en comparación con la laguna La Señoraza donde fueron registradas 17 especies (45%) del total. Para el grupo de vertebrados, un total de 57 especies fueron identificadas usando ADN ambiental y agrupadas en cinco grupos. En término de riqueza de especies, el grupo mejor representado fue el de mamíferos (21 especies), seguido por aves (18 especies), peces (12 especies), anfibios (cinco especies) y reptiles (una especie). Las especies registradas fueron agrupadas en siete especies endémicas, 38 especies nativas y 17 especies exóticas con un cociente de nativas/exóticas de 2,2, mostrando una alta representación de especies nativas. No obstante, la representación de especies exóticas presentes en las lagunas y áreas adyacentes provienen principalmente de especies de mamíferos asilvestrados y/o domesticados (e.g., ganado vacuno, perro, gato, laucha, guarén, rata negra, cerdo, entre otros). Los índices de diversidad promedio mostraron que la laguna La Señoraza fue levemente más diversa que El Pillo, mostrando además valores de uniformidad y dominancia total similares entre ambas lagunas. La estructura general de las especies de vertebrados mostró diferencias entre lagunas solo para el grupo de peces, la cual evidencia una alta abundancia de especies exóticas en la laguna La Señoraza en comparación con la laguna El Pillo, generando una estructura comunitaria diferente entre lagunas. El resto de los grupos (i.e., anfibios y reptiles, aves y mamíferos) no mostraron diferencias estadísticas a nivel de su estructura comunitaria, lo que sugiere un mismo “pool” de especies presentes en ambas lagunas de la comuna. Los resultados mostraron que el monitoreo de especies y la identificación de biodiversidad usando ADN ambiental aumenta los registros de especies crípticas, de baja movilidad o abundancia, estableciéndose como un método óptimo para caracterizar sistemas naturales complejos y complementar estudios realizados mediante métodos tradicionales,

como en el caso de las lagunas La Señoraza y El Pillo, las cuales albergan hábitats intervenidos, pero también lugares de difícil acceso debido a su borde protegido por totorales que imposibilita el acceso libre. El método de ADN ambiental permite registrar especies que pueden ser de difícil visualización o donde son necesarias largas campañas de monitoreo a cargo de grupos de especialistas. Además, el análisis de ADN ambiental contribuye al desarrollo de políticas ambientales relacionadas con la visibilización y gestión de la biodiversidad para conocer, proteger, y conservar ambientes locales y lograr su desarrollo a nivel global, por ende, se sugiere generar programas de seguimiento ambiental basado en biodiversidad, incluyendo otros periodos de monitoreo estacional (al menos invernal-estival) que puedan dar cuenta de la variabilidad temporal de las lagunas, donde algunas especies tienen hábitos de migración (e.g., aves), aumentan su presencia y/o abundancia en periodos invernales (e.g., anfibios) o estivales (e.g., reptiles), generando procesos que dan cuenta de las dinámicas espaciales y temporales de la biodiversidad en las áreas de las lagunas y de hábitats adyacentes, con lo cual se pueden proponer estrategias de protección de la biodiversidad, por ejemplo, basada en estados de conservación, o basada en la generación de programas que ayuden a mitigar y/o erradicar la presencia de especies exóticas y/o introducidas en la región.

1. INTRODUCCIÓN

El ADN ambiental (eDNA por su acrónimo en inglés), está referido al material genético libre que puede ser recuperado desde una matriz ambiental (i.e., agua, suelo, sedimento, nieve, entre otros), el cual proviene de una variedad de organismos en diferentes fuentes ambientales, las cuales van desde secreciones corporales (sangre, mucus, propágulos reproductivos, excreciones, desechos celulares, cabello, tejido), o desde microorganismos, incluyendo el material genético como moléculas libres de ADN (Taberlet et al. 2018), y el cual puede permanecer en el ambiente desde unas pocas horas hasta una par de días en muestras de agua, y desde unas pocas horas un par de semanas en el caso de muestras de suelo, lo cual depende de las condiciones ambientales imperantes en un ecosistema en particular (Ficetola et al. 2008, Taberlet et al. 2018). Este material genético puede ser extraído y aislado del ambiente usando métodos convencionales de biología molecular. Una vez extraído, la información inherente incorporada dentro del ADN proporciona una “lupa” a través de la cual se pueden estudiar los organismos que están presentes en el ambiente desde donde fueron obtenidas las muestras. Los métodos basados en ADN ambiental ofrecen ventajas comparativas con respecto a métodos tradicionales, ya que pueden ser aplicados a una amplia gama de hábitats y grupos, sin requerir de una amplia especialización y/o experiencia taxonómica (Ficetola et al. 2008). Los métodos son extremadamente flexibles y adaptables a distintos grupos objetivos, ambientes como acuáticos o terrestres, y ecosistemas como humedales, bosques, desiertos, lagunas, ríos, o incluso microbioma (Ficetola et al. 2008, Taberlet et al. 2018). En general, la explotación del ADN ambiental para monitorear la biodiversidad se basa en el principio de que es posible reconocer cada una de las especies existentes en el planeta a partir de un segmento del material genético, el cual es conocido hoy en día como “DNA barcoding”. A nivel técnico, es posible encontrar marcadores moleculares que cumplen bastante bien el principio (e.g., segmentos parciales del gen COI mitocondrial, y ribosómico mitocondrial de los genes 16s y 12s), y que se utilizan de forma rutinaria para identificar y catalogar metazoos (Taberlet et al. 2018, Valentini et al. 2018). A nivel práctico, ha habido un desarrollo sin precedentes de catálogos de biodiversidad que incluyen secuencias de ADN (i.e., BOLD, GenBank, WoRMs, Biocode, Midori), que son la columna vertebral de las técnicas que utilizan eDNA.

En el área de macro-biología esta metodología es relativamente reciente, sin embargo, ha sido usada exitosamente para detectar especies invasoras, estimar características poblacionales de especies objetivo de interés comercial, monitorear especies amenazadas y generar inventarios de biodiversidad en varias partes del mundo. Existen varios métodos para catalogar especies a partir del ADN ambiental, no obstante, el método más eficaz, tanto para procariontas como eucariotas, consiste en la amplificación selectiva de fragmentos de uno o varios genes provenientes desde una muestra ambiental que contiene el material genético de toda una comunidad. Una vez amplificado, el producto resultante es descifrado usando secuenciación masiva de próxima generación (NGS), la cual es denominada “metabarcoding” y, hoy en día, representa una aproximación muy prometedora para realizar levantamientos de información de biodiversidad con una alta resolución taxonómica, de forma eficiente, precisa, sensible, costo-efectiva, y no-invasiva en comparación a métodos tradicionales.

Para complementar la información disponible, la Ilustre Municipalidad de Laja ha solicitado realizar el monitoreo de biodiversidad en las lagunas La Señoraza, El Pillo y su descarga en la comuna de Laja y tener un panorama general de las especies que allí habitan. El presente documento contiene los resultados de la caracterización de la biodiversidad, incluyendo el monitoreo integrado mediante técnicas tradicionales (flora, vegetación y avifauna) y ADN ambiental (vertebrados) realizado por ECOGEN SPA como producto de las actividades de terreno realizadas durante octubre de 2023 en los sitios prioritarios lagunas La Señoraza, El Pillo y su descarga, comuna de Laja, en la región del Biobío.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo general

- Caracterizar la biodiversidad de las lagunas La Señoraza, El Pillo y su descarga, en la comuna de Laja.

2.2. Objetivos específicos

1. Describir el hábitat y condiciones generales de las lagunas La Señoraza, El Pillo y su descarga.
2. Colectar muestras de material genético proveniente de muestras ambientales de agua asociadas a las lagunas La Señoraza, El Pillo y su descarga.
3. Caracterizar la diversidad de flora y vegetación considerando la composición, riqueza y abundancia de las especies presentes en las lagunas La Señoraza, El Pillo y su descarga.
4. Caracterizar la diversidad de vertebrados considerando la composición, riqueza y abundancia de las especies presentes en las lagunas La Señoraza, El Pillo y su descarga.

3. METODOLOGÍA

3.1. Sitios de estudio

El 26 y 27 de octubre de 2023 fue realizada la colecta de muestras ambientales de agua y los recorridos para el monitoreo de flora, vegetación y avifauna en las lagunas La Señoraza, El Pillo y su descarga. Las lagunas La Señoraza, El Pillo y su descarga forman un complejo sistemas de flujo de aguas continentales considerado un área prioritaria de conservación de la comuna de Laja. Para realizar el estudio, se consideran los siguientes componentes ambientales expuestos en la propuesta, incluyendo aspectos temporales y espaciales de los análisis los cuales son detallados en la Tabla 1. En estos ecosistemas, fueron colectadas y filtradas muestras ambientales desde la superficie de cuerpos de agua para realizar los procesos de extracción y aislación del material genético. La localización y ubicación espacial de los puntos de monitoreo de agua y los recorridos para el monitoreo de flora, vegetación y avifauna son indicadas en la Figura 1.

Tabla 1. Resumen de los componentes ambientales, metodologías propuestas para la caracterización de la biodiversidad y aspectos temporales y espaciales en las lagunas La Señoraza, El Pillo y su descarga.

Componente ambiental	Lugar de monitoreo	Parámetros	Metodología	Cantidad de estaciones	Cantidad de horas
Caracterización del hábitat		Descripción del hábitat	Observación directa y registros fotográficos	Global	Global
Flora y vegetación	Lagunas El Pillo, La Señoraza y su descarga.	Riqueza, abundancia relativa, composición específica e índices de diversidad.	Evaluación de cobertura mediante transectos	La Señoraza= 40 El Pillo= 50	10h x 2d = 20h
Vertebrados			Caracterización biodiversidad usando ADN ambiental	12	10h
Avifauna complementaria			Avistamientos como observaciones complementarias	Múltiples recorridos ~7,6 km.	10h
			Registros fotográficos	Múltiples recorridos ~7,6 km.	10h



Figura 1. Ubicación espacial de las 12 estaciones de monitoreo donde fueron colectadas muestras ambientales de agua para la realización del análisis de ADN ambiental en las lagunas La Señoraza, El Pillo y su descarga, comuna de Laja. L01-L12: Puntos de monitoreo de ADN ambiental y recorridos para monitoreo de flora, vegetación y avifauna.

3.2. Caracterización del hábitat

En el monitoreo fueron consideradas las lagunas La Señoraza, El Pillo y su descarga, incluyendo todos los componentes biológicos asociados a estas áreas de estudio, las cuales son áreas prioritarias de conservación de la biodiversidad y patrimonio natural-social de la comuna de Laja. Para caracterizar ambientalmente los cuerpos de agua, en cada estación de monitoreo fueron realizados registros fotográficos, incluyendo coordenadas, fecha y hora. En cada laguna fue realizada una descripción de las principales actividades que se desarrollan, los lugares de valor paisajístico, incluyendo lugares que podrían estar causando impactos negativos a la biodiversidad (i.e., microbasurales) y los principales servicios ecosistémicos que suministran a la comunidad mediante observación directa para dar cuenta de una visión ambiental holística del entorno. Además de la caracterización, registros fotográficos de la diversidad de especies de flora y fauna serán realizados en el área de estudio con una cámara Réflex EOS Rebel T6i Canon y un lente EF 75-300mm f/4-5.6 III Canon. El revelado/edición de las fotografías fue realizado con Adobe Photoshop Lightroom Classic.

3.3. Monitoreo de flora y vegetación

Las actividades de terreno para la colecta de datos de diversidad de flora y vegetación fueron realizadas a pie y embarcación menor. Para caracterizar la vegetación hidrófita y helófita en cada una de las lagunas, fueron trazados recorridos de ruta en una línea imaginaria por los bordes la cada laguna, en los cuales fueron dispuestos cuadrantes de 0,25m². Es así, como en el área del polígono de intervención de la laguna La Señoraza, fue realizado un recorrido

de 3,5km aproximadamente, donde fueron dispuestos 40 cuadrantes. En cada punto de monitoreo fueron considerados dos cuadrantes: uno para flora y vegetación acuática y otro para la flora y vegetación terrestre. Los puntos de monitoreo separados por 100-200 metros aproximadamente. En cada cuadrante de flora y vegetación fue evaluada la diversidad (riqueza y abundancia relativa; incluyendo palustres emergidas) mediante porcentaje de cobertura de cada especie. Mientras que para los cuadrantes de vegetación terrestre fue descriptivo. En el área del polígono de intervención de la laguna El Pillo, fue realizado un recorrido de 3,5km, desde la confluencia del estero Curaco y la descarga de la laguna el Pillo hasta el final del área de intervención pasando por la laguna El Pillo y los pantanos asociados donde fueron dispuestos 50 cuadrantes. En cada punto de monitoreo fueron considerados dos cuadrantes: uno para flora y vegetación acuática y otro para la flora y vegetación terrestre. Los puntos de monitoreo separados por 80-100 metros aproximadamente. En cada cuadrante de flora y vegetación fue evaluada la diversidad (riqueza y abundancia relativa; incluyendo palustres emergidas) mediante porcentaje de cobertura de cada especie. Mientras que para los cuadrantes de vegetación terrestre fue descriptivo. La identificación de las especies fue realizada mediante observación directa en terreno, registros fotográficos y colectas de material herborizado para su posterior identificación.

3.4. Monitoreo de vertebrados usando ADN ambiental

Para el monitoreo de los vertebrados presentes en las lagunas La Señoraza, El Pillo y su descarga realizamos el estudio de biodiversidad usando ADN ambiental. Fueron propuestos 12 puntos de monitoreo a lo largo del sector lagunas La Señoraza, El Pillo y su descarga para abarcar todo el polígono de intervención donde fueron colectadas muestras de agua desde la superficie de la columna de agua usando kits de muestreos de ECOGEN® (2021; Tabla 2; Figura 1), para luego ser conservadas en una solución “buffer” para ser transportadas hasta su posterior análisis en laboratorio. Mediante este método no-invasivo, fue determinada la diversidad de peces, anfibios, reptiles, aves y mamíferos (ver más abajo detalles de la metodología).

Tabla 2. Coordenadas UTM (Huso 18H, WGS 84) de los puntos de monitoreo donde fueron colectadas muestras ambientales de agua para el análisis de vertebrados usando ADN ambiental.

Puntos de monitoreo	Matriz ambiental	Coordenadas (UTM)	
		Este	Norte
L01	Agua	702451	5871060
L02		702892	5871282
L03		703149	5871705
L04		703627	5871702
L05		703757	5872183
L06		704134	5871847
L07		704417	5872258
L08		705407	5872228
L09		705697	5872216
L10		705937	5872206
L11		706191	5872379
L12		706382	5872541

3.4.1. Extracción del material genético

Las muestras filtradas fueron sometidas a una etapa de desprendimiento y “*lisis*” en la cual el ADN es liberado desde la membrana mediante un proceso de ruptura mecánica, para luego ser sometidas a una solución con detergentes y enzimas como proteinasas que liberan y disuelven proteínas celulares. Usando un kit comercial (ver Sáenz-Agudelo et al. 2021), la mezcla del proceso es sometida a una solución salina de alta concentración para unir el material genético a una membrana de sílice, evitando, la unión del material no-genético. La recuperación del ADN es realizada a través de procesos continuos de hidratación y centrifugación que elimina proteínas contaminantes y otros residuos como sal residual, ácido húmico y otros contaminantes, mientras el ADN permanece unido a la membrana. Finalmente, mediante una solución amortiguadora se re-hidrata el ADN, mientras que un nuevo proceso de centrifugación permite resuspender y recuperar el material genético disponible. Las extracciones de las muestras fueron realizadas en una sola tanda con su respectivo control negativo de extracción.

3.4.2. Elaboración librerías genéticas y secuenciación masiva

Siguiendo el protocolo “*Illumina metagenomic sequencing library preparation*” regiones genéticas de tres amplicones de genes mitocondriales (ver detalles Deagle et al. 2007, Taylor 1996, Leray et al. 2013) fueron amplificadas usando partidores universales adaptados y modificados de acuerdo con Sáenz-Agudelo et al. (2021). Las muestras, incluidos controles negativos de extracción para cada amplicón, fueron amplificadas en forma independientemente en una reacción de PCR, donde controles negativos de PCR fueron agregados para descartar contaminación. Cada muestra fue individualizada mediante una secuencia identificadora que permite posteriormente multiplexar/demultiplexar las muestras en la secuenciación. Para 12S y 16S se usaron protocolos de amplificación descritos por Sáenz-Agudelo (2021) y para COI, los descritos en Bourlat et al. (2016). Estos grupos de partidores han mostrado ser confiables y efectivos en amplificar grupos objetivos en diferentes ambientes (e.g., Nguyen et al. 2020, Sáenz-Agudelo et al. 2021). Las amplificaciones fueron agrupadas equimolar y luego re-amplificados con adaptadores *ad-hoc* Illumina. Posteriormente, una cuantificación fue realizada mediante un Qubit 4.0® para determinar la dilución a realizar para lograr la concentración de carga adecuada. La secuenciación fue realizada en la plataforma Miseq Illumina en kit de 500 ciclos V3 en formato pair-end y a una concentración de 12pM.

3.4.3. Análisis bioinformático

Demultiplexing. El proceso de demultiplexing fue realizado desde secuencias crudas (formato fastq y pareadas) entregadas por Illumina MiSeq usando el programa Geneious Prime 2019.2.3 (Biomatters Inc.) en función de los códigos de barras incorporados en cada uno de los partidores usados para amplificación. En forma posterior, el paquete bioinformático ANACAPA fue usado de acuerdo siguiendo el protocolo descrito en Sáenz-Agudelo et al. (2021). Primero, se creó una biblioteca de referencia CRUX para cada uno de los conjuntos de partidores usando las

bases de datos públicas NCBI_blast_nt y EMBL std. Esto se hizo siguiendo las instrucciones en (https://github.com/limey-bean/CRUX_Creating-Reference-libraries-Using-eXisting-tools). Una vez que se construyeron estas bibliotecas de referencia personalizadas, se agregaron secuencias de nuestra biblioteca de secuencias de referencia. Luego se ejecutó la primera canalización de Anacapa "Anacapa_QC_dada2.sh" para filtrar la calidad de los datos de secuencia y generar variantes de secuencia de amplicones (ASV) (Callahan et al. 2016, 2017). Brevemente, para cada archivo demultiplexado, los adaptadores y partidores se recortaron con cutadapt (Martin 2011), luego se eliminaron las lecturas de baja calidad ($Q < 30$) para ser clasificadas por secuencia de partididor usando un kit rápido de herramientas (Gordon & Hannon 2010). Luego, estas secuencias fueron analizadas usando un comando informático personalizado que clasifica las lecturas como archivos de lectura *forward*, *backward* y sin fusionar, las que luego son ingresadas en el programa DADA2 donde se fusionan (cuando fue posible), se elimina el ruido, se prueban las secuencias quiméricas y finalmente se agrupan como ASV. Como medida conservadora, una secuencia tenía que ocurrir al menos cuatro veces en el conjunto de datos para ser retenida como ASV. Luego los archivos ASV.fasta son ingresados en el segundo módulo de Anacapa "Anacapa_classifier.sh" para asignar la taxonomía a cada ASV. Aquí, todos los ASV se alinean globalmente con los catálogos de referencia CRUX usando bowtie2 (Langmead & Salzberg 2012), y se retienen los 100 mejores resultados. Estos ASV y asignaciones se ingresan en BCLA, donde se asignaron probabilidades posteriores a las asignaciones taxonómicas (Gao et al. 2017). El resultado consiste en tablas de resumen de ASV y datos de conteo de taxonomía para cada muestra y cada conjunto de partidores. Las variaciones en las secuencias parciales (i.e., serie de nucleótidos) son asignadas a nivel específico usando BLAST y una probabilidad de identidad mayor o igual a 0,99 (probabilidad de error = 0,01) entre la secuencia de cada ASV y las referencias es asignada. El nivel de confianza estadístico de la mejor asignación taxonómica (a distintos niveles taxonómicos) para cada ASV fue estimada con el método BCLA usando el criterio de que, para reportar una asignación taxonómica, esta debía tener una probabilidad posterior de al menos 97%. El proceso generalizado desde la colecta hasta la obtención de las especies es resumido en la Figura 2.

3.5. Monitoreo complementario de avifauna

Complementario a la información proporcionada por los monitoreos de biodiversidad usando ADN ambiental, fue evaluada la diversidad de aves asociadas a las lagunas La Señoraza, El Pillo y su descarga mediante observación directa. El mismo recorrido para determinar la diversidad de la flora y vegetación fue utilizado para determinar la diversidad de aves. A través de los recorridos, fueron identificadas y contabilizadas todas las aves mediante observación directa con el apoyo de binoculares, incluyendo aquellas aves que sobrevuelan las lagunas. Además, en el monitoreo fueron incluidos registros de aves mediante el reconocimiento de vocalizaciones utilizando Merlin Bird ID App de Cornell Lab. (Martínez-Piña & González-Cifuentes, 2017), los cuales fueron incluidos sólo como registros de presencia.

3.6. Análisis de diversidad

La diversidad- α fue estimada separadamente para cada muestra ambiental, a partir de todas las especies de vertebrados. La riqueza específica e índices de diversidad de Shannon-Wiener, uniformidad de Pielou y dominancia de Simpson fueron calculados por muestra en cada laguna. El análisis de ordenación de diversidad- β fue explorado a través de una visualización espacial generada sobre un análisis de coordenadas principales (PCoA) usando matrices de similitud de Bray-Curtis más una variable “dummy” (valor 1), a partir de datos transformados a la forma $y = \sqrt[3]{x}$, con el objetivo de disminuir el sesgo de especies dominantes y generar mayor peso a especies raras o de menor densidad. Desde el análisis se obtienen las distancias (o similitudes) entre muestras para representar diferencias entre las mismas. Un análisis de varianza permutado (PERMANOVA, Anderson 2001) fue realizado para comparar la estructura comunitaria de las especies de vertebrados entre diferentes hábitats, usando como factor fijo “lagunas” con dos niveles en el análisis (Quinn & Keough, 2002). Todos los valores de probabilidad permutados para el modelo ajustado (P_{perm}), fueron derivados de una distribución de pseudo-F, calculada a partir de 10,000 permutaciones sobre el conjunto de datos originales; cuando las permutaciones simuladas fueron <1000 , el valor de probabilidad para el ensayo fue obtenido a través de simulaciones de Monte-Carlo (P_{MC}) (Anderson 2001). Todos los análisis fueron realizados usando PERMANOVA+ sobre la plataforma estadística PRIMER 7 (Clarke & Gorley 2006, Anderson et al. 2008). En forma adicional, las especies de vertebrados fueron clasificadas de acuerdo con información disponible referida a su endemismo y origen, las cuales fueron asignadas en forma específica en cada grupo focalizado a la menor resolución taxonómica descrita en el análisis.

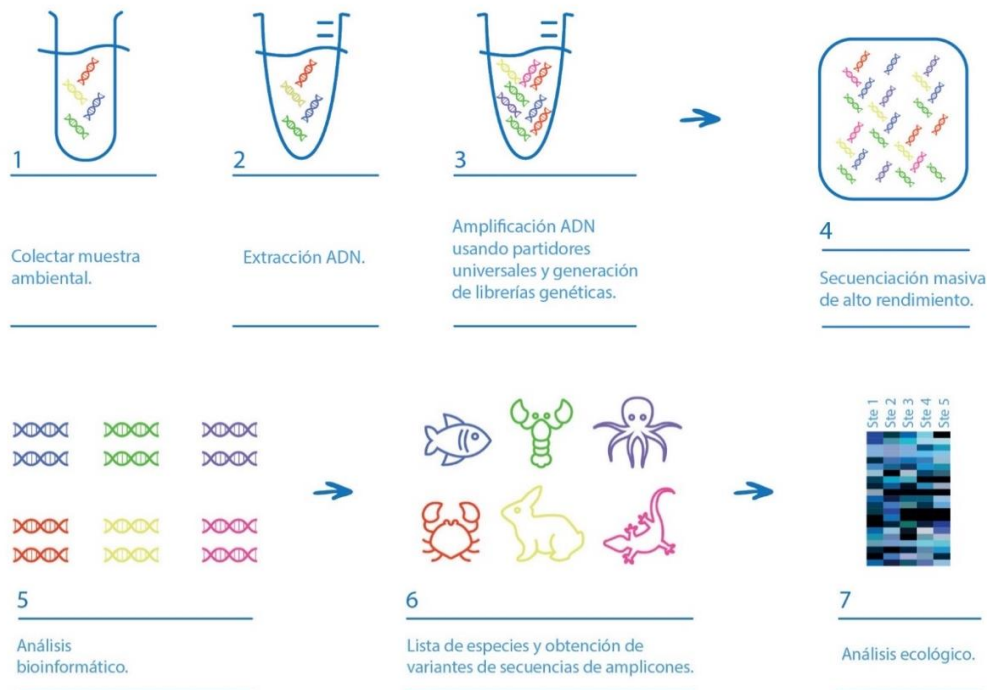


Figura 2. Esquema referencial del proceso generalizado de las etapas del análisis de ADN ambiental, desde la colecta de muestras ambientales en terreno mediante el uso de kits de ECOGEN® (2021), hasta el desarrollo de los análisis ecológicos de diversidad.

4. RESULTADOS

4.1. Caracterización del hábitat

Las lagunas La Señoraza, El Pillo y su descarga son áreas prioritarias de conservación de la biodiversidad. La laguna La Señoraza es parte del patrimonio natural-social de la comuna de Laja, está estrechamente relacionada con el desarrollo social, cultural y económico de la comuna. De hecho, la laguna La Señoraza es la principal área turística de la comuna. El borde occidental (oeste) es el área más urbanizada de la laguna, es el lugar de la descarga (estero), también es el eje turístico, incluyendo los sectores de botes, balneario apto para el baño, letreros informativos respecto de la diversidad de especies de flora y fauna presentes en la laguna, acceso al agua para practicar deportes acuáticos, entre otras actividades. Además, en el sector sur del área urbanizada se encuentra el anfiteatro que tiene como objetivo potenciar el uso de espacios naturales en torno a la cultura, el deporte y esparcimiento en general. En todos los bordes de la laguna fueron registrados residuos sólidos o basura (botellas plásticas y vidrios, latas, envoltorios de alimentos, plumavit, etc.). Sin embargo, no fueron registrados microbasurales o lugares de acopio de basura. Uno de los puntos donde fue registrada la mayor cantidad de residuos fue bajo el anfiteatro, lugar donde la Municipalidad realiza periódicamente jornadas comunitarias de limpieza. El borde oriental (este) de la laguna es el área con una menor densidad de casas con terrenos de mayor tamaño, en los cuales se cultivan frutas y hortalizas (invernaderos, chacras) y fue observada ganadería a pequeña escala (cerdos, caballos, vacunos, gallinas, entre otros; ver detalles en monitoreo de vertebrados). En este sector desemboca el estero Curaco con aguas que también provienen de la laguna El Pillo en temporada invernal. Los bordes del cuerpo de agua de la laguna están protegidos mayormente por totora (*Schoenoplectus californicus*). En este lugar en particular, con acceso bastante restringido, donde hay una mayor diversidad de aves (ver monitoreo de aves). Los árboles que rodean los bordes de esta área son principalmente especies exóticas tales como aliso común (*Alnus glutinosa*), sauce llorón (*Salix babylonica*) y sauce mimbre (*Salix viminalis*), los cuales son utilizados por varias especies de aves para anidar en temporada estival, donde se pueden evidenciar individuos de tres especies anidando en forma conjunta y compartiendo parte del hábitat (árboles): la garza cuca (*Ardea cocoi*), la garza grande (*Ardea alba*) y la garza chica (*Egretta thula*). Entre los totorales, se pueden evidenciar madrigueras de coipo (*Myocastor coypus*), y nidos con huevos eclosionados de cisne cuello negro (*Cygnus melancoryphus*), entre otras especies.

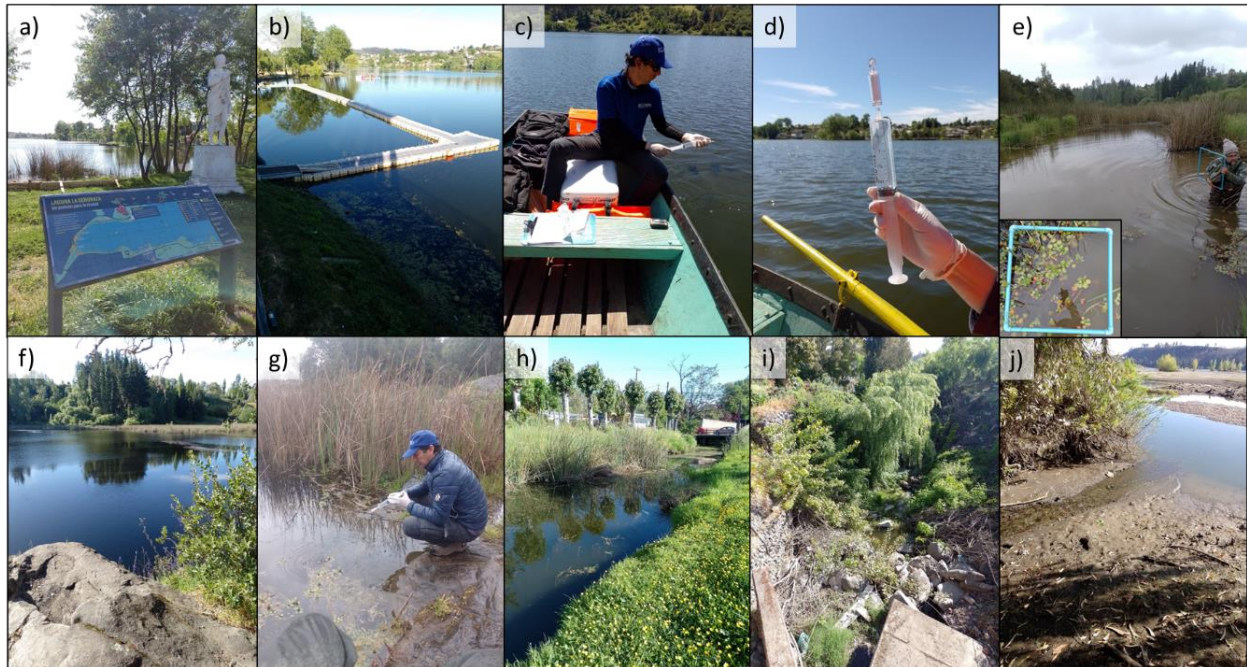


Figura 3. Registros fotográficos de los hábitats donde fueron colectadas las muestras ambientales de agua usando kits de ECOGEN® (2021) para el monitoreo y análisis de ADN ambiental y donde fueron realizados los monitoreos de flora, vegetación y avifauna. a-d: laguna La Señoraza; e: monitoreo de diversidad de flora y vegetación; f y g: laguna El Pillo; h-j: Descarga al río Biobío.

La laguna El Pillo está ubicada en terrenos privados fuera del radio urbano de Laja. Sin embargo, es un área prioritaria de conservación de la biodiversidad. Hay acceso a la laguna por un portón habilitado para transitar a pie por todo el borde norte de la laguna. Los alrededores de la laguna están compuestos por terrenos agrícolas, plantaciones forestales y áreas de pastoreo de ganado. A pesar de esto, el borde cercano de la laguna está compuestos por relictos de bosque nativo esclerófilo donde destacan el boldo (*Peumus boldus*), el litre (*Lithraea caustica*), el peumo (*Cryptocarya alba*), arrayán (*Luma apiculata*), maqui (*Aristotelia chilensis*), entre otros. El sotobosque compuesto por arbustos y plantas de menor tamaño tales como michay (*Berberis darwinii*), chilco (*Fuchsia magellanica*), y murtila (*Ugni molinae*), entre otros. Además, en esta área fueron registradas especies de flora y vegetación en floración de temporada como orquídeas (*Gavilea glandulifera*), añañucas (*Rhodolirium chilensis*), azulillo (*Pasithea caerulea*), entre otras; además de la presencia de helechos indicando un buen estado de conservación del lugar (ver detalles en: Lista de especies terrestres de flora y vegetación).

La descarga de este complejo sistema acuático se caracteriza por ser parte integral del área urbana en sus 900 metros aproximadamente desde la laguna La Señoraza hasta su desembocadura en el río Biobío. La descarga, en su primera parte, está rodeada por áreas verdes de administración municipal. Luego, recorre bajo las calles y línea férrea para finalizar en el río Biobío. En esta última parte, el estero está rodeado por escombros y residuos de todo tipo. La flora y vegetación de los alrededores están determinados por vegetación exótica, principalmente árboles frutales y otros árboles ornamentales (Figura 3 y 4).

4.2. Caracterización de la vegetación asociada al humedal

Un total de 24 especies de flora y vegetación acuática fueron registradas, de los cuales 11 especies fueron categorizadas como nativas (46%), 12 como exóticas (50%) y un taxón fue identificado hasta nivel de género (4%), pudiendo ser nativa o exótica. El hábito de crecimiento fue determinado para todas las especies vegetacionales acuáticas, de las cuales seis especies fueron categorizadas como hidrófitas o acuáticas (25%) y 18 especies fueron categorizadas como helófitas o palustre emergidas (75%), según la clasificación propuesta por Ramírez & San Martín (2006; ver Tabla 3). En los bordes de las áreas estudiadas, un total de 38 especies de flora y vegetación terrestre fueron registradas, de las cuales 30 especies fueron categorizadas como nativas (79%) y ocho como exóticas (21%). Sin embargo, las especies nativas presentes son muy poco abundantes en la laguna La Señoraza, las especies exóticas presentes en los bordes de la laguna son visualmente dominantes: los sauces (*Salix* spp.), el álamo americano (*Populus deltoides*) y el aliso común (*Alnus glutinosa*) que son especies exóticas invasoras con una amplia distribución en sistemas dulceacuícolas del centro-sur de Chile. Mientras que en la laguna El Pillo hubo una alta dominancia de especies nativas alternada con especies exóticas de distribución parchosa (ver Tabla 4; Figura 4).

Tabla 3. Lista de especies, origen, hábitos de crecimiento y presencia de las especies de flora y vegetación acuática de las lagunas La Señoraza, El Pillo y su descarga.

Especies	Nombre común	Origen	Hábito	La Señoraza	El Pillo
<i>Alisma plantago-aquatica</i>	Llantén de agua	Ex	He		X
<i>Alnus glutinosa</i>	Aliso común	Ex	He	X	
<i>Azolla filiculoides</i>	Flor del pato	Na	Hi	X	X
<i>Callitriche</i> sp.	Estrellita de agua	-	Hi		X
<i>Cardamine vulgaris</i>	Estrellita blanca	Na	He		X
<i>Carex acutata</i>	Carex	Na	He	X	X
<i>Ceratophyllum demersum</i>	Pelo de agua	Ex	Hi	X	X
<i>Cyperus eragrostis</i>	Cortadera	Na	He		X
<i>Eleocharis macrostachya</i>	Tul	Na	He		X
<i>Hydrocotyle ranunculoides</i>	Hydrocotyle	Na	Hi	X	X
<i>Juncus procerus</i>	Junco	Na	He		X
<i>Lemna minuta</i>	Lenteja de agua	Na	Hi		X
<i>Lotus pedunculatus</i>	Alfalfa chilota	Ex	He	X	X
<i>Ludwigia peploides</i>	Clavito de agua	Ex	Hi	X	X
<i>Mentha aquatica</i>	Menta acuática	Ex	He	X	X
<i>Mentha pulegium</i>	Menta poleo	Ex	He		X
<i>Mikania mendocina</i>	Guaco	Na	He		X
Poaceae sp. indet.	Gramíneas (pastos)	Ex	He	X	X
<i>Polygonum persicaria</i>	Duraznillo	Ex	He	X	X
<i>Rosa eglentaria</i>	Rosa mosqueta	Ex	He		X
<i>Schoenoplectus californicus</i>	Batro/Totora	Na	He	X	X
<i>Taraxacum officinale</i>	Diente de león (amarilla)	Ex	He		X
<i>Typha dominguensis</i>	Tifa	Ex	He	X	X
<i>Ugni molinae</i>	Murtilla	Na	He		X

Na: nativa; Ex: exótica; Hi: hidrófita; He: helófita; X: Presencia.

Tabla 4. Lista de especies terrestres de flora y vegetación presentes a orillas de las lagunas La Señoraza, El Pillo y su descarga.

Especies	Nombre común	Origen	La Señoraza	El Pillo
<i>Adiantum chilense</i>	Palito negro	Na		X
<i>Adiantum scabrum</i>	Palito negro	Na		X
<i>Alnus glutinosa</i>	Aliso	Ex	X	
<i>Aristotelia chilensis</i>	Maqui	Na	X	X
<i>Asplenium dareoides</i>	Filu-lahuén	Na		X
<i>Berberis darwinii</i>	Michay	Na		X
<i>Blechnum hastatum</i>	Quil Quil	Na	X	X
<i>Blechnum hastatum</i>	Palmilla	Na		X
<i>Blepharocalyx cruckshanksii</i>	Temu	Na		X
<i>Boquila trifoliolata</i>	Voqui blanco	Na		X
<i>Cheilanthes hypoleuca</i>	Doradilla	Na		X
<i>Chloraea galeata</i>	No tiene	Na		X
<i>Chusquea culeou</i>	Coligue	Na	X	X
<i>Chusquea quila</i>	Quila	Na	X	X
<i>Cissus striata</i>	Voqui colorado	Na		X
<i>Cryptocarya alba</i>	Peumo	Na		X
<i>Equisetum bogotense</i>	Limpiaplata	Na		X
<i>Fuchsia magellanica</i>	Chilco	Na	X	X
<i>Gavilea glandulifera</i>	Orquidea	Na		X
<i>Lithraea caustica</i>	Litre	Na		X
<i>Lomatia hirsuta</i>	Radal	Na		X
<i>Luma apiculata</i>	Arrayán	Na	X	X
<i>Malus domestica</i>	Manzanos	Ex	X	X
<i>Nothofagus obliqua</i>	Roble	Na	X	X
<i>Pasithea caerulea</i>	Azulillo	Na		X
<i>Peumus boldus</i>	Boldo	Na	X	X
<i>Populus deltoides</i>	Alamo americano	Ex	X	
<i>Populus nigra</i>	Alamo negro	Na	X	X
<i>Puya sp.</i>	Chagual	Na		X
<i>Quillaja saponaria</i>	Quillay	Na		X
<i>Rhodolirium chilensis</i>	Añañuca	Na		X
<i>Rosa eglanteria</i>	Rosa mosqueta	Ex	X	X
<i>Rubus constrictus</i>	Zarzamora	Ex	X	X
<i>Salix babylonica</i>	Sauce llorón	Ex	X	X
<i>Salix humboldtiana</i>	Sauce criollo	Ex	X	X
<i>Salix viminalis</i>	Sauce mimbre	Ex	X	X
<i>Sophora macrocarpa</i>	Mayu	Na		X
<i>Ugni molinae</i>	Murtilla	Na		X

Na: Nativa; Ex: Exótica; X: Presencia.

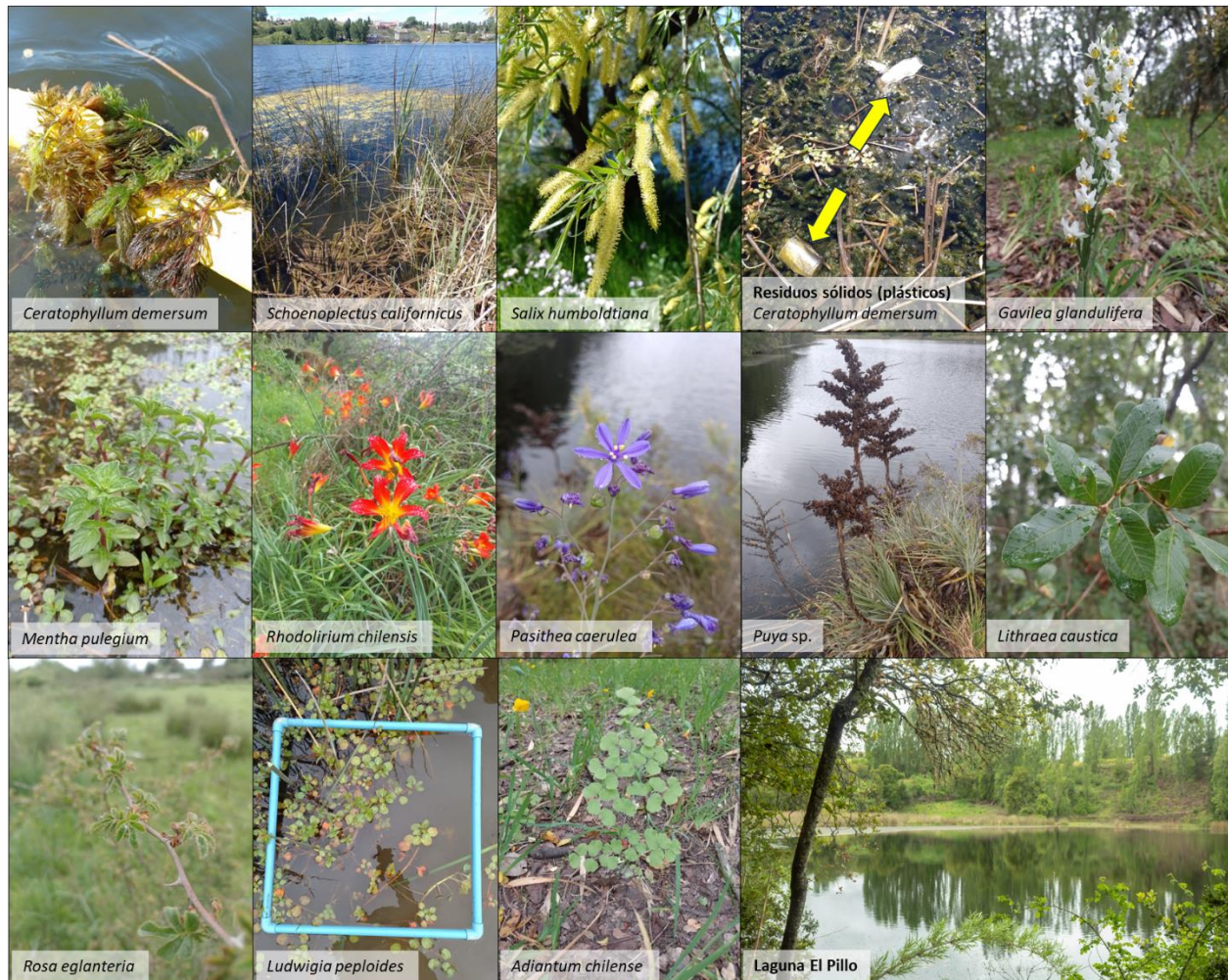


Figura 4. Registros fotográficos de la flora y vegetación asociada a las lagunas La Señoraza, El Pillo y su descarga.

4.3. Índices de diversidad de flora y vegetación

Basado en los parámetros de diversidad, la laguna El Pillo mostró la mayor riqueza específica con un promedio de 5,4 especies, comparada con las 4,0 especies por cuadrante de la laguna La Señoraza. Además, en la laguna El Pillo se evidenciaron valores de diversidad promedio ($H' = 1,38$) y uniformidad promedio ($J' = 0,84$) mayores a aquellos descritos en la laguna La Señoraza, mostrando además menores valores de dominancia promedio ($D = 0,32$; ver Tabla 5).

Tabla 5. Diversidad- α (promedio) para la flora y vegetación acuática asociada a las lagunas La Señoraza y El Pillo en la comuna de Laja, región del Biobío.

α -diversidad Áreas	Riqueza (S)	Pielou (J')	Shannon-Wiener (H')	Simpson (D)
Laguna La Señoraza	4,0	0,80	1,08	0,42
Laguna El Pillo	5,4	0,84	1,38	0,32

4.4. Diversidad y asignación taxonómica vegetal

Laguna La Señoraza

Un total de 12 especies vegetacionales estuvieron presentes en esta área, lo cual corresponde al 50% del total de plantas registradas en las lagunas, de las cuales cuatro especies fueron categorizadas como nativas (33%) y ocho especies exóticas (67%). Según hábitos de crecimiento, las plantas hidrófitas estuvieron representadas por cuatro especies (33%), mientras que las plantas helófitas correspondieron a ocho especies (67%). Además, la especie nativa dominante registrada fue la totora (*Schoenoplectus californicus*) con un 50% de la abundancia relativa total del área, Mientras que las especies exóticas dominantes en el área fueron el pelo de agua (*Ceratophyllum demersum*) con un 26,5% y el clavito de agua (*Ludwigia peploides*) con un 10,3% de la abundancia relativa del área (Figura 5).

Laguna El Pillo

Un total de 23 especies vegetacionales estuvieron presentes en esta área, lo cual corresponde al 96% del total de plantas registradas en total en las lagunas; de éstas, 11 especies fueron categorizadas como nativas (48%), 11 especies exóticas (48%) y un taxón identificado hasta nivel de género (4%), pudiendo ser nativa o exótica. Según hábitos de crecimiento, las plantas hidrófitas estuvieron representadas por seis especies (26%), mientras que las plantas helófitas correspondieron a 17 especies (74%). Además, las especies nativas dominantes registradas fueron la cortadera (*Cyperus eragrostis*) con un 22,8%, la totora (*Schoenoplectus californicus*) con un 16,2% y la flor del pato (*Azolla filiculoides*) con un 13% de la abundancia relativa total del área. Mientras que las especies exóticas dominantes en el área fueron el clavito de agua (*Ludwigia peploides*) con un 12,6% y el duraznillo (*Polygonum persicaria*) con un 5,8% de la abundancia relativa del área (Figura 5).

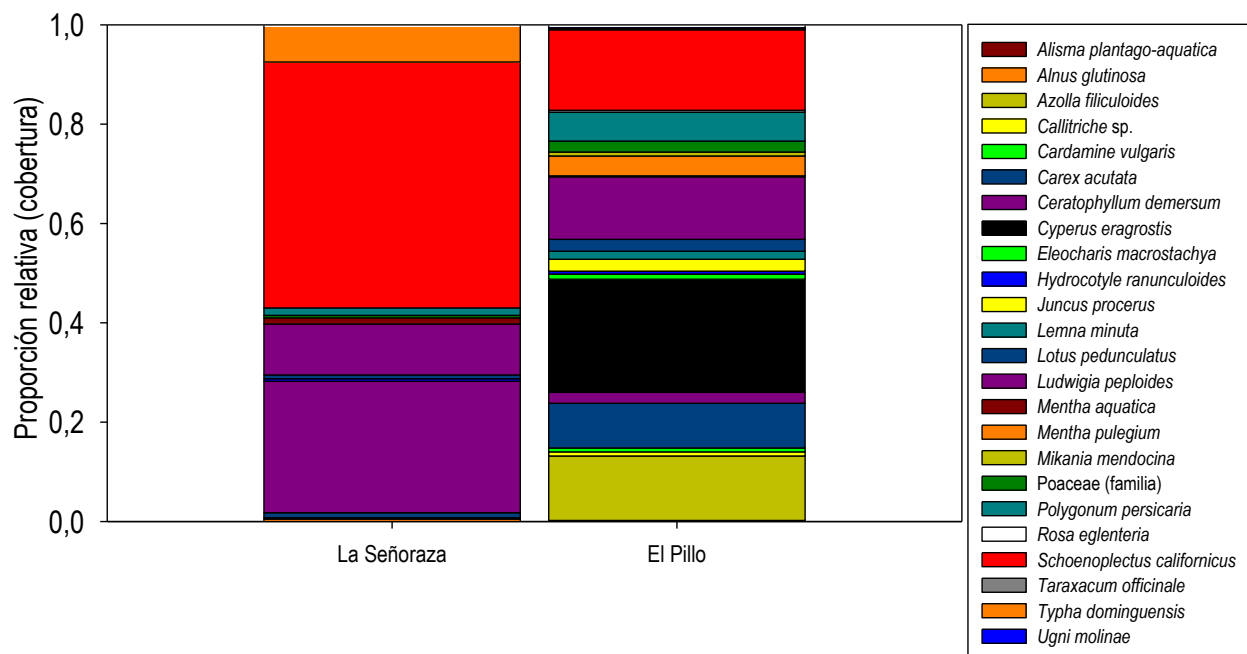


Figura 5. Proporción relativa (cobertura) de las especies de flora y vegetación registradas en las lagunas La Señoraza, El Pillo y su descarga.

4.5. Análisis de vertebrados usando ADN ambiental

Un total de 2.685.123 fragmentos genéticos agrupados en 57 especies de vertebrados fueron registrados en las lagunas La Señoraza, El Pillo y su descarga. Estos valores son equivalentes a valores de abundancia, los cuales son usados para calcular las abundancias relativas de las diferentes especies identificadas, el cual varió, a nivel de grupos, entre 5.253 fragmentos para reptiles y 1.552.713 fragmentos para peces, mostrando que el 57,8% de la abundancia total. Basado en los parámetros de diversidad, los puntos de monitoreo L09 y L12 mostraron la mayor riqueza específica (31 y 26 especies, respectivamente) y la mayor densidad de fragmentos genéticos (> 318.000 fragmentos). Mientras tanto, los puntos de monitoreo con menor riqueza específica fueron L10 y L06 con 16 y 17 especies, respectivamente, y los puntos L02 y L05 fueron aquellos que mostraron menor densidad de fragmentos. De la misma forma, los índices de diversidad mostraron que los puntos L08 y L09 mostraron la mayor diversidad (H'), L03, L05 y L08 la mayor uniformidad (J' , distribución de abundancia homogénea entre las especies), y L02 fue la estación con la mayor disparidad de abundancia (D , pocas especies con alta dominancia) (detalles en Tabla 6).

Tabla 6. Diversidad- α para las muestras ambientales de agua asociadas a las lagunas La Señoraza, El Pillo y su descarga.

Lagunas	α -diversidad Muestras	Riqueza (S)	Abundancia (lecturas ASV)	Pielou (J)	Shannon-Wiener (H')	Simpson (D)	Diversidad máxima (Hmax)
La Señoraza	L01	21	221763	0,60	1,84	0,20	3,04
	L02	20	116426	0,41	1,24	0,45	3,00
	L03	24	203364	0,64	2,03	0,16	3,18
	L04	19	156144	0,54	1,60	0,28	2,94
	L05	23	96119	0,64	1,99	0,23	3,14
	L06	17	249683	0,62	1,74	0,21	2,83
	L07	22	279349	0,59	1,81	0,23	3,09
El Pillo	L08	21	219985	0,67	2,04	0,19	3,04
	L09	31	340090	0,60	2,04	0,15	3,43
	L10	16	176906	0,41	1,14	0,35	2,77
	L11	22	307033	0,47	1,46	0,33	3,09
	L12	26	318261	0,54	1,77	0,22	3,26
	Promedio	25	413096	0,57	1,80	0,24	3,14
	Total	57	2685123	0,67	2,73	0,10	4,04

Diversidad y asignación taxonómica en las matrices ambientales

El análisis de ADN ambiental sobre los grupos de vertebrados mostró un total de 57 especies pertenecientes a 50 géneros, 34 familias, 21 órdenes, agrupados en cinco grupos taxonómicos mayores. El grupo con mayor riqueza de especies fue el de mamíferos registrando 21 especies, seguido por las aves con 18 especies, los peces con 12 especies, anfibios con cinco especies y reptiles con una especie (Tabla 7). El análisis mostró que peces, aves y mamíferos estuvieron presentes en todas las estaciones de monitoreo, mostrando una frecuencia de ocurrencia del 100%, (Tabla 8). En términos de abundancia, los grupos de peces y aves fueron los grupos que aportaron con las mayores abundancias relativas con 57,8% y 29,2% de la abundancia total, respectivamente, mientras que los reptiles y anfibios fueron los grupos que aportaron con las menores abundancias relativas al total (Figura 6).

Tabla 7. Diversidad taxonómica de los grupos analizados usando ADN ambiental desde muestras ambientales colectadas en las lagunas La Señoraza, El Pillo y su descarga.

	Grupos	Órdenes	Familias	Géneros	Especies
Vertebrados	Peces	7	7	10	12
	Anfibios	1	4	5	5
	Reptiles	1	1	1	1
	Aves	7	11	15	18
	Mamíferos	5	11	19	21
	Totales	21	34	50	57

Tabla 8. Presencia (en gris) de los grupos de vertebrados registrados usando ADN ambiental en muestras ambientales de agua colectadas en las lagunas La Señoraza, El Pillo y su descarga, comuna de Laja, región del Biobío.

Laguna	Puntos de monitoreo	Grupos de vertebrados				
		Peces	Anfibios	Reptiles	Aves	Mamíferos
La Señoraza	L01	Grigio	Grigio	Grigio	Grigio	Grigio
	L02	Grigio	Grigio	Grigio	Grigio	Grigio
	L03	Grigio	Grigio	Grigio	Grigio	Grigio
	L04	Grigio	Grigio	Grigio	Grigio	Grigio
	L05	Grigio	Grigio	Grigio	Grigio	Grigio
	L06	Grigio	Grigio	Grigio	Grigio	Grigio
	L07	Grigio	Grigio	Grigio	Grigio	Grigio
El Pillo	L08	Grigio	Grigio	Grigio	Grigio	Grigio
	L09	Grigio	Grigio	Grigio	Grigio	Grigio
	L10	Grigio	Grigio	Grigio	Grigio	Grigio
	L11	Grigio	Grigio	Grigio	Grigio	Grigio
	L12	Grigio	Grigio	Grigio	Grigio	Grigio

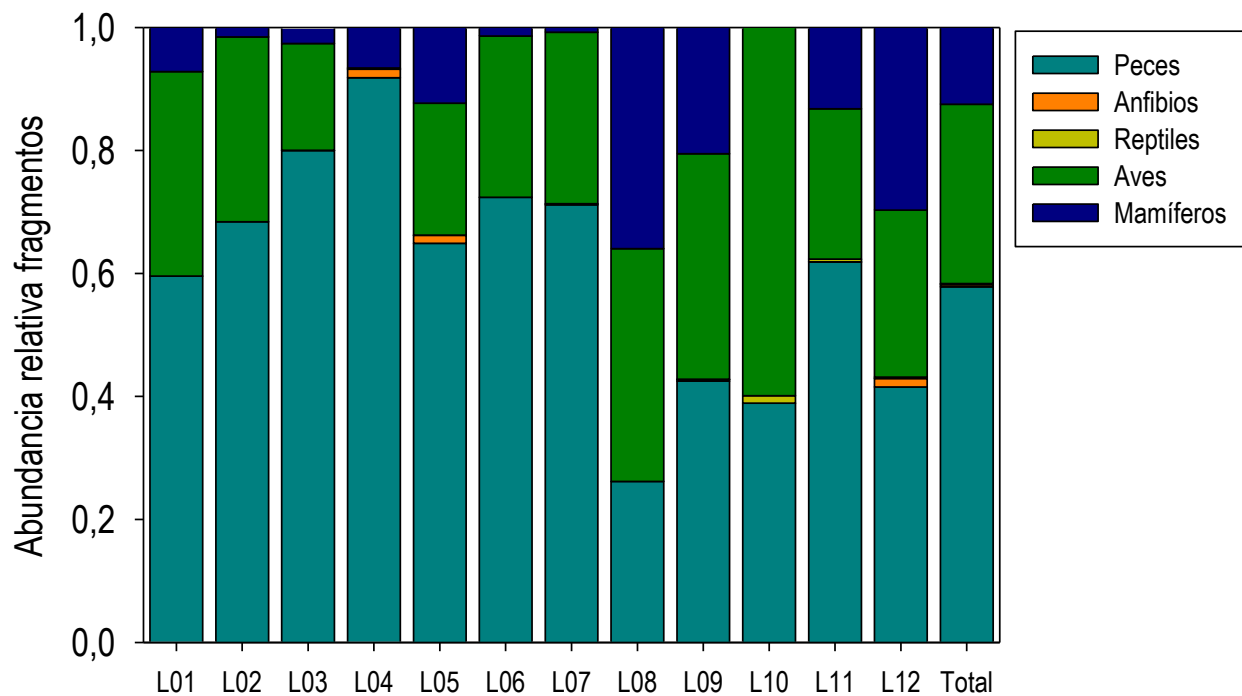


Figura 6. Abundancia relativa (%) de los grupos de vertebrados registrados en muestras ambientales colectadas en las lagunas La Señoraza, El Pillo y su descarga.

4.5.1. Peces

El análisis de peces mostró que, a nivel específico, 12 especies fueron registradas, de las cuales seis corresponden a especies nativas, cinco a especies exóticas invasoras (o introducidas) y una especie que fue determinada a nivel de género (pudiendo ser nativa o exótica). De las especies nativas, cuatro de ellas fueron categorizadas como especies endémicas (i.e., el puye *Brachygalaxias bullocki*, la pocha *Cheirodon kiliani*, el puye chico *Galaxias maculatus*, el cauque del norte *Odontesthes brevianalis*, la perca trucha *Percichthys trucha*, y la Carmelita de Concepción *Percilia irwini*), está última descrita sólo para la cuenca del Laja y sus efluentes en la región del Biobío. Dentro de las especies nativas, destacan las abundancias de *G. maculatus* (33,4%) en la laguna La Señoraza y de *B. bullocki* (10,8%) en la laguna El Pillo. En consideración a las especies exóticas registradas en ambas lagunas, las especies *Cyprinus carpio* y *Gambusia holbrooki* fueron las especies con las mayores abundancias relativas, mostrando un 23,9% y 16,9% de la abundancia total en la laguna La Señoraza, y un 11,4% y 60,8% de la abundancia total de la laguna El Pillo, respectivamente. El resto de las especies no superaron el 3,5% de la abundancia total (ver detalles de la presencia de especies en Tabla 9 y abundancias relativas en Figura 7). Ver también detalles de origen, endemismo y categorías de conservación en Tabla 14; revisar detalle de categorías taxonómicas y abundancias asociadas en material complementario “Resultados Mun. Laja (entregable).xlsx”.

Tabla 9. Presencia/ausencia de peces registrados usando ADN ambiental en muestras ambientales de agua colectadas en las lagunas La Señoraza, El Pillo y su descarga.

Nombre científico	La Señoraza							El Pillo				
	L01	L02	L03	L04	L05	L06	L07	L08	L09	L10	L11	L12
<i>Australoheros facetus</i>												
<i>Brachygalaxias bullocki</i>												
<i>Carassius auratus</i>												
<i>Cheirodon interruptus</i>												
<i>Cheirodon kiliani</i>												
<i>Cyprinus carpio</i>												
<i>Galaxias maculatus</i>												
<i>Gambusia holbrooki</i>												
<i>Odontesthes brevianalis</i>												
<i>Odontesthes sp.</i>												
<i>Percichthys trucha</i>												
<i>Percilia irwini</i>												

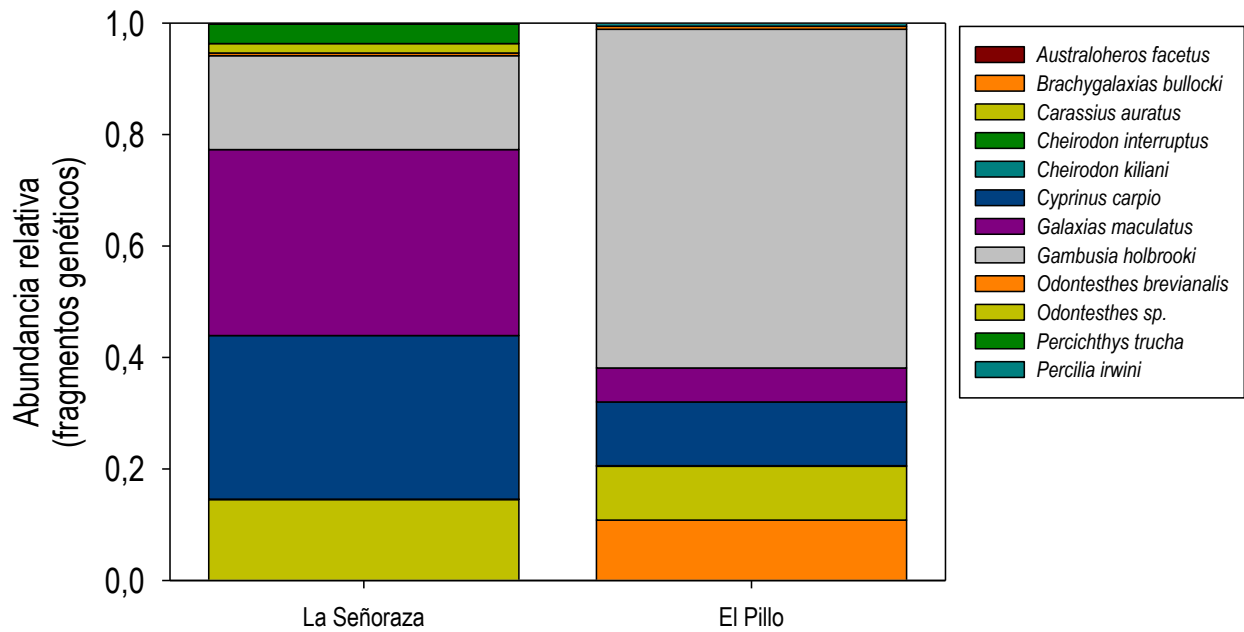


Figura 7. Abundancia relativa (%) de las especies de peces identificados desde muestras ambientales de agua en las lagunas La Señoraza, El Pillo y su descarga.

4.5.2. Herpetozoa

Los herpetozoos (anfibios y reptiles) estuvieron representados por seis especies, pertenecientes a seis géneros, cinco familias y dos órdenes taxonómicos, representando el grupo menos diverso dentro del análisis con un 0,5% de la abundancia total de los vertebrados. De estas especies, todas fueron reconocidas como especies nativas, todas bajo alguna categoría de conservación, estando tres de ellas (*Calyptocephalella gayi*, *Telmatobufo bullocki*, *Philodryas chamissonis*) categorizadas como especies endémicas a nivel nacional. Las seis especies tuvieron variadas frecuencia de ocurrencia (Tabla 10), y las especies con las mayores abundancias relativas fueron un sapo identificado a nivel de género *Alsodes* sp. con 51,8% y el sapo de Bullock *T. bullocki* con 30,4% en la laguna La Señoraza; mientras que, la culebra de cola larga *P. chamissonis* (45,8%) y la rana chilena *C. gayi* (37,3%) fueron las especies más abundantes en la laguna El Pillo (Figura 8). Para el caso de *Alsodes* sp., no fue posible establecer una especie particular, ya que las secuencias parciales encontradas mostraron bajas probabilidades de asignación, no pudiendo asegurar su identificación a nivel específico. Ver también detalles de origen, endemismo y categorías de conservación en Tabla 14; detalle categorías taxonómicas y abundancias en material complementario “Resultados Mun. Laja (entregable).xlsx”.

Tabla 10. Presencia/ausencia de las especies de anfibios registradas usando ADN ambiental en muestras ambientales de agua en las lagunas La Señoraza, El Pillo y su descarga.

Nombre científico	La Señoraza							El Pillo				
	L01	L02	L03	L04	L05	L06	L07	L08	L09	L10	L11	L12
<i>Alsodes</i> sp.												
<i>Batrachyla taeniata</i>												
<i>Calyptocephalella gayi</i>												
<i>Pleurodema thaul</i>												
<i>Telmatobufo bullocki</i>												
<i>Philodryas chamissonis</i>												

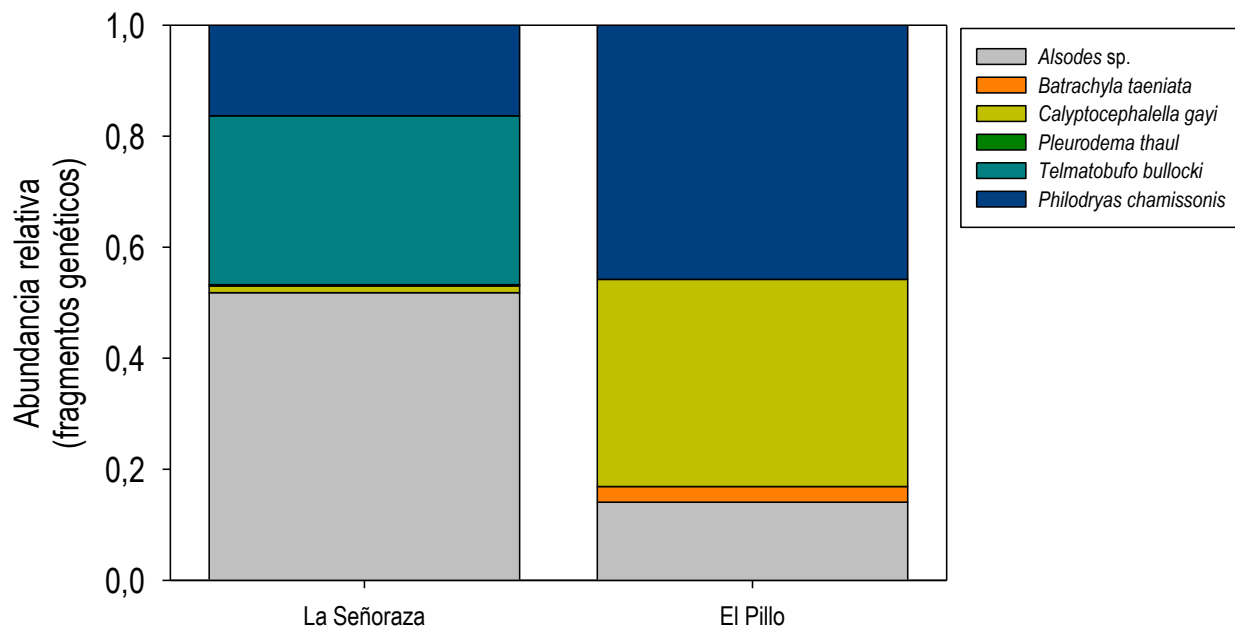


Figura 8. Abundancia relativa (%) de las especies de anfibios y reptiles identificados desde muestras ambientales de agua en las lagunas La Señoraza, El Pillo y su descarga.

4.5.3. Aves

El análisis sobre el grupo de las aves evidenció la presencia de 18 especies, pertenecientes a 15 géneros, 11 familias y siete órdenes taxonómicos, representando el segundo grupo más diversos dentro del análisis, después de los mamíferos. Las aves fueron registradas en todas las estaciones de monitoreo (Tabla 11). A nivel específico, 16 de las 18 especies de aves fueron categorizadas como especies nativas (ver detalles en Tablas 14) y dos como especies exóticas (i.e. *Gallus gallus* y *Passer domesticus*). No se registraron especies endémicas para ninguna de las dos lagunas. Dentro del grupo, la garza grande *Ardea alba* (16,5%), el yeco *Phalacrocorax brasilianus* (15,9%) y el cisne de cuello negro *Cygnus melancoryphus* (15,0%) fueron las especies más abundantes en la laguna La Señoraza, mientras que el mero *Agriornis lividus* (32,4%), la garza grande *A. alba* (23,7%), y la tagüita *Gallinula melanops* (18,9%) lo fueron en la laguna El Pillo (Figura 9). Además de las especies descritas como las más abundantes, cabe destacar la abundancia de especies como el cachudito *Anairetes parulus*, la garza cuca *Ardea cocoi*, la tagua común *Fulica armillata*, la golondrina chilena *Tachycineta leucopyga* y el picurio *Podilymbus podiceps* en la laguna La Señoraza que, a pesar de no pertenecer al grupo de las especies más abundantes, registraron valores de abundancia por sobre el 2,7% del total de la laguna. De forma similar, cabe destacar la abundancia del pato colorado *Spatula cyanoptera* y la torcaza *Patagioenas araucana*, cuyas abundancias relativas superaron el 10% de la abundancia total y el trile *Agelasticus thilius* con más del 1% del total en la laguna El Pillo (Figura 9). El resto de las especies nativas registradas en ambas lagunas no superaron el 1% de la abundancia total. Ver detalles de origen, endemismo y categorías de conservación en Tabla 14; revisar detalle de categorías taxonómicas y abundancias asociadas en material complementario “Resultados Mun. Laja (entregable).xlsx”.

Tabla 11. Presencia/ausencia de aves registradas usando ADN ambiental en muestras ambientales de agua en las lagunas La Señoraza, El Pillo y su descarga.

Nombre científico	La Señoraza							El Pillo				
	L01	L02	L03	L04	L05	L06	L07	L08	L09	L10	L11	L12
<i>Agelasticus thilius</i>												
<i>Agriornis lividus</i>												
<i>Anairetes parulus</i>												
<i>Anas georgica</i>												
<i>Ardea alba</i>												
<i>Ardea cocoi</i>												
<i>Cygnus melancoryphus</i>												
<i>Fulica armillata</i>												
<i>Fulica leucoptera</i>												
<i>Fulica rufifrons</i>												
<i>Gallinula melanops</i>												
<i>Gallus gallus domesticus</i>												
<i>Passer domesticus</i>												
<i>Patagioenas araucana</i>												
<i>Phalacrocorax brasilianus</i>												
<i>Podilymbus podiceps</i>												
<i>Spatula cyanoptera</i>												
<i>Tachycineta leucopyga</i>												

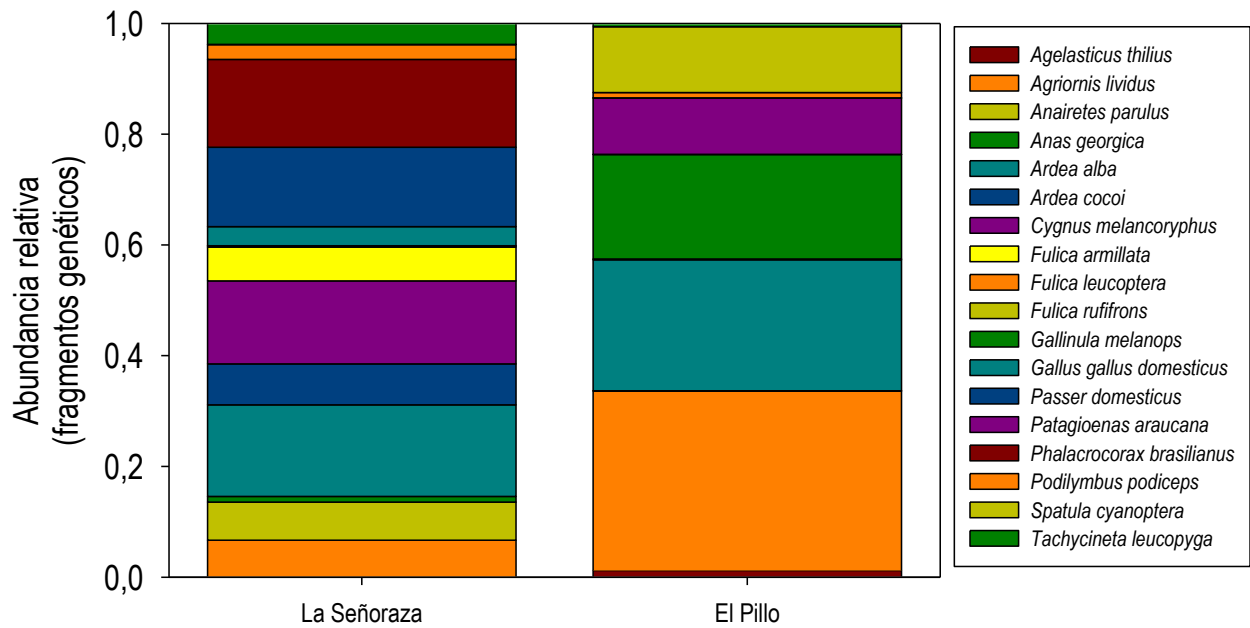


Figura 9. Abundancia relativa (%) de las especies de aves identificadas desde muestras ambientales de agua en las lagunas La Señoraza, El Pillo y su descarga.

4.5.4. Mamíferos

El análisis de ADN ambiental sobre el grupo de mamíferos registró la presencia de 21 especies, pertenecientes a 19 géneros, 11 familias y cinco órdenes taxonómicos, representando el grupo más diversos dentro del análisis y presente en todas las estaciones de monitoreo (Tabla 12). Del total, 11 especies fueron reconocidas como nativas y 10 como exóticas o introducidas. De aquellas exóticas destacan la alta abundancia relativa del ganado vacuno (*Bos taurus* con 21,6% y 79,1%), y el perro (*Canis lupus familiaris* con 6,7% y 13,6%) para las lagunas La Señoraza y El Pillo, respectivamente. Otras especies exóticas presentes fueron la laucha (*Mus musculus*), el conejo europeo (*Oryctolagus cuniculus*), el guarén (*Rattus norvegicus*), la rata negra (*Rattus rattus*), y el cerdo (*Sus scrofa domestica*), con abundancias entre 3,2% y 4,3% de la abundancia total en la laguna La Señoraza. En la laguna El Pillo hubo registros de especies exóticas, sin embargo, sus abundancias relativas no superaron el 0,6% de la abundancia total (Figura 10).

Tabla 12. Presencia/ausencia de mamíferos registrados usando ADN ambiental en muestras ambientales de agua en las lagunas La Señoraza, El Pillo y su descarga.

Nombre científico	La Señoraza							El Pillo				
	L01	L02	L03	L04	L05	L06	L07	L08	L09	L10	L11	L12
<i>Abrothrix longipilis</i>												
<i>Abrothrix olivacea</i>												
<i>Bos taurus</i>												
<i>Canis lupus familiaris</i>												
<i>Capra hircus</i>												
<i>Conepatus chinga</i>												
<i>Felis silvestris</i>												
<i>Galictis cuja</i>												
<i>Leopardus guigna</i>												
<i>Lontra provocax</i>												
<i>Loxodontomys micropus</i>												
<i>Lycalopex culpaeus</i>												
<i>Mus musculus</i>												
<i>Myocastor coypus</i>												
<i>Oligoryzomys longicaudatus</i>												
<i>Oryctolagus cuniculus</i>												
<i>Ovis aries</i>												
<i>Rattus norvegicus</i>												
<i>Rattus rattus</i>												
<i>Sus scrofa domestica</i>												
Vespertilionidae indet.												

Entre las especies nativas, la especie más abundante del análisis fue el coipo (*Myocastor coypus*) con 38,0% y 3,2% de las abundancias totales en las lagunas La Señoraza y El Pillo, respectivamente (Figura 10). Otras especies nativas con bajas abundancias relativas fueron el ratón oliváceo *Abrothrix olivacea*, el zorro culpeo *Lycalopex culpaeus*, el pericote austral *Loxodontomys microps*, y el quique *Galictis cuja* en la laguna La Señoraza, y la güiña *Leopardus guigna* en la laguna El Pillo. A pesar de que el resto de las especies nativas, mostraron bajos valores de abundancia (<1%), cabe destacar la presencia del chingue común *Conepatus chinga* en ambas lagunas (Tabla 12). Ver detalles de origen, endemismo y categorías de conservación en Tabla 14; revisar detalle de categorías taxonómicas y abundancias asociadas en material complementario "Resultados Mun. Laja (entregable).xlsx".

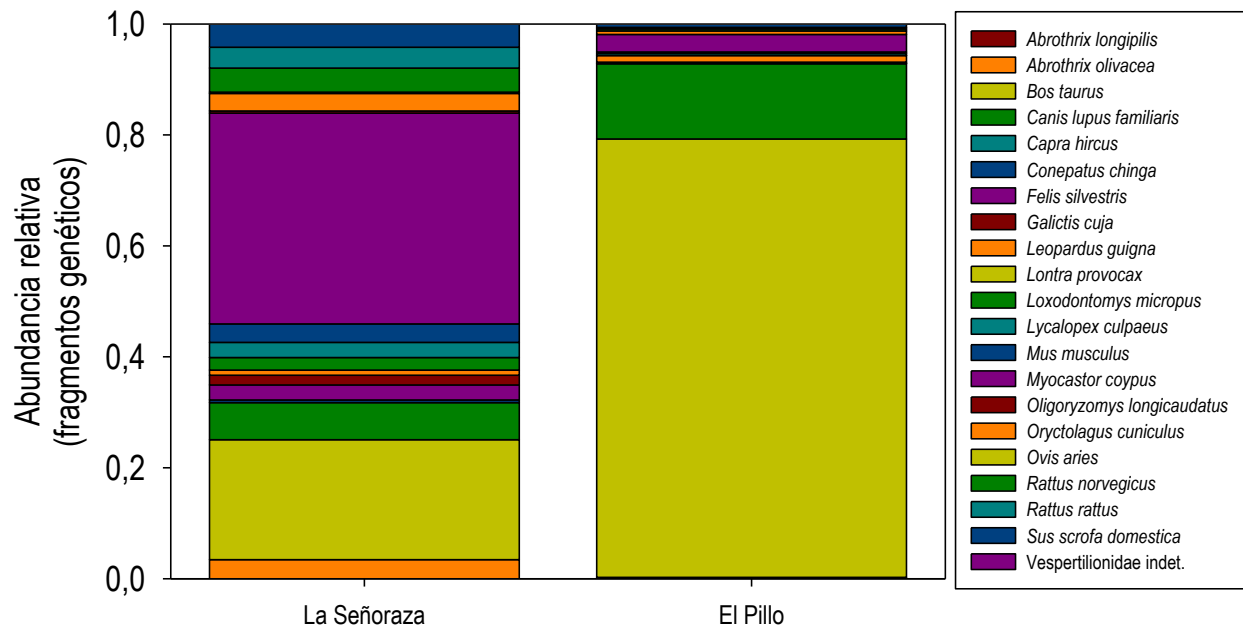


Figura 10. Abundancia relativa (%) de las especies de mamíferos identificados desde muestras ambientales de agua en las lagunas La Señoraza, El Pillo y su descarga.

4.5.5. Comparación de la biodiversidad entre lagunas

El análisis de ordenación espacial mostró que la estructura de las comunidades de vertebrados en global fueron similares entre ambas lagunas; sin embargo, un análisis a nivel de grupos evidenció que la fauna de peces fue marginalmente diferente entre ambas lagunas (PERMANOVA, $F_{(1,10)} = 3,12$; $P_{MC} = 0,043$ – Tabla 13). Estas diferencias son atribuidas a las abundancias de las especies habitantes en cada una de las lagunas, principalmente, a las altas abundancias de las especies *Galaxias maculatus* y *Cyprinus carpio* en varias de las estaciones de monitoreo de la laguna La Señoraza en comparación con la abundancia de las mismas especies en las estaciones de la laguna El Pillo y, a la abundancia moderada de *Brachygalaxias bullocki* en la laguna El Pillo en comparación con la baja cantidad de fragmentos genéticos registrados en la laguna La Señoraza (Figura 11 – peces).

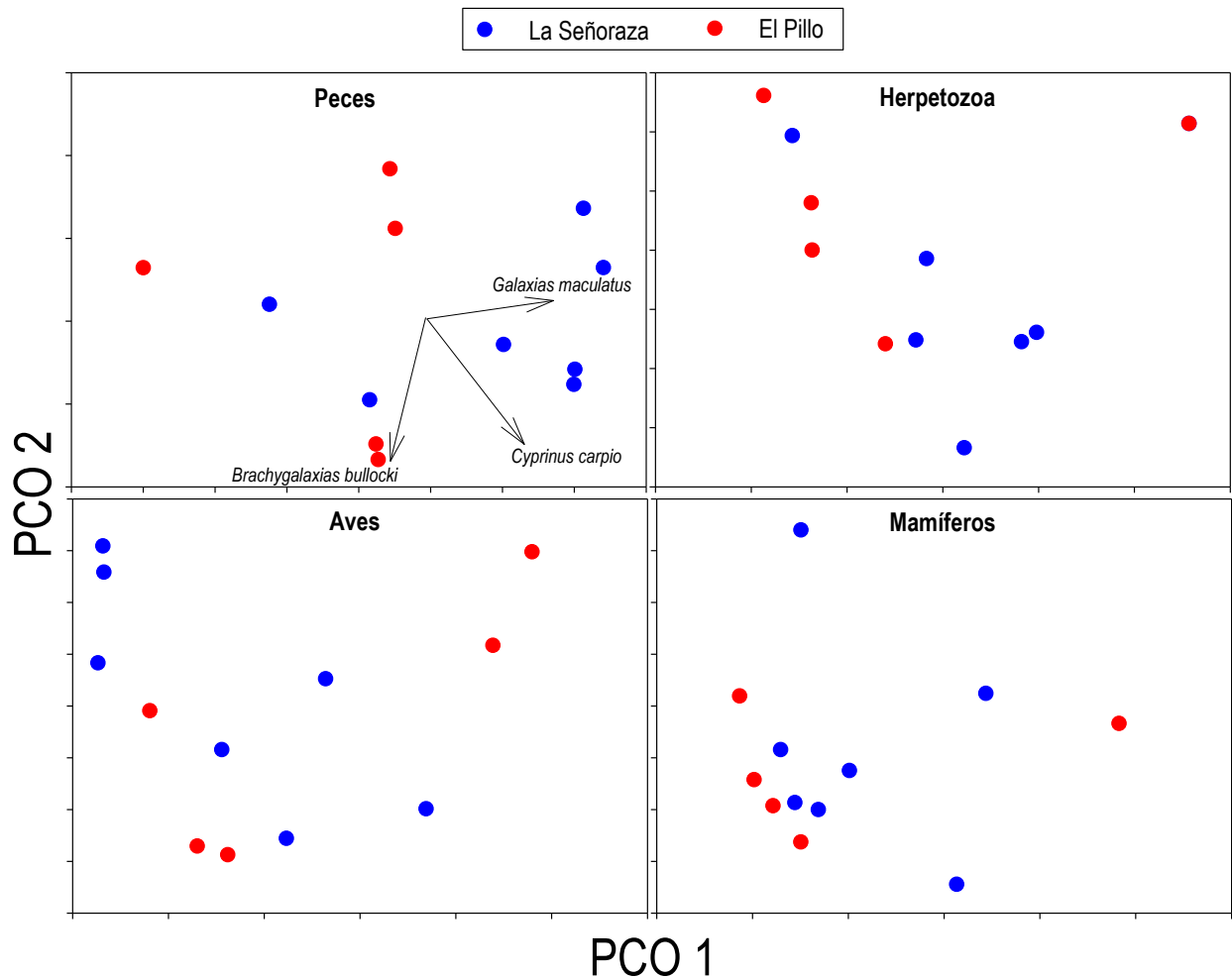


Figura 11. Análisis de ordenación espacial no-restringido (Principal Coordinates Analysis, PCoA) para la evaluar la similitud (datos transformados a \sqrt{x} usando matrices de Bray-Curtis) entre las muestras ambientales colectadas en las lagunas La Señoraza (en azul) y El Pillo (en rojo) para los grupos de vertebrados (peces, anfibios y reptiles, aves, mamíferos). Flechas en la figura de peces indican las abundancias de las principales especies que determinaron las diferencias entre las lagunas usando coeficiente de correlación múltiple. Se muestran sólo las especies que mostraron $r > 0,50$.

El resto de los grupos mayores de vertebrados (i.e., herpetozoa, aves y mamíferos) no mostraron evidencias de algún patrón de diferenciación entre lagunas (ver Figura 11 – herpetozoa, aves, mamíferos) y, por ende, los análisis mostraron que la estructura de las comunidades de estos grupos de vertebrados (distribución de abundancia por especies) no mostraron diferencias significativas entre las lagunas, lo que sugiere que la fauna de estos grupos en particular, estuvo representada de forma similar en ambas lagunas, considerando por una parte el mismo “pool” de especies en ambas lagunas, y valores de abundancia en similares proporciones comparados con la abundancia total de cada laguna (Tabla 13).

Tabla 13. Análisis de varianza permutado (PERMANOVA) para comparar la estructura de las comunidades de vertebrados entre las lagunas La Señoraza y El Pillo en la comuna de Laja, región del Biobío.

	Fuente variación	SS	df	MS	Pseudo-F	P _{perm}	Perms	P _{MC}
Peces	Laguna	1879	1	1879	3,12	0,037	792	0,043
	Residual	6025	10	602				
Herpetozoa	Laguna	2135	1	2135	1,22	0,314	582	0,301
	Residual	17516	10	1752				
Aves	Laguna	3669	1	3669	1,40	0,209	792	0,227
	Residual	26300	10	2630				
Mamíferos	Laguna	1494	1	1494	0,97	0,477	792	0,418
	Residual	15390	10	1539				

SS: Suma de cuadrados, df: grados de libertad, MS: Medias cuadradas, P_{perm}: Valor de probabilidad permutado, Perms: Número de permutaciones; P_{MC}: Valor de probabilidad derivado de simulación de Monte-Carlo.

En términos generales, la biodiversidad de vertebrados de las lagunas La Señoraza y El Pillo mantienen una riqueza de 57 especies de vertebrados, la cual contiene siete especies endémicas distribuidas en cuatro especies de peces, dos especies de anfibios y una especie de reptil. De las 57 especies descritas para la zona de las lagunas, se categorizaron un total de 38 especies nativas y 17 especies exóticas con un cociente de 2,2, lo que significa un poco más del doble de especies nativas por sobre las especies exóticas presentes en el ecosistema. Cabe destacar que, dentro de los grupos de vertebrados, la predominancia de especies nativas estuvieron concentradas (en proporción) en los grupos de anfibios y aves, mientras que la predominancia de especies exóticas estuvieron concentradas (en proporción) en los grupos de peces y mamíferos (Tabla 14). Detalles de origen, endemismo, estados y categorías de conservación descritas en Tabla 14, también pueden ser revisados en detalle (como datos crudos a las categorías taxonómicas y abundancias) en material complementario “Resultados Mun. Laja (entregable).xlsx”.

Tabla 14. Especies, origen, y categorías de conservación para las especies de vertebrados registradas usando ADN ambiental en las lagunas La Señoraza, el Pillo y su descarga, comuna de Laja, región del Biobío.

Clase	Nombre científico	Nombre vernacular	Endemismo	Origen	IUCN	RCE
Peces	<i>Australoheros facetus</i>	Chanchito	NO	EX	LC	INT
	<i>Brachygalaxias bullocki</i>	Puye	SI	NA	DD	VU
	<i>Carassius auratus</i>	Pez japonés	NO	EX	LC	INT
	<i>Cheirodon interruptus</i>	Pocha	NO	EX	NE	INT
	<i>Cheirodon kiliani</i>	Pocha	SI	NA	DD	EN-R
	<i>Cyprinus carpio</i>	Carpa	NO	EX	VU	INT
	<i>Galaxias maculatus</i>	Puye chico	NO	NA	LC	VU-LC
	<i>Gambusia holbrooki</i>	Gambusia	NO	EX	LC	INT
	<i>Odontesthes brevianalis</i>	Cauque del norte	SI	NA	NE	VU
	<i>Odontesthes sp.</i>	Pejerrey/cauque	-	-	-	-
	<i>Percichthys trucha</i>	Perca trucha	NO	NA	NE	NT-LC
	<i>Percilia irwini</i>	Carmelita de Concepción	SI	NA	EN	EN
Anfibios	<i>Alsodes sp.</i>	-	-	-	-	-
	<i>Batrachyla taeniata</i>	Sapo de antifaz	NO	NA	LC	NT
	<i>Calyptocephalella gayi</i>	Rana chilena	SI	NA	VU	VU
	<i>Pleurodema thaul</i>	Sapo de cuatro ojos	NO	NA	LC	NT
	<i>Telmatobufo bullocki</i>	Sapo de Bullock	SI	NA	EN	VU-Rara
Reptiles	<i>Philodryas chamissonis</i>	Culebra cola larga	SI	NA	LC	LC
Aves	<i>Agelasticus thilius</i>	Trile	NO	NA	LC	NE
	<i>Agriornis lividus</i>	Mero	NO	NA	LC	NE
	<i>Anairetes parulus</i>	Cachudito	NO	NA	LC	NE
	<i>Anas georgica</i>	Pato jergón grande	NO	NA	LC	NE
	<i>Ardea alba</i>	Garza grande	NO	NA	LC	NE
	<i>Ardea cocoi</i>	Garza cuca	NO	NA	LC	LC
	<i>Cygnus melanocoryphus</i>	Cisne de cuello negro	NO	NA	LC	EN-VU
	<i>Fulica armillata</i>	Tagua común	NO	NA	LC	NE
	<i>Fulica leucoptera</i>	Tagua chica	NO	NA	LC	NE
	<i>Fulica ruffrons</i>	Tagua de frente roja	NO	NA	LC	NE
	<i>Gallinula melanops</i>	Tagüita	NO	NA	LC	NE
	<i>Gallus gallus domesticus</i>	Gallo/gallina	NO	EX	LC	INT
	<i>Passer domesticus</i>	Gorrión	NO	EX	LC	NE
	<i>Patagioenas araucana</i>	Torcaza	NO	NA	LC	LC
	<i>Phalacrocorax brasilianus</i>	Yeco	NO	NA	LC	NE
	<i>Podilymbus podiceps</i>	Picurio	NO	NA	LC	NE
	<i>Spatula cyanoptera</i>	Pato colorado	NO	NA	LC	NE
<i>Tachycineta leucopyga</i>	Golondrina chilena	NO	NA	LC	NE	
Mamíferos	<i>Abrothrix longipilis</i>	Ratón lanudo común	NO	NA	LC	LC
	<i>Abrothrix olivacea</i>	Ratón oliváceo	NO	NA	LC	NE
	<i>Bos taurus</i>	Ganado vacuno	NO	EX	LC	INT-DOM
	<i>Canis lupus familiaris</i>	Perro doméstico	NO	EX	LC	INT-DOM
	<i>Capra hircus</i>	Cabra feral	NO	EX	LC	INT-DOM
	<i>Conepatus chinga</i>	Chingue común	NO	NA	LC	LC
	<i>Felis silvestris</i>	Gato doméstico	NO	EX	LC	INT-DOM
	<i>Galictis cuja</i>	Quique	NO	NA	LC	LC
	<i>Leopardus guigna</i>	Güiña	NO	NA	VU	VU-NT
	<i>Lontra provocax</i>	Huillín	NO	NA	EN	EN
	<i>Loxodontomys micropus</i>	Ratón orejón austral	NO	NA	LC	NE
	<i>Lycalopex culpaeus</i>	Zorro culpeo	NO	NA	LC	LC-VU
	<i>Mus musculus</i>	Laucha	NO	EX	LC	INT
	<i>Myocastor coypus</i>	Coipo	NO	NA	LC	LC
	<i>Oligoryzomys longicaudatus</i>	Ratón colilargo	NO	NA	LC	NE
	<i>Oryctolagus cuniculus</i>	Conejo europeo	NO	EX	EN	INT
	<i>Ovis aries</i>	Oveja, cordero	NO	EX	NE	INT
	<i>Rattus norvegicus</i>	Rata parda, guarén	NO	EX	LC	INT
<i>Rattus rattus</i>	Rata negra	NO	EX	LC	INT	
<i>Sus scrofa domestica</i>	Cerdo, jabalí	NO	EX	LC	INT	
	<i>Vespertilionidae indet.</i>	Murciélago	-	-	-	-

1.- Clasificación de acuerdo con su origen. EX: Exótica, NA: Nativa.

2.- Categorías IUCN. LC: Preocupación menor, NT: Casi amenazada, VU: Vulnerable, EN: En peligro, CR: En peligro crítico, EW: Extinta en estado silvestre, EX: Extinta, NE: No evaluado, DD: Datos insuficientes.

3.- Categorías RCE. CR: En peligro crítico, DD: Datos insuficientes, EN: En peligro, EW: Extinta en estado silvestre, EX: Extinta, FP: Fuera de peligro, IC: Insuficientemente conocida, LC: Preocupación menor, NT: Casi amenazada, R: Rara, VU: Vulnerable, NE: No evaluada, INT: Introducida, DOM: Domesticada.

4.6. Monitoreo visual complementario de aves

En la laguna La Señoraza fueron registradas 41 especies de aves, de las cuales cuatro fueron categorizadas como exóticas (9,8%), incluyendo especies domesticadas (e.g., *Gallus gallus domesticus*), mientras que las otras 37 especies fueron categorizadas como especies nativas (90,2%) con variable categoría de conservación (ver Tabla 15). Algunas especies de aves como el trile (*Agelasticus thilius*), huairavillo (*Ixobrychus involucris*), siete colores (*Tachuris rubrigastra*), trabajador (*Phleocryptes melanops*), pidén (*Pardirallus sanguinolentus*), entre otras, fueron registradas en forma exclusiva en hábitats asociados a los totorales. Otras aves fueron registradas sobrevolando las lagunas o áreas adyacentes, lo que al parecer indicaría que son especies visitantes recurrentes de los cuerpos de agua de la laguna (ver observaciones de registros de visualización en Tabla 15).

Tabla 15. Lista de especies, origen y observaciones de las aves registradas en las lagunas La Señoraza y la descarga.

Especie	Nombre común	Origen	Categoría de conservación		Abundancia (individuos)	Observaciones
			RCE	IUCN		
<i>Agelasticus thilius</i>	Trile	Na	NE	LC	17	Presente sólo en totorales
<i>Anairetes parulus</i>	Cachudito	Na	NE	LC	2	Presente entre vegetación asociada a laguna
<i>Anas georgica</i>	Pato jergón grande	Na	NE	LC	2	Presente en cuerpo de agua de laguna
<i>Ardea alba</i>	Garza grande	Na	NE	LC	7	Presente mayormente en sector oriental (este)
<i>Ardea cocoi</i>	Garza cuca	Na	LC	LC	7	Presente mayormente en sector oriental (este)
<i>Callipepla californica</i>	Codomiz (asilvestrada)	Ex	INT	LC	P	Presente entre vegetación asociada a laguna
<i>Cathartes aura</i>	Jote de cabeza colorada	Na	NE	LC	3	Sobrevolando laguna y alrededores
<i>Cinclodes patagonicus</i>	Churrete patagónico	Na	NE	LC	1	Presente entre vegetación asociada a laguna
<i>Columba livia</i>	Paloma (asilvestrada)	Ex	INT	LC	P	Presente sólo en el sector más urbanizado (occidental)
<i>Coragyps atratus</i>	Jote de cabeza negra	Na	NE	LC	3	Sobrevolando laguna y alrededores
<i>Curaeus curaeus</i>	Tordo	Na	NE	LC	4	Presente entre vegetación asociada a laguna
<i>Cygnus melancoryphus</i>	Cisne de cuello negro	Na	EN-VU	LC	32	Presente en el cuerpo de agua de la laguna
<i>Egretta thula</i>	Garza chica	Na	NE	LC	5	Presente sólo en el sector oriental (este)
<i>Elaenia albiceps</i>	Fio-fio	Na	NE	LC	3	Presente entre la vegetación asociada a la laguna
<i>Fulica armillata</i>	Tagua común	Na	NE	LC	5	Presente en totorales y cuerpo de agua de laguna
<i>Fulica leucoptera</i>	Tagua chica	Na	NE	LC	9	Presente en totorales y cuerpo de agua de laguna
<i>Fulica ruffifrons</i>	Tagua de frente roja	Na	NE	LC	32	Presente en totorales y cuerpo de agua de laguna
<i>Gallus gallus domesticus</i>	Gallina/gallo	Ex	INT	DOM	P	Ave domesticada
<i>Geranoaetus polyosoma</i>	Aguilucho común	Na	NE	LC	1	Sobrevolando laguna y alrededores
<i>Ixobrychus involucris</i>	Huairavillo	Na	LC	LC	1	Presente en totorales
<i>Larus dominicanus</i>	Gaviota dominicana	Na	NE	LC	1	Sobrevolando laguna y alrededores
<i>Leistes loyca</i>	Loica	Na	NE	LC	1	Presente entre vegetación asociada a laguna
<i>Mimus thenca</i>	Tenca	Na	NE	LC	2	Presente entre vegetación asociada a laguna
<i>Nycticorax nycticorax</i>	Huairavo	Na	NE	LC	1	Presente entre vegetación asociada a laguna
<i>Pardirallus sanguinolentus</i>	Pidén	Na	NE	LC	2	Presente sólo en totorales
<i>Passer domesticus</i>	Gorrión (asilvestrada)	Ex	INT	LC	P	Presente entre vegetación asociada a laguna
<i>Patagioenas araucana</i>	Torcaza	Na	LC	LC	3	Presente entre vegetación asociada a laguna
<i>Phalacrocorax brasilianus</i>	Yeco	Na	NE	LC	4	Presente entre vegetación asociada a laguna
<i>Phalcoeboenus chimango</i>	Tiuque	Na	NE	LC	P	Presente entre vegetación asociada a laguna
<i>Phleocryptes melanops</i>	Trabajador	Na	NE	LC	2	Presente sólo en totorales
<i>Podiceps major</i>	Huala	Na	NE	LC	13	Presente en cuerpo de agua de laguna
<i>Podilymbus podiceps</i>	Picurió	Na	NE	LC	5	Presente en cuerpo de agua de laguna
<i>Pyrope pyrope</i>	Diucón	Na	NE	LC	1	Presente entre vegetación asociada a laguna
<i>Sephanoides sephanioides</i>	Picaflor chico	Na	NE	LC	P	Presente entre vegetación asociada a laguna
<i>Spinus barbatus</i>	Jilguero austral	Na	NE	LC	7	Presente entre vegetación asociada a laguna
<i>Tachuris rubrigastra</i>	Siete colores	Na	NE	LC	13	Presente sólo en totorales
<i>Tachycineta leucopyga</i>	Golondrina chilena	Na	NE	LC	21	Sobrevolando laguna y alrededores
<i>Troglodytes aedon</i>	Chercán	Na	NE	LC	3	Presente entre vegetación asociada a laguna
<i>Turdus falcklandii</i>	Zorzal patagónico	Na	NE	LC	3	Presente entre vegetación asociada a laguna
<i>Vanellus chilensis</i>	Queltehue	Na	NE	LC	4	Áreas abiertas cercanas a laguna
<i>Zonotrichia capensis</i>	Chincol	Na	NE	LC	4	Presente entre vegetación asociada a laguna

1.- Clasificación de acuerdo con su origen. EX: Exótica, NA: Nativa.

2.- Categorías IUCN. LC: Preocupación menor, NT: Casi amenazada, VU: Vulnerable, EN: En peligro, CR: En peligro crítico, EW: Extinta en estado silvestre, EX: Extinta, NE: No evaluado, DD: Datos insuficientes.

3.- Categorías RCE. CR: En peligro crítico, DD: Datos insuficientes, EN: En peligro, EW: Extinta en estado silvestre, EX: Extinta, FP: Fuera de peligro, IC: Insuficientemente conocida, LC: Preocupación menor, NT: Casi amenazada, R: Rara, VU: Vulnerable, NE: No evaluada, INT: Introducida, DOM: Domesticada.

4.- Abundancia. X: Presente (sin conteo).

Es importante destacar que fueron registradas aves migratorias que visitan humedales de la zona centro-sur de Chile en temporada estival: la golondrina chilena (*Tachycineta leucopyga*) y el fio-fio (*Elaenia albiceps*). Además, fueron registrados polluelos y juveniles de diferentes especies habitando el cuerpo de agua como es el caso del cisne cuello negro (*Cygnus melancoryphus*), hualas (*Podiceps major*) y taguas (*Fulica* spp.), además del registro de polluelos, juveniles y nidos asociados a la vegetación de la laguna; algunos casos de esto, fueron visualizados en el sector oriental (este) individuos de garza grande (*Ardea alba*), garza cuca (*Ardea cocoi*) y garza chica (*Egretta thula*) anidando en sauces (*Salix* spp.) y aliso común (*A. glutinosa*).

En la laguna El Pillo fueron registradas 18 especies de aves, de las cuales una fue categorizada como exótica (i.e., la codorniz *Callipepla californica*; 5,6%), mientras que las otras 17 especies fueron consideradas especies nativas (94,4%) con variable categoría de conservación. Al igual que en laguna La Señoraza, algunas especies de aves como el trile (*A. thilius*), becacina (*Gallinago magellanica*), siete colores (*T. rubrigastra*) y pidén (*P. sanguinolentus*) sólo fueron registradas en hábitats asociado a los totorales (ver observaciones de registros de visualización en Tabla 16).

Tabla 16. Lista de especies, origen, categoría de conservación y observaciones de las aves registradas en la laguna El Pillo y sus alrededores.

Especie	Nombre común	Origen	Categoría de conservación		Abundancia (individuos)	Observaciones
			MMA-RCE	IUCN		
<i>Agelasticus thilius</i>	Trile	Na	NE	LC	2	Presente sólo en totorales
<i>Callipepla californica</i>	Codorniz (asilvestrada)	Ex	INT	LC	7	Presente entre vegetación en alrededores
<i>Cathartes aura</i>	Jote de cabeza colorada	Na	NE	LC	2	Sobrevolando laguna y alrededores
<i>Curaeus curaeus</i>	Tordo	Na	NE	LC	1	Presente entre vegetación asociada a laguna
<i>Cygnus melancoryphus</i>	Cisne de cuello negro	Na	EN-VU	LC	2	Presente en cuerpo de agua de laguna
<i>Fulica ruffrons</i>	Tagua de frente roja	Na	NE	LC	1	Presente en cuerpo de agua de laguna
<i>Gallinago magellanica</i>	Becacina común	Na	NE	LC	P	Vocalización sólo en totorales
<i>Geranoaetus polyosoma</i>	Aguilucho común	Na	NE	LC	1	Perchado en vegetación de alrededores
<i>Mimus thenca</i>	Tenca	Na	NE	LC	1	Presente entre vegetación asociada a laguna
<i>Pardirallus sanguinolentus</i>	Pidén	Na	NE	LC	3	Presente sólo en totorales
<i>Patagioenas araucana</i>	Torcaza	Na	LC	LC	1	Presente entre vegetación asociada a laguna
<i>Podiceps major</i>	Huala	Na	NE	LC	4	Presente en cuerpo de agua de laguna
<i>Podilymbus podiceps</i>	Picurio	Na	NE	LC	1	Presente en cuerpo de agua de laguna
<i>Tachuris rubrigastra</i>	Siete colores	Na	NE	LC	1	Presente en totorales
<i>Troglodytes aedon</i>	Chercán	Na	NE	LC	1	Presente entre vegetación asociada a laguna
<i>Turdus falcklandii</i>	Zorzal patagónico	Na	NE	LC	1	Presente entre vegetación asociada a laguna
<i>Vanellus chilensis</i>	Queltehue	Na	NE	LC	1	Área abierta cercana a laguna
<i>Zonotrichia capensis</i>	Chincol	Na	NE	LC	1	Presente entre vegetación asociada a laguna

1.- Clasificación de acuerdo con su origen. EX: Exótica, NA: Nativa.

2.- Categorías IUCN. LC: Preocupación menor, NT: Casi amenazada, VU: Vulnerable, EN: En peligro, CR: En peligro crítico, EW: Extinta en estado silvestre, EX: Extinta, NE: No evaluado, DD: Datos insuficientes.

3.- Categorías RCE. CR: En peligro crítico, DD: Datos insuficientes, EN: En peligro, EW: Extinta en estado silvestre, EX: Extinta, FP: Fuera de peligro, IC: Insuficientemente conocida, LC: Preocupación menor, NT: Casi amenazada, R: Rara, VU: Vulnerable, NE: No evaluada, INT: Introducida, DOM: Domesticada.

4.- Abundancia. P: Presente (sin conteo).

5. CONSIDERACIONES GENERALES

En las lagunas La Señoraza, El Pillo y su descarga, se observa una cobertura de flora y vegetación nativa y exótica, donde se asumen interacciones biológicas como competencia interespecífica por recursos (e.g., espacio) que podrían estar determinando la distribución parchosa de las especies presentes. El sector occidental (oeste) de la laguna La Señoraza es el área más urbanizada de la laguna y también es el eje turístico de la comuna de Laja. La cobertura vegetal corresponde mayormente a especies exóticas y dominancia del pelo de agua (*C. demersum*). En este sector comienza el recorrido final de la descarga (estero) hacia el río Biobío (~900 metros), cuerpo de agua muy intervenido que recibe las aguas de la laguna y aguas lluvias con residuos líquidos de la comuna. Esto, podría generar una fuerte presión antrópica que podría estar determinando la llegada de elementos alóctonos (sacos, basura, semillas, otros) que potencien condiciones para la rápida colonización de especies exóticas. En el sector oriental (este) se evidencian estratos vegetales que sustentan los procesos naturales de alimentación, refugio y reproducción de fauna característica del humedal, principalmente la totora (*S. californicus*) que es el principal componente vegetacional nativo que estructura la agrupación vegetal de totoral cerrado de los bordes. Son más resilientes aquellas especies que tienen adaptaciones a los cambios estacionales del humedal (aumento del nivel del agua, temperatura, nutrientes, radiación UV, entre otras).

A pesar de las constantes amenazas, la laguna mantiene flora y fauna nativa y conserva la belleza escénica de un humedal palustre típico. La especie dominante en el humedal fue la totora, especie formadora de totorales, las cuales funcionan como ingenieros ecosistémicos manteniendo la biodiversidad. Además, estas áreas brindan refugio a la fauna que descansa, se alimenta y se reproduce en la laguna. Sabemos que la flora y fauna es resiliente a perturbaciones y que sectores cercanos podría funcionar como fuentes de biodiversidad de estos humedales sumideros, por ejemplo, migraciones desde áreas mejor conservadas del humedal, desde otros humedales urbanos y/o rurales o desde los relictos de bosque nativo cercanos. Por otro lado, la percepción de los vecinos hacia los humedales debe mejorar, lo cual es posible a través de iniciativas participativas enfocadas en generar cambios permanentes de conducta mediante educación ambiental. En este complejo escenario, es que el sector podría convertirse en un ejemplo de restauración ecológica comunitaria a largo plazo, con participación de todos los actores clave (*stakeholders*): vecinos, entidades gubernamentales y privados.

6. CONCLUSIONES

1. Un total de 24 especies de plantas acuáticas y palustres fueron registradas en las lagunas, las cuales corresponden a 18 especies helófitas o palustres emergidas (75%) y seis especies hidrófitas o acuáticas (25%). En términos de su origen, fueron registradas 11 especies nativas (46%), 12 especies exóticas (50%) y un taxón fue identificado hasta nivel de género (4%), pudiendo ser nativas o exóticas.
2. En términos promedio, la laguna El Pillo fue la más diversa con valores promedio de los índices de diversidad de 1,38, además mostró la mayor uniformidad con 0,84, por lo tanto, fue el área que registró la menor dominancia con 0,32. Además, fue el área que mostró la mayor riqueza promedio con 5,4.
3. En la laguna La Señoraza, la especie nativa dominante fue la totora (*S. californicus*) con 50% y la especie exótica dominante fue el pelo de agua (*C. demersum*) con 26,5%. En la laguna El Pillo las especies nativas dominantes fueron la cortadera (*C. eragrostis*) y la flor del pato (*A. filiculoides*) con 22,8% y 13% de la abundancia relativa total.
4. Fueron registradas 38 especies de flora y vegetación terrestre, de las cuales ocho fueron categorizadas como exóticas (21%) y 30 especies como nativas (79%). La flora y vegetación de la laguna La Señoraza estuvo representada por 17 especies (45%) del total, mientras que en la laguna el Pillo estuvo representada por 36 especies (95%) del total de especies registradas en el estudio.
5. Un total de 57 especies de vertebrados fueron registradas usando ADN ambiental. Del total, 12 especies de peces, cinco de anfibios, una de reptiles, 18 de aves y 21 de mamíferos fueron registrados en las lagunas La Señoraza y El Pillo, alcanzando una diversidad máxima del sistema total de $H_{max}=4,04$, y logrando valores de diversidad de $H'=2,73$ equivalentes a un poco más del 60% de la diversidad total ($J'=0,67$).
6. A nivel de conservación, siete especies fueron categorizadas como endémicas, 38 fueron descritas como especies nativas y 17 lo fueron como especies exóticas, destacando altas abundancias de una especie nativa (i.e., *Galaxias maculatus*) y una especie exótica (i.e., *Cyprinus carpio*) y bajas abundancias de las especies endémicas.
7. La avifauna registrada mediante recorridos y observación directa estuvo representada en la laguna La Señoraza por 41 especies, de las cuales cuatro fueron categorizadas como exóticas y 37 especies nativas. Mientras que la laguna El Pillo fueron registradas 18 especies, de las cuales una fue categorizada como exótica: codorniz (*C. californica*) y 17 especies nativas con variadas categorías de conservación.
8. Se sugiere la realización de monitoreos temporales que pudieran dar cuenta de la variabilidad y dinámica estacional de las especies habitando las lagunas La Señoraza y El Pillo, con el fin de obtener información acerca de las dinámicas poblacionales de las especies y cómo éstas están usando los cuerpos de agua asociados a las mismas lagunas.

7. REFERENCIAS

- Anderson MJ. 2001. A new method for non-parametric multivariate analysis of variance. *Austral Ecology* 26:32–46.
- Anderson MJ, RN Gorley, KR Clarke. 2008. PERMANOVA+ for PRIMER: guide to software and statistical methods. Plymouth: PRIMER-E Ltd, Plymouth Marine Laboratory.
- Bourlat S, J Quiterie Haenel, J Finnman, M Leray. 2016. Preparation of amplicon libraries for metabarcoding of marine Eukaryotes using Illumina MiSeq: The Dual-PCR Method. *Methods in Molecular Biology* 1452:197-207.
- Callahan BJ, PJ McMurdie, MJ Rosen, AW Han, AJA Johnson, SP Holmes. 2016. DADA2: High-Resolution Sample Inference from Illumina Amplicon Data”. *Nature Methods* 13:581–583.
- Callahan BJ, PJ McMurdie, SP Holmes. 2017. Exact Sequence Variants Should Replace Operational Taxonomic Units in Marker-Gene Data Analysis. *The ISME Journal* 11:2639–2643.
- Clarke, K.R., Gorley, R.N., 2006. PRIMER v6: User Manual/Tutorial. PRIMER-E, Plymouth.
- Deagle BE, NJ Gales, K Evans, SN Jarman, S Robinson, R Trebilco, MA Hindell. 2007. Studying seabird diet through genetic analysis of faeces: a case study on Macaroni penguins (*Eudyptes chrysolophus*). *PLoS ONE* 2(9):e831.
- Ficetola GFF, C Miaud, F Pompanon, P Taberlet. 2008. Species detection using environmental DNA from water samples. *Biology Letters* 4:423–425.
- Gao X, H Lin, K Revanna, Q Dong. 2017. A Bayesian taxonomic classification method for 16S rRNA gene sequences with improved species-level accuracy. *BMC Bioinformatics* 18(247).
- Gordon A, GJ Hannon. 2010. Fastx-toolkit. Computer Program distributed by the Author. Retrieved from http://hannonlab.cshl.edu/fastx_toolkit/index.html
- Hoffmann A, J Decher, F Rovero, J Schaer, C Voigt, G Wibbelt. 2010. Field methods and techniques for monitoring mammals. En: *Manual on field recording techniques and protocols for all taxa biodiversity inventories* (Eymann J, J Degreef, C Häuser, JC Monje, Y Samyn, D Vanden Spiegel Eds). ABC Taxa, 653pp.
- IUCN. 2024. The International Union for Conservation of Nature’s Red List of Threatened Species. <https://www.iucnredlist.org/>
- Langmead B, SL Salzberg. 2012. Fast gapped-read alignment with Bowtie 2. *Nature Methods* 9:357-359.
- Leray M, JY Yang, CP Meyer, SC Mills, N Agudelo, V Ranwez, JT Boehm, RJ Machida. 2013. A new versatile primer set targeting a short fragment of the mitochondrial COI region for metabarcoding metazoan diversity: application for characterizing coral reef fish gut contents. *Frontiers in Zoology* 10:34.
- Martin M. 2011. Cutadapt removes adapter sequences from high-throughput sequencing reads. *EMBnet Journal* 17:10–12.
- Nguyen BN, EW Shen, J Seemann, AMS Correa, JL O'Donnell, AH Altieri, N Knowlton, KA Crandall, SP Egan, W Owen MacMillan, M Leray. 2020. Environmental DNA survey captures patterns of fish and invertebrate diversity across a tropical seascape. *Science Report* 10:6729.

- Novoa, P., Espejo, J., Alarcón, D., Cisternas, M. Domínguez, E. 2015. Guía de Campo de las Orquídeas Chilenas. Segunda Edición Ampliada. CORMA. 244pp.
- Quinn GP, MJ Keough. 2002. Experimental design and data analysis for biologists. Cambridge University Press, United Kingdom, 537pp.
- RCE-MMA. 2023. Listado de especies clasificadas desde el 1° al 17° proceso de clasificación RCE. <https://clasificacionespecies.mma.gob.cl/>
- Rodríguez R. Matthei & M Quezada. Flora arbórea de Chile. 1983 Ed Universidad de Concepción, Chile 408 pp.
- Sáenz-Agudelo P, E Delrieu-Trottin, JD Dibattista, D Marínez-Rincon, S Morales-González, F Pontigo, P Ramírez, A Silva, M Soto, C Correa. 2021. Monitoring vertebrate biodiversity of a protected coastal wetland using eDNA metabarcoding. Environmental DNA 4:77-92.
- Taberlet P, A Bonin, L Zinger, E Coissac. 2018. Environmental DNA for biodiversity research and monitoring. Oxford University Press, UK, 253pp.
- Taylor PG. 1996. Reproducibility of ancient DNA sequences from extinct Pleistocene fauna. Molecular Biology Evolution 13:283-285.
- Valentini A, P Taberlet, C Miaud, R Civade, J Herder, PF Thomsen, E Bellemain, A Besnard, E Coissac, F Boyer, C Gaboriaud, P Jean, N Poulet, N Roset, GH Copp, P Geniez, D Pont, C Argillier, J-M Baudoin, T Peroux, AJ Crivelli, A Olivier, M Acqueberge, M Le Brun, PR Møller, E Willerslev, T Dejean. 2016. Next-generation monitoring of aquatic biodiversity using environmental DNA metabarcoding. Molecular Ecology 25:929–942.