



Universidad Austral de Chile

Centro Trapananda

INFORME FINAL PROYECTO FIP 2006-55

UNIDADES POBLACIONALES DE ORANGE ROUGHY
(*Hoplostethus atlanticus*)

Informe CT 09-002

CONTRAPARTE TÉCNICA

Subsecretaría de Pesca

EDITADO POR:

Edwin Niklitschek, Pamela Toledo, Alejandra Lafon.

Universidad Austral de Chile

Coyhaique, 05 de febrero de 2009

PRESENTACIÓN DE AUTORES POR FUNCIÓN O TEMA DESARROLADO

(Orden alfabético, a partir de Jefe de Proyecto)

Nombre	Función
Edwin Niklitschek	Dirección general del Proyecto; co-autor análisis de impacto pesquero (Objetivo 3) y análisis integrado (Objetivo 4); edición y revisión de informes.
Cristian Canales	Análisis de laboratorio y resultados Objetivo 1. Preparación de informes.
Sandra Ferrada	Análisis de laboratorio y resultados Objetivo 1. Preparación de informes
Ricardo Galleguillos	Responsable Objetivo 1. Análisis e interpretación de resultados genética.
Mario George-Nascimento	Responsable Análisis parasitológico (Sobre-oferta).
Alejandra Lafon	Coordinación grupos de trabajo, revisión y compendio historia de vida (Objetivo 2), edición y revisión de informe de avance.
Rubén Roa	Responsable análisis de impacto pesquero (Objetivo 3) y estadístico integrado (Objetivo 4).
Pamela Toledo	Co-edición pre-informe final y final

Colaboradores:

Sofía Astete	Análisis genético en laboratorio
Magaly Encina	Análisis genético en laboratorio
Karen González	Análisis parasitológico
Eduardo Hernández	Coordinación muestreo biológico, Manejo bases de datos pesqueros
Claudio Herranz	Manejo general bases de datos del proyecto
Ariel Pacheco	Análisis imágenes otolitos

Como citar este informe:

Recomendamos citar este informe por capítulos, reconociendo la autoría de los científicos involucrados en cada sección. Ejemplo para el capítulo 1:

Galleguillos R., Canales C., Ferrada S., Astete S., Encina M. & Lafon A. 2008. Evaluación de posibles diferencias intra-específicas de carácter genotípico entre las tres zonas de captura y dentro de la zona de Juan Fernández. pp. 15-62 en: Niklitschek E., Toledo P. & Lafon A. (eds.) Unidades poblacionales de orange roughy (*Hoplostethus atlanticus*), Informe Final Proyecto FIP 2006-55. Universidad Austral de Chile. Coyhaique, Chile.

RESUMEN EJECUTIVO

Orange roughy (*Hoplostethus atlanticus*), presenta una distribución cosmopolita generalmente asociada a montes y cañones submarinos. La experiencia recogida en otros países sugiere que es una especie muy vulnerable a la sobre-explotación pesquera, lo que ha sido atribuido a su gran longevidad y baja tasa de crecimiento. En Chile, tras un breve periodo de explotación comercial entre los años 1999 y 2005, regulado por un sistema de cuotas, el recurso se encuentra actualmente en veda biológica como una medida precautoria. Considerando el desconocimiento de su ciclo vital y posibles rutas migratorias entre zonas de captura, resulta esencial estudiar la estructura poblacional de esta especie. En este proyecto, la identificación de unidades poblacionales de orange roughy es abordada mediante la aplicación e integración de diversos enfoques metodológicos: genético, biológico-pesquero, morfología de otolitos y parasitológico.

El estudio genético se realizó sobre individuos recolectados en la temporada de desove 2005 en montes submarinos aledaños al archipiélago Juan Fernández (JF1, JF2, JF3 y JF4) y Bajo O'Higgins (BO2), utilizando marcadores moleculares de tipo microsatélites y de ADN mitocondrial (región D-Loop). Los resultados muestran falta de estructuración poblacional, no encontrando diferencias significativas entre las zonas muestreadas.

Mientras que el análisis de fecundidad media no arrojó diferencias significativas entre los montes JF2 y JF3 (únicos con datos disponibles), existió alguna evidencia de diferencias entre zonas respecto de otros parámetros vitales y respuestas fenotípicas, tales como la talla media de madurez sexual (monte JF3 respecto de montes JF1, JF2 y JF4) y la morfometría de otolitos. Respecto de esta última técnica, se observó una muy baja capacidad de clasificación, limitada a no más de 7 coeficientes armónicos, con tasas de error por sobre el 50% para todos los casos.

El análisis comparativo de la composición de tallas mostró diferencias significativas entre zonas, y evidencia de efectos relevantes de la pesquería sobre ella. Aunque este enfoque mostró también que estos efectos no fueron homogéneos entre zonas, se estima que la evidencia obtenida no fue suficientemente consistente y sólida como para sustentar hipótesis alternativas de múltiples unidades poblacionales en el área de estudio.

El estudio parasitológico, por su parte, arrojó mayor evidencia de variabilidad entre años que entre zonas, con una limitada capacidad para discriminar áreas y evidencia más bien débil de aislamiento ecológico para el monte JF3. Tanto este enfoque como el análisis de fecundidad y primera madurez sufrieron más fuertemente las consecuencias de un número limitado de muestras, especialmente de tallas pequeñas. Esto dada la inexistencia de capturas comerciales o científicas de la especie-objetivo durante la ejecución del estudio, obligando a recurrir a muestras colectadas anteriormente y a combinar años, sexos o zonas, quitando potencia estadística a las pruebas de hipótesis efectuadas.

La modelación estadística integrada de las fuentes de información (ADN mitocondrial, microsatélites, morfometría de otolitos, talla media de madurez sexual y parásitos), indicó homogeneidad entre zonas al incluir los estudios genéticos, con evidencia de diferencias entre zonas al excluir la genética. Lo anterior sugiere que las poblaciones de las distintas zonas muestreadas no son evolutivamente distintas, pero podrían diferir al considerar una escala ecológica o pesquera. Ante la inconsistencia en los resultados del presente proyecto, se sugiere profundizar el programa de investigación sobre esta especie, incrementando la cobertura y la calidad de los datos disponibles.

Indice General

PRESENTACIÓN DE AUTORES POR FUNCIÓN O TEMA DESARROLADO.....	2
RESUMEN EJECUTIVO.....	3
INTRODUCCION.....	14
OBJETIVO GENERAL.....	15
OBJETIVOS ESPECIFICOS.....	15
PRESENTACION DE RESULTADOS POR OBJETIVO ESPECIFICO.....	16
OBJETIVO 1: Evaluación de posibles diferencias intra-específicas de carácter genotípico entre las tres zonas de captura y dentro de la zona de Juan Fernández.	16
INTRODUCCION.....	16
Marcadores moleculares nucleares.....	17
Marcadores moleculares mitocondriales.....	19
Estudios genéticos previos en <i>H. atlanticus</i>	20
MATERIALES Y METODOS.....	21
Secuenciación del segmento DLoop del ADN mitocondrial.....	22
Microsatélites.....	27
RESULTADOS.....	29
Secuenciación del segmento DLoop del ADN mitocondrial.....	29
Microsatélites.....	36
DISCUSION.....	45
OBJETIVO 2: Diferencias fenotípicas asociadas a la historia ambiental de las agregaciones de orange roughy en el área de estudio.....	47
INTRODUCCION.....	47
MATERIALES Y METODOS.....	53
Madurez Sexual.....	53
Fecundidad de las Hembras.....	54
Morfometría de otolitos.....	55
RESULTADOS.....	57
Talla de madurez sexual.....	57

Fecundidad de hembras.....	58
Morfometría de otolitos.....	60
DISCUSIÓN.....	62
OBJETIVO 3: Evaluación de posibles diferencias en la respuesta de la(s) población(es) de orange roughy a la actividad pesquera 1999-2004, entre y dentro de las zonas de estudio.	64
INTRODUCCION.....	64
MATERIALES Y METODOS.....	64
Composición de tallas.....	64
Relación talla-peso.....	68
Distribución espacial.....	69
RESULTADOS.....	72
Distribución de tallas.....	72
Relaciones peso-talla.....	83
Distribución espacial.....	89
Zona JF1.....	89
Zona JF2.....	89
Zona JF3.....	90
Zona JF4.....	90
DISCUSION.....	96
Composición de la fauna parasitaria de los montes submarinos de Juan Fernández y entre el sector Juan Fernández y Bajo O'Higgins. (SOBREOFERTA).....	98
INTRODUCCION.....	98
MATERIALES Y MÉTODOS.....	100
RESULTADOS.....	101
Dieta.....	101
Parasitismo.....	103
DISCUSION.....	111
OBJETIVO 4: Análisis integrado de la evidencia disponible sobre la estructura poblacional de orange roughy en sus principales zonas de extracción.	112
INTRODUCCION.....	112

MATERIALES Y METODOS.....	112
Haplotipos ADN mitocondrial.....	112
Microsatélites	113
Parásitos.....	114
RESULTADOS	116
DISCUSION	117
CONCLUSIONES GENERALES.....	119
REFERENCIAS.....	120

Indice de Tablas

Tabla 1: Características de marcadores moleculares.	17
Tabla 2: Naturaleza de la información entre marcadores moleculares.	20
Tabla 3: Número de muestras procesadas por sector.....	21
Tabla 4: Posición geográfica de los montes submarinos	22
Tabla 5: Secuencias de los partidores positivos en la PCR y secuenciación del DLoop en orange roughy.	24
Tabla 6: Condiciones de reacción de la PCR para la amplificación del segmento DLoop.....	24
Tabla 7: Condiciones del programa de amplificación del DLoop del orange roughy en termociclador PTC-200 de MjResearch.....	25
Tabla 8: Secuencias con máxima similitud al DLoop del ADN mitocondrial de orange roughy. Sólo se muestran las máximas similitudes.	26
Tabla 9: Condiciones de amplificación por PCR para marcadores microsatélites en orange roughy.....	27
Tabla 10: Programa de amplificación en termociclador PTC-200 de MjResearch para loci microsatélites del orange roughy.....	27
Tabla 11: Características de los marcadores microsatélites aplicados en el orange roughy.....	28
Tabla 12: Índice de Diversidad Haplotípica (H_d) y Nucleotídica (π) para el segmento DLoop de orange roughy. N: número de individuos.....	31
Tabla 13: Valores de estadístico F_{st} (bajo la diagonal), por pares de poblaciones de <i>H. atlanticus</i> y valor de probabilidad asociada (sobre la diagonal) con un bootstrap de 3024.	32
Tabla 14: Análisis AMOVA realizado para el segmento DLoop del orange roughy con la finalidad de probar hipótesis propuestas por Young et al. (2000, 2004) y otras.	35
Tabla 15: Análisis AMOVA del segmento DLoop del orange roughy bajo el modelo de distancia de	

(Tamura & Nei 1993).	36
Tabla 16: Resumen de parámetros poblacionales básicos. Na: n° de alelos, He: heterocigosidad esperada, Ho: heterocigosidad observada; H&W: valor de probabilidad del test exacto de Hardy & Weinberg.	40
Tabla 17: Valores de Fst entre pares de poblaciones analizadas (bajo la diagonal) y valor de probabilidad con su respectiva desviación estándar (sobre la diagonal). En cursiva valores significativos.....	41
Tabla 18: Valores de Rst entre pares de poblaciones analizadas (bajo la diagonal) y valor de probabilidad con su respectiva desviación estándar (sobre la diagonal). En cursiva valores significativos.	41
Tabla 19: Test exacto de diferenciación poblacional entre pares de poblaciones, utilizando 1.000 pasos de la Cadena de Markov, con su respectiva desviación estándar. En cursiva valores significativos.	41
Tabla 20: Análisis AMOVA para los cinco loci microsatélites analizados con la finalidad de probar las hipótesis propuestas por Young et al. (2000, 2004) y otras.	42
Tabla 21: Análisis Espacial de Varianza Molecular (SAMOVA) propuesto por (Dupanloup et al. 2002) para probar agrupaciones de las localidades en estudio.	43
Tabla 22: Hipótesis de estructura genética poblacional de orange roughy (modelo poblacional con mezcla) contrastadas con STRUCTURE (Pritchard et al. 2000).....	44
Tabla 23: Estadísticas de desembarque (ton) de orange roughy. (Fuente: http://www.fao.org).....	48
Tabla 24: Resumen de fecundidad total (ovocitos ·hembra-1) y fecundidad relativa (ovocitos ·kg-1) en H. atlanticus (Pankhurst & Conroy 1987, Clark et al. 1994, Du Buit 1995, Young et al. 2004, Minto & Nolan 2006). n=número de ejemplares muestreados; LS= longitud estándar.....	49
Tabla 25: Parámetros de crecimiento y mortalidad natural estimados para poblaciones chilenas de orange roughy (sexos combinados).....	51
Tabla 26: Número de otolitos de orange roughy por zona de pesca/monte, año y mes de recolección.....	56
Tabla 27. Talla media de madurez sexual (150%) y talla correspondiente al percentil 95 (195%) estimadas para cinco zonas de extracción de orange roughy en Chile. EMV: estimado de máxima verosimilitud; EE: error estándar asintótico del EMV. Distintos super-índices en primera columna indican diferencias significativas en parámetro l50 (t-test, p<(0,05). Se incluye talla media estimada para cada monte (2003-2006) a manera de referencia.....	58
Tabla 28: Prueba de la razón de verosimilitud entre el modelo con efecto de la longitud estándar y el modelo con efecto de la longitud estándar y de la zona sobre la fecundidad de hembras de orange roughy.	58
Tabla 29: Prueba de la razón de verosimilitud entre el modelo nulo y el modelo con efecto de zona en análisis de varianza multivariado de los datos de morfometría de otolitos de orange roughy y errores aparentes y estimados por validación cruzada de la función discriminante lineal.....	61
Tabla 30. Datos de frecuencia de tallas (longitud de horquilla) en categorías de 5 cm (L35 a L55) factorizadas según año, zona, captura acumulada y lances acumulados.....	66
Tabla 31: Número de lances por año y zona disponibles para el estudio del efecto de la pesca sobre la distribución espacial de orange roughy.....	70

Tabla 32: Distribución de los lances disponibles para el análisis espacial por mes para cada zona y año.....	70
Tabla 33: Distribución de los lances disponibles para el análisis espacial por barco para cada zona y año...	71
Tabla 34: Resultados de la prueba de razón de verosimilitud para varias hipótesis concernientes (i-iv y viii-x en métodos) a la respuesta de los stocks de orange roughy a la pesca en términos de la estructura de tallas. N: número de observaciones; LL: loge(verosimilitud); gl(χ^2): grados de libertad test de verosimilitud; p(χ^2): valor de probabilidad del estadístico razón de verosimilitud; AIC: índice de información de Akaike.....	73
Tabla 35: Resultados del análisis de contrastes ortogonales entre los coeficientes de regresión logística multinomial, correspondientes al efecto zona, bajo los modelos viii (zona), ix (captura acumulada) y x (número acumulado de lances). Letras distintas indican diferencias significativas entre coeficientes. Modelo base incluye las variables sexo, zona y sexo×zona.....	74
Tabla 36: Resultados del análisis de contrastes ortogonales entre los coeficientes del modelo de regresión lineal (variables log-transformadas) para la relación peso eviscerado-talla, bajo el modelo: . Donde B1 y B2 corresponden a los vectores de coeficientes de los respectivos efectos fijos, evaluados mediante contrastes ortogonales. Letras distintas indican diferencias significativas entre coeficientes.....	83
Tabla 37: Resultados del análisis de contrastes ortogonales entre los coeficientes del modelo de regresión lineal (variables log-transformadas) para la relación peso eviscerado-talla, bajo el modelo: ; donde B3 y B4 corresponden a los vectores de coeficientes de los efectos fijos asociados a las interacciones de las variables zona y año, evaluados mediante contrastes ortogonales. Letras distintas indican diferencias significativas entre coeficientes.	84
Tabla 38: Resultados del análisis de contrastes ortogonales entre los coeficientes del modelo de regresión lineal (variables log-transformadas) para la relación peso eviscerado-talla, bajo el modelo: ; donde B3 y B4 corresponden a los vectores de coeficientes de los efectos fijos asociados a las interacciones de las variables zona y número acumulado de lances (NALR), evaluados mediante contrastes ortogonales. Letras distintas indican diferencias significativas entre coeficientes.	85
Tabla 39: Resultados del análisis de contrastes ortogonales entre los coeficientes del modelo de regresión lineal (variables log-transformadas) para la relación peso eviscerado-talla, bajo el modelo: ; donde B3 y B4 corresponden a los vectores de coeficientes de los efectos fijos asociados a las interacciones de las variables zona y captura acumulada (CAR), evaluados mediante contrastes ortogonales. Letras distintas indican diferencias significativas entre coeficientes.....	86
Tabla 40: Parámetros de los modelos espaciales por zona y año: rango y meseta. CPUE: captura por lance efectivo; p(C>0): probabilidad de lances efectivos; CPUE corregida: producto entre CPUE y p(C>0); área efectiva: producto entre el área observada y p(C>0).	91
Tabla 41: Contenido estomacal de orange roughy (Hoplostethus atlanticus:). N° de presas (N), frecuencia porcentual de ocurrencia (F%) y n° de estómagos con contenido estomacal por zona de pesca (n).....	102
Tabla 42: Prevalencia (P%) y abundancia (A) de 10 taxa de parásitos encontrados en 143 ejemplares de orange roughy (Hoplostethus atlanticus) provenientes de dos zonas de pesca alrededor del Archipiélago de Juan Fernández, muestreadas en los años 2005 y 2006.....	103
Tabla 43: Peso corporal (g), abundancia total (log10), diversidad, dominancia y composición de las infracomunidades de parásitos encontrados en 143 ejemplares de orange roughy (Hoplostethus atlanticus) provenientes de dos zonas de pesca alrededor del Archipiélago de Juan Fernández, años 2005 y 2006.....	104

Tabla 44: Clasificación de los ejemplares de orange roughy de 4 muestras según un análisis discriminante simple realizado sobre a) la composición de los ensambles de 8 taxa parasitarios encontrados en 143 individuos hospedadores, y b) los valores de 6 descriptores cuantitativos de las infracomunidades.	108
Tabla 45: Funciones de clasificación de ocho taxa parasitarios de <i>H. atlanticus</i> para cada una de las cuatro muestras consideradas.....	109
Tabla 46: Coeficientes de correlación de la abundancia de cada uno de los ocho taxa parasitarios con las dos primeras funciones discriminantes.....	109
Tabla 47: Coeficientes de correlación de cada uno de los descriptores numéricos de las infracomunidades de parásitos con las dos primeras funciones discriminantes.	110
Tabla 48: Funciones de clasificación de seis descriptores numéricos de las infracomunidades de parásitos de <i>H. atlanticus</i> para cada una de las cuatro muestras consideradas.....	110
Tabla 49: Zonas cubiertas por las bases de datos para todos los análisis implementados en este estudio...	115
Tabla 50: Condicionamiento de las matrices de covarianza de los distintos análisis para la construcción del modelo conjunto de verosimilitud marginal.....	116
Tabla 51. Contribuciones de los distintos análisis a la log-verosimilitud marginal (LogL) de las hipótesis de igualdad entre zonas (Modelo Simple) y de diferencias entre zonas (Modelo Zona) asumiendo un modelo normal multivariado independiente para cada análisis, número de parámetros aportado por cada análisis (P), y valor de AIC de cada modelo. La log-verosimilitud marginal total en hembras del Modelo Simple no considera el resultado de haplotipos.....	117
Tabla 52. Síntesis de resultados del re-análisis de datos obtenidos aplicando una aproximación común, basada en máxima verosimilitud, para las distintas técnicas empleadas en la evaluación de la hipótesis nula de stock único. Diferentes letras indican diferencias significativas entre zonas. n.i. No incluida en el análisis	117
Tabla 53: Lista de asistentes al taller metodológico efectuado en Concepción en septiembre de 2007.....	131
Tabla 54: Lista de Asistentes al taller de difusión de resultados.....	135

Índice de Figuras

Figura 1: Ubicación general de las áreas de estudio. Montes JF1, JF2, JF3 y JF4 en el Archipiélago de Juan Fernández, Montes Bajo O'Higgins 1 (BO1), Bajo O'Higgins 2 (BO2) y Punta Sierra (PSI).	15
Figura 2: Perfil electroforético de PCR para el segmento DLoop del ADN mitocondrial de orange roughy, en gel de agarosa al 1%. Cada carril corresponde a distintos individuos. Se indican los perfiles obtenidos con tres parejas de partidores ensayados para el segmento.	23
Figura 3: Perfiles electroforéticos de la amplificación por PCR del segmento DLoop del ADN mitocondrial de orange roughy, en geles de agarosa al 1%, con <i>fx</i> como marcador de peso molecular. La PCR se llevó a cabo con la pareja de partidores 12SARH & L19.	24
Figura 4: Árbol de consenso (majority-rule) de las muestras analizadas de orange roughy para DLoop. Los valores sobre las ramas indican la consistencia de los nodos a partir de la probabilidad a priori de	

ocurrencia de los árboles en la zona de convergencia de la cadena de Markov usando un modelo de 3GTR+G.	30
Figura 5: Red de consenso (Holland et al. 2004, Huson & Bryant 2006) construida con un umbral de $p=0,05$ para el conjunto de muestras analizadas de orange roughy para DLoop.....	31
Figura 6: Localidades de muestreo y frecuencia de haplotipos de DLoop por localidad. Los haplotipos indicados sobre cada figura (e.g. en BO2 H_12) son haplotipos únicos para cada localidad, los no indicados son compartidos por dos o más localidades.....	32
Figura 7: Relación entre el número de haplotipos DLoop y latitud de las zonas de muestreo para orange roughy.....	33
Figura 8: Red de haplotipos basada en la aproximación Median Joining para DLoop. Los diferentes colores indican las diferentes localidades, los diferentes tamaños de círculos indican la frecuencia de los haplotipos.	33
Figura 9: Distribución mismatch observada de los haplotipos DLoop en la muestra total (i.e. líneas discontinuas). En el gráfico en líneas continuas se observan las distribuciones teóricas esperadas bajo los modelos de tamaño poblacional constante (A) y de expansión rápida (B).....	34
Figura 10:Frecuencia microsatélite Hat3 en poblaciones de orange roughy.	37
Figura 11: Frecuencia microsatélite Hat7 en poblaciones de orange roughy.	37
Figura 12: Frecuencia microsatélite Hat9 en poblaciones de orange roughy.	38
Figura 13: Frecuencia microsatélite Hat45 en poblaciones de orange roughy.	38
Figura 14: Frecuencia microsatélite Hat49 en poblaciones de orange roughy.	39
Figura 15: Tasas de ascenso y descenso de huevos de orange roughy, determinadas experimentalmente por grupos de desarrollo (adaptado de Zeldis et al, 1995).....	51
Figura 16: Profundidad predicha para cada estadio de desarrollo por el modelo de historia termal (adaptado de Zeldis et al, 1995).....	52
Figura 17: Silueta de otolito sagita izquierdo de orange roughy preparado para su digitalización.....	56
Figura 18: Ajuste de modelos logísticos de madurez para cinco zonas utilizando un ajuste no lineal del modelo de estimación de talla de primera madurez sexual. Parámetros 150 y 195 reportados en Tabla 27. Zonas 1, 2, 3 ,4 y 100 corresponden a JF1, JF2, JF3, JF4 y Bajo O'Higgins, respectivamente.....	59
Figura 19: Ajuste de modelos de fecundidad para dos zonas con la base de datos del proyecto FIP 1999-05 usando máxima verosimilitud de un modelo de potencia con verosimilitud lognormal.	60
Figura 20: Valores medios de 44 coeficientes (22 iniciales, 22 finales, diferenciados por colores), de funciones armónicas de la morfometría de los otolitos de orange roughy, por zona.....	61
Figura 21: Estructuras de tallas de orange roughy a través de la historia de la pesquería. Monte JF1.....	75
Figura 22: Estructuras de tallas de orange roughy a través de la historia de la pesquería. Monte JF2.....	76
Figura 23:Estructuras de tallas de orange roughy a través de la historia de la pesquería. Monte JF3.....	77

Figura 24: Estructuras de tallas de orange roughy a través de la historia de la pesquería. Monte JF4.....	78
Figura 25: Estructuras de tallas de orange roughy a través de la historia de la pesquería. Monte BO1. Paneles vacíos indican ausencia de datos.....	79
Figura 26: Estructuras de tallas de orange roughy a través de la historia de la pesquería. Monte BO2. Paneles vacíos indican ausencia de datos.....	80
Figura 27: Estructuras de tallas de orange roughy a través de la historia de la pesquería. Sector Punta Sierra (PSI).....	81
Figura 28: Mediana, primer y tercer cuartil de la estructura de tallas de orange roughy en las siete zonas de pesca a través de cinco años de historia de la pesquería	82
Figura 29: Relación peso talla de orange roughy por sexo para montes JF1, JF2, JF3 y JF4 (2002-2006).....	87
Figura 30: Relación peso talla de orange roughy por sexo para montes JF5, BO1, BO2 y PSI (2002-2006).	88
Figura 31: Distribución espacial de las densidades positivas (paneles superiores) y de la probabilidad de observar el stock en la zona JF1 (paneles inferiores) mediante un modelo geoestadístico basado en verosimilitud.....	92
Figura 32: Distribución espacial de las densidades positivas (paneles izquierdos) y de la probabilidad de observar el stock en la zona JF2 mediante un modelo geoestadístico basado en verosimilitud.....	93
Figura 33: Distribución espacial de las densidades positivas (paneles superiores) y de la probabilidad de observar el stock en la zona JF3 mediante un modelo geoestadístico basado en verosimilitud.....	94
Figura 34: Distribución espacial de las densidades positivas (paneles izquierdos) y de la probabilidad de observar el stock en la zona JF4 mediante un modelo geoestadístico basado en verosimilitud.....	95
Figura 35: Diagramas Box-plot del peso corporal de ejemplares de orange roughy muestreados en 2005 y 2006 en JF3 y JF4 (Los tamaños muestrales son: JF3-2005= 31, JF4-2005 = 63, JF3-2006 = 33, JF4-2006 = 16).....	102
Figura 36: Relación entre el primer gradiente composicional de las infracomunidades de parásitos de <i>Hoplostethus atlanticus</i> según año y zona de pesca expresado en unidades de desviación estándar x 100, y el peso corporal de los huéspedes (g), (rombo gris: JF3, 2005, rombo blanco: JF3, 2006, triángulo gris: JF4, 2005, triángulo blanco: JF4, 2006).	104
Figura 37: Diagramas Box-plot del primer gradiente composicional de las infracomunidades de parásitos de orange roughy muestreados en 2005 y 2006 en JF3 y JF4. Los tamaños muestrales son: JF3-2005= 31, JF4-2005 = 63, JF3-2006 = 33, JF4-2006 = 16.....	105
Figura 38: Diagramas Box-plot de la abundancia total de parásitos de 143 ejemplares de orange roughy muestreados en 2005 y 2006 en JF3 y JF4. Los tamaños muestrales son: JF3-2005= 31, JF4-2005 = 63, JF3-2006 = 33, JF4-2006 = 16.	106
Figura 39: Diagramas Box-plot de la diversidad de parásitos de 143 ejemplares de orange roughy muestreados en 2005 y 2006 en JF3 y JF4. Los tamaños muestrales son: JF3-2005= 31, JF4-2005 = 63, JF3-2006 = 33, JF4-2006 = 16.....	106

Figura 40: Diagramas Box-plot de la dominancia de parásitos de 143 ejemplares de orange roughy muestreados en 2005 y 2006 en JF3 y JF4.....107

Figura 41: Diagramas box-plot de la proporción de parásitos muertos de 143 ejemplares de orange roughy muestreados en 2005 y 2006 en JF3 y JF4. Los tamaños muestrales son: JF3-2005=31, JF4-2005=63, JF3-2006=33, JF4-2006=16.107

Índice de Anexos

Anexo 1: Taller metodológico. Concepción, septiembre de 2007.....130

Anexo 2: Taller de difusión final. Concepción, 4 abril de 2008.....133

Anexo 3: Personal participante por objetivo específico del proyecto.....137

AGRADECIMIENTOS

Nuestros agradecimientos a la Subsecretaría de Pesca y al Consejo y Secretaría Ejecutiva del Fondo de Investigación Pesquera, por su apoyo institucional y financiero al presente proyecto, y a las empresas participantes de la pesquería de orange roughy, EMDEPES S.A., Pesca Chile S.A, Pesquera Bío-Bío S.A., Pesquera El Golfo S.A. y Pesquera Friosur S.A. por su apoyo operacional y profesional. Nuestra gratitud también al señor Simón Robertson por su apoyo en la metodología de análisis de morfometría de otolitos.

INTRODUCCION

El desarrollo de la ciencia pesquera se basa en la visión idealizada de una “unidad de stock”, que corresponde a una entidad poblacional autosustentable, con su propio origen, trayectoria demográfica y distribución espacial, la cual responde de manera singular a las perturbaciones de la actividad pesquera. De este modo, el diagnóstico del estado de un recurso y el desarrollo de modelos poblacionales que permitan analizar su trayectoria pasada y proyectar sus posibles respuestas futuras dependen, de manera fundamental, de una identificación coherente y adecuada de tales unidades (Waldman 2005). El concepto de stock y/o unidad poblacional es un tema en continua revisión (Begg et al. 1999), cuya definición depende de la escala temporal considerada y de los objetivos para los cuales este análisis se lleva a cabo (Hoarau et al. 2002). Desde el punto de vista de la biología de la conservación, el énfasis está en conocer y proteger la riqueza genética de la especie en el largo plazo (decenios a siglos), y una menor importancia relativa es asignada a respuestas fenotípicas o demográficas de corto plazo. El objetivo principal del manejo pesquero, en cambio, es la sustentabilidad de las capturas. Bajo esta última perspectiva, las unidades poblacionales pueden ser definidas como subconjuntos de individuos que responden más o menos discretamente al esfuerzo pesquero aplicado sobre una determinada área geográfica y en una escala temporal de años a decenios, a las cuales se justifica aplicar estrategias diferenciadas de explotación (Secor 1999).

Atendiendo a lo anterior, el concepto de stock conlleva dos hipótesis nulas no excluyentes: a) homogeneidad genotípica, asociada al intercambio genético aleatorio entre sus miembros; b) homogeneidad fenotípica, vinculada a la distribución aleatoria de los individuos dentro de un hábitat compartido. Una hipótesis de trabajo, vinculada a ambas hipótesis nulas es la de aislamiento geográfico o temporal entre las zonas de reproducción de distintas unidades. El rechazo a la hipótesis nula de homogeneidad genética, requiere de niveles elevados o absolutos de aislamiento reproductivo, mantenidos por muy largos periodos de tiempo (escala evolutiva). Estos requerimientos pueden transformar a la genética en una aproximación insuficientemente sensible como para detectar unidades poblacionales relevantes para efectos del manejo pesquero o de la protección de hábitat sensibles. En contraste, una aproximación fenotípica, puede ser el simple reflejo de la discontinuidad ambiental entre grupos de individuos pertenecientes a una misma unidad reproductiva (Winans 1987), la que, a pesar de sus aparentes diferencias, respondería como un todo a los factores pesqueros y naturales de mortalidad. De las limitaciones de cada enfoque antes presentado, se hace evidente la conveniencia de enfrentar la identificación de unidades de stock combinando enfoques genotípicos y fenotípicos en una visión holística de aspectos biológicos, ambientales y genéticos (Begg & Waldman 1999, Cadrin et al. 2005, Waldman 2005).

Ajustándose al marco conceptual descrito, el presente proyecto utilizó un conjunto de técnicas y aproximaciones genéticas y fenotípicas para someter a prueba la hipótesis de stock único actualmente asumida implícitamente en el manejo de orange roughy (*Hoplostethus atlanticus*) en Chile. En particular, nos concentramos en comparar las tres principales zonas de extracción de orange roughy en Chile: Juan Fernández, Bajo O'Higgins y Punta Sierra (Figura 1), donde se ha encontrado diferencias en algunos parámetros biológicos, como talla media, periodos de desove y fecundidad, que han sugerido la posibilidad de que existieran al menos dos unidades poblacionales (Young et al. 2004).

La experiencia internacional en la identificación de unidades poblacionales de orange roughy ha mostrado resultados satisfactorios mediante la aplicación de marcadores moleculares y técnicas basadas en microsatélites (Smith *et al.*, 2002); análisis morfométrico de otolitos (Gauldie & Jones 2000, Smith et al. 2002), estructura/promedio de tallas (Smith et al. 2002) y tasa de crecimiento individual (Gauldie & Jones

2000). Una capacidad discriminante más bien inconsistente entre estudios ha sido lograda utilizando aloenzimas y otras técnicas moleculares en ADN mitocondrial (Elliot et al. 1994, Baker et al. 1995, Smith & Benson 1997, Branch 2001, Smith et al. 2002) y parasitofauna (Lester et al. 1988, Gauldie & Jones 2000). En el presente proyecto, aplicamos un enfoque genotípico y fenotípico, que incorporó el análisis de su estructura genética, morfometría de otolitos, estructura de tallas, parámetros de la historia de vida y análisis de parasitofauna. Se realizó un importante esfuerzo en la integración de las fuentes parciales de evidencia en una relación matemática que consideró la información aportada por cada una de ellas.

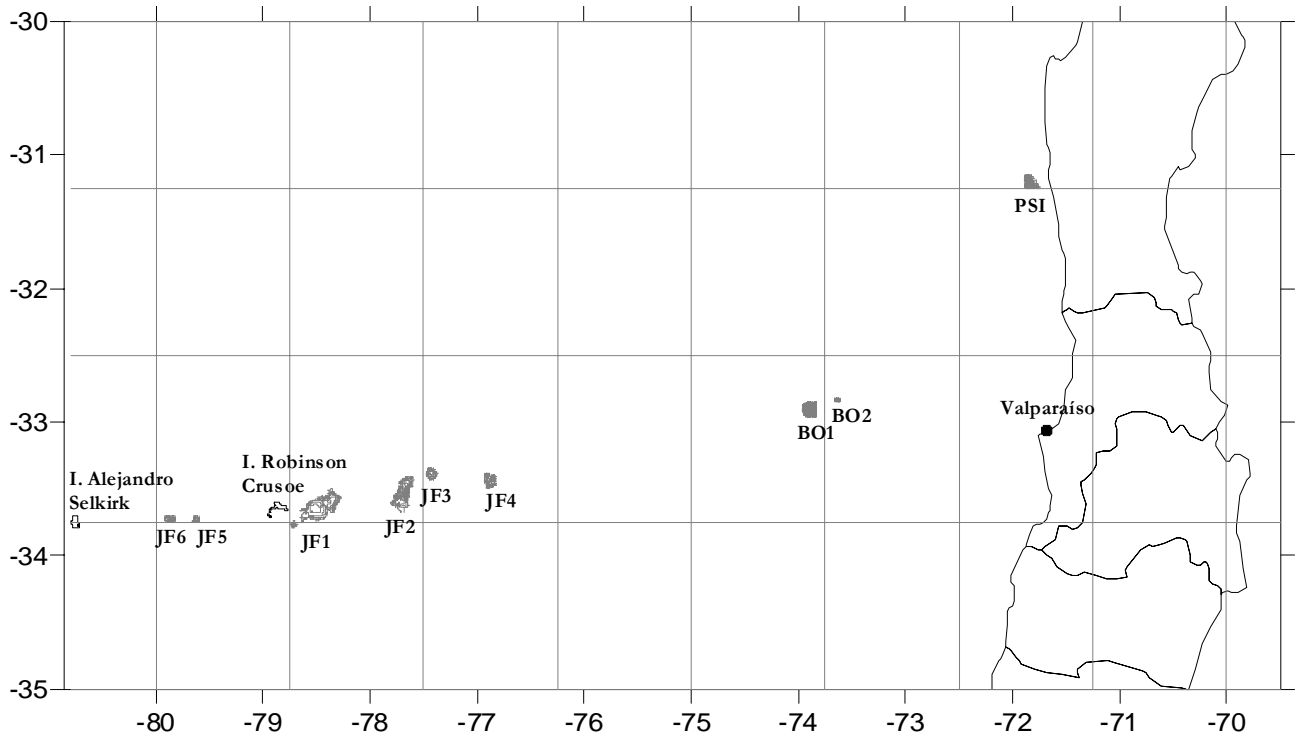


Figura 1: Ubicación general de las áreas de estudio. Montes JF1, JF2, JF3 y JF4 en el Archipiélago de Juan Fernández, Montes Bajo O'Higgins 1 (BO1), Bajo O'Higgins 2 (BO2) y Punta Sierra (PSI).

OBJETIVO GENERAL

Evaluar la hipótesis nula de población unitaria, aceptada actualmente para orange roughy (*Hoplostethus atlanticus*) en Chile, entre sus tres principales zonas de captura: Juan Fernández, Bajo O'Higgins y Punta Sierra, así como también dentro de la zona de Juan Fernández.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

OBJETIVO 1: Evaluar posibles diferencias intra-específicas de carácter genotípico entre las tres zonas de captura y dentro de la zona de Juan Fernández, entre al menos dos de los montes explotados por la pesquería.

OBJETIVO 2: Evaluar posibles diferencias fenotípicas asociadas a la historia ambiental de las agregaciones de orange roughy entre y dentro de las zonas de estudio.

OBJETIVO 3: Evaluar posibles diferencias en la respuesta de la(s) población(es) de orange roughy a la actividad pesquera 1999-2004, entre y dentro de las zonas de estudio.

OBJETIVO 4: Integrar la evidencia obtenida en una nueva hipótesis de trabajo, relevante al manejo del recurso, respecto de la estructura poblacional de orange roughy en sus principales zonas de extracción.

PRESENTACION DE RESULTADOS POR OBJETIVO ESPECIFICO

OBJETIVO 1: Evaluación de posibles diferencias intra-específicas de carácter genotípico entre las tres zonas de captura y dentro de la zona de Juan Fernández.

Ricardo Galleguillos¹, Cristian Canales¹, Sandra Ferrada¹, Sofía Astete¹, Magaly Encina¹,
Alejandra Lafon².

¹Universidad de Concepción; ²Universidad Austral de Chile.

INTRODUCCION

Uno de los requerimientos básicos para el adecuado manejo de poblaciones naturales de especies explotadas, ya sea por razones comerciales o de conservación, es el conocimiento de sus aspectos reproductivos. Por ejemplo, el que una población o un área de pesca (“fishing ground”) sea reproductivamente autosustentable o dependa de inmigrantes para el reemplazo de sus individuos adultos está asociado a un nivel de intercambio genético originado por la inmigración entre poblaciones, que puede afectar su sustentabilidad en el largo plazo.

Desde el punto de vista genético, se define un stock puro o discreto como una población que evolucionó independientemente de otras y por lo tanto acumuló diferencias genéticas con respecto a ellas. Este concepto se basa en la idea de poblaciones de organismos que se desarrollan independientemente, entre las que el flujo génico es muy bajo o nulo entre ellas, lo que resulta finalmente en que una especie este formada por numerosas poblaciones panmícticas o demos. Esta situación puede ocurrir tanto en organismos con amplia distribución geográfica, como ser causada por una fuerte dependencia de factores ambientales en su historia de vida o, debido a la existencia de barreras que restrinjan el libre movimiento de los individuos entre las poblaciones, evitando la panmixia total entre los ejemplares (Spanakis et al. 1989).

Tomando en cuenta que el monitoreo directo del potencial de dispersión de un organismo es muy difícil, se han desarrollado métodos indirectos para evaluar intercambio genético expresado en el rango y número de diferencias fenotípicas entre poblaciones. Diferencias fenotípicas sustanciales entre poblaciones pueden ser atribuidas tanto a aislamiento reproductivo, como a la expresión de su plasticidad en respuesta a condiciones ambientales diferentes. Desde el punto de vista genético, una alternativa para evaluar las diferencias poblacionales es examinar la estructura genética de la población. El grado en el cual las diferentes poblaciones son genéticamente divergentes puede reflejar el balance entre los procesos potencialmente diversificadores de la deriva génica y la selección, versus, el efecto homogeneizador del flujo génico.

En el desarrollo de este trabajo, se consideró el concepto de stock puro o discreto. Para evaluar la

estructuración de la(s) unidad(es) poblacional(es), se aplicó marcadores moleculares (microsatélites y DLoop), término que corresponde a cualquier fenotipo molecular producto de la expresión de un gen o de segmentos específicos del ADN de origen nuclear (ADNn) o mitocondrial (ADNmt). Estos fenotipos pueden ser regiones expresadas o no del genoma (Ferreira & Grattapaglia 1989, Becerra & Paredes 1999), cuya resolución temporal y potencial aplicación dependerá de las características del marcador molecular utilizado (Tabla 1).

Tabla 1: Características de marcadores moleculares.

Tópico	MARCADOR MOLECULAR			
	Proteínas	ADNmt	Microsatélites	RAPD
Requerimientos de tejido	Alto	Bajo	Bajo	Bajo
Sacrificio de organismos	Frecuentemente	No	No	No
% cubierto del genoma	<5	<10 ⁻⁴	5-20	Desconocido
Número de loci	10 ² -10 ³	1	10 ⁴ -10 ⁵	Desconocido
Tasa de evolución	Moderado	Rápido	Rápido	Rápido
Tipo de estudio	Proteínas	ADNmt	Microsatélites	RAPD
Análisis de pedigree	Dudoso	NA	Excelente	Bueno
Genética poblacional	Excelente	Bueno	Excelente	Dudoso
Zonas híbridas	Bueno	Bueno/Excelente	Dudoso	Dudoso
Filogenética	Bueno	Excelente	Dudoso	Dudoso

Marcadores moleculares nucleares

Al clasificar el ADN nuclear podemos encontrar secuencias tanto moderadas (genes ribosomales), como altamente repetitivas (microsatélites), siendo estas últimas, una de las más utilizados en la evaluación de unidades poblacionales y determinación de variabilidad genética (Litt & Luty 1989). Los marcadores moleculares tipo microsatélites (SSRs: Simple Sequence Repeats; STRs: Short Tandem Repeats) corresponden a regiones no codificantes, de origen y función aún desconocida, salvo algunas excepciones. Estas regiones están compuestas por motivos básicos de repetición de 1-6 nucleótidos de largo, organizados en bloques con 5-50 repeticiones en serie. Se encuentran ampliamente distribuidas en el genoma de organismos eucariontes (Tautz 1989) y procariontes (Zane et al. 2002), donde es posible observar una región microsatélite cada 10 kilobases. Estos marcadores moleculares responderían a un modelo de herencia mendeliana codominante (De Woody & Avise 2000), con un elevado polimorfismo, lo que explica su frecuente utilización en estudios poblacionales (Litt & Luty 1989, Park et al. 1993).

Los microsatélites han sido tradicionalmente clasificados (Weber 1990) de acuerdo a la naturaleza de sus unidades de repeticiones, como perfectos (sin interrupciones), imperfectos (con una o más interrupciones) o compuestos (unidades de repeticiones conjuntas con secuencias diferentes). Los tipos de repeticiones más comunes son los tetra y dinucleótidos como $[CA]_n$, $[GT]_n$ y $[GATA]_n$ (Tautz 1989). Los microsatélites trinucleótidos han demostrado ser más polimórficos que los dinucleótidos y tienen la particularidad de producir menos artefactos de la amplificación por PCR, también llamados “bandas tartamudas” (Song et al. 2002).

Aunque los microsatélites son considerados selectivamente neutros, algunos estudios han mostrado relevancia funcional en un significativo número de ellos. Las diferencias en la frecuencia de microsatélites en regiones codificantes y no codificantes se relaciona con una selección específica frente a mutaciones en las secuencias flanqueantes en las regiones codificantes. En general, los microsatélites con motivo de repetición tri- y hexanucleótidos se encuentran en exceso en regiones codificantes y no codificantes, mientras que los microsatélites con otros tipos de repeticiones no son tan abundantes. La selección que existe contra las mutaciones en las regiones flanqueantes limita la expansión de los microsatélites no tripletes en regiones codificantes (Metzgar et al. 2000).

El origen del polimorfismo de las secuencias microsatélites está aún en debate, aunque probablemente este se deba a eventos de deslizamientos de cadena o *slippage* durante la replicación del ADN (Tautz 1989, Zane et al. 2002), en el cual ambas cadenas pueden alinearse incorrectamente, resultando en una expansión o contracción del número de ellas en la nueva cadena sintetizada (Moxon & Wills 1999). Otras posibles causas para la generación de polimorfismos son las mutaciones, de tipo sustractivo o aditivo, ya sean en el microsatélite o en las regiones que lo flanquean, alterando el tamaño de la región microsatélite. Este tipo de procesos y mutaciones hacen que los microsatélites se encuentren entre las secuencias de ADN con mayor tasa de mutación, estimada entre $2,5 \times 10^{-5}$ y 10^{-2} mutaciones por locus y por generación en poblaciones naturales. La duplicación de una secuencia microsatélite en otra región del genoma da lugar a la generación de marcadores microsatélites multilocus (Jarne & Lagoda. 1996).

Hasta la fecha, existen cuatro modelos teóricos para explicar la evolución de mutaciones de tipo microsatélites: el modelo de alelos infinitos, **IAM** (Kimura & Crow 1964), el cual asume que dentro de una población o en un determinado taxa cada mutación da origen a solamente un único alelo, con lo cual alelos equivalentes son idénticos por descendencia; el modelo de **alelos K** (Crow 1970), que asume infinitos K estados de alelos posibles; el modelo de mutaciones escalonadas, **SMM** (Kimura & Ohta. 1978), que asume que un evento de mutación cambia un alelo por otro, infiriendo de esta manera que alelos de igual longitud están más relacionadas pero no necesariamente son idénticos por descendencia; y, finalmente, el modelo de dos fases, **TPM**, (Di Rienzo et al. 1994), el cual es análogo al modelo SMM, pero con la posibilidad de permitir contracciones o expansiones de diversas unidades de repetición, de acuerdo a una distribución geométrica.

En general, se acepta que el modelo de mutación de microsatélites más exacto y real es el SMM. Sin embargo, los análisis de la variabilidad de alelos en un gran número de loci, indican un mayor grado de conformidad con el modelo IAM y no con el SMM (O' Connel & Wright 1997). Di Rienzo *et al.* (1994) han sugerido que múltiples mutaciones simples pueden dar origen a nuevos alelos, lo cual podría explicar la aparente conformidad de la variabilidad en microsatélites con el modelo IAM. Asimismo Goldstein & Pollock (1997) y Slatkin (1995) han sugerido que las estimaciones de divergencias evolutivas utilizando loci neutrales y bajo el modelo IAM, no son apropiadas para microsatélites. Esto se debe fundamentalmente a su elevada tasa de mutación y a los procesos que determinan dichas mutaciones, los cuales no permiten que el estado ancestral de un alelo en

particular sea eliminado de la historia evolutiva de una taxa. De esta forma estos últimos autores, recomiendan aplicar los modelos SMM o TMM para estimaciones de divergencias evolutivas específicas para microsatélites.

La divergencia genética entre poblaciones o taxa determinados puede ser estimada con microsatélites sin la necesidad de considerar los modelos antes señalados. De este modo, es posible utilizar análisis basados en la estimación de alelos compartidos (Bowcock et al. 1994, Estoup et al. 1995) o por distancias genéticas estándares (Estoup et al. 1995, Nei & Takezaki 1996). Desde un punto de vista práctico, la forma más sencilla de analizar la variación de las regiones microsatélites es recurrir a la PCR (reacción en cadena de la polimerasa), sintetizando cebadores complementarios a las regiones flanqueantes del microsatélite, donde las diferencias en el número de repeticiones del motivo básico se amplifican y visualizan como fragmentos de ADN de diferente longitud. Cada una de las regiones microsatélites constituyen un locus genético y los diferentes tamaños de bandas que se pueden amplificar, los diversos alelos de ese locus.

En el campo de pesquería y acuicultura, la utilidad de estos marcadores se ha dado en áreas como la caracterización genética de stocks, selección de reproductores y construcción de mapas genéticos, entre otros (Chistiakov et al. 2006). Dentro de los estudios poblacionales los microsatélites se han utilizado en estudios de variabilidad genética, estructuración poblacional en diferentes recursos marinos: peces (Oke et al. 1999, Ward 2000), moluscos (McGoldrick et al. 2000, Pressa et al. 2002) y crustáceos (Cruz et al. 2002).

Marcadores moleculares mitocondriales

El ADN mitocondrial ha sido una de las moléculas hereditarias más estudiadas dentro del genoma animal en los últimos años (Edwards & Skibinski 1987). Es una molécula de doble hebra circular, a excepción de organismos como los hidrozooos *Hydra* spp donde se observan dos moléculas lineales de ADNmt (Hoffmann et al. 1992). Presenta decenas de copias en cada mitocondria, de 200 a 1000 copias por célula, sin proteínas asociadas como histonas y no-histonas y, en su mayor parte formado por ADN codificante (93%), que prácticamente no posee ADN repetitivo, ni intrones. Tiene aproximadamente entre 15.000 a 18.000 pb (pares de bases), es de naturaleza haploide, y aunque comprende menos del 1% del total del genoma en cada célula, presenta características muy importantes por las cuales se elige para estudios moleculares: *i*) su alta tasa de evolución con mayor deriva génica, esto debido principalmente a la exposición del ADNmt a especies reactivas de oxígeno resultantes del metabolismo celular, *ii*) se encuentra desprotegido al carecer de histonas y, *iii*) a la menor eficiencia de los sistemas de reparación de las mitocondrias.

El ADNmt aparentemente carece de recombinación o ésta es despreciable, es de herencia preferentemente materna, no-mendeliana, siendo los organismos generalmente homoplásmicos (con un solo tipo de secuencia de ADNmt). Esta molécula contiene en promedio, dependiendo del taxón, 37 genes: 22 ARN de transferencia, 2 ARN ribosómicos (12s y 16r) y 13 ARN mensajeros que codifican para proteínas de complejos enzimáticos respiratorios implicados en la producción de energía mediante la vía de fosforilación oxidativa para obtención de ATP, como el citocromo b, subunidades proteicas del citocromo oxidasa I, II y III (los que presentan baja tasa mutacional en comparación con el resto del genoma mitocondrial). También posee genes de la ATP sintetasa 6 y 8, genes del complejo NADH deshidrogenasa subunidad 1 a la 6 y 4L, que han sido objeto de variadas investigaciones demostrando gran utilidad como marcadores genéticos en poblaciones naturales (Cronin et al. 1993, Park et al. 1993, Bembo et al. 1995). Por último, el ADN mitocondrial presenta

también una región control no codificante llamada D-loop o Región Mayor no codificante (Ovenden 1990, Okasaki et al. 2001, Zbawicka et al. 2003), cuyo tamaño puede variar entre 200 a 2000 pb dependiendo de la especie (Palumbi 1996). Estudios han demostrado que la región es flanqueada por secciones no codificantes altamente polimórficas, donde la tasa de sustitución de estas regiones hipervariables, denominadas dominio 5' y dominio 3', puede ser 40 veces mayor que en la región del citocromo b del ADN mitocondrial. Las mutaciones en la región no codificante, se mantendrían en el tiempo, al no poseer efecto fenotípico, por lo cual los polimorfismos más comunes son los que afectan la región control del ADN mitocondrial.

Una de las características notables del ADN mitocondrial es que evoluciona 5 a 10 veces más rápido que el ADN nuclear de copia única, lo que le hace presentar alta variabilidad (Luque 2001) y le otorga mayor sensibilidad en el análisis de procesos demográficos en poblaciones naturales.

Estudios genéticos previos en *H. atlanticus*.

Los estudios genéticos realizados en *H. atlanticus* han aplicado distintos marcadores moleculares, desde aloenzimas a microsátélites, en poblaciones de Australia, Nueva Zelanda y Sudáfrica. Aún cuando algunos de estos resultados han sido contrapuestos, se ha evidenciado la existencia de estructuración poblacional en algunas localidades, siendo fundamental considerar en la interpretación de los resultados la naturaleza y sensibilidad del marcador utilizado (Tabla 2).

Entre las primeras investigaciones realizadas se encuentra un estudio de aloenzimas realizado en Nueva Zelanda, que reveló altos niveles de variación genética pero con pequeñas diferencias significativas entre áreas de pesca (Smith 1986). A éste se sumó un nuevo estudio de aloenzimas, dirigido a estimar la pérdida de diversidad genética (medida como una reducción en la heterocigosidad) en un lapso de 10 años en tres áreas de pesca de Nueva Zelanda (Smith et al. 1991). Los resultados obtenidos efectivamente mostraron una disminución significativa de la diversidad genética en los sitios analizados entre 1982 y 1988, periodo en el cual la biomasa virginal se redujo en aproximadamente un 70%.

Tabla 2: Naturaleza de la información entre marcadores moleculares.

Marcador Molecular	NATURALEZA DE LA INFORMACION				COSTOS	
	Grado de polimorfismo	Distribución H-W	Flujo génico detectado	Codificante/ no- codificante	Inicio	Exploración de muestras
Aloenzimas	Bajo-moderado	Sí	Sí	Codificante	Bajo	Bajo-moderado
ADN mitocondrial	Bajo-moderado	No	Sólo hembras	Altamente codificante (excepto región control)	Moderado	Moderado
Microsátélites	Alto	Sí	Sí	No codificante (con excepciones)	Alto	Moderado-alto

En estudios más recientes, Smith *et al.* (1996, 1997) utilizando aloenzimas, ADN mitocondrial (DLoop) y RAPD para comparar cuatro áreas de desove en la zona sureste: Ritchie Bank, Box, Waitaki y Puysegur, evidenciaron diferencias significativas entre poblaciones, identificando tres grupos genéticos, aislados por distancia: 1) Puysegur, 2) Waitaki, y 3) Ritchie y Box. En este estudio

los resultados del marcador de ADN mitocondrial mostraron menor diferenciación genética que las aloenzimas y los marcadores RAPD, aunque los tres métodos arrojaron resultados similares. Smith & Benson (1997) encontraron diferencias significativas entre la costa este de Nueva Zelanda y el sector de Chatham Rise, pero sus resultados no evidenciaron diferencias entre sectores dentro de estas zonas.

La evidencia genética de stocks discretos en el sur de Australia, obtenidas mediante análisis de aloenzimas (Black & Dixon 1989), fue posteriormente desafiada por un estudio de mayor escala realizado por Elliott & Ward (1992). Estos últimos autores analizaron 11 sistemas polimórficos enzimáticos en seis localidades alrededor de la costa sur este de Australia, sin encontrar subdivisión genética. Por otro lado, Smolenski *et al.* (1993), utilizando el método PCR-RFLP del ADN mitocondrial total, mostraron diferencias entre años de muestreo en el sur de Australia y presentaron evidencia de la existencia de diferencias significativas entre Australia, Nueva Zelanda y África. En contraposición a lo anterior, Elliot *et al.* (1994), utilizando la misma técnica, obtuvieron bajos niveles de diferenciación entre poblaciones de Australia y el Atlántico, sugiriendo un patrón histórico de flujo génico transoceánico.

Más recientemente, Oke *et al.* (1999) desarrollaron partidores específicos para 10 loci microsatélites de orange roughy, aplicándolos en muestras procedentes de Australia, del Atlántico Norte y de Namibia. Las pruebas de diferenciación y los valores de F_{st} obtenidos en este estudio y otros posteriores (Smith *et al.* 2002), indicaron diferenciación poblacional entre las áreas analizadas. Cinco de estos partidores fueron utilizados en el presente estudio, lo que nos permitió tomar ventaja del trabajo ya adelantada y hace que nuestros resultados sean comparables a otros publicados previamente.

MATERIALES Y METODOS

Se analizó muestras de tejido muscular de *H. atlanticus*, procedentes de 332 especímenes recolectados en montes submarinos aledaños al Archipiélago de Juan Fernández (JF1, JF2, JF3, JF4) y en el sector de Bajo O'Higgins (BO2), durante la ejecución del proyecto de evaluación acústica de orange roughy y alfonsino, FIP N° 2005-13 (Tablas 3 y 4). El aislamiento del ADN nuclear y mitocondrial siguió el protocolo con detergente catiónico SDS descrito para peces (Grijalva-Chon 1994), al que se realizó algunas variantes para obtener mayor cantidad y calidad de ADN (Bembo *et al.* 1995).

Tabla 3: Número de muestras procesadas por sector.

Sector	Muestras analizadas
JF1	78
JF2	62
JF3	62
JF4	62
BO2	68

Tabla 4: Posición geográfica de los montes submarinos

Caladero	Límite Norte Lat (S)	Límite Sur Lat (S)	Límite Oeste Long (W)	Limite Este Long (W)	Área aproximada (mn ²)
JF1	33,49	33,69	78,45	78,24	68
JF2	33,41	33,7	77,85	77,58	110
JF3	33,35	33,42	77,46	77,37	17
JF4	33,39	33,49	76,94	76,82	23
BO2	32,83	32,86	73,65	73,61	3

Para la extracción del ADN se disecó 50 a 100 mg de musculatura esquelética, que posteriormente fue homogeneizada con 500 ml de buffer STE (10 mM Tris HCl, pH= 8,0; 10 mM NaCl y 50 mM EDTA). Las membranas celulares fueron lisadas con 25 ml de SDS al 20%, digiriendo las proteínas con 50 ml de Proteinasa K (10 mg/ml). La mezcla se incubó a 37°C por toda la noche. La extracción de material orgánico se realizó agregando 600 µl de una mezcla de fenol saturado:cloroformo:alcohol isoamílico (25:24:1). Posteriormente se agitó por un minuto y luego se centrifugó a 12.000 rpm durante 10 minutos; luego de recuperar la fase acuosa, se realizó una segunda extracción añadiendo 600 µl de solución Sevac (CHCl₃: AIA; 24:1), centrifugando las muestras por 10 minutos a 12.000 rpm. Para la precipitación de los ácidos nucleicos se agregó 2 volúmenes de etanol absoluto previamente enfriado a -20°C, luego se agitó por inversión y se dejó a -20°C por 1 hora. Se centrifugó nuevamente a 12.000 rpm por 10 minutos, eliminando el sobrenadante y, se lavó el pellet con 700 µl de etanol al 70% frío, centrifugando por 5 minutos a 12.000 rpm. Finalmente, se secó el pellet al aire libre durante una hora, disolviéndolo luego con 100 µl de buffer TE (10 mM Tris.HCl pH = 7,5; 1 mM EDTA).

Dado que las reacciones de PCR y secuenciación necesitan altos grados de estandarización, los extractos de ADN de cada muestra fueron caracterizados según: tamaño en geles de agarosa, presencia de ADN de alto o bajo peso molecular y calidad, presencia de impurezas y restos de compuestos de la extracción por espectrofotometría (Sambrook et al. 1989).

Secuenciación del segmento DLoop del ADN mitocondrial

La secuencia del segmento DLoop se obtuvo a partir de los siguientes pasos: estandarización de la PCR para la amplificación del segmento y secuenciación en ambos sentidos. La estandarización de la PCR del DLoop se realizó aplicando una batería conformada por partidores universales y partidores utilizados previamente en orange roughy. Considerando los criterios tamaño, nitidez y reproducibilidad, se eligió la pareja de partidores 12SARH/L19 (Figuras 2 y 3; Tabla 5). Se utilizó un secuenciador modelo ABI Prism 3730. Las condiciones de reacción de la PCR y el programa de amplificación del segmento DLoop se indican en las Tablas 6 y 7, respectivamente.

Posteriormente, el amplicón resultante de la PCR (de aproximadamente 1.350 pares de bases), fue secuenciado en ambos sentidos (Forward 12SARH y Reversa L19), obteniendo ~800 pb para cada

extremo. Luego, para chequear su correspondencia con otras secuencias del DLoop en el GenBank y definir el extremo de mayor variabilidad, se realizó un análisis exploratorio reconstituyendo el fragmento total de aproximadamente 1.350 pb. Para la alineación de los fragmentos amplificados con secuencias de ADN mitocondrial de *Hoplostethus japonicus* (GenBank, número de acceso NC003187, AP002938), así como para editar y corregir visualmente las bases no reconocidas por el secuenciador (bases N), se utilizó los programas SEQUECHER v4 y Bioedit (Hall 1999). También se revisó la correspondencia con otras secuencias del DLoop, utilizando el algoritmo BLAST implementado en la página web del National Center for Biotechnology (NCBI; Tabla 8).

En cada localidad se estimó los parámetros de diversidad de las secuencias analizadas utilizando el programa DNAsp (Rozas et al. 2003): número de haplotipos, diversidad haplotípica (h) y diversidad nucleotídica (π). En base a estos criterios, se decidió utilizar solamente las secuencias generadas con el partidador reversa L19, con el que se secuenció un total de 155 individuos procedentes de las diferentes áreas de pesca del recurso (JF1, JF2, JF3, JF4 y BO2).

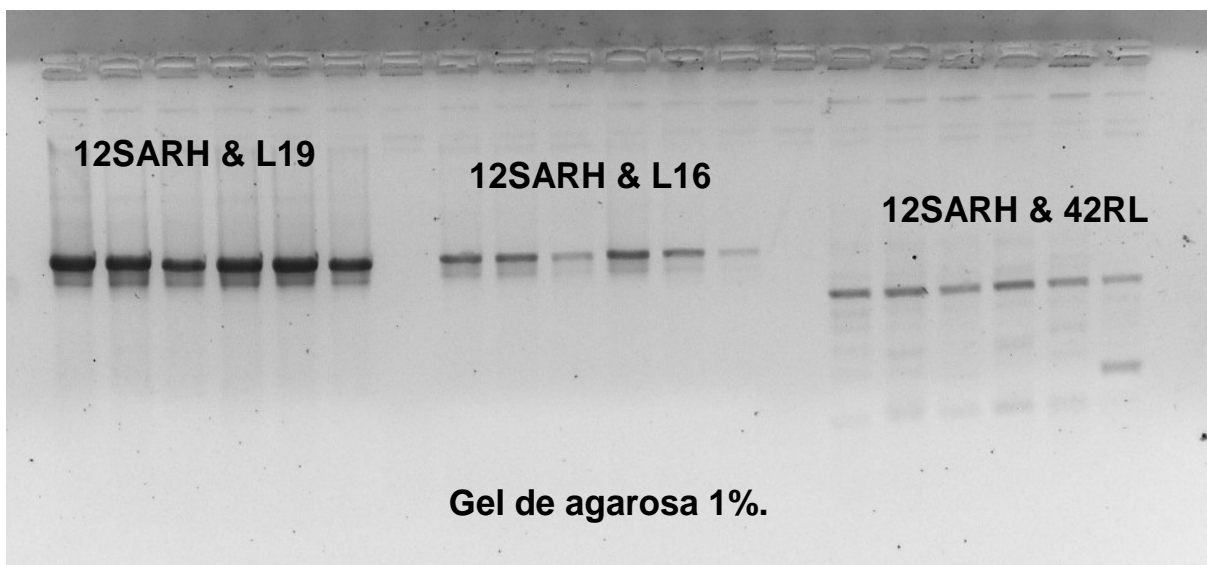


Figura 2: Perfil electroforético de PCR para el segmento DLoop del ADN mitocondrial de orange roughy, en gel de agarosa al 1%. Cada carril corresponde a distintos individuos. Se indican los perfiles obtenidos con tres parejas de partidores ensayados para el segmento.

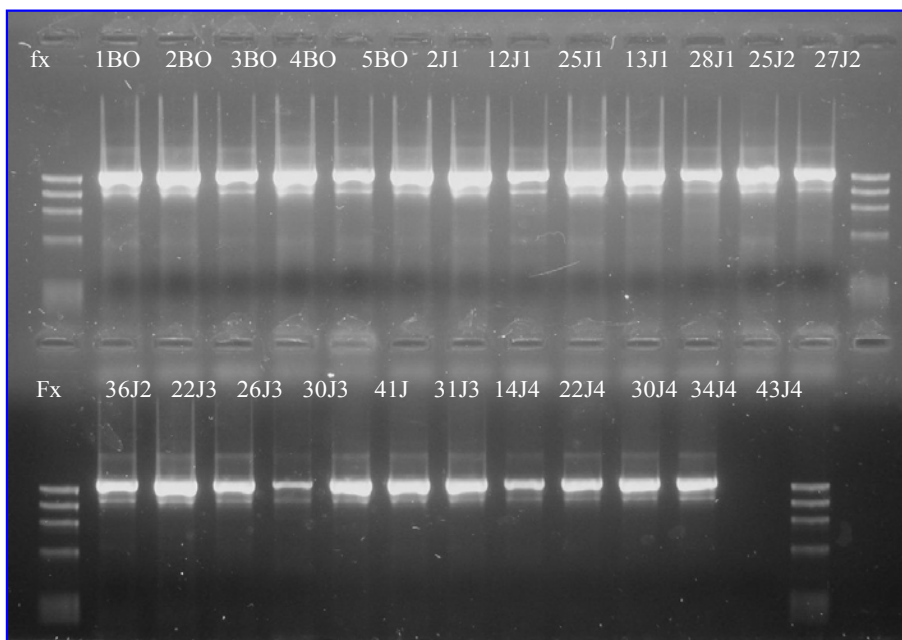


Figura 3: Perfiles electroforéticos de la amplificación por PCR del segmento DLoop del ADN mitocondrial de orange roughy, en geles de agarosa al 1%, con fx como marcador de peso molecular. La PCR se llevó a cabo con la pareja de partidores 12SARH & L19.

Tabla 5: Secuencias de los partidores positivos en la PCR y secuenciación del DLoop en orange roughy.

Partidor	Secuencia nucleotídica
12SARH	5'- ATAGTGGGGTATCTAATCCCAGTT -3'
L19	5'- CCACTAGCTCCCAAAGCTA-3'

Tabla 6: Condiciones de reacción de la PCR para la amplificación del segmento DLoop.

Reactivos	Concentración Inicial	Concentración Final
Agua Gibco	-	-
Tampón Invitrogen	10X	1x
MgCl ²	25mM	1,5 mM
dNTPs	2,5mM	0,2 mM
12SAR	10uM	0,2 uM
L19	10uM	0,2 uM
Taq Invitrogen	5U/ul	0,4 Unidades
ADN	20ng/ul	20 ng

Tabla 7: Condiciones del programa de amplificación del DLoop del orange roughy en termociclador PTC-200 de MjResearch.

94°C -----	5'	Denaturación Inicial
60°C -----	30" 1 ciclo	
72°C -----	2'	
94°C -----	30"	Denaturación
54°C -----	2' 30 ciclos	Alineamiento
72°C -----	2'	Extensión
72°C -----	5' 1 ciclo	Ciclo Final

Con las secuencias alineadas se realizó un análisis filogenético tradicional bajo una aproximación bayesiana con cadenas de Markov y Monte Carlo (BMCMC), para estimar la probabilidad a posteriori de los árboles filogenéticos utilizando el programa MrBayes 2.0 (Ronquist & Huelsenbeck 2003). El procedimiento de MCMC asegura que los árboles serán muestreados en proporción a su probabilidad de ocurrencia bajo el modelo de evolución de secuencias nucleotídicas seleccionado.

La programación básica en el programa MrBayes fue: un millón de generaciones, dos inicios completamente aleatorios de diferentes árboles, cuatro MCMC y una frecuencia de muestreo de árboles aleatorio cada 1.000 generaciones. Luego de este análisis se eliminó el 25% inicial del total de árboles para evitar la inclusión de aquellos muestreados antes de la convergencia en la MCMC. Para evaluar la presencia de grupos poblacionales se generó un árbol consenso de red en el programa Splitstree 4.0 (Hudson & Bryant 2006), con un valor de significancia del 5 %.

Para evaluar las relaciones entre haplotipos, se utilizó la aproximación Median Joining (MJ) para identificar grupos de haplotipos cercanamente emparentados mediante el programa NETWORK 4.1.09 (Bandelt et al. 1999). También se aplicó el programa TCS v 1.21 implementado por Clement (2000) para usar parsimonia estadística en la determinación de red de haplotipos (Templeton et al. 1992).

La historia demográfica fue inferida utilizando la distribución mismatch (i.e. distribución de frecuencia de las diferencias pareadas entre todos los haplotipos en una muestra), analizada en el programa DNAsp (Rozas et al. 2003). En esta aproximación, las poblaciones que han experimentado una expansión rápida en el pasado reciente muestran una distribución unimodal, mientras las poblaciones en equilibrio demográfico generan distribuciones multimodales (Rodgers & Harpending 1992). El análisis de la distribución mismatch, bajo el supuesto de neutralidad selectiva, también puede ser utilizado para evaluar los posibles acontecimientos históricos de crecimiento y descenso demográfico (Rodgers & Harpending 1992, Rodgers 1995). Las distribuciones teóricas bajo los modelos de tamaño poblacional constante y de expansión rápida fueron comparadas con los datos observados. Mientras que con el primer modelo se espera que la población sea estable en el tiempo, con el segundo modelo, la población original que estuvo en equilibrio (θ_0) τ generaciones atrás, rápidamente se expande alcanzando un nuevo tamaño (θ_1). Los parámetros demográficos τ (Li 1977) y θ_0 fueron estimados de los datos asumiendo θ_1 como infinito (Rodgers 1995). El valor de subdivisión poblacional F_{st} por pares de poblaciones fue estimado utilizando el software Arlequin 2.0 (Schneider et al. 2000).

Con la finalidad de probar las diferentes agrupaciones propuestas por Young et al. (2000, 2004), se realizó un AMOVA (Analysis of molecular variance) complementario, implementado en el programa Arlequin 2.0. Para ello se analizó el índice FCT, el valor de significancia fue probado con 10.000 réplicas de bootstrap.

Tabla 8: Secuencias con máxima similitud al DLoop del ADN mitocondrial de orange roughy. Sólo se muestran las máximas similitudes.

Número de Acceso	Descripción	<u>Puntaje máximo</u>	<u>Puntaje total</u>	<u>Cobertura total</u>	Identidad Máxima
<u>AP002938.1</u>	DNA mitocondrial de <i>Hoplostethus japonicus</i> , genoma completo.	<u>1029</u>	1029	99%	88%
<u>AP004425.1</u>	DNA mitocondrial de <i>Anoplogaster cornuta</i> genoma completo.	<u>614</u>	614	99%	80%
<u>AP004429.1</u>	DNA mitocondrial de <i>Monocentris japonicus</i> , genoma completo.	<u>490</u>	490	69%	82%
<u>AP004430.1</u>	DNA mitocondrial de <i>Beryx decadactylus</i> genoma completo.	<u>326</u>	326	54%	80%
<u>AP002939.1</u>	DNA mitocondrial de <i>Beryx splendens</i> , genoma completo.	<u>296</u>	296	55%	78%
<u>AP009171.1</u>	DNA mitocondrial de <i>Macrorhambosodes uradoi</i> , genoma completo.	<u>244</u>	244	54%	77%
<u>AF404581.1</u>	Haplotipo A2 de la región control de <i>Etheostoma simoterum atripinne</i> , secuencia parcial; gen tRNA-Phe, secuencia completa.	<u>237</u>	237	64%	75%
<u>EF025185.1</u>	Genoma mitocondrial completo de <i>Siganus fuscescens</i> .	<u>228</u>	228	54%	76%
<u>AF404585.1</u>	Haplotipo R2 de la región control de <i>Etheostoma rafinesquiei</i> , secuencia parcial; gen tRNA-Phe.	<u>209</u>	209	64%	74%
<u>DQ536430.1</u>	Genoma mitocondrial completo de <i>Percina macrolepida</i> .	<u>207</u>	207	64%	74%

Se realizó además un Análisis Espacial de la Varianza Molecular implementado en el algoritmo SAMOVA (Dupanloup et al. 2002). Este análisis, mediante simulaciones maximiza la proporción de varianza genética total debida a diferencias entre grupos de poblaciones, llegando a definir grupos e identificando la presencia de barreras genéticas. Esta aproximación, a diferencia de la metodología clásica, define poblaciones o grupos de poblaciones sin información a priori, sobre el número de poblaciones en estudio, sólo datos genéticos, en este caso secuencias del DLoop del orange roughy y datos de coordenadas.

Microsatélites

Se utilizó cinco loci microsatélites específicos para *H. atlanticus* (Oke et al. 1999), estandarizados para la PCR y la lectura en el secuenciador con partidores marcados con fluoróforos (Tablas 9 y 10). Los fluoróforos utilizados como marcadores fueron: Hat3 (NED), Hat49 (6-FAM), Hat7 (6-FAM), Hat9a (VIC) y Hat45 (VIC) (Tabla 11).

Para la visualización de los alelos correspondientes a cada individuo y microsatélite, se usó el método de electroforesis en capilar (45 cm; polímero POP-4), en un Analizador Genético ABI PRISM 310. Luego de confirmar la presencia de bandas, para cada microsatélite amplificado por PCR se cargó en el secuenciador 2ul del amplicón obtenido, utilizando buffer de carga formamida y considerando un tiempo de corrida de 25 minutos a 60°C. Se usó un marcador de peso ROX 500 (con fragmentos de 75, 100, 139, 140, 150, 200, 245, 300, 340, 350, 400, 450, 490 y 500 pares de bases).

Tabla 9: Condiciones de amplificación por PCR para marcadores microsatélites en orange roughy.

Reactivos	Concentración inicial	Concentración final
Agua Gibco	-	-
Tampón Invitrogén	10X	1X
MgCl ²	25mM	3 mM
dNTPs	2,5mM	0,4 mM
Partidor sentido (Marcado)	10uM	0,2 uM
Partidor antisentido	10uM	0,2 uM
Taq Invitrogen	5U/ul	0,4 Unidades
ADN	20ng/ul	20 ng

Tabla 10: Programa de amplificación en termociclador PTC-200 de MjResearch para loci microsatélites del orange roughy.

94°C ----- 3' 1 ciclo	Denaturación Inicial
94°C-----30"	Denaturación
50°C-----30" 35 ciclos	Alineamiento
72°C -----30"	Extensión
72°C -----5' 1 ciclo	Ciclo Final

La asignación de los picos obtenidos para cada microsatélite se realizó utilizando el programa Genotyper v2.5 de Applied Biosystems. Este último es un programa específico para el análisis de fragmentos de ADN amplificados por PCR y marcados con fluoróforos.

El análisis estadístico de los genotipos de loci microsatélites se llevó a cabo utilizando los programas CONVERT (Glaubitz 2004), Arlequín 2.0 (Schneider et al. 2000), GENEPOP v.3.1 (Raymond & Rousset 1995), FSTAT (Goudet 2002), P.C.A-Gen (Goudet 2002), Micro-Checker v2.2.3 (Oosterhout et al. 2004), Structure (Pritchard et al. 2000), y SAMOVA (Dupanloup et al. 2002). Se

estimó las frecuencias alélicas de los cinco loci en estudio, por conteo directo de los heterocigotos y homocigotos. Para determinar la presencia de alelos nulos y errores en el genotipado, se utilizó el algoritmo implementado en el programa Micro-Checker v2.2.3 (Oosterhout et al. 2004). Luego de la determinación de alelos nulos se determinó el grado de ajuste al equilibrio de Hardy-Weinberg de cada loci y población según el test de cadena de Markov implementado en GENEPOP v.3.1, así como la heterocigosidad observada y esperada.

Tabla 11:Características de los marcadores microsatélites aplicados en el orange roughy.

Locus	Motivo de Repetición	Secuencias de partidores (5'-3')	Tamaño (pb) y Fluoróforo
Hat 3 AFI46637	(GT) ₁₂	F:GATCCAGAGAAACTGAAAATCTT R:ACTACAAATACTCCATTCTGATG	116-164 NED
Hat49 AFI46640	(CA) ₄ (15bp)(CA) ₂₄	F:GACTGTGAACTCCGACCTC R: TATGACCATGATTACGCCAAG	207-400 6-FAM
Hat7 AFI46643	(CT) ₁₄ (CA) ₂₇	F:GTGACTTTGGGGTTGAGGG R:GCCTTGTAACTCAATCCGCT	207-267 6-FAM
Hat 9a AFI46639	(CA) ₁₅	F:CAAGCCTGGACAATGTATCT R:AACACAAACTCTCTAATTCAC	126-164 VIC
Hat 45 AFI46644	(GT) ₂₉	F:CTCCTTATCTGCTGCITTTATG R:CACTACCACTCAACCTCAAC	120-168 VIC

Como una medida de diferenciación poblacional se calculó el índice de fijación de Wright (1978) F_{ST} (Hartl 1980, Hartl & Clark 2007), basado en un modelo de alelos infinitos mediante el método de varianza ($F_{ST} = \theta$) (Weir & Cockerham 1984). Los niveles de significancia fueron probadas de acuerdo a Workman(1970) utilizando el programa FSTAT y GENEPOP v.3.1.

También se estimó el estadístico R_{st} (Slatkin 1995), similar al índice F_{ST} de Wright, pero que considera la tasa de mutación de loci microsatélites asumiendo un modelo step-wise (Kimura & Otha. 1978) y, la varianza del tamaño de los alelos (en pares de bases). Para ello se utilizó el programa Arlequín 2.0.

La distribución de las frecuencias genotípicas en las cinco localidades muestreadas fue analizada mediante un Test Exacto de Diferenciación Poblacional, bajo la hipótesis nula que plantea “la distribución alélica es idéntica a través de las poblaciones”. Este test se realizó a partir de una tabla de contingencia con una aproximación de cadena de Markov Monte Carlo, estimando un valor de P para determinar la significancia de cada una de las comparaciones sobre todos los loci, a través de un test exacto de Fisher (Raymond & Rousset 1995).

Las agrupaciones sugeridas por Young et al. (2000, 2004) fueron evaluadas mediante un análisis de la varianza de frecuencias alélicas (AMOVA: Analysis of molecular variance) y un Análisis Espacial de la Varianza Molecular , descritos en la metodología de análisis estadístico de ADN mitocondrial.

Finalmente, se realizó un análisis de cluster mediante una aproximación bayesiana implementado en el programa Structure (Pritchard et al. 2000, Falush et al. 2003), utilizado para inferir estructura poblacional utilizando datos genotípicos sin información a priori de las agrupaciones. El algoritmo identifica grupos diferentes, desde un punto de vista genético, asignando individuos a las poblaciones en estudio. Para ello asume un modelo en el cual hay K poblaciones (K es desconocido),

caracterizados por un conjunto de datos de frecuencias alélicas en cada locus. Los individuos son asignados probabilísticamente a poblaciones o, conjuntamente a dos o más poblaciones si sus genotipos indican que están mezclados. Para este análisis se utilizó un modelo de mezcla con frecuencias alélicas correlacionadas y un modelo de mezcla con frecuencias alélicas no correlacionadas. Se probó de 1 a 5 cluster con tres réplicas cada uno. Se determinó el número de cluster presentes en las muestras en estudio mediante un valor de máxima verosimilitud, $\ln P(D)$, donde el cluster que tiene menor verosimilitud corresponde al número de poblaciones presentes.

RESULTADOS

Secuenciación del segmento DLoop del ADN mitocondrial

El proceso de estandarización de la amplificación y secuenciación del DLoop fue exitoso, analizando un total de 205 secuencias correspondientes al segmento DLoop, de las cuales 155 fueron adecuadas para el análisis: 31 individuos de JF1, 30 de JF2, 32 de JF3, 34 de JF4 y 28 de BO2.

Los valores de diversidad haplotípica poblacional (H_d ; probabilidad de que dos haplotipos muestreados al azar de dos poblaciones sean diferentes) fueron altos en todas las áreas analizadas con un promedio global de 0,97 (Tabla 12). La diversidad nucleotídica promedio, como parámetro de la divergencia nucleotídica entre individuos presentes en una población generó un promedio de 0,01 entre los distintos sectores (Tabla 12). Estos resultados fueron superiores a los valores de $h = 0,78$ y $\pi = 0,59$, reportados para el citocromo b de orange roughy por Baker *et al.* (1995).

El modelo de evolución de la secuencia DLoop del orange roughy que mejor explicó los datos fue un modelo de 3GTR+G. El árbol de consenso (majority-rule) del análisis bayesiano mostró una mezcla de haplotipos entre los individuos secuenciados para DLoop en las diferentes localidades (Figura 4). Esta mezcla estaría constituida por un grupo común bien sustentado (70% de las muestras), con un valor de probabilidad *a posteriori* alto (1,0). Este resultado se confirmó al realizar la red de consenso de los árboles finales a un umbral de $P = 0,05$ (Figura 5).

En el análisis genealógico y de haplotipos, del total de 155 individuos secuenciados para el DLoop se obtuvo 51 haplotipos. Todas las localidades presentaron haplotipos característicos, con un aparente patrón latitudinal en el número de haplotipos (Figura 6), siendo JF1 y JF3 las localidades más diversas con 21 haplotipos (7 y 6 haplotipos propios para cada localidad, respectivamente) y BO2 la localidad menos diversa, con sólo 16 haplotipos (Figura 7).

En el análisis basado en construcción de red de haplotipos usando la aproximación Median Joining (Figura 8), no se observó haplotipos dominantes DLoop. Este patrón es consistente con una expansión poblacional geográfica reciente (Avice 2000). Esto es consistente con los resultados del análisis de la distribución mismatch (Figura 9), en que se observó una distribución unimodal, lo que sugiere que la población ha experimentado una expansión geográfica rápida en el pasado reciente.

El monte JF1 presentó el mayor índice de diferenciación (F_{st}) respecto de las demás localidades consideradas en el estudio (Tabla 13). Los resultados del AMOVA para haplotipos del DLoop (Tabla 14), no encontraron evidencia de heterogeneidad entre las diferentes agrupaciones probadas, con valores FCT entre -0,012 y 0,055 ($p > 0,05$). El análisis SAMOVA (Tabla 15), tampoco identificó diferencias significativas entre grupos, con valores de FCT que variaron entre 0,038 y 0,054 ($p > 0,05$).

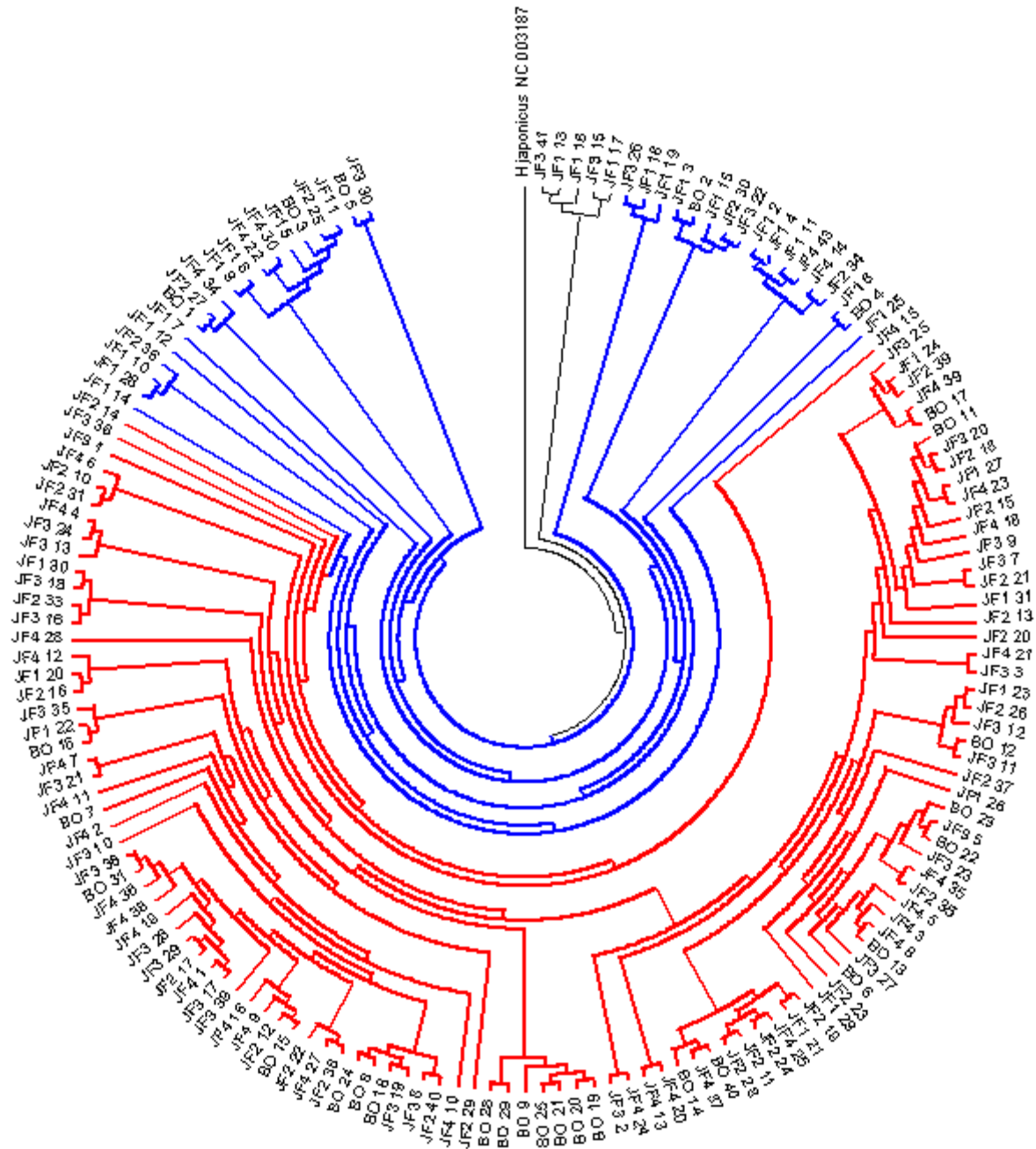


Figura 4: Árbol de consenso (majority-rule) de las muestras analizadas de orange roughy para DLoop. Los valores sobre las ramas indican la consistencia de los nodos a partir de la probabilidad a priori de ocurrencia de los árboles en la zona de convergencia de la cadena de Markov usando un modelo de 3GTR+G.

Tabla 12: Índice de Diversidad Haplotípica (Hd) y Nucleotídica (π) para el segmento DLoop de orange roughy. N: número de individuos.

Zona	N	N° Haplotipos	Hd	π
BO2	28	16	0,963	0,013
JF1	31	21	0,972	0,015
JF2	30	19	0,968	0,01
JF3	32	21	0,976	0,011
JF4	34	20	0,957	0,01

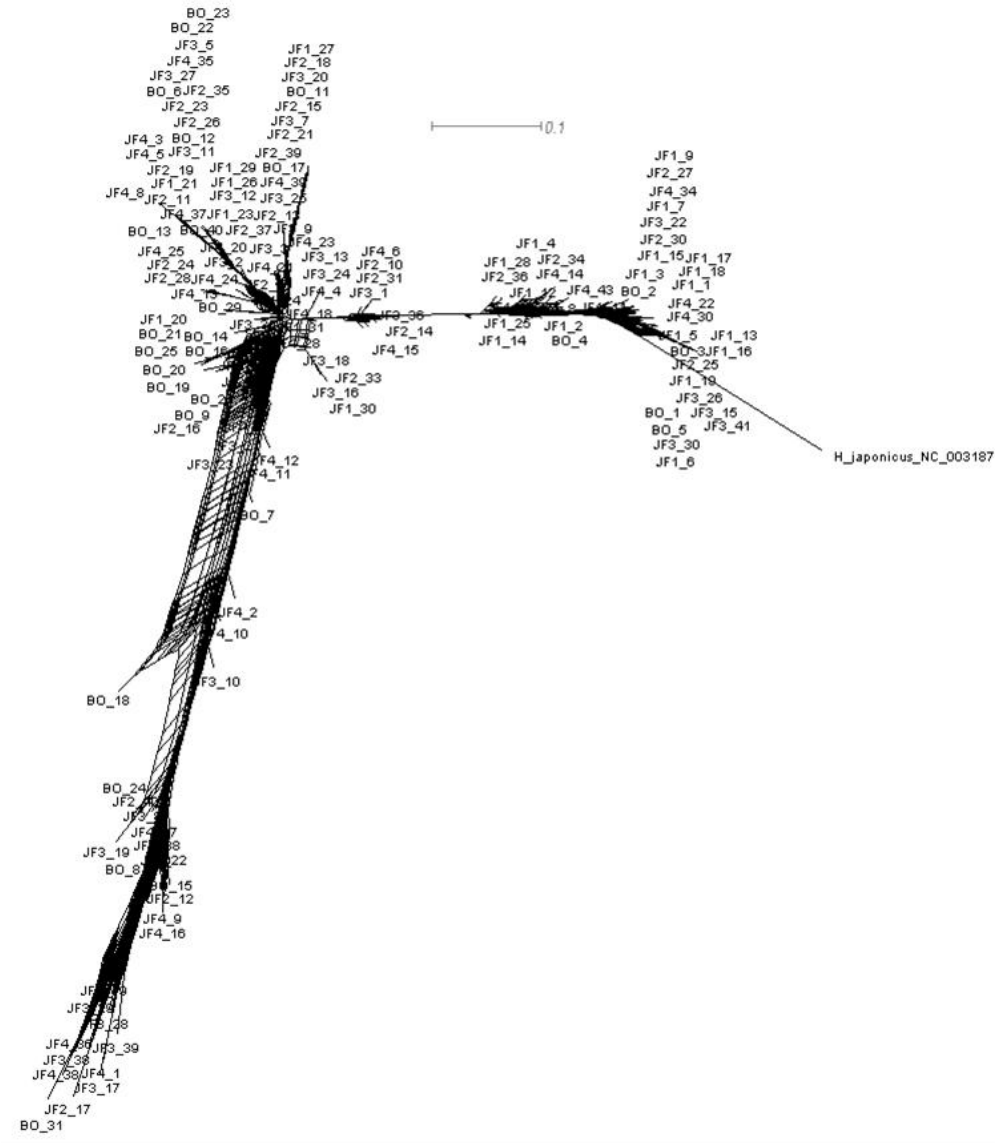


Figura 5: Red de consenso (Holland et al. 2004, Huson & Bryant 2006) construida con un umbral de $p=0,05$ para el conjunto de muestras analizadas de orange roughy para DLoop.

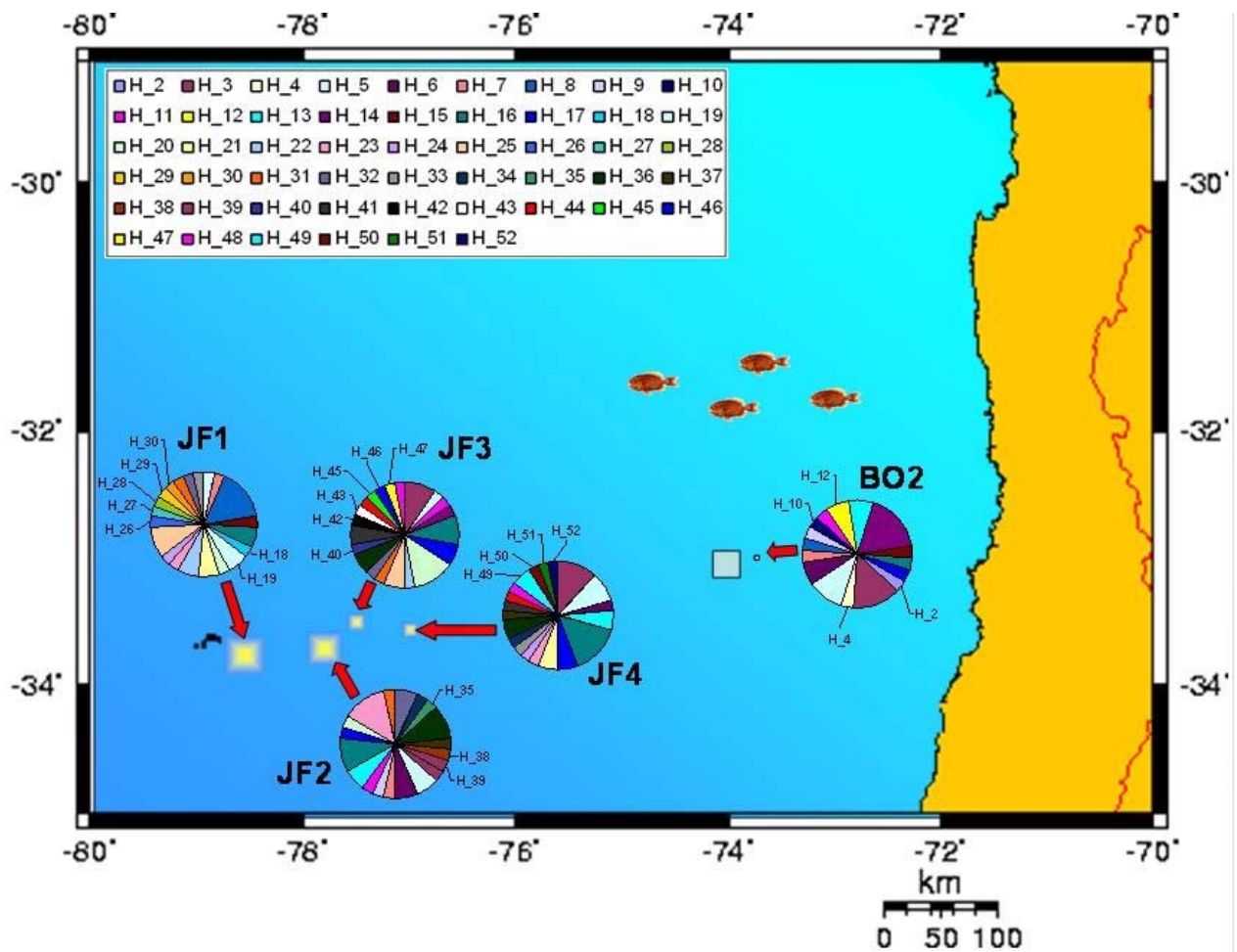


Figura 6: Localidades de muestreo y frecuencia de haplotipos de DLoop por localidad. Los haplotipos indicados sobre cada figura (e.g. en BO2 H₁₂) son haplotipos únicos para cada localidad, los no indicados son compartidos por dos o más localidades.

Tabla 13: Valores de estadístico F_{st} (bajo la diagonal), por pares de poblaciones de *H. atlanticus* y valor de probabilidad asociada (sobre la diagonal) con un bootstrap de 3024.

	BO2	JF1	JF2	JF3	JF4
BO2	***	0,002	0,158	0,140	0,169
JF1	0,075	***	0,013	0,005	0,003
JF2	0,015	0,049	***	0,118	0,507
JF3	0,017	0,054	0,016	***	0,528
JF4	0,012	0,060	-0,002	-0,003	***

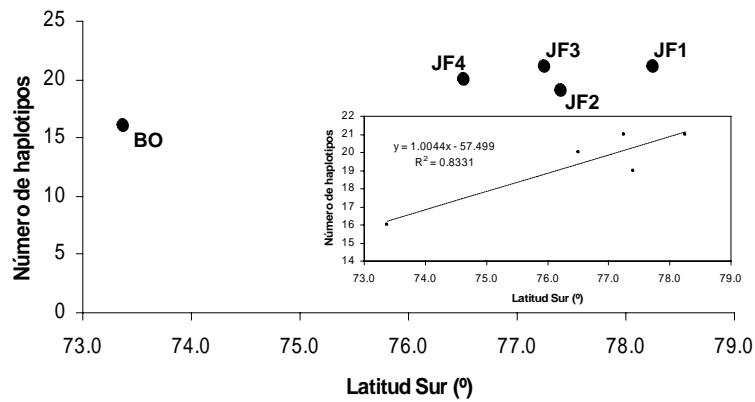


Figura 7: Relación entre el número de haplotipos DLoop y latitud de las zonas de muestreo para orange roughy.

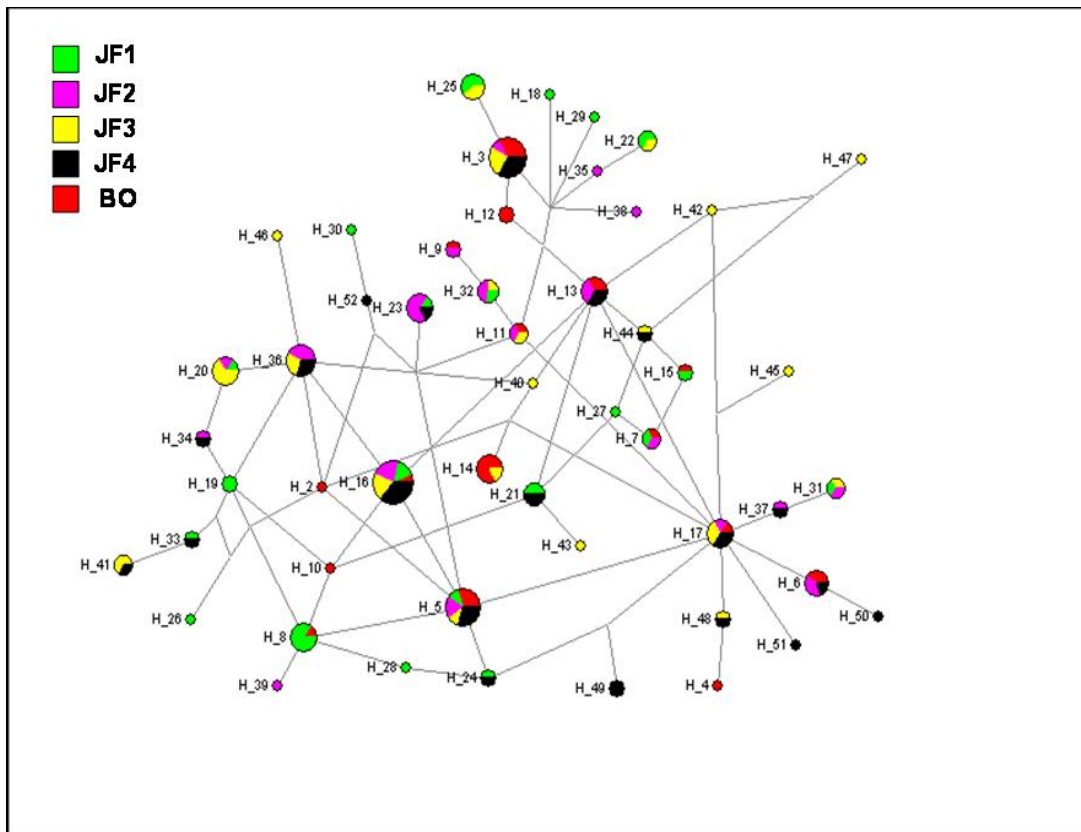


Figura 8: Red de haplotipos basada en la aproximación Median Joining para DLoop. Los diferentes colores indican las diferentes localidades, los diferentes tamaños de círculos indican la frecuencia de los haplotipos.

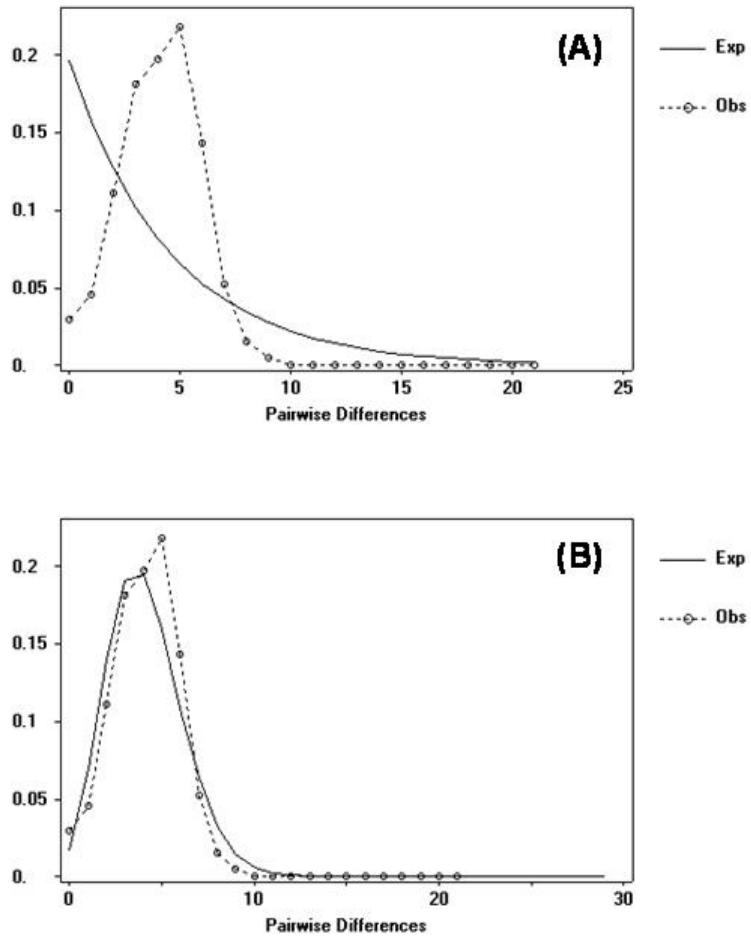


Figura 9: Distribución mismatch observada de los haplotipos DLoop en la muestra total (i.e. líneas discontinuas). En el gráfico en líneas continuas se observan las distribuciones teóricas esperadas bajo los modelos de tamaño poblacional constante (A) y de expansión rápida (B).

Tabla 14: Análisis AMOVA realizado para el segmento DLoop del orange roughy con la finalidad de probar hipótesis propuestas por Young et al. (2000, 2004) y otras.

Grupos	Agrupaciones	Variación (%)	Φ -Estadísticos	Valor-P	
Un grupo					
1	Grupo (BO2, JF1, JF2, JF3, JF4)	3,07	$\Phi_{st} = 0,030$	0,0029	
Dos Grupos					
1	Grupo 1 (BO2)	-0,12	$\Phi_{ct} = -0,0012$	0,1935	Hipótesis de Young 2000
	Grupo 2 (JF1, JF2, JF3, JF4)				
2	Grupo 1 (JF1)	5,49	$\Phi_{ct} = 0,0549$	0,1906	
	Grupo 2 (BO2, H2 JF2, JF3, JF4)				
Tres Grupos					
1	Grupo 1 (JF1)	4	$\Phi_{ct} = 0,0400$	0,0997	
	Grupo 2 (JF2, JF3, JF4)				
	Grupo 3 (BO2)				
2	Grupo 1 (JF1)	3,57	$\Phi_{ct} = 0,0356$	0,1055	Hipótesis de Young 2004
	Grupo 2 (JF3)				
	Grupo 3 (BO2 JF2, JF4)				

Tabla 15: Análisis AMOVA del segmento DLoop del orange roughy bajo el modelo de distancia de (Tamura & Nei 1993).

Grupos (k)	Agrupación probada	Variación (%)	Φ -Estadísticos	Valor-P
2	Grupo 1 (JF1)	5,49	$\Phi_{ct} = 0,054$	0,166
	Grupo 2 (JF2, JF3, JF4, BO2)			
3	Grupo 1 (JF1)	4	$\Phi_{ct} = 0,040$	0,105
	Grupo 2 (JF2, JF3, JF4)			
	Grupo 3 (BO2)			
4	Grupo 1 (JF1)	3,85	$\Phi_{ct} = 0,038$	0,099
	Grupo 2 (JF3, JF4)			
	Grupo 3 (BO2)			
	Grupo 1 (JF2)			

Microsatélites

La lectura de los microsatélites permitió generar una matriz de 1.575 genotipos para los cinco microsatélites y las cinco localidades en estudio. En el caso del locus Hat3 el alelo más frecuente en los montes JF1 al JF4 corresponde al alelo 130, en cambio para BO2 el alelo más común corresponde a 168 y en segundo lugar el alelo 130 (Figura 10). Para el microsatélite Hat7 los alelos más comunes en las poblaciones fueron: 234, 236 y 238 (Figura 11). En algunos casos, las frecuencias de algunos de los alelos fueron considerablemente diferentes (e.g. alelo 234 BO2 con frecuencia 0,14 y JF1 con frecuencia 0,02), sin llegar a ser significativa en los análisis posteriores. En el caso del locus Hat9 los alelos más comunes fueron compartidos por todas las poblaciones (alelos 139 y 149), mostrando BO2 una mayor presencia del alelo 139, distinto a lo que sucede con el resto de los montes (Figura 12). El microsatélite Hat45 mostró un alelo con frecuencias sobre 0,39, común para todas las poblaciones (alelo 146), y alcanzó una frecuencia de 0,54 en JF2 (Figura 13). Para el locus Hat49 los alelos más comunes fueron el alelo 218 en los montes BO2, JF1, JF3 y JF4, y el alelo 396 en JF2 (Figura 14).

Bajo un primer análisis de los cinco loci estudiados (resumen de parámetros poblacionales en Tabla 16), los loci Hat9, Hat49 y Hat7 sugieren algún grado de diferenciación genética entre los montes analizados. El análisis de diferenciación F_{st} (Tablas 17 y 18) indicó diferencias significativas entre BO2 y los sectores JF1 y JF2. Sin embargo, al aplicar la corrección de Bonferroni ($\alpha < 0,002$), éstas diferencias no fueron significativas. El test análogo R_{st} indicó la misma tendencia, aunque sólo para la combinación BO2-JF1, mientras que el test exacto de diferenciación poblacional, indicó valores de diferenciación genética no significativos ($p > 0,05$) para todas las comparaciones excepto para las combinaciones BO2-JF2 y BO2-JF3 (Tabla 19).

No se encontró evidencia de heterogeneidad genética entre los montes JF1, JF2, JF3 y JF4. Finalmente, el análisis Bayesiano de los resultados (Tabla 22) indicó que la agrupación con un cluster presentó el mayor valor de verosimilitud, reforzando la idea de posible homogeneidad genética entre las muestras de orange roughy obtenidas en el área de estudio.

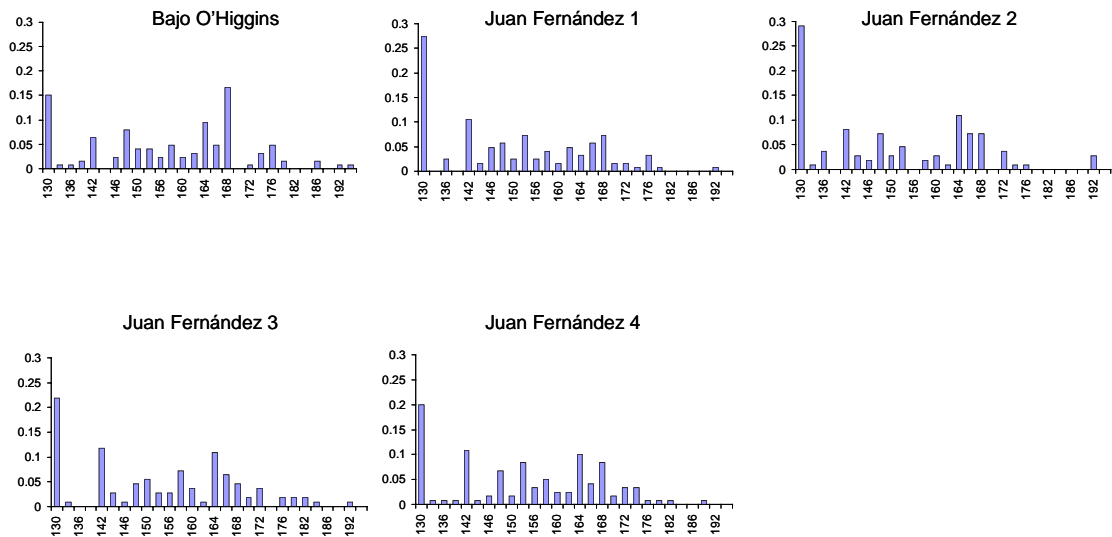


Figura 10: Frecuencia microsatélite Hat3 en poblaciones de orange roughy.

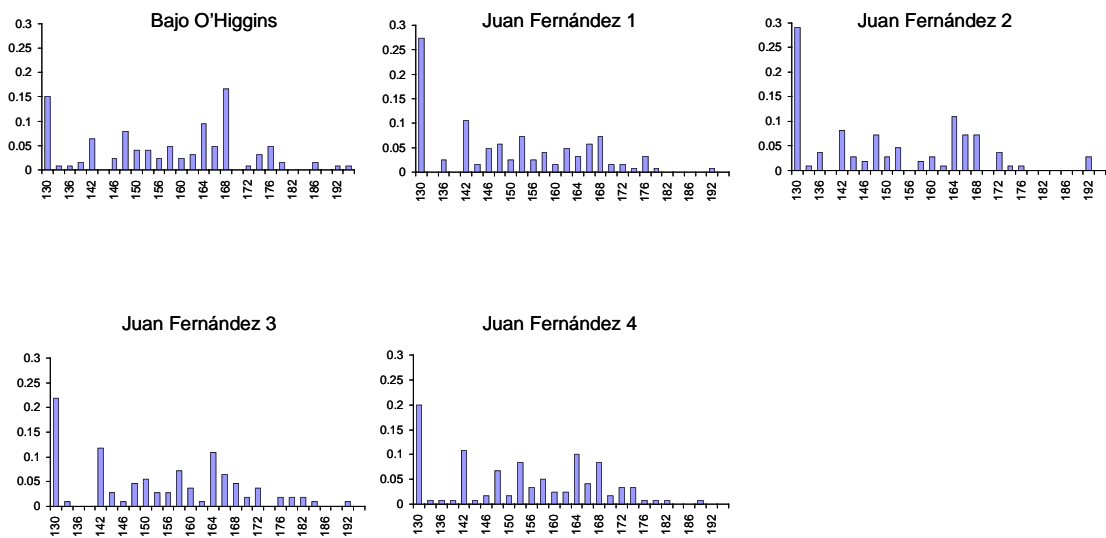


Figura 11: Frecuencia microsatélite Hat7 en poblaciones de orange roughy.

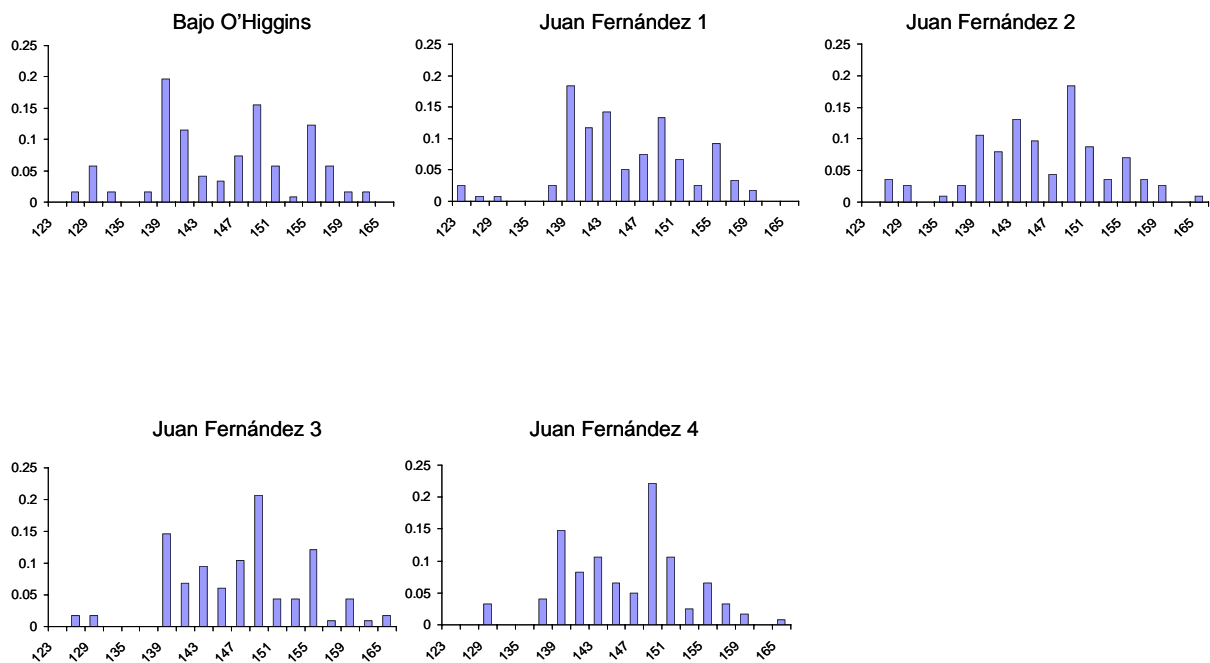


Figura 12: Frecuencia microsatélite Hat9 en poblaciones de orange roughy.

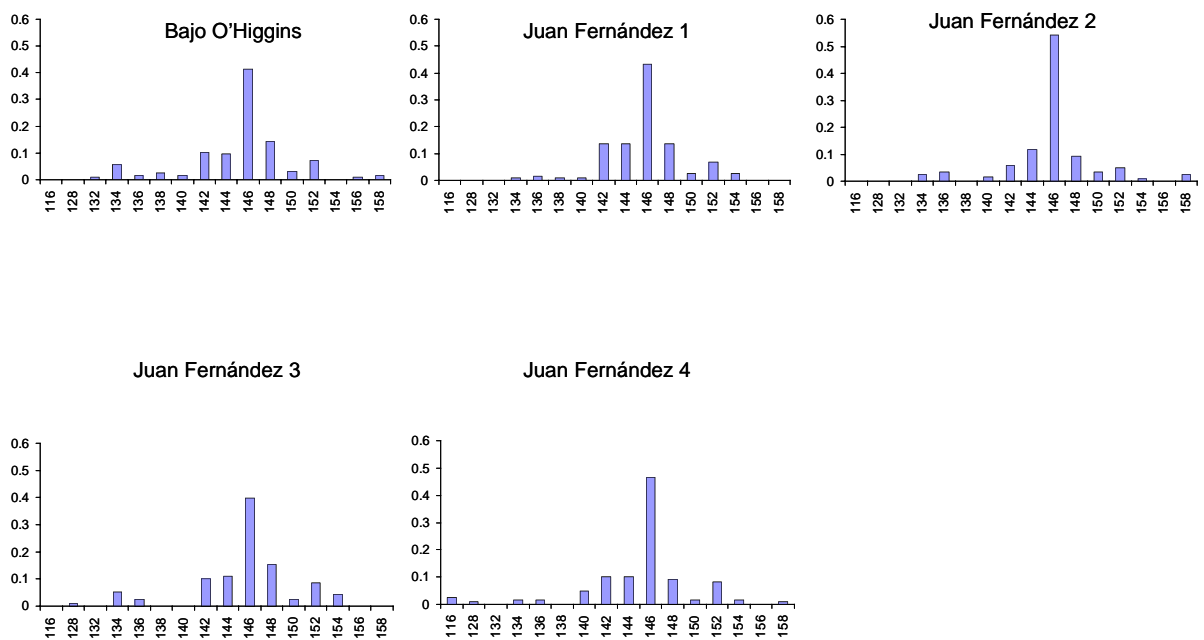


Figura 13: Frecuencia microsatélite Hat45 en poblaciones de orange roughy.

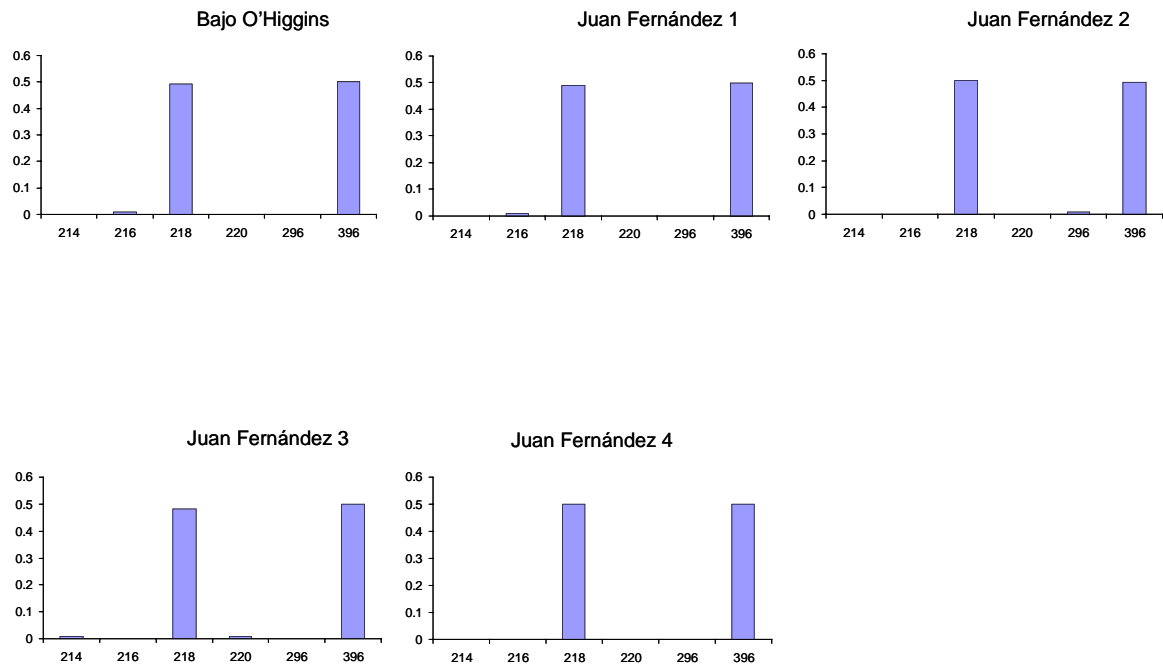


Figura 14: Frecuencia microsatélite Hat49 en poblaciones de orange roughy.

Tabla 16: Resumen de parámetros poblacionales básicos. Na: n° de alelos, He: heterocigosidad esperada, Ho: heterocigosidad observada; H&W: valor de probabilidad del test exacto de Hardy & Weinberg.

	BO2	JF1	JF2	JF3	JF4
Hat3					
Na	23	21	19	22	25
Rango de tamaño	130-196	130-192	130-192	130-192	130-190
He	0,9233	0,89378	0,88324	0,9156	0,91905
Ho	0,84127	0,93548	0,89091	0,92727	0,88333
H&W	0	0,9534	0,0653	0,81301	0,1927
Hat7					
Na	25	26	27	22	23
Rango de tamaño	208-312	210-276	208-304	210-266	210-260
He	0,94427	0,9427	0,94663	0,94579	0,94594
Ho	0,91935	0,93548	0,84483	0,89091	0,78689
H&W	0	0,68328	0,01222	0,01914	0,02204
Hat9					
Na	16	15	16	15	14
Rango de tamaño	125-163	123-159	125-165	125-165	129-165
He	0,89663	0,89804	0,91135	0,89415	0,89134
Ho	0,93443	0,95	0,92982	0,93103	0,86885
H&W	0,06999	0,1443	0,64081	0,54894	0,66062
Hat45					
Na	13	11	11	10	13
Rango de tamaño	132-158	134-154	134-158	128-154	116-158
He	0,78654	0,76532	0,6895	0,79096	0,75784
Ho	0,7619	0,79661	0,68333	0,84746	0,78333
H&W	0,0179	0,59726	0,87684	0,13282	0,55601
Hat49					
Na	3	3	3	4	2
Rango de tamaño	216-396	216-396	218-396	214-396	218-369
He	0,51359	0,51495	0,51247	0,52166	0,50435
Ho	1	1	1	1	1
H&W	0	0	0	0	0

Tabla 17: Valores de Fst entre pares de poblaciones analizadas (bajo la diagonal) y valor de probabilidad con su respectiva desviación estándar (sobre la diagonal). En cursiva valores significativos.

	BO2	JF1	JF2	JF3	JF4
BO2	***	<i>0,01686±0,0023</i>	<i>0,01554±0,0021</i>	0,42678±0,0075	0,33851±0,0085
JF1	0,00303	***	0,57950±0,0092	0,93785±0,0039	0,34612±0,0094
JF2	0,00343	-0,00196	***	0,06380±0,0045	0,90248±0,0059
JF3	-0,00129	-0,00451	0,00168	***	0,94314±0,0047
JF4	-0,0004	-0,00059	-0,00323	-0,00402	***

Tabla 18: Valores de Rst entre pares de poblaciones analizadas (bajo la diagonal) y valor de probabilidad con su respectiva desviación estándar (sobre la diagonal). En cursiva valores significativos.

	BO2	JF1	JF2	JF3	JF4
BO2	***	<i>0,00099±0,0006</i>	0,99140+-0,0016	0,82942+-0,0061	0,95669+-0,0031
JF1	-0,00455	***	0,99868+-0,0006	0,90479+-0,0053	0,97554+-0,0028
JF2	-0,01719	-0,02521	***	0,81785+-0,0063	0,10678+-0,0054
JF3	-0,01141	-0,01543	-0,0093	***	0,69322+-0,0081
JF4	-0,01496	-0,01996	-0,00717	-0,00878	***

Tabla 19: Test exacto de diferenciación poblacional entre pares de poblaciones, utilizando 1.000 pasos de la Cadena de Markov, con su respectiva desviación estándar. En cursiva valores significativos.

	BO2	JF1	JF2	JF3	JF4
BO2	***				
JF1	0,06580±0,0184	***			
JF2	<i>0,03190±0,0115</i>	0,27785±0,0592	***		
JF3	<i>0,04555±0,0136</i>	0,31675±0,0363	0,63180±0,0322	***	
JF4	0,07560±0,0186	0,54320±0,0626	0,53480±0,0512	0,54230±0,0543	***

Tabla 20: Análisis AMOVA para los cinco loci microsatélites analizados con la finalidad de probar las hipótesis propuestas por Young et al. (2000, 2004) y otras.

Grupos	Agrupaciones	Variación (%)	Φ -Estadísticos	Valor-P	Hipótesis
	Un grupo				
1	Grupo (BO2, JF1, JF2, JF3, JF4)	-0,07	$\Phi_{st} = -0,0075$	0,708	
	Dos Grupos				
1	Grupo 1 (BO2)	0,32	$\Phi_{ct} = 0,0031$	0,205	Hipótesis de Young et al. (2000)
	Grupo 2 (JF1, JF2, JF3, JF4)				
2	Grupo 1 (JF1)	-0,02	$\Phi_{ct} = -0,0017$	0,609	
	Grupo 2 (BO2, JF2, JF3, JF4)				
	Tres Grupos				
1	Grupo 1 (JF1)	0,16	$\Phi_{ct} = 0,0016$	0,225	
	Grupo 2 (JF2, JF3, JF4)				
	Grupo 3 (BO2)				
2	Grupo 1 (JF1)	-0,11	$\Phi_{ct} = -0,0113$	0,657	Hipótesis de Young et al. (2004)
	Grupo 2 (JF3)				
	Grupo 3 (BO2, JF2, JF4)				

Tabla 21: Análisis Espacial de Varianza Molecular (SAMOVA) propuesto por (Dupanloup et al. 2002) para probar agrupaciones de las localidades en estudio.

Grupos (k)	Agrupación probada	Variación (%)	Φ -Estadísticos	Valor-P
2	Grupo 1 (JF1)	5,49	$\Phi_{ct} = 0,054$	0,166
	Grupo 2 (JF2, JF3, JF4, BO2)			
3	Grupo 1 (JF1)	4	$\Phi_{ct} = 0,040$	0,105
	Grupo 2 (JF2, JF3, JF4)			
	Grupo 3 (BO2)			
4	Grupo 1 (JF1)	3,85	$\Phi_{ct} = 0,038$	0,099
	Grupo 2 (JF3, JF4)			
	Grupo 3 (BO2)			
	Grupo 1 (JF2)			

Tabla 22: Hipótesis de estructura genética poblacional de orange roughy (modelo poblacional con mezcla) contrastadas con STRUCTURE (Pritchard et al. 2000).

K	Réplicas	Frecuencias alélicas no correlacionadas		Frecuencias alélicas correlacionadas	
		<i>Ln P(D)</i>	Var[LnP(D)]	<i>Ln P(D)</i>	Var[LnP(D)]
1	1	-6528,1	45,8	-6531,9	48,8
	2	-6529,4	46,4	-6529,8	45,0
	3	-6529,0	45,8	-6531,3	47,8
	Promedio	-6528,8	46,0	-6531,0	47,2
2	1	-6685,2	481,0	-6923,7	944,1
	2	-6691,4	481,2	-6906,1	875,5
	3	-6631,8	329,7	-7132,5	1347,7
	Promedio	-6669,5	430,6	-6987,4	1055,8
3	1	-7293,5	1857,9	-7284,0	1705,9
	2	-7711,4	2622,7	-7468,8	2058,2
	3	-	-	-6722,8	520,1
	Promedio	-7502,5	2240,3	-7158,5	1428,1
4	1	-6666,2	425,6	-8297,9	3898,1
	2	-6818,8	771,3	-7227,1	1797,2
	3	-6764,0	635,2	-6674,3	423,4
	Promedio	-6749,7	610,7	-7399,8	2039,6
5	1	-6807,7	734,5	-7625,6	2699,1
	2	-7265,9	1677,2	-	-
	3	-6683,9	471,4	-	-
	Promedio	-6919,2	961,0	-7625,6	2699,1

DISCUSION

Cinco loci microsatélites y el segmento mitocondrial Dloop fueron probados en muestras de orange roughy provenientes de cinco montes ubicados en la zona de pesca, entre los 32° y 33°S, encontrándose escasa evidencia de diferencias genéticas significativas y estructuración poblacional dentro del área de estudio. Estos resultados son concordantes con la amplia distribución y longevidad reportada para la especie, características que favorecerían la mantención de algún grado de flujo génico entre las poblaciones estudiadas. En efecto, existe un importante número de estudios en peces marinos que muestran una diferenciación genética muy baja producto de la existencia de un fuerte flujo génico y áreas de desove solapadas, con valores del índice $F_{st} < 0,01$ (Ward et al. 1994, Hauser 1998), lo que es consistente con los resultados obtenidos en el presente estudio, con valores de F_{st} entre 0,002 y 0,075.

Nuestros resultados difieren, sin embargo, de los obtenidos por estudios parasitológicos y de microquímica de otolitos que indican que la historia de vida de la *H. atlanticus* se caracterizaría por poblaciones más bien sedentarias, con poco movimiento entre zonas (Edmonds et al. 1991, Thresher & Proctor 2007). Estos antecedentes sumados a la evidencia que sugiere baja capacidad de dispersión de huevos (inferior a 50 kilómetros del área de desove) y desarrollo larval batipelágico (Jordan & Bruce 1993, Zeldis et al. 1995, Zeldis et al. 1998), hacen pensar en poblaciones locales muy relacionadas con sus áreas de desove. Aunque indicios de esta estructuración local del stock no fueron encontrados en nuestros resultados genéticos, si estuvieron presentes en otras aproximaciones contempladas en el presente estudio, tales como el análisis comparativo de tallas medias y del contenido parasitario entre montes submarinos .

Dados los escasos antecedentes disponibles sobre la historia de vida de *H. atlanticus*, resulta evidente la necesidad de generar mayor información sobre sus rutas migratorias, duración y distribución de sus primeros estadios de vida y capacidad de dispersión de la especie, aspectos claves en la determinación del grado de estructuración de las poblaciones de un recurso. Se recomienda también realizar muestreos temporales sobre las áreas en estudio, pues se han evidenciado cambios inter-anales significativos en la composición genética en poblaciones de aguas australianas (Smolenski et al. 1993).

A partir del análisis del DLoop podemos inferir aspectos de la historia reciente de la población en estudio basados en la teoría de la coalescencia. Es así como el análisis de la distribución mismatch para el DLoop genera una distribución unimodal que sugiere que la población ha experimentado una expansión demográfica en el pasado reciente (Rodgers & Harpending 1992), con altos niveles de migración entre poblaciones vecinas, indicando a la vez que no existen grupo divergentes de haplotipos, perteneciendo las muestras analizadas a un mismo acervo génico. Los resultados de este análisis deben ser evaluados con cautela y complementados con otro tipo de pruebas que puedan corroborar la idea de expansión poblacional (e.g Harpending raggedness, Test F_s de Fu, Test D de Tajima). Se debe evitar, asimismo, generalizar las conclusiones a otras áreas de distribución del recurso en la costa chilena, incluso a la zona de Punta Sierra que no pudo ser incluida en el presente análisis por falta de muestras.

A pesar de la variable distribución que se observa en las frecuencias alélicas de los loci Hat3, Hat7, Hat9 y Hat 45, se considera que esta variabilidad no debiera afectar la validez de las conclusiones derivadas del análisis de varianza molecular (AMOVA). Esto debido a que cada marcador molecular se trata como un vector booleano (0s y 1s), generando una matriz a partir de las distancias euclidianas entre pares de vectores, y particionando esta matriz en tantas matrices como grupos geográficos analizados; en el presente estudio, hasta cinco grupos. El análisis no

asume distribución normal, sino que, por el contrario, establece una distribución nula computarizada por remuestreo de los mismos datos. De este modo, a través de un procedimiento permutacional cada individuo es asignado aleatoriamente a una población o grupo particular, en lo que se considera un análisis robusto y poco sensible a la distribución de los datos (Excoffier et al. 1992).

En términos del manejo pesquero de la especie, la falta de evidencia genética en contra de la hipótesis nula de stock único debe ser tomada con cautela, especialmente en este recurso donde una depleción local podría requerir de décadas o siglos para ser revertida mediante aportes desde otros grupos cercanos. Más aún cuando los resultados derivados del análisis de la historia de vida en el presente proyecto reflejan diferencias significativas a escala ecológica. Bajo el marco de esta información se sugiere implementar medidas de manejo que eviten extinciones locales, lo que ayudaría de paso a conservar la variabilidad genética en la zona de estudio, aún cuando esta no haya sido lo suficientemente alta como para descartar la hipótesis nula. Se debe recordar que una reducción de la variabilidad genética de una población puede resultar en una pérdida importante de su capacidad para responder a cambios ambientales futuros.

OBJETIVO 2: Diferencias fenotípicas asociadas a la historia ambiental de las agregaciones de orange roughy en el área de estudio

Rubén Roa¹, Edwin Niklitschek², Alejandra Lafon².

¹Universidad de Concepción; ²Universidad Austral de Chile.

INTRODUCCION

Hoplostethus atlanticus pertenece al Orden Beryciformes, dentro de la familia Trachichthyidae. Se le encuentra generalmente asociado a montes y cañones submarinos en un amplio rango batimétrico, desde los 450 a 1800 m, en los océanos Atlántico, Pacífico e Índico (Branch 2001). Dado su atractivo valor comercial, esta especie ha sido explotada por pesquerías de arrastre en distintos países y aguas internacionales, particularmente durante las últimas tres décadas. Estas pesquerías, en general, se han caracterizado por presentar una rápida expansión seguida de una fuerte caída en los desembarques y tasas de captura (Tabla 23).

En Chile, las principales poblaciones descritas a la fecha se sitúan en torno a los montes submarinos aledaños al Archipiélago Juan Fernández y Bajo O'Higgins, en profundidades superiores a los 500 m y asociadas a Aguas Intermedias Antárticas (AIA), cuya temperatura y salinidad promedio es de 5°C y 34,3%, respectivamente (Niklitschek et al. 2007b). También existen antecedentes de capturas comerciales en Punta Sierra, y capturas anecdóticas en el talud continental y cercanías de la Isla Mocha (Lafon et al. *in review*).

H. atlanticus forma densas agregaciones reproductivas en otoño-invierno, con un corto periodo de desove, distribuido entre noviembre y abril en el hemisferio norte y, mayo a septiembre en el hemisferio sur (Bell et al. 1992, Du Buit 1995, Branch 2001, Niklitschek et al. 2005, Shephard & Rogan 2006). En Chile, se ha postulado un patrón secuencial de desove entre los distintos montes submarinos, que comenzaría hacia fines de mayo en JF1, fines de junio en JF2, principios de julio en JF4 y mediados de agosto en JF3 (Niklitschek et al. 2005, Payá et al. 2006). Esta variación espacio-temporal en la reproducción también ha sido descrita para poblaciones de Nueva Zelanda y Australia (Bell et al. 1992, Smith et al. 2002).

Según Pankhurst *et al.* (1987), la especie es un desovante sincrónico por grupo, caracterizado por un desarrollo ovárico que presenta una tanda simple de ovocitos que madurarán dentro del ciclo reproductivo, donde la próxima clase de mayor tamaño está presente y presumiblemente representa la población que se desarrollará en la próxima fase de maduración. Este patrón ha sido observado en las poblaciones chilenas por Young *et al.* (2000) y Durán (2006). Por otra parte, también se ha sugerido que la especie pudiera presentar ciclos reproductivos irregulares. Bell *et al.* (1992) evidenciaron la ocurrencia de un porcentaje de hembras adultas sexualmente inmaduras que no desovan durante el periodo correspondiente, lo que explicaron como una estrategia de la especie para compensar la escasez de alimento o un déficit energético.

Las fecundidades absoluta y relativa de orange roughy son bajas, aunque con un amplio rango de variación en los valores proporcionados por estudios realizados en ambos hemisferios. El rango reportado de fecundidad total ha sido entre 10.422 a 380.000 ovocitos·hembra⁻¹, mientras que el rango de la fecundidad relativa entre 10.400 a 115.944 ovocitos·kg⁻¹ (Tabla 24). Se observa que, a excepción de los valores reportados para el NE Atlántico, la longitud estándar, fecundidad relativa y fecundidad total son mayores en poblaciones chilenas (JF, BO, PSI) que en las poblaciones de Nueva Zelanda y Australia (Pankhurst & Conroy 1987, Clark et al. 1994).

Los huevos de orange roughy son de mayor tamaño que los de muchas otras especies marinas, alcanzando 2,0 – 2,5 mm de diámetro (Pankhurst & Conroy 1987, Du Buit 1995). En Chile han sido encontrados en áreas aledañas a focos de desove en el periodo reproductivo, al igual que algunas larvas en estadios iniciales de desarrollo, lamentablemente sin información de profundidad asociada (Niklitschek et al. 2007b).

Tabla 23: Estadísticas de desembarque (ton) de orange roughy. (Fuente: <http://www.fao.org>).

Año	N. Zelanda	Australia	Chile	Namibia	Noruega	Faroe	Francia	España	Sudáfrica	Islandia
1979	5000									
1980	26027									
1981	24060									
1982	29592									
1983	41759									
1984	37271									
1985	39999									
1986	44609	2600								
1987	49014	5400								
1988	55361	6900								
1989	51538	15508			1153					
1990	48379	39613			3450					
1991	35819	34070			82		400			65
1992	36568	18814			2		4050			382
1993	29681	12482			1602	60	2159			717
1994	31718	10645		30	665	259	1939			158
1995	33077	7297		6377	1	732	998			64
1996	28639	4883		13379	5	950	1067	22		43
1997	20545	3479		18516	34	854	1012	26		79
1998	21485	8064		10945	15	747	1110	26		28
1999	23780	7581	779	3473	0	349	1330	38		14
2000	17879	5717	1482	1542	642	155	1048	20		68
2001	14044	6086	1868	857	0	430	1254	16		18
2002	17954	4301	1514	2169	0	35	499	55		10
2003	17778	5273	1249	2109	0	1	548	12		0
2004	17829	3434	1262	1820	0	466	511	21	25	28
2005	18451	4214	783	317	0	290	285	11	65	8

Tabla 24: Resumen de fecundidad total (ovocitos·hembra⁻¹) y fecundidad relativa (ovocitos·kg⁻¹) en *H. atlanticus* (Pankhurst & Conroy 1987, Clark et al. 1994, Du Buit 1995, Young et al. 2004, Minto & Nolan 2006). n=número de ejemplares muestreados; LS= longitud estándar.

Area	Año	Mes	n	LS	Fecundidad Total			Fecundidad Relativa		
					Mínima	Máxima	Media	Mínima	Máxima	Media
Challenger Plateau	1987	6	39	33,2	13680	74160	39700	19600	44950	30500
Challenger Plateau	1988	7	120	33,4	10670	83820	37180	10400	53730	26870
Challenger Plateau	1989	7	65	33,9	17980	71450	36590	12050	47700	26190
Challenger Plateau	1990	7	57	33,9	15900	84290	36090	12500	80890	27000
Cook Canyon	1988	6	146	36,1	15700	103570	44290	13170	48190	27180
Chatham Rise	1990	7	54	36,2	21620	91260	53660	13430	57040	31480
Puysegur	1991	7	54	37,3	21780	184820	101440	18770	107730	49530
Ritchie Banks	1990	6	34	36,4	25550	65530	44010	12610	47180	28550
Kaikora	1986	5	70	.	26000	90000	.	.	.	22000
Tasmania (W)	1988	4	17	37,5	.	.	57123	.	.	.
Tasmania (W)	1989	.	19	37,1	26527	68192	46141	.	.	.
Tasmania (E)	1989	.	57	37,1	10422	71796	34820	.	.	.
Australia (S)	1988	5	26	38,8	.	.	49845	.	.	.
Australia (S)	1989	.	77	38,4	10564	93564	42531	.	.	.
New South Wales	1988	5	21	31,3	.	.	29998	.	.	.
New South Wales	1989	.	42	32,4	12837	59635	31056	.	.	.
NE Océano Atlántico	70000	380000	225000	.	.	.
NE Océano Atlántico	2002	.	.	36-51	.	.	97368	.	.	33376
JF	2001	5	30	40,2	47740	222903	110242	29444	94852	54640
JF	2001	6	74	42,3	36404	270075	140919	22063	96832	61414
JF	2001	7	67	41,1	41511	204459	118460	28323	92576	56879
JF	2001	8	43	43,4	51592	338500	150710	21510	107758	61229
BOH	2001	5	83	43,4	36893	247785	148512	25953	92606	59332
BOH	2001	6	127	43,6	33669	279521	147864	16056	106278	59229
BOH	2001	7	6	42,4	39965	192575	122336	21315	71856	52164
PSI	2001	5	104	43,3	121637	379216	221479	41030	115944	78578
PSI	2001	6	24	43	163817	304944	218637	56752	94463	77065

Variaciones en la talla o edad media de primera madurez pueden ser atribuidas, en general, a diferencias en la disponibilidad de alimento entre las localidades comparadas (Horn et al. 1998), o al resultado de presiones diferenciales de pesca entre poblaciones explotadas. Smith (2002) encontró diferencias significativas en la talla media de madurez de muestras recolectadas en distintos periodos de tiempo en un mismo lugar, lo que coincidió con la existencia de diferencias inter- anuales de tipo genéticas, sugiriendo la posibilidad de usar este parámetro como un indicador de estructuras poblacionales en orange roughy. En el caso de las poblaciones chilenas, (Gili et al. 2002) realizaron una estimación preliminar de edad de primera madurez indicando 30 años para machos y 32 años para hembras, equivalentes a 30 cm de longitud horquilla. Sin embargo, este análisis no tuvo la cobertura espacial necesaria como para ser usado en un análisis de identificación de stock y contó con altos niveles de incertidumbre, dada la ausencia de juveniles entre las muestras analizadas.

No existen antecedentes que permitan completar la descripción del ciclo de vida de orange roughy. Los juveniles rara vez aparecen en los arrastres (Lafon et al. In review), especialmente las cohortes de 0+ y 1+ años, que sólo han sido reportados en tres localidades: norte de Chatham Rise, Nueva Zelanda (Branch 2001), noroeste de Islandia (Zeldis et al. 1998) y Namibia (Branch 2001). Sin embargo, los resultados de estudios de desarrollo embrionario y del análisis de micro-constituyentes de otolitos pueden ser utilizados para construir una hipótesis al respecto. Zeldis(1995)cultivaron huevos de orange roughy en laboratorio para generar un modelo de historia termal empleado para predecir la distribución vertical de los estadios de desarrollo temprano de esta especie (Figuras 15 y 16). Este estudio indicó que los huevos permanecen poco tiempo en la columna de agua (menos de 10 días), haciéndose negativamente boyantes a medida que el desarrollo embrionario prosigue, característica que disminuye sustancialmente la dispersión larval. Más recientemente, Shephard *et al* (2007), en base al análisis de isótopos estables en otolitos, proporcionan antecedentes que sustentan la hipótesis de distribución de estadios juveniles tempranos en aguas más bien profundas, sugiriendo que la etapa post larval de orange roughy debiera corresponder a un hábito mesopelágico activo (700-800 m de profundidad), luego del cual los juveniles tempranos se desplazarían hacia una fase de baja energía en una distribución demersal profunda (1.200-1.400 m de profundidad) y los pre-reclutas se situarían en la profundidad y tasa metabólica típica de los adultos. De acuerdo a estos resultados, se esperaría que los juveniles se encuentren asociados al fondo y no en aguas superficiales, probablemente a mayor profundidad que la operación de la flota, lo que podría explicar su ausencia en las capturas. Con respecto al comportamiento general de la especie, estudios realizados en base al análisis de la composición elemental del primordio y variabilidad ontogenética de Sr en otolitos, sugieren que tanto juveniles como adultos son de hábito más bien sedentario (Thresher & Proctor 2007).

Las determinaciones de edad en orange roughy han sido muy controvertidas, principalmente debido a su longevidad y diversidad de técnicas aplicadas. El consenso sobre la baja precisión de las lecturas ha motivado iniciativas de colaboración entre expertos de distintas instituciones, para aunar experiencias, estandarizar y mejorar los protocolos, como por ejemplo el Workshop sobre preparación de otolitos e interpretación de edades efectuado en Nueva Zelanda en febrero de 2007. En nuestro país, sólo se ha realizado un estudio de determinación de edades que estimó una longevidad superior a 125 años y de hasta 164 años (Gili et al. 2002). De cualquier manera, es evidente que orange roughy se caracteriza por poseer una baja tasa de crecimiento y mortalidad natural (Tabla 25), lo que sumado a su gran longevidad hace presumir que presenta gran vulnerabilidad a la sobrexplotación.

Tabla 25: Parámetros de crecimiento y mortalidad natural estimados para poblaciones chilenas de orange roughy (sexos combinados).

Parámetro	Payá <i>et al.</i> , 2006	Gili <i>et al.</i> , 2002
Linf	47,0244	47,51
K	0,0320	0,030
t_0	-0,6060	-2,0
M (Alagaraja)	0,0489	0,049
M (Alverson & Carney)	0,0853	0,086

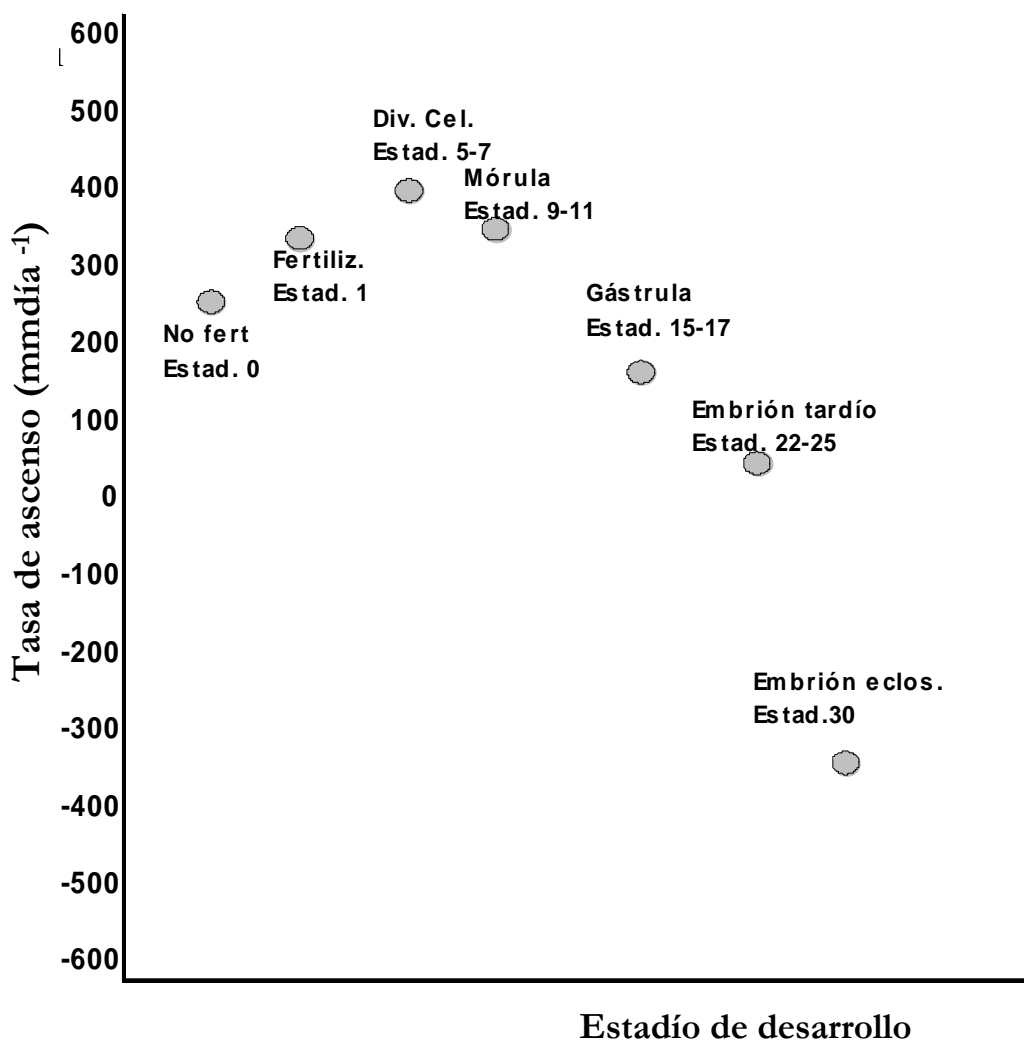


Figura 15: Tasas de ascenso y descenso de huevos de orange roughy, determinadas experimentalmente por grupos de desarrollo (adaptado de Zeldis *et al.*, 1995).

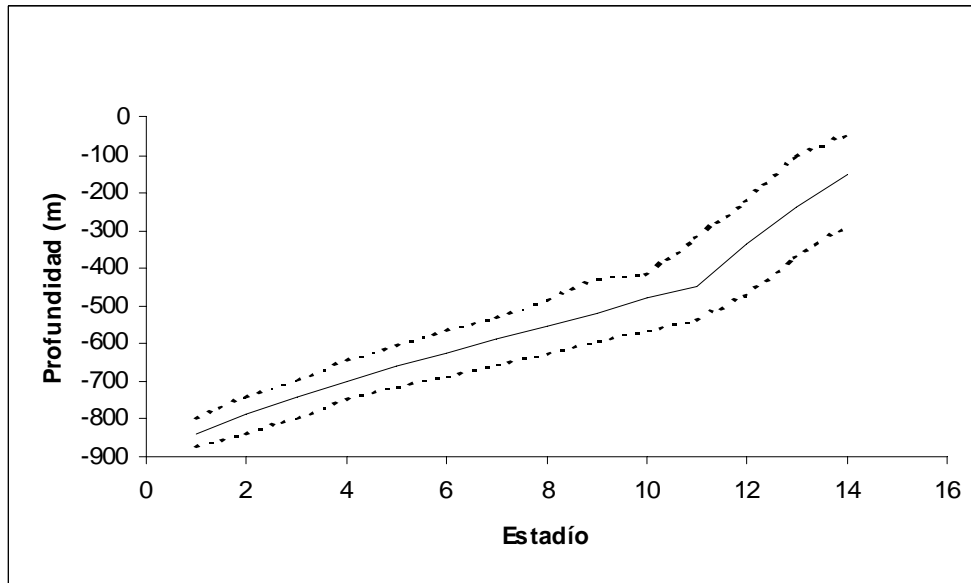


Figura 16: Profundidad predicha para cada estadio de desarrollo por el modelo de historia termal (adaptado de Zeldis *et al*, 1995).

La utilización de aproximaciones fenotípicas a la identificación de unidades de stock se basan en la identificación de “grupos de individuos pertenecientes a una especie, que mantienen caracteres comunes, ambientalmente dependientes” (Cadrin & Friedland 1999). Entre estas características se encuentran parámetros vitales a nivel poblacional: fecundidad, talla de primera madurez, tasa media de crecimiento individual y tasa de mortalidad natural, así como también características anatómicas morfométricas y merísticas (Begg *et al.* 2001). La identificación de diferencias merísticas y/o morfométricas fue por años la base de las técnicas tradicionales de identificación de stock (Begg & Waldman 1999). Sin embargo, la excesiva variabilidad en las respuestas fenotípicas evaluadas llevó, a menudo, a sugerir la existencia de estructuras poblacionales que terminaron por ser consideradas artefactos de la respectiva técnica de identificación.

En la búsqueda de indicadores fenotípicos más estables, se ha propuesto el análisis morfométrico de otolitos, los que corresponden a estructuras internas que se espera sean menos sensibles a la variabilidad aleatoria propia de la expresión génica de otros caracteres y a las presiones ambientales de corto plazo (Begg *et al.* 2001). En efecto, la variabilidad individual de los otolitos durante el crecimiento del individuo parece más limitada que la variabilidad observada en el crecimiento somático, lo que tiende a filtrar cambios de corto plazo en la condición del pez (*e.g.* stress, reproducción o inanición). Sin perjuicio de la sensibilidad relativa a la variabilidad ambiental, el patrón morfológico básico del otolito es especie-específico y puede reflejar también variabilidad genética entre distintos stock (Stransky 2004, Tracey *et al.* 2006). Esta combinación de aspectos genéticos y ambientales proporciona un enfoque fenotípico de discriminación útil para el manejo pesquero (Begg & Waldman 1999, Begg *et al.* 2001). En efecto, el análisis de contorno de otolitos, utilizando series de Fourier ha sido aplicada exitosamente en la identificación de stocks en los últimos 5 años (Begg *et al.* 2001, Robertson & Talman. 2002, Smith *et al.* 2002, Cardinale *et al.* 2004, Stransky 2004, Stransky 2005, Tracey *et al.* 2006).

En el desarrollo del presente proyecto, aplicamos dos tipos de herramientas fenotípicas para

someter a prueba la hipótesis de stock único asumida en el manejo de la pesquería chilena de orange roughy. En primer lugar analizamos parámetros vitales, incluyendo talla media de primera madurez (50%) y fecundidad media de hembras. A pesar de nuestro interés, fue imposible analizar la edad de primera madurez (50%) en hembras y los parámetros de la curva de crecimiento individual. Esto debido a la falta de resolución espacial existente en la información disponible, la cual no detalla la zona o coordenadas de origen de las muestras. En segundo lugar utilizamos el análisis de descriptores morfométricos (coeficientes de Fourier) de otolitos sagitales en muestras procedentes de los distintos montes submarinos del área de estudio.

MATERIALES Y METODOS

Madurez Sexual

Para este análisis se construyó una base de datos que fusionó la información de muestreo biológico generada por los proyectos FIP 98-05, 2001-04 2004-13, 2005-13, 2006-09 y del programa de seguimiento de recursos demersales del Instituto de Fomento Pesquero.

Los peces en estados de maduración gonadal (EMG) 1 y 2 fueron considerados inmaduros mientras que los peces en estados 3 a 5 fueron considerados maduros. Se tomó conocimiento de problemas de campo en que se tiende a confundir los estadíos 5 (desovados) y 2 (inmaduros) y se filtró la base de datos eliminando aquellos datos correspondientes a EMG=2, con índices gonádicos >2.5%, como así también datos con EMG=5 e índice gonádico <2.5%.

Debido al bajo número de peces inmaduros, ambos sexos fueron agrupados para contar con suficientes individuos inmaduros en las diferentes categorías de talla. Del mismo modo se agrupó la información de todos los años disponibles para cada zona. Sin embargo, tanto las variables sexo como año de muestreo fueron incorporadas como efectos aleatorios en un modelo lineal general de tipo mixto. Como resultado los efectos de sexo y año ingresan al modelo con un efecto medio igual a cero, generando estimados “medios” para todos los años y sexos considerados. Por similares razones, y considerando su gran cercanía geográfica, fueron combinados los montes BO1 y BO2 en una sólo gran área identificada como BO.

Puesto que la tasa de maduración sexual con la talla se supone igual a cero cuando la proporción de individuos maduros es cero, y cero también cuando la proporción es uno,

$$\frac{dp}{dl} = \beta_1 p(1-p)$$

donde p es la proporción de individuos maduros y l es la talla, entonces la proporción de individuos maduros progresa con la talla según,

$$p(l) = \frac{1}{1 + e^{\beta_0 + \beta_1 l}}$$

En este modelo la talla mediana de madurez sexual es un parámetro implícito, $l_{50\%} = -\beta_0/\beta_1$. Es conveniente re-parametrizar el modelo para que $l_{50\%}$ sea un parámetro explícito:

$$p(l) = \frac{1}{1 + \exp\left(\frac{\log(1/19)(l - l_{50})}{l_{95} - l_{50}}\right)}$$

donde $l_{95\%}$ es la talla de 95% de madurez. El modelo estadístico se basa en la distribución binomial, puesto que el estado maduro o inmaduro es una variable aleatoria binaria,

$$L(l_{50}, l_{95}) = - \sum_{l=1}^K [h_l \log(1 - p(l)) + g_l \log p(l)]$$

donde L es la verosimilitud, K es el número de categorías de talla, h es el número de individuos inmaduros, y g es el número de individuos maduros. Este es un modelo lineal generalizado de la familia binomial y con link logit.

Las diferencias entre estas tallas de madurez fueron comparadas utilizando razones de verosimilitud al ajustar modelos logísticos con la función pre-escrita $glm()$ de R 2.6.1, con familia binomial and $link=log$, y la función $anova.glm()$. El modelo nulo correspondió a:

$$\log\left(\frac{m_{i,j}}{1 - m_{i,j}}\right) = \mu * l_i$$

donde $m_{i,j}$ es la probabilidad de madurez sexual del individuo i en la zona j ; μ es una pendiente independiente de la zona; y l_i es la talla del individuo i .

En contraste, el modelo que predice efecto de la zona es:

$$\log\left(\frac{m_{i,j}}{1 - m_{i,j}}\right) = \mu * l_i + v(i, Zona_j)$$

donde v es el efecto de la zona y la notación indica que la zona es considerada un factor, y no una covariable, en el ajuste del modelo lineal generalizado.

No fue posible incluir el área de Punta Sierra por carecer de datos de madurez en esa zona, así que las zonas correspondieron a los cuatro montes de Juan Fernández y ambos montes de Bajo O'Higgins combinados.

Fecundidad de las Hembras

Los datos fueron tomados de las bases proporcionadas por el grupo de trabajo ejecutante del proyecto FIP 1999-05, en donde los autores concluyeron que no existían diferencias significativas en la curva de fecundidad a la talla entre dos montes de Juan Fernández (JF1 y JF3). Las metodologías biológicas en la determinación de la fecundidad se encuentran descritas en el correspondiente Informe Final (Young *et al.* 2000). En las bases de datos del citado proyecto, sólo se registra individuos provenientes de esos mismos montes JF1 y JF3, así que nuestra comparación entre zonas se vio limitada a replicar la comparación de Young y colaboradores.

Puesto que la talla es una variable lineal y la fecundidad, representada por el número de ovocitos hidratados, es una variable cúbica (proporcional al volumen gonadal) entonces se supone que la tasa de fecundidad con la talla obedece una ecuación de potencia,

$$\frac{df}{dl} = \phi_1 l^{\phi_2}$$

de tal manera que el modelo de fecundidad corresponde a

$$f(l) = \frac{\phi_1}{\phi_2} l^{\phi_2 - 1} = f_1 l^{f_2}$$

Siendo este un modelo de potencia, es apropiado considerar un modelo probabilístico multiplicativo. Nosotros hemos considerado un modelo lognormal con perfil de verosimilitud,

$$L(f_1, f_2) = -\frac{n}{2} \log \left(\sum_{i=1}^n (\log(x_i) - \log(f(l_i)))^2 / n \right)$$

donde n es el número de pares de observaciones de longitud y fecundidad, y x_i es la fecundidad observada a una talla determinada l_i .

Se re-analizó la serie de datos, ajustando un modelo de potencia con función de verosimilitud log-normal traduciendo código básico escrito en el sistema ADMB, a código R 2.6.1. En el caso de la comparación entre zonas mediante la prueba de la razón de verosimilitud, se utilizó la función pre-escrita *glm()* con familia gaussian y *link=log*, y la función *anova.glm()*. En esta comparación el modelo nulo es,

$$\log(g_i) = \lambda + \epsilon_i$$

donde λ es la fecundidad y ϵ es una variable aleatoria normal de media cero y varianza común para todos los datos.

El modelo con efecto de zona es descrito por,

$$\log(g_i) = \lambda(Zona_j) + \epsilon_i$$

Morfometría de otolitos

Para el análisis de imágenes, los otolitos sagitales disponibles de las áreas de estudio, colectados entre 2003 y 2005, fueron previamente sonicados, de manera de eliminar cualquier adherencia que pudiese afectar los contornos. Se les revisó cuidadosamente eliminando las muestras quebradas o incompletas, con lo cual finalmente se contó con un total de 1388 otolitos recolectados en las tres zonas de interés (Tabla 26). Para los fines del análisis del objetivo específico 4, también se realizó un ajuste excluyendo la zona de pesca de Punta Sierra como será indicado más adelante.

Los otolitos fueron dispuestos sobre la platina de un microscopio estereoscópico trinocular, con el sulcus hacia arriba y el extremo anterior del otolito apuntando hacia la derecha del observador, utilizando luz transmitida (Figura 17), siguiendo el procedimiento indicado por Robertson & Talman (2002). La figura fue capturada mediante un sistema de imágenes consistente en una cámara de alta resolución montada sobre el microscopio y conectada al computador, utilizando el software Micrometrics SE Premium Version 2.2 ©. El contorno fue digitalizado utilizando el software SigmaScan Pro5, exportando las coordenadas a una planilla de cálculo excel. Se definió 128 puntos equidistantes a los que se aplicó la transformación de Fourier y luego se normalizó con respecto al tamaño, orientación y punto de inicio.

El otolito de orange roughy tiene una forma compleja que es conveniente representar matemáticamente antes de realizar cualquier modelación estadística. Las funciones elípticas de Fourier permiten capturar matemáticamente la silueta de otolitos muy irregulares de manera eficiente (Tracey et al. 2006). Utilizamos ésta técnica para transformar cada otolito en un

conjunto de coeficientes que representen la forma de manera multivariada. Se calculó 126 funciones armónicas, de las cuales se utilizó las primeras 23 y las últimas 23 en el análisis estadístico, dejando fuera la primera y segunda (que corrigen por tamaño y posición), y las intermedias, que capturan una fracción despreciable de la forma, conservando un total de 44 variables descriptoras.



Figura 17: Silueta de otolito sagita izquierdo de orange roughy preparado para su digitalización.

Tabla 26: Número de otolitos de orange roughy por zona de pesca/monte, año y mes de recolección.

Zona	Año	Número de otolitos				
		Mayo	Junio	Julio	Agosto	Septiembre
JF1	2003		65	24		
	2005		13			
JF2	2003		260	133	75	
JF3	2003		51	158	130	
JF4	2003		18	147	30	
BO2	2003		44	17		
	2005	41	55			13
PSI	2003	21	76	17		
Total						1388

Las observaciones reunidas en los coeficientes de las funciones armónicas de Fourier forman un conjunto multivariado que describe la forma de los otolitos de orange roughy. Nosotros utilizamos dos técnicas de análisis multivariado para probar la hipótesis de que los otolitos de distintas zonas presentan diferencia morfométrica. Primero, se utilizó el Análisis de Varianza Multivariado (MANOVA), con la función *manova()* de R (Venables & Ripley 2002), determinando el efecto de la zona al comparar el modelo nulo,

$$\begin{bmatrix} f_{1,j} \\ f_{2,j} \\ \dots \\ f_{44,j} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \beta_1 \\ \beta_2 \\ \dots \\ \beta_{44} \end{bmatrix}$$

con el modelo con efecto de zona,

$$\begin{bmatrix} f_{1,j} \\ f_{2,j} \\ \dots \\ f_{44,j} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \beta_{1,j} \\ \beta_{2,j} \\ \dots \\ \beta_{44,j} \end{bmatrix}$$

donde f_{ij} es el valor medio del coeficiente de la función armónica i en la zona j y β es el valor esperado del coeficiente de la función armónica i . Para la comparación del modelo nulo versus el modelo con efecto de la zona se utilizó la prueba de la razón de verosimilitud, con función *anova()* de R.

Usando la misma aproximación anterior (*manova*) se evaluó el efecto lineal del factor año, así como también la interacción año×zona. Esto a fin de evaluar posibles efectos sobre la variabilidad inter-anual. Dado que no se detectó efectos significativos del factor zona ($p > 0.05$ para su efecto lineal e interacción), este fue excluido en todos los análisis posteriores.

También se utilizó un análisis discriminante lineal, con la función *lda()* del paquete MASS contribuido a R (Venables & Ripley 2002). En este caso el objetivo es inverso al del MANOVA: predecir la pertenencia de cada pez a cada zona sobre la base de los 44 coeficientes de las funciones armónicas. En este análisis las diferencias entre las zonas se verán reflejadas en la proporción de otolitos que son asignados exitosamente a su zona verdadera sobre la base de los 46 coeficientes y la muestra de entrenamiento que se usó para crear la función discriminante lineal.

RESULTADOS

Talla de madurez sexual

A pesar del bajo número de individuos inmaduros, se obtuvo ajustes apropiados (coeficientes significativamente distintos de cero) de las curvas de madurez para las zonas JF1, JF2, JF3, JF4 y BO2 (Figura 18, Tabla 27), mientras que para PSI la estimación fue imprecisa y carente de sentido biológico, asociado a un reducido número de muestras correspondientes a individuos inmaduros y a la ausencia de muestras <35 cm. La comparación de las tallas de maduración sexual a través de la prueba de razón de verosimilitud (Tabla 28) no reveló diferencias significativas entre zonas, ni para su efecto principal, ni para su interacción con la variable “talla”.

Un análisis de comparaciones múltiples indicó diferencias significativas al comparar el monte JF3 contra los montes JF1, JF2 y JF4. La talla de madurez sexual estimada para JF3 fue de 36.3 cm, mientras que los valores correspondientes a las restantes zonas estudiadas estuvieron en el rango de 34.3 a 35.2 cm (Tabla 27).

Fecundidad de hembras

Como es habitual en este tipo de datos, se observó alta dispersión respecto del modelo ajustado (Figura 19). La prueba de la razón de verosimilitud no indicó evidencia de diferencias entre las dos zonas analizadas (JF1 y JF3), para los datos disponibles (Tabla 28).

Tabla 27. Talla media de madurez sexual ($l_{50\%}$) y talla correspondiente al percentil 95 ($l_{95\%}$) estimadas para cinco zonas de extracción de orange roughy en Chile. EMV: estimado de máxima verosimilitud; EE: error estándar asintótico del EMV. Distintos super-índices en primera columna indican diferencias significativas en parámetro l_{50} (t-test, $p < (0,05)$). Se incluye talla media estimada para cada monte (2003-2006) a manera de referencia.

Zona	$l_{50\%}$				$l_{95\%}$				Talla media (LH)	EE
	EMV	EE	LIC	LSC	EMV	EE	LIC	LSC		
JF1 ^a	34,39	0,057	34,28	34,50	35,9	0,15	35,6	36,2	42	0,13
JF2 ^a	34,3	0,10	34,1	34,5	37,3	0,26	36,8	37,8	43	0,11
JF3 ^b	36,26	0,089	36,09	36,44	38,7	0,22	38,3	39,2	45	0,11
JF4 ^a	34,96	0,064	34,84	35,09	36,8	0,29	36,2	37,4	44	0,10
BO ^{a,b}	35,2	0,84	33,6	36,9	40,4	0,64	39,1	41,6	44	0,31

Tabla 28: Prueba de la razón de verosimilitud entre el modelo con efecto de la longitud estándar y el modelo con efecto de la longitud estándar y de la zona sobre la fecundidad de hembras de orange roughy.

	Talla	Talla vs. Talla + Zona	Talla vs. Talla + Zona + Talla×Zona
Número de observaciones	6.848	6.848	6.848
Número de parámetros	2	3	4
-2LL	676.53	674.08	673.85
Razón de verosimilitud	-	2.44	2.68
Grados de Libertad	-	1	2
$p(\chi^2)$	-	0.12	0.26

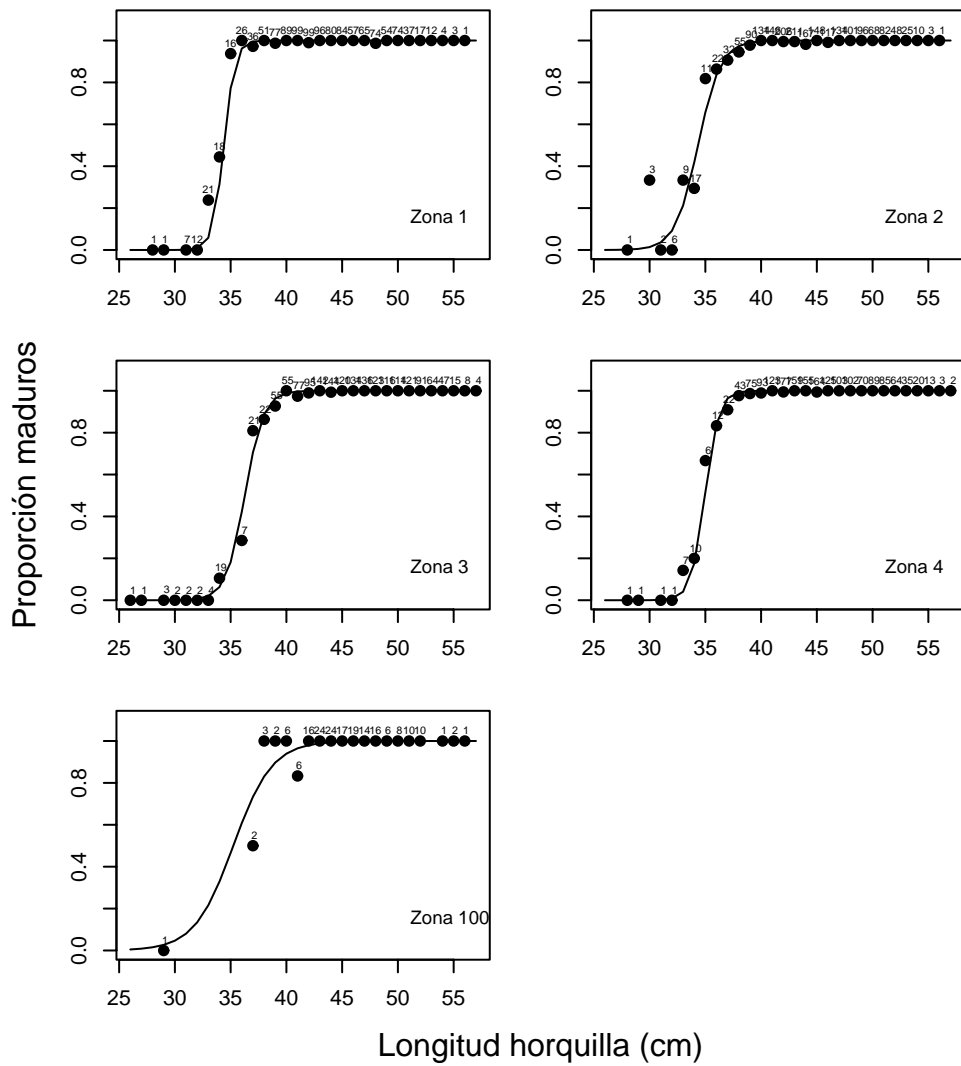


Figura 18: Ajuste de modelos logísticos de madurez para cinco zonas utilizando un ajuste no lineal del modelo de estimación de talla de primera madurez sexual. Parámetros l_{50} y l_{95} reportados en Tabla 27. Zonas 1, 2, 3, 4 y 100 corresponden a JF1, JF2, JF3, JF4 y Bajo O'Higgins, respectivamente.

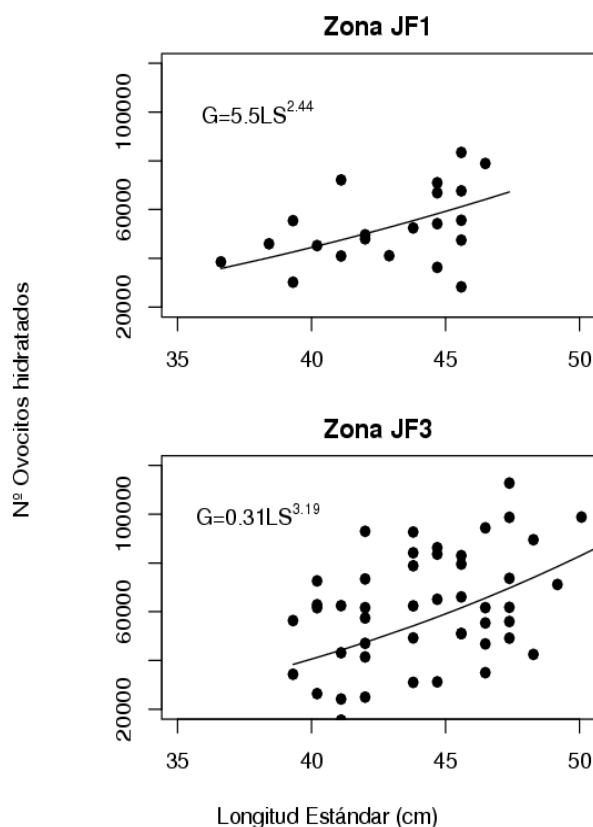


Figura 19: Ajuste de modelos de fecundidad para dos zonas con la base de datos del proyecto FIP 1999-05 usando máxima verosimilitud de un modelo de potencia con verosimilitud lognormal.

Morfometría de otolitos

El análisis de varianza multivariado de los coeficientes de Fourier usados para describir la morfología de los otolitos de orange roughy reveló diferencias significativas entre zonas, sólo para el caso específico de las hembras y cuando todas las zonas fueron incluidas (Tabla 29). El análisis de la función discriminante lineal (Tabla 29) reveló baja capacidad para clasificar correctamente los otolitos entre zonas, incluso en hembras ($\geq 40\%$ tasa de error aparente y $\geq 60\%$ tasa de error estimado por validación cruzada), independientemente del sexo o de la inclusión o exclusión de la zona de Punta Sierra (tarea necesaria para la modelación estadística del análisis integrado del objetivo específico 4).

Mientras que los resultados anteriores consideraron la selección arbitraria de los primeros y últimos 23 coeficientes de Fourier, un procedimiento de selección “paso a paso”, basado en un criterio de $pr(F) < 5\%$, ejecutado sobre los 128 coeficientes calculados, indicó que sólo una fracción de estos 44 coeficientes (Figura 20) contribuyó a discriminar entre las zonas analizadas. Estos coeficientes correspondieron, en orden de significancia a los coeficientes armónicos 126, 128, 95, 94, 26, 115 y 90 en machos; y a los coeficientes 121, 123, 21, 20, 37, 126, 128 y 63 en hembras. El poder discriminante de estos coeficientes fue confirmado por un análisis de regresión logística multinomial donde todos los coeficientes anteriores, excepto los armónicos 90 y 63, en machos y hembras, respectivamente, contribuyeron significativamente como variables explicativas de la variable respuesta “zona”.

Tabla 29: Prueba de la razón de verosimilitud entre el modelo nulo y el modelo con efecto de zona en análisis de varianza multivariado de los datos de morfometría de otolitos de orange roughy y errores aparentes y estimados por validación cruzada de la función discriminante lineal.

Análisis	Parámetros	Seis Zonas		Sin PSI	
		Hembras	Machos	Hembras	Machos
		Nulo vs. Zona	Nulo vs. Zona	Nulo vs. Zona	Nulo vs. Zona
MANOVA	número de observaciones	694	484	150	126
	Parámetros del modelo	46 vs. 276	46 vs. 276	46 vs. 230	46 vs. 230
	Razón de verosimilitud	1,47	1,11	1,12	397,7
	Grados de libertad	230	230	184	184
	$p(\chi^2)$	0,000009	0,131	0,132	0,652
ADL	Error aparente (%)	57	53	50	45
	Error validación cruzada (%)	64	69	60	60

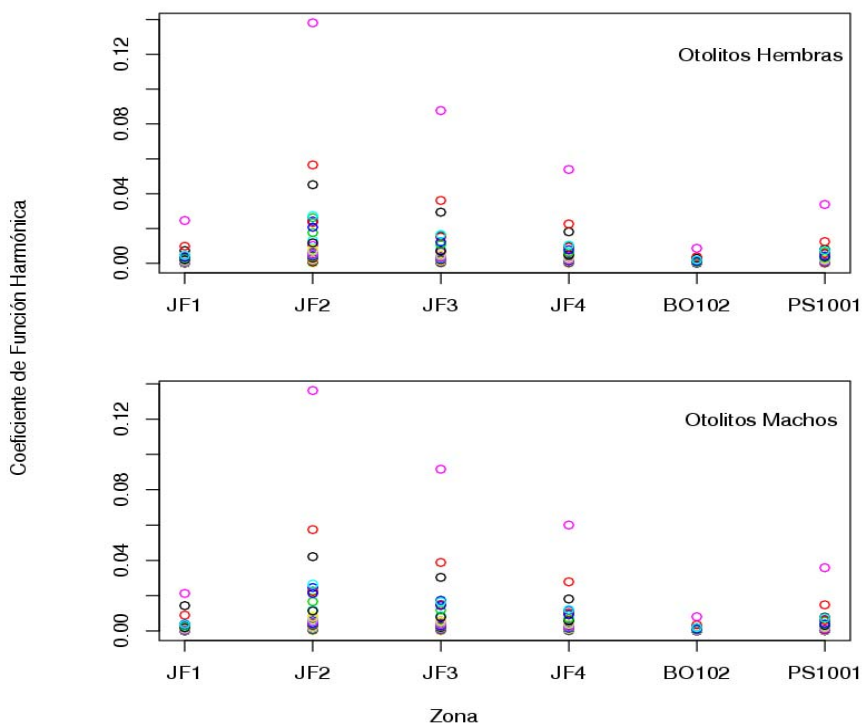


Figura 20: Valores medios de 44 coeficientes (22 iniciales, 22 finales, diferenciados por colores), de funciones armónicas de la morfometría de los otolitos de orange roughy, por zona.

DISCUSIÓN

En general, el área de desove y comportamiento reproductivo pueden ser utilizados como herramientas útiles para definir distintas unidades poblacionales. Sin embargo, la recopilación de la información realizada evidencia la insuficiencia de antecedentes biológicos de orange roughy en Chile y la necesidad de realizar nuevos estudios con una orientación específica, enfocados en la estimación de parámetros vitales y descripción detallada del ciclo de vida de esta especie, respondiendo a importantes interrogantes relacionadas con la distribución de los primeros estadios y la frecuencia de desove, entre otros. Para estos efectos, es fundamental contar con un seguimiento temporal de la evolución de los estadios de madurez sexual (microscópicos), fecundidad y elaboración de nuevas claves talla- edad por zona, para definir con precisión las ojivas de madurez y definir el tipo y duración de la reproducción. Se ha descrito a la especie como un desovante sincrónico por grupo, sin embargo la reproducción podría abarcar un periodo superior a dos semanas lo que podría tener implicancias sobre la definición de la ventana de evaluación hidroacústica para fines de manejo pesquero.

Ni el análisis comparativo de la talla media de madurez sexual ni el de la fecundidad relativa, permitieron obtener resultados concluyentes sobre la estructura poblacional de orange roughy en el área de estudio. Las diferencias aparentes en la talla media de madurez entre JF3 y los montes JF1, JF2 y JF4 es coherente con las mayores tallas medias observadas consistentemente en este monte durante los últimos años. Se debe reconocer que, en general, el presente estudios de talla media de madurez sexual se vio severamente afectado por la limitada disponibilidad de datos de individuos inmaduros, cuya presencia en la zona ha sido reconocida en diversos estudios (Lafon et al. *in review*). Producto de esta limitante, fue necesario combinar sexos y años dentro de zonas, lo que adicionó incerteza y disminuyó la potencia del análisis. Finalmente, resultaron obvios varios problemas derivados del uso de una escala macroscópica para la identificación de los estadios de madurez gonadal (EMG), que de acuerdo a lo reportado por personal de campo y deducido en la data, lleva a la confusión entre individuos desovados con gónadas en regresión (EMG 5) e individuos aún inmaduros (EMG 2). Desde este punto de vista, sería altamente recomendable replicar el análisis efectuado a partir del seguimiento microscópico de los estadios de madurez sexual, lo cual, lamentablemente no forma parte del monitoreo regular de la pesquería.

Sin perjuicio de posibles errores muestrales, los reportes de adultos no-reproductivos en algunos sectores, asumidos erróneos y descartados del presente estudio, podrían reflejar una situación real, descrita en poblaciones del sur-este de Australia (Bell et al. 1992). La existencia de intervalos pluri- anuales de desove podría corresponder a una estrategia de especies longevas que les permitiría responder a la escasez relativa de alimento y/o al costo de migrar para conformar una agregación reproductiva. Esta situación llevaría a la existencia de eventos de desove intermitentes, que pudieran ser regulares o irregulares y en los cuales se podría involucrar un sub-conjunto estable (contingente) o una fracción aleatoria de la población adulta.

Diferencias en la talla media de primera madurez sexual serían esperables al conjugarse uno o más de los siguientes factores generales:

- i. diferencias genéticas entre zonas
- ii. diferencias en la presión de pesca en las distintas zonas
- iii. diferencias tróficas y/o ecofisiológicas entre zonas.

La ausencia de evidencia respecto de diferencias genéticas entre zonas, mostrada como resultado del objetivo 2 (Galleguillos et al., presente informe), entrega poco sustento a la primera hipótesis. De manera similar, en el desarrollo del objetivo 4, se obtuvo escasa evidencia de diferencias espaciales en los efectos demográficos de la presión de pesca (Roa & Niklitschek, presente informe). Estos últimos resultados son esperables al considerar la breve historia de la pesquería en Chile (7 años) y el desfase esperado en obtener una respuesta de la población, dada su tardía edad de madurez (superior a 20 años).

Mientras que la disponibilidad relativa de alimento no ha sido evaluada en la zona de estudio, se observa que las zonas donde se estimó las mayores tallas medias de madurez (JF3 y BO2) corresponden a zonas donde orange roughy se distribuye a mayores profundidades relativas, lo que podría incidir tanto en la abundancia de presas como en la temperatura media del agua. En este sentido es importante destacar que a 4-5°C un cambio de décimas de grado puede tener grandes efectos sobre las tasas fisiológicas de poiquiloterms. Al mismo tiempo, estas zonas corresponden a zonas donde la talla media de los peces capturados son significativamente mayores que en el par JF1-JF2 (Tabla 27), lo que podría ser interpretado como la consecuencia de un retraso en la madurez sexual o, alternativamente, como una mayor disponibilidad de alimento, lo que entraría a contradecir lo antes planteado.

La falta de evidencia de diferencias en la fecundidad relativa de las zonas comparadas, JF1 y JF3, podría estar dada por la gran variabilidad y reducido tamaño de los datos disponibles, lo que restó potencia estadística al análisis. De esta manera, es importante guardar extrema cautela antes de aceptar la hipótesis nula de ausencia de diferencias entre ambas zonas. Aunque una mayor potencia estadística no garantiza, en absoluto, la utilidad de la fecundidad relativa o de algún otro parámetro vital como herramienta adecuada para la identificación de grupos poblacionales, es necesario incrementar el mayor tamaño muestral hasta alcanzar niveles aceptables de potencia estadística y la cobertura de los datos, de manera de representar el conjunto de montes presentes en el área de estudio.

El análisis de la morfometría de otolitos mostró una muy baja capacidad discriminante lo que dista notablemente de los resultados obtenidos por otros autores usando similar metodología en esta misma especie (Robertson & Talman. 2002, Smith et al. 2002). Esta baja capacidad discriminante podría ser el resultado de la ausencia efectiva de diferencias entre zonas, denotando tasas de migración entre zonas suficientemente altas como para cancelar diferencias genéticas o ecológicas reflejadas en el otolito. Respecto de estas últimas, es importante mencionar que la escala temporal reflejada en el otolito de orange roughy asciende a varias décadas y se encuentra, por lo tanto, en el límite superior del conjunto de técnicas fenotípicas empleadas en el presente estudio y, relativamente, más cercana a la escala genotípica que no denotó diferencias entre zonas.

Nuestros resultados podrían estar, por otra parte, desfavorablemente influenciados por la combinación de otolitos procedentes de dos años distintos para algunas de las zona analizadas, combinación necesaria para contar con un tamaño muestral suficiente. Esta fuente de variabilidad inter-anual, sugerida para orange roughy por Bell (1992), podría ser relevante si existieran niveles importantes de estructuración sub-poblacional (p.e. contingentes) desovando en años dispares. No obstante lo expuesto, nuestro análisis multivariado preliminar (MANOVA) no mostró efectos significativos del factor año, ni en su componente lineal ni en su interacción con el factor zona. En el presente estudio, no usamos otras variables morfométricas del otolito, como por ejemplo área, dimensiones o peso, las que podrían ser incorporadas como covariables en futuras aplicaciones de esta técnica.

OBJETIVO 3: Evaluación de posibles diferencias en la respuesta de la(s) población(es) de orange roughy a la actividad pesquera 1999-2004, entre y dentro de las zonas de estudio.

Rubén Roa¹, Edwin Niklitschek².

¹Universidad de Concepción; ²Universidad Austral de Chile.

INTRODUCCION

Una amplia gama de métodos, aproximaciones y definiciones de trabajo han sido empleadas en la identificación de unidades de stock en Chile y en el mundo. Esta gama comprende desde métodos genéticos orientados a la discriminación entre stocks genéticamente puros (Galleguillos et al., presente informe), hasta la discriminación más pragmática y simple que define un stock pesquero como un grupo de individuos explotados en una determinada área (Swain et al. 2005). En nuestra perspectiva, para que una definición de esta última naturaleza posea valor para el manejo, el stock pesquero debe, además de coexistir en una misma área, presentar respuestas demográficas biológicas a la pesquería diferenciables de otros grupos (zonas) explotados. Estas diferencias podrían incluir tasas de crecimiento poblacional o individual, tasas de cambio en la abundancia y mortalidad por pesca, estructura de tallas y edades, relaciones talla-peso, densidad y patrones de distribución espacial.

En esta sección del proyecto, nuestro objetivo apuntó a evaluar algunos de los descriptores o la existencia de grupos de individuos pertenecientes a una misma área (monte submarino), cuya respuesta a la pesquería resultara consistentemente distinta de la observada en otros grupos y áreas, dentro de un determinado horizonte temporal de evaluación. Tales respuestas podrían incluir tasas de cambio en la abundancia (absoluta o relativa), en la estructura de tallas y edades de estos grupos. En el presente trabajo nos concentramos en tres aspectos el análisis comparativo de la estructura de tallas entre montes submarinos, con espacial énfasis en la consistencia inter-anual de tales diferencias.

MATERIALES Y METODOS

Composición de tallas

Para este análisis, y al igual que en el caso del Objetivo 2, se construyó una base de datos que fusionó la información disponible generada por los proyectos FIP 98-05, 99-05, 2001-04 2004-13, 2005-13, 2006-09 y del programa de seguimiento de la pesquería de orange roughy de la Universidad Austral de Chile (Tabla 30). Los datos del programa de seguimiento de recursos demersales del Instituto de Fomento Pesquero no fueron puestos a disposición del proyecto.

Los datos crudos de tallas en la captura constituyen un vector de observaciones continuas. Sin embargo, la variable talla tiene una distribución compleja, formada por una mezcla de distribuciones, debido a la presencia de cohortes anuales. Por este motivo es mejor utilizar datos agrupados en categorías de tallas para realizar modelación estadística. Con esta transformación los datos de estructura de tallas en la captura forman una variable de distribución multinomial,

$$\begin{bmatrix} l_1 \\ l_2 \\ \dots \\ l_k \end{bmatrix}$$

donde l_i es el número de peces en la muestra de la captura cuya talla hace que pertenezca a la categoría de talla i , y k es el número de categorías de talla.

La distribución multinomial correspondiente tiene parámetros,

$$\begin{bmatrix} p_1 \\ p_2 \\ \dots \\ p_{k-1} \\ n \end{bmatrix}$$

donde n es el número total de peces en la muestra de la captura, $p_i \leq 1$, y $\sum p_i = 1$.

Para el proceso de los datos y considerando la carga numérica de la maximización de la verosimilitud multinomial, se consideró seis categorías de talla: $\leq 30,0$ cm (LH), 30,1-35,0 cm LH, 35,1-40,0 cm LH, 40,1-45,0 cm LH, entre 45,1-50,0 cm LH, y $\geq 50,1$ cm LH. Estas categorías se aplicaron en ambos sexos y el análisis fue realizado por separado para cada sexo.

Para determinar si la pesca ha afectado a la estructura de tallas, según como se observa en la captura, y si este efecto ha sido diferente para las distintas zonas, se realizó un análisis de regresión logística multinomial. En este caso, sin embargo, el modelo tomó en cuenta tanto el año, como la zona y su interacción, además de la captura acumulada por zona y la zona, y su interacción, y el número de lances acumulados por zona y la zona, y su interacción. En esta conceptualización el factor año refleja el efecto de la pesca pues este efecto se hace mayor ha medida que transcurren más temporadas anuales de pesca. Por su parte, la captura acumulada por zona y el número de lances acumulados por zona, reflejan de manera aún más directa el efecto de la pesca sobre la estructura de tallas. Los modelos lineales generalizados fueron planteados en la siguiente secuencia:

Modelo nulo:

$$\log\left(\frac{p_i}{p_j}\right) = y_i + e$$

donde la variable respuesta (en puntaje logit) es independiente de la zona, del año, de la captura acumulada y de los lances acumulados.

Modelos alternativos

$$\log\left(\frac{p_i}{p_j}\right) = y_i + \beta \mathbf{X} + e$$

donde la variable respuesta se hace dependiente del conjunto de k variables explicativas consideradas en la matriz de efectos fijos \mathbf{X} . Esta dependencia es expresada a partir del vector β de coeficientes explicativos

Tabla 30. Datos de frecuencia de tallas (longitud de horquilla) en categorías de 5 cm (L35 a L55) factorizadas según año, zona, captura acumulada y lances acumulados

	Año	Zona	Captura Acumulada	Lances Acumulados	L30	L35	L40	L45	L50	L55	
Hembras	2002	JF1	258.84	113	2	4	33	41	47	18	
	2002	JF2	28.15	107	0	0	8	14	32	13	
	2002	JF3	143.72	104	0	0	3	25	49	35	
	2002	JF4	284.53	134	0	1	29	58	71	57	
	2003	JF1	265.21	171	0	6	21	54	49	19	
	2003	JF2	331.22	294	1	4	52	304	296	122	
	2003	JF3	408.12	212	3	1	17	141	255	142	
	2003	JF4	443.22	238	0	2	18	107	110	68	
	2003	B'O102	29.94	14	0	0	1	13	9	5	
	2003	PS1001	44.95	25	0	0	1	38	64	26	
	2004	JF1	309.17	240	0	1	33	63	33	4	
	2004	JF2	633.05	414	0	5	33	128	96	28	
	2004	JF3	903.23	360	0	8	11	83	155	152	
	2004	JF4	932.8	393	0	4	11	146	159	101	
	2004	B'O101	118.77	38	0	0	0	9	42	39	
	2004	B'O102	53.59	29	1	0	1	15	21	10	
	2004	PS1001	46.5	33	0	0	0	1	2	0	
	2005	JF1	739.47	334	0	6	46	168	200	85	
	2005	JF2	816.7	545	1	13	71	237	200	59	
	2005	JF3	1017.21	405	0	3	7	52	94	73	
	2005	JF4	1138.07	522	0	3	26	150	204	104	
	2005	B'O102	55.01	39	0	0	3	39	35	4	
	2006	JF1	941.92	365	0	0	10	39	39	16	
	2006	JF2	823.33	556	0	0	7	26	24	7	
	2006	JF3	1044.02	423	0	0	4	30	46	21	
	2006	JF4	1141.02	528	0	0	6	32	46	16	
	Machos	2002	JF1	258.84	113	2	11	44	38	5	0
		2002	JF2	28.15	107	1	3	44	59	9	0
2002		JF3	143.72	104	4	1	43	75	26	2	
2002		JF4	284.53	134	1	25	91	108	28	3	
2003		JF1	265.21	171	0	14	29	52	13	0	
2003		JF2	331.22	294	0	30	245	326	41	1	
2003		JF3	408.12	212	0	11	132	314	92	3	
2003		JF4	443.22	238	1	6	112	186	28	0	
2003		B'O102	29.94	14	0	1	5	11	0	0	
2003		PS1001	44.95	25	1	0	34	59	4	0	
2004		JF1	309.17	240	2	20	60	53	12	0	
2004		JF2	633.05	414	1	19	121	184	21	0	
2004		JF3	903.23	360	1	28	53	199	71	2	
2004		JF4	932.8	393	0	22	147	464	137	5	
2004		B'O101	118.77	38	0	1	3	49	27	0	
2004		B'O102	53.59	29	1	0	5	13	7	0	
2004		PS1001	46.5	33	0	0	0	7	0	0	
2005		JF1	739.47	334	1	85	224	214	43	1	
2005		JF2	816.7	545	1	21	175	262	60	2	
2005		JF3	1017.21	405	2	4	58	105	30	1	
2005		JF4	1138.07	522	1	19	179	381	103	8	
2005		B'O102	55.01	39	0	0	27	71	11	0	
2006		JF1	941.92	365	0	19	83	71	10	0	
2006		JF2	823.33	556	1	3	13	18	3	0	
2006		JF3	1044.02	423	0	3	41	60	18	0	
2006		JF4	1141.02	528	0	2	5	10	6	0	

Las variables explicativas (discretas y continuas) consideradas en cada uno de los modelos explicativos fueron las siguientes:

- i. Año
- ii. Captura acumulada
- iii. Número acumulado de lances
- iv. Zona
- v. Año + Zona

Este modelo corresponde al caso en que la estructura de tallas de la captura es diferente para cada zona y diferente para cada año, pero el cambio anual es independiente de la zona. En otras palabras, este modelo describe la situación en que la estructura de tallas, diferente entre zonas, cambia de la misma manera a través de los años. Por ejemplo, esta situación se daría si el efecto de la pesca fuera el mismo para cada zona, removiendo los individuos de mayor talla primero.

- vi. Captura acumulada + zona
- vii. Número acumulado de lances + zona

Los modelos de año y zona, captura acumulada (CA) y zona, y número acumulado de lances (LA) y zona, pueden considerarse tres implementaciones con diferente unidad de presión de pesca incremental para un modelo aditivo de presión de pesca y zona. Se debe reconocer, sin embargo, que, en esta aproximación, es imposible separar completamente los efectos del tiempo y de la pesca.

Finalmente, implementamos tres modelos más, cada uno con una unidad diferente de presión de pesca incremental, pero en donde se permitió el ajuste de parámetros para la interacción entre la zona y la unidad de presión de pesca. Esta situación es la que se daría si la presión de pesca hiciera que las diferentes estructuras de talla de cada zona cambiaran de manera desigual a través de los años, cuyas respectivas matrices de efectos fijos incluirían las siguientes variables:

- viii. Año + zona + año×zona
- ix. CA + zona + CA×zona
- x. LA + zona + LA×zona

El factor zona consideró siete zonas de pesca: cuatro montes de Juan Fernández (JF1 a JF4), dos montes de Bajo O'Higgins (BO1 y BO2) y, Punta Sierra (PSI). El factor año abarcó desde 1999 a 2006. Como en los análisis anteriores, la comparación de los modelos se realizó a través de la prueba de la razón de verosimilitud, con la función *anova.multinom()* del paquete *nnet*, considerando los cinco modelos en orden secuencial.

Una vez seleccionado el mejor modelo explicativo, se utilizó contrastes ortogonales pareados para explorar que zonas específicas presentaron diferencias significativas en cuanto a su respuesta lineal a la presión de pesca (expresada en las variables explicativas año, CA y LA), lo que permitió formular hipótesis acerca de posibles unidades de stocks en base a la evidencia disponible. Para realizar este análisis fue necesario combinar los montes BO1 y BO2 en una zona “Bajo O'Higgins”. Adicionalmente, y con el fin de proveer una visión sinóptica de las posibles hipótesis, se realizó un análisis conjunto para ambos sexos, incluyendo las variables sexo y sexo×zona como parte del modelo.

Relación talla-peso

Para este análisis se integró las bases de datos de los muestreos biológicos estratificados del Instituto de Fomento Pesquero 1999-2002 y de la Universidad Austral de Chile (UACH, 2002-2006), que incluyeron un total de 21.435 observaciones pareadas utilizables de talla (longitud horquilla, LH) y peso eviscerado (PE). Se ajustó, para cada sexo, un modelo log-linearizado de la relación talla peso, definido como,

$$\log_{10}(PE) = \beta \mathbf{X} + \mu \mathbf{Z} + e$$

donde β corresponde al vector de coeficientes del modelo, \mathbf{X} a la matriz de efectos fijos, μ al vector de efectos aleatorios $\sim N(0, G)$ y \mathbf{Z} a la matriz de efectos aleatorios, donde se modeló y ajustó por la correlación existente entre observaciones procedentes de la misma “institución” (IFOP o UACH), “barco” y/o “lance”. Esta última variable aleatoria no pudo ser incluida en el caso de las variables explicativas “año” y “número acumulado de lances” para los que no fue posible ajustar la respectiva matriz de varianza-covarianza.

Después de un análisis preliminar y secuencial, análogo al descrito en la sección precedente, se seleccionó un modelo base, donde la matriz \mathbf{X} incluyó las variables explicativas: $\log_{10}(LH)$, zona, zona $\times\log_{10}(LH)$. A partir de este modelo base, se evaluó tres modelos alternativos donde se buscó evaluar los efectos sobre los interceptos y las pendientes de las relaciones de peso-talla que tendrían las variables continuas “año”, “número acumulado de lances” (NAL) y “captura acumulada” (CA). Para facilitar la interpretación de los coeficientes, se escaló estas tres variables a los mínimos observados de las variables (año=1999; NAL=; CA=). Las variables así ajustadas fueron identificadas con la letra subscripta “R”.

De este modo, se generó los modelos,

- i) zona, $\log_{10}(LH)$, zona $\times\log_{10}(LH)$, Año \times zona, Año_R $\times\log_{10}(LH)\times$ zona
- ii) zona, $\log_{10}(LH)$, zona $\times\log_{10}(LH)$, NAL_R \times zona, NAL_R $\times\log_{10}(LH)\times$ zona
- iii) zona, $\log_{10}(LH)$, zona $\times\log_{10}(LH)$, CA_R \times zona, CA_R $\times\log_{10}(LH)\times$ zona

El objetivo de esta modelación, en el contexto del esfuerzo de discriminación de stocks correspondiente al presente proyecto, apuntó a someter a prueba las siguientes hipótesis nulas:

- i) Ausencia de diferencias significativas entre zonas (efectos zona y zona $\times\log_{10}(LH)$ en el modelo base).
- ii) Ausencia de efectos temporales/de la pesquería sobre los interceptos de la relación peso-talla entre zonas (efectos año_R \times zona, CA_R \times zona, NAL_R \times zona).
- iii) Ausencia de efectos temporales/de la pesquería sobre las pendientes de la relación peso-talla entre zonas (efectos año_R \times zona $\times\log_{10}(LH)$, CA_R \times zona $\times\log_{10}(LH)$, NAL_R \times zona $\times\log_{10}(LH)$).

Ante el rechazo de alguna de estas hipótesis nulas, y de manera análoga a la sección precedente, se utilizó contrastes ortogonales pareados para explorar que zonas específicas presentaron diferencias significativas entre ellas, lo que permitió formular hipótesis acerca de posibles unidades de stocks en base a la evidencia disponible.

Distribución espacial

Para evaluar el posible efecto de la pesca sobre la distribución espacial de orange roughy se contó con una base de datos de 6.241 lances de pesca efectuados entre 1999 y 2006, de los cuales 5.886 tuvieron a orange roughy como especie objetivo. Esta base de datos estuvo formada por observaciones lance a lance realizadas por IFOP y por la UACH, y contuvo registros, entre otros, del barco que efectuó el lance, la fecha, la profundidad, la zona, la localización inicial y final del lance, la longitud de la relinga inferior, y la captura en kg de orange roughy.

La base de datos tenía una importante cantidad de registros incompletos o erróneos, especialmente en los años iniciales de la pesquería, 1999 a 2001. El proceso de depuración consistió en primer lugar en eliminar todos los registros que carecieran de la identificación del barco, la profundidad, la fecha, la latitud inicial, la latitud final, la longitud inicial, la longitud final, o la zona. Los casos de los registros que no presentaron alguna de las carencias anteriores pero que presentaron ausencia del registro de captura de orange roughy, fueron considerados capturas nulas y el registro vacío fue re-llenado con un cero. Esto correspondió a las distintas formas de ingresar la información por parte de IFOP y UACH. En segundo lugar, también fueron eliminados todos los registros que presentaron algún valor inaceptable de profundidad (menor que 400 m) o de latitud o longitud (fuera de las zonas de pesca en Juan Fernández, Bajo O'Higgins y Punta Sierra), los que fueron considerados errores sin posibilidad de adivinar la corrección. Este proceso de dos etapas de depuración redujo el número de registros a 1.836, y redujo la cobertura temporal de 2002 a 2006 (Tabla 31).

No fue posible considerar la variación estacional o mensual en los patrones de distribución espacial de esta especie (migraciones, desplazamientos batimétricos, dispersión/agregación). Esto debido a que los tamaños de muestra por mes y zona resultaron demasiado bajos para tal efecto (Tabla 32). Además, a excepción del año 2003 en JF1 y JF3, los lances se concentraron casi exclusivamente en el período invernal. En consecuencia, optamos por combinar todos los lances efectuados entre mayo y septiembre, ignorando factores temporales en el análisis espacial. Por similares motivos, y a pesar de su importancia, no fue posible considerar el efecto del barco o realizar análisis por separado para cada barco. Ante el reducido tamaño muestral de la información desagregada por barco (Tabla 32), optamos por combinar la información disponible, ignorando el efecto barco.

Tabla 31: Número de lances por año y zona disponibles para el estudio del efecto de la pesca sobre la distribución espacial de orange roughy.

	2002	2003	2004	2005	2006	Total
JF1	113	136	76	96	30	451
JF2	97	66	122	128	11	424
JF3	66	86	143	41	18	354
JF4	113	46	153	127	5	444
JF5	0	14	3	0	0	17
JF6	0	0	0	0	0	0
BO101	3	0	43	4	0	50
BO102	1	10	15	5	0	31
PS1001	0	57	7	1	0	65
Total	393	415	562	402	64	1836

Tabla 32: Distribución de los lances disponibles para el análisis espacial por mes para cada zona y año.

	Mes	2002	2003	2004	2005	2006		Mes	2002	2003	2004	2005	2006		
JF1	1	0	57	0	0	0	JF2	1	0	0	0	0	0		
	2	0	7	0	0	0		2	0	0	0	0	0	0	
	3	0	2	0	0	0		3	0	0	0	0	0	0	
	4	0	4	5	0	0		4	0	0	1	0	0	0	
	5	3	0	25	5	0		5	0	1	27	1	0	0	
	6	75	13	24	43	18		6	9	33	25	20	0	0	
	7	16	12	20	34	12		7	43	20	44	36	8	0	
	8	10	41	0	13	0		8	45	12	15	44	3	0	
	9	7	0	2	1	0		9	0	0	10	27	0	0	
	12	2	0	0	0	0		12	0	0	0	0	0	0	
	JF3	Mes	2002	2003	2004	2005		2006		Mes	2002	2003	2004	2005	2006
		1	0	35	0	0		0	JF4	1	0	0	0	0	0
2		0	7	0	0	0	2	0		0	0	0	0	0	
3		0	0	0	0	0	3	0		0	0	0	0	0	
4		0	1	5	0	0	4	0		0	9	0	0	0	
5		0	1	17	1	0	5	0		7	17	7	0	0	
6		4	9	11	4	0	6	24		7	19	6	0	0	
7		37	17	19	6	0	7	73		20	32	30	2	0	
8		20	16	67	26	18	8	12		12	66	42	3	0	
9		3	0	24	4	0	9	4		0	10	42	0	0	
12		2	0	0	0	0	12	0		0	0	0	0	0	

Tabla 33: Distribución de los lances disponibles para el análisis espacial por barco para cada zona y año.

	Barco	2002	2003	2004	2005	2006	Barco	2002	2003	2004	2005	2006
JF1	300659	6	0	38	0	0	300659	12	0	25	0	0
	301017	0	7	8	22	0	301017	0	22	25	84	3
	400013	0	0	10	74	0	400013	0	0	44	44	0
	400036	0	12	0	0	0	400036	0	0	0	0	0
	400037	0	20	0	0	0	JF2 400037	0	0	0	0	0
	400040	64	66	0	0	30	400040	18	3	0	0	8
	400041	0	4	0	0	0	400041	0	0	0	0	0
	400043	30	21	20	0	0	400043	60	41	27	0	0
	400180	13	6	0	0	0	400180	7	0	0	0	0
730066	0	0	0	0	0	730066	0	0	1	0	0	
	Barco	2002	2003	2004	2005	2006	Barco	2002	2003	2004	2005	2006
JF3	300659	12	0	6	0	0	300659	39	0	10	0	0
	301017	0	17	17	13	18	301017	0	16	32	36	3
	400013	0	0	75	28	0	400013	0	0	80	91	0
	400036	0	17	0	0	0	400036	0	0	0	0	0
	400037	0	24	0	0	0	JF4 400037	0	0	0	0	0
	400040	50	15	0	0	0	400040	30	2	0	0	2
	400041	0	1	0	0	0	400041	0	0	0	0	0
	400043	4	12	43	0	0	400043	36	28	31	0	0
	400180	0	0	0	0	0	400180	8	0	0	0	0
730066	0	0	2	0	0	730066	0	0	0	0	0	

En la Propuesta Técnica se consideró el análisis geoestadístico de la probabilidad de captura solamente, para determinar posibles cambios en la distribución espacial del recurso como respuesta a la presión de pesca. Sin embargo, en este informe hemos extendido los análisis para considerar también la modelación geoestadística de las densidades positivas. Una descripción detallada del significado de esta distinción entre modelación espacial de la probabilidad de captura y de las densidades positivas se presenta en Roa-Ureta y Niklitschek (2007). En el artículo citado y en sus referencias se describe en detalle la formulación estadística de los modelos utilizados, por lo que no se repiten en este reporte. En los presentes análisis se utilizó la plataforma R (versión 2.7.1) y, dentro de ella, los paquetes geoR (versión 1.6.-22) y geoRglm (versión 0,8-24). El tamaño de la celda para el modelo binomial geo-estadístico fue fijado en 2 km por lado. Esto de acuerdo a los criterios especificados en Roa-Ureta y Niklitschek (2007). En el artículo citado los autores definen el área efectiva del stock como el producto entre el área total cubierta por las observaciones y la probabilidad de éxito de captura dentro de esa área. A esta última probabilidad también la llamamos probabilidad de observar el stock. En el presente análisis, nos referiremos tanto a las densidades positivas como a la probabilidad de observar el stock y el área efectiva del stock.

Para el cálculo de la densidad en ton/km², la captura fue dividida por el área barrida utilizando la longitud de la relinga inferior como ancho de barrido. Asimismo, la distancia recorrida fue calculada mediante el teorema de Pitágoras, utilizando la coordenadas iniciales y finales de cada lance, previa transformación de las coordenadas geodésicas a coordenadas métricas en UTM con el programa GeoConv de Eino Uikkanen (www.kolumbus.fi/eino.uikkanen/geoconvgb).

RESULTADOS

Distribución de tallas

Se observó cambios en la estructura de tallas de las zonas analizadas, pero sin un patrón común ni claramente definido. En la zona JF1 la estructura de tallas varió a través de los cinco años de historia cubierta por la base de datos UACH, en ambos sexos (Figura 21). Una situación similar se observó en la zona JF2, donde la disminución de las tallas de machos fue evidente sólo en el último año (Figura 22). En la zona JF3, la talla de las hembras fue mayor que en las otras zonas y se observó una disminución de tamaño en el último año. En los machos en cambio, ésta ocurrió en los últimos tres años (Figura 23). En JF4, la disminución en las tallas de hembras sólo fue evidente en el último año analizado (2006). Por el contrario, en los machos ésta se registró al inicio de la pesquería, luego de lo cual la distribución de frecuencias de tallas permaneció relativamente estable (Figura 24). En BO1 sólo se cuenta con registros en tres años, en los cuales no se observó cambios evidentes en la distribución de tallas (Figura 25). En BO2 se observa una disminución de las tallas en 2005, último año de actividad pesquera (Figura 26). En la zona de Punta Sierra se observó estabilidad en la frecuencia de tallas durante los tres años en que hubo captura (Figura 27).

Esta inspección exploratoria sugiere que la respuesta de las poblaciones de orange roughy a la actividad extractiva en términos de estructura de tallas ha sido diferente para las distintas zonas. El análisis de regresión logística multinomial confirma esta impresión (Tabla 34), sugiriendo que:

- la estructura de tallas acumulada a través de las zonas ha cambiado a través de los años (modelo Nulo vs. modelo Año)
- la estructura de tallas es diferente entre zonas cuando se acumula a través de los años (modelo Nulo vs. modelo Zona)
- la estructura de talla es diferente entre zonas y entre años (modelo Año vs. modelo Año+Zona, y modelo Zona vs. modelo Año+Zona)
- los cambios en la distribución de tallas a través de los años han sido diferentes para las distintas zonas (modelo Año+Zona vs. modelo Año*Zona)

Un análisis de contrastes ortogonales destinado a clarificar estas respuestas diferenciales permitió concluir la existencia de al menos cinco posibles stocks cuya estructura de tallas resultó significativamente distinta, independientemente de los efectos de la pesquería (Tabla 35).

- JF1
- JF2-PSI
- JF3
- JF4
- BO

Al incluir el efecto de la pesquería, a través de las variables continuas año, captura acumulada y número acumulado de lances, se observó una gran incertidumbre en los coeficientes estimados para la zona de Punta Sierra, la que no resultó significativamente distinta de alguna otra zona evaluada. Ignorando Punta Sierra, y considerando como criterio adicional la existencia de diferencias significativas en la respuesta a los indicadores de presión pesquera ya señalados (Tabla 35), fue posible identificar las siguientes zonas como posibles stocks discretos:

- vi. JF1
- vii. JF2-JF4
- viii. JF3
- ix. BO

Para ilustrar las tendencias antes indicadas entre los distintos montes, hemos graficado las tallas medianas y los cuartiles 1 y 3 de la estructura de tallas para cada zona a través de los años (Figura 28). En todas los montes de Juan Fernández se observa una leve caída pero hay una mayor ciclicidad en JF1 y JF3, tanto en machos como en hembras. Además, JF1 y JF2 muestran tendencias opuestas, mientras JF4 parece ser la zona más estable.

Tabla 34: Resultados de la prueba de razón de verosimilitud para varias hipótesis concernientes (i-iv y viii-x en métodos) a la respuesta de los stocks de orange roughy a la pesca en términos de la estructura de tallas. N: número de observaciones; LL: $\log(\text{verosimilitud})$; $gl(\chi^2)$: grados de libertad test de verosimilitud; $p(\chi^2)$: valor de probabilidad del estadístico razón de verosimilitud; AIC: índice de información de Akaike.

		Nulo	(i) Nulo vs. Zona	(ii) Nulo vs. Año	(iii) Nulo vs. CA	(iv) Nulo vs. NAL	(viii) Zona vs. Zona×Año	(ix) Zona vs. Zona×CA	(x) Zona vs. Zona×NAL
MACHOS	n	24257	24257	24257	24257	24257	24257	24257	24257
	Parámetros	10	15	11	11	11	21	21	21
	-2LL	71271.31	69284.65	71263.09	71254.43	71259.51	69151.73	68741.89	68711
	$gl(\chi^2)$	-	5	1	1	1	6	6	6
	$p(\chi^2)$		<0.0001	0.0041	<0.0001	0.0006	<0.0001	<0.0001	<0.0001
AIC	71291.31	69314.65	71285.09	71276.43	71281.51	69193.73	68783.89	68753	
HEMBRAS	n	21398	21398	21398	21398	21398	21398	21398	21398
	Parámetros	11	16	12	12	12	22	22	22
	-2LL	71551.91	69799.96	71547.70	71525.39	71511.04	69660.32	69490.36	69467.08
	$gl(\chi^2)$	-	5	1	1	1	6	6	6
	$p(\chi^2)$		<0.0001	0.0402	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001
AIC	71573.91	69831.96	71571.70	71549.39	71535.04	69704.32	69534.36	69511.08	

Tabla 35: Resultados del análisis de contrastes ortogonales entre los coeficientes de regresión logística multinomial, correspondientes al efecto zona, bajo los modelos viii (zona), ix (captura acumulada) y x (número acumulado de lances). Letras distintas indican diferencias significativas entre coeficientes. Modelo base incluye las variables sexo, zona y sexo×zona.

Zona	Modelo Base (zona)	Zona + Año	Zona + Captura acumulada	Zona + Número acumulado de lances
JF1	a	a	a	a
JF2	b	a	b	b
JF3	c	a	c	c
JF4	d	a	b	b
Bajo O'Higgins	e	b	d	d
Punta Sierra	d	n.e.	a,b,c	a,b,c

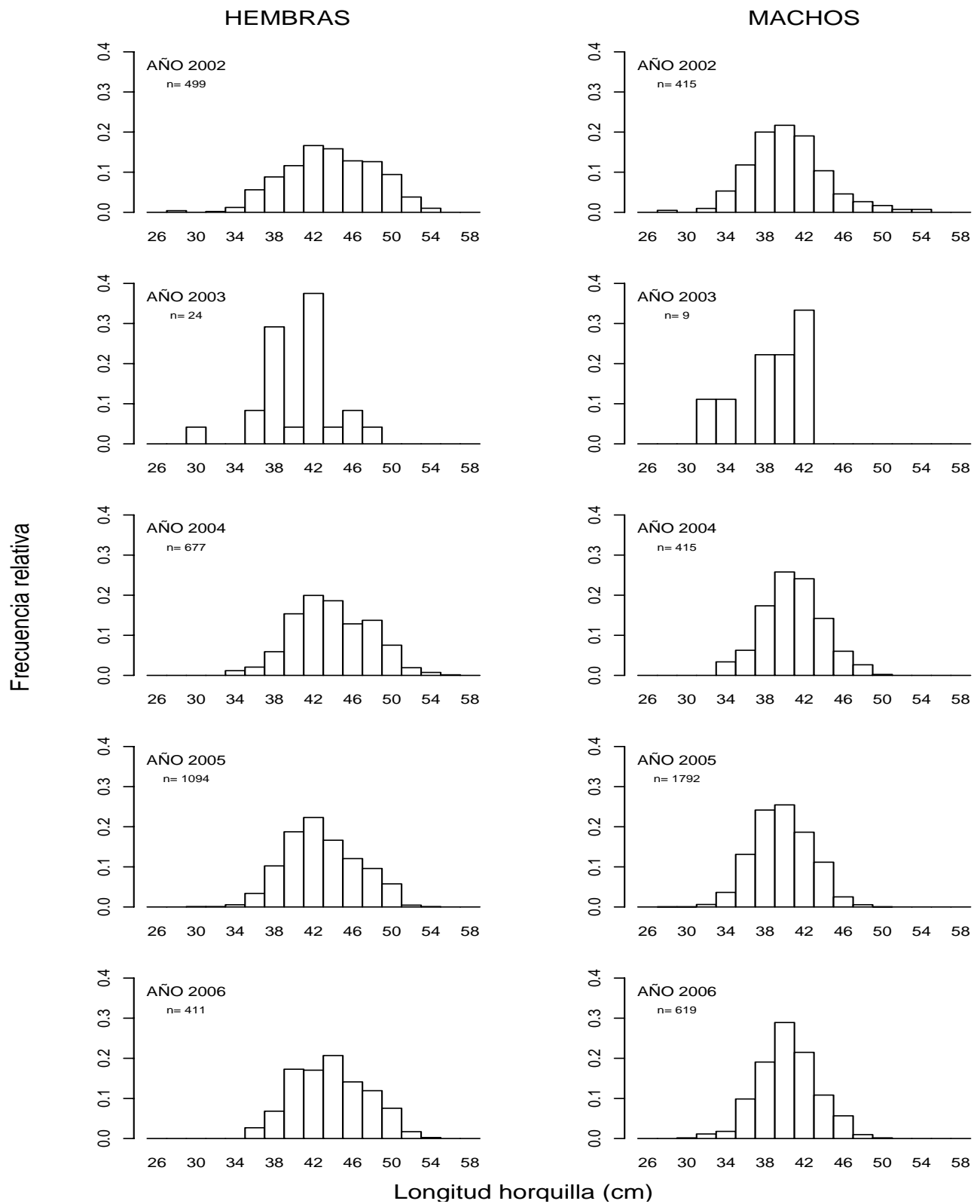


Figura 21: Estructuras de tallas de orange roughy a través de la historia de la pesquería. Monte JF1.

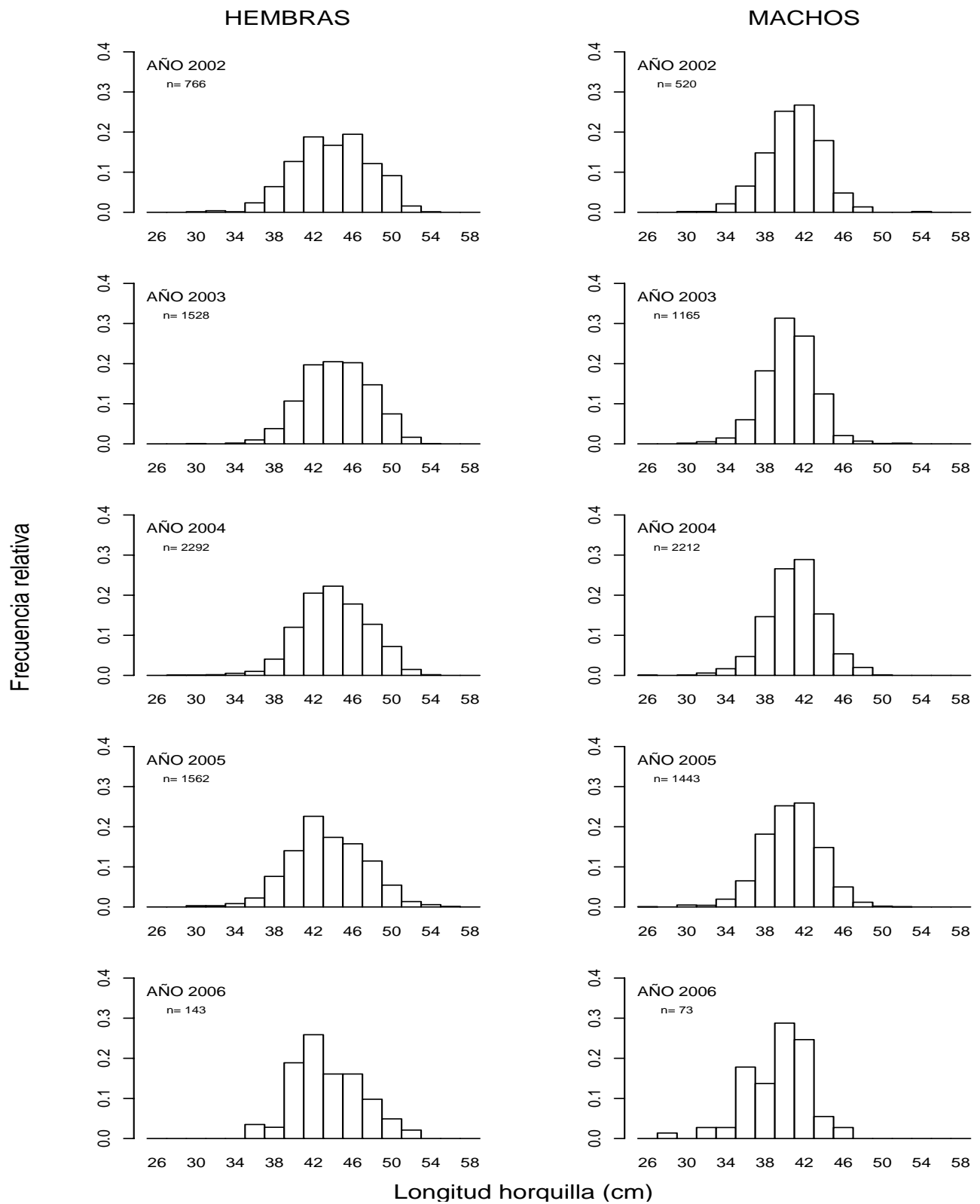


Figura 22: Estructuras de tallas de orange roughy a través de la historia de la pesquería. Monte JF2.

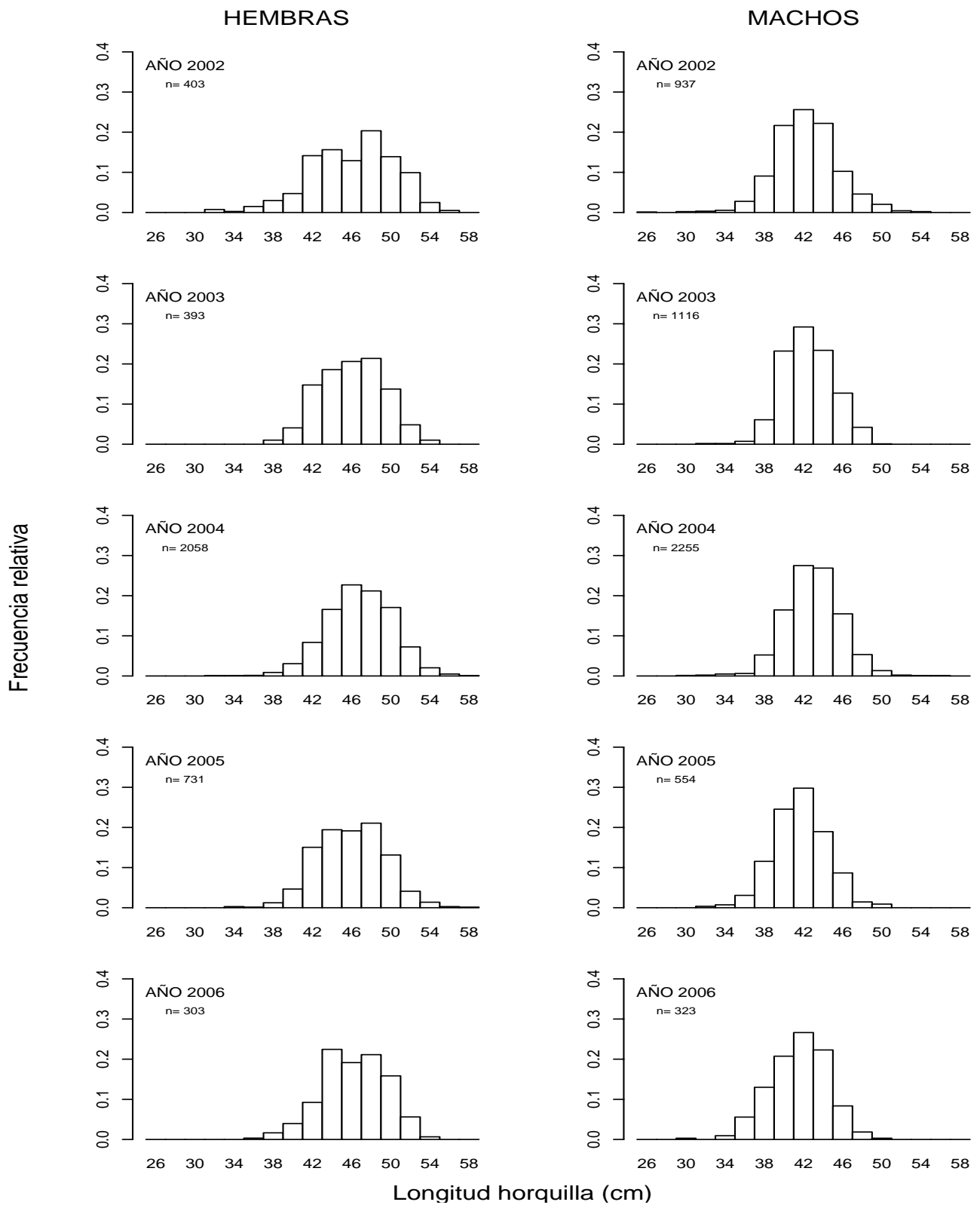


Figura 23: Estructuras de tallas de orange roughy a través de la historia de la pesquería. Monte JF3.

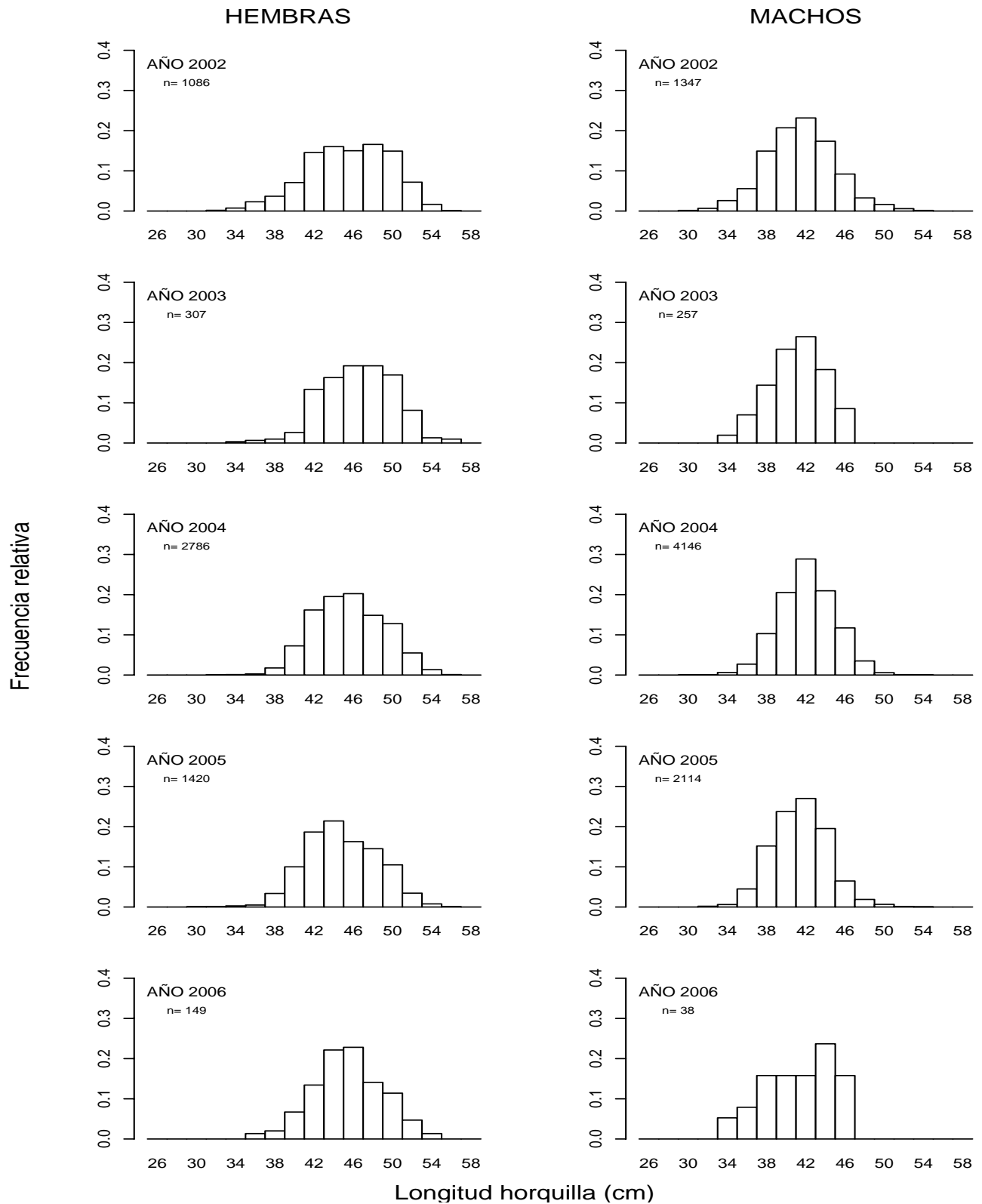


Figura 24: Estructuras de tallas de orange roughy a través de la historia de la pesquería. Monte JF4.

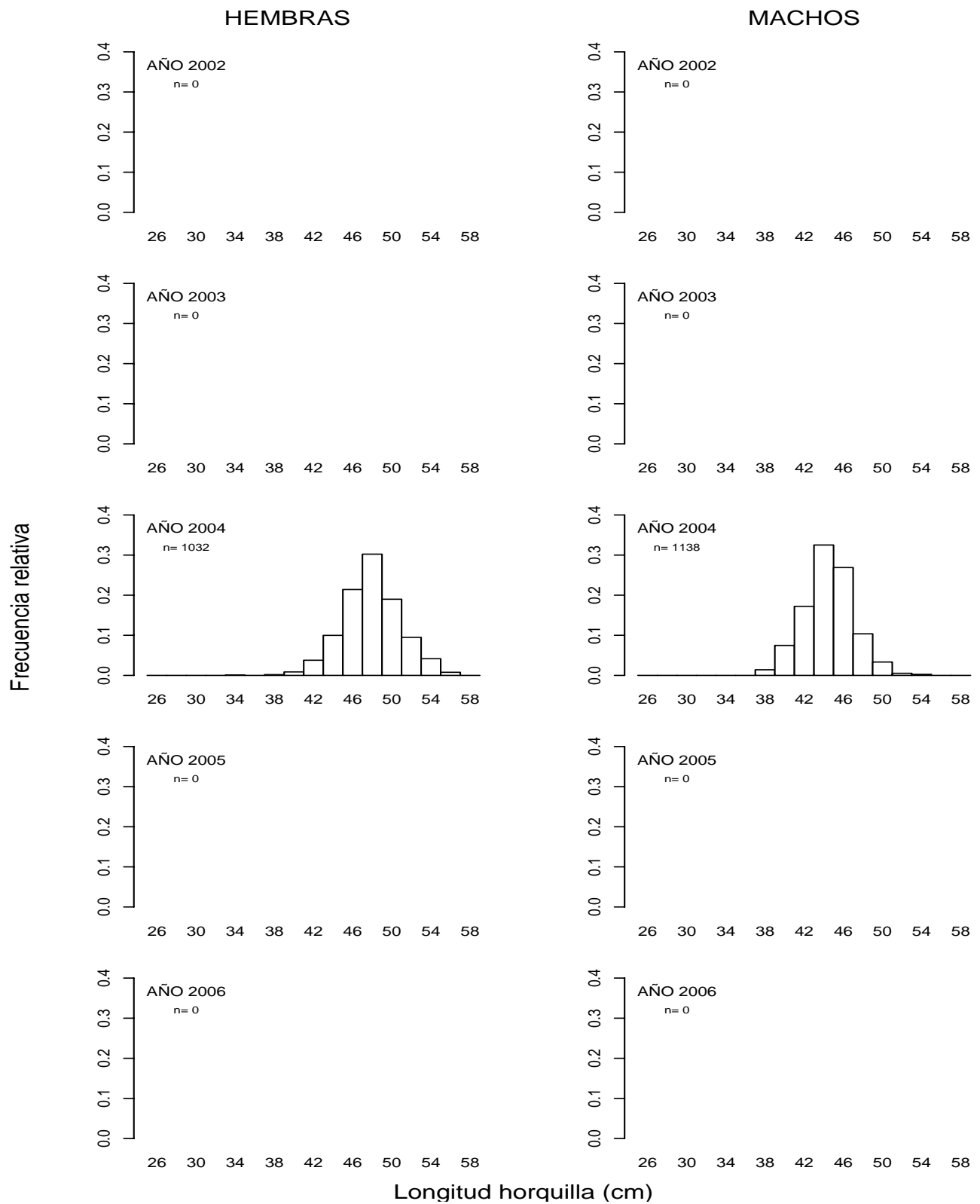


Figura 25: Estructuras de tallas de orange roughy a través de la historia de la pesquería. Monte BO1. Paneles vacíos indican ausencia de datos

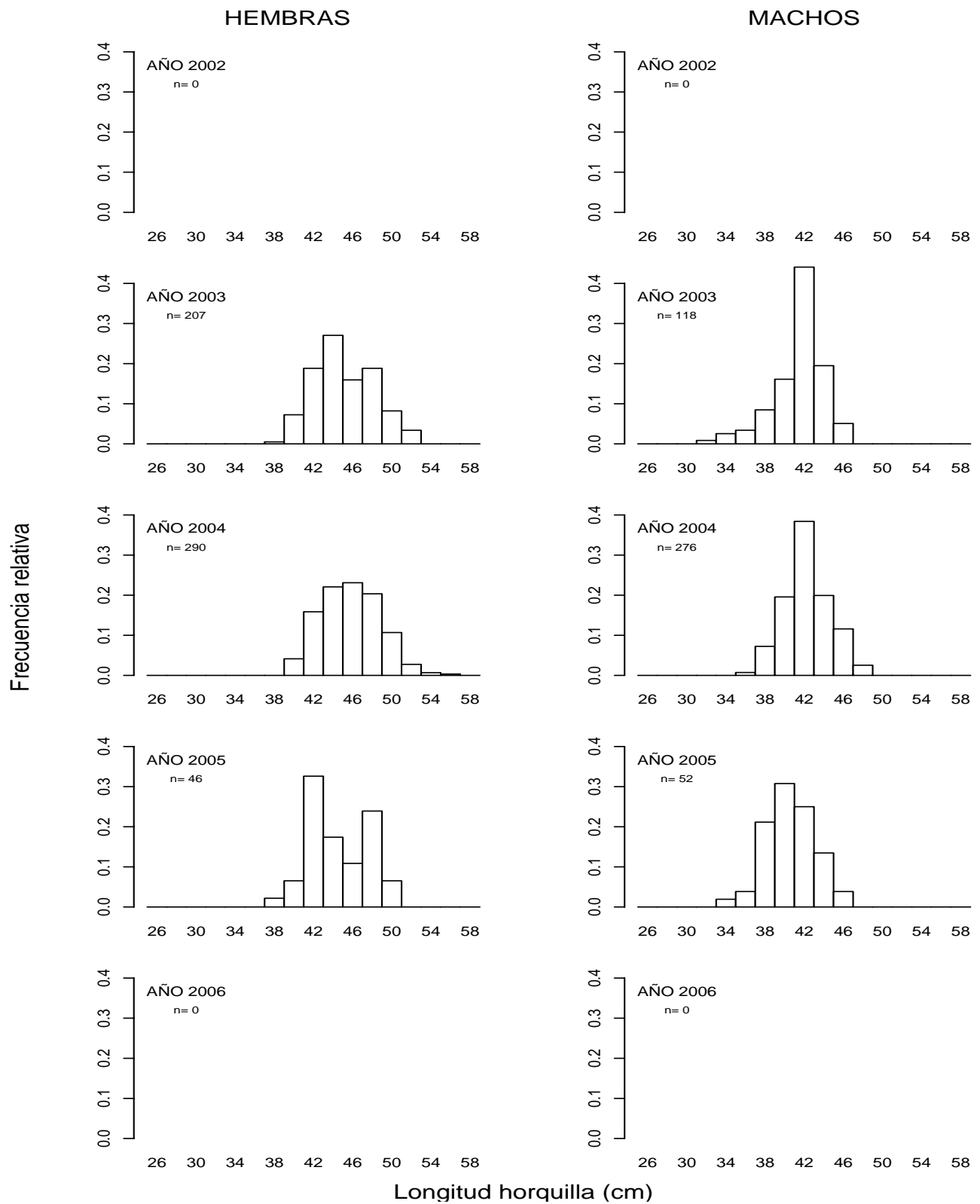


Figura 26: Estructuras de tallas de orange roughy a través de la historia de la pesquería. Monte BO2. Paneles vacíos indican ausencia de datos.

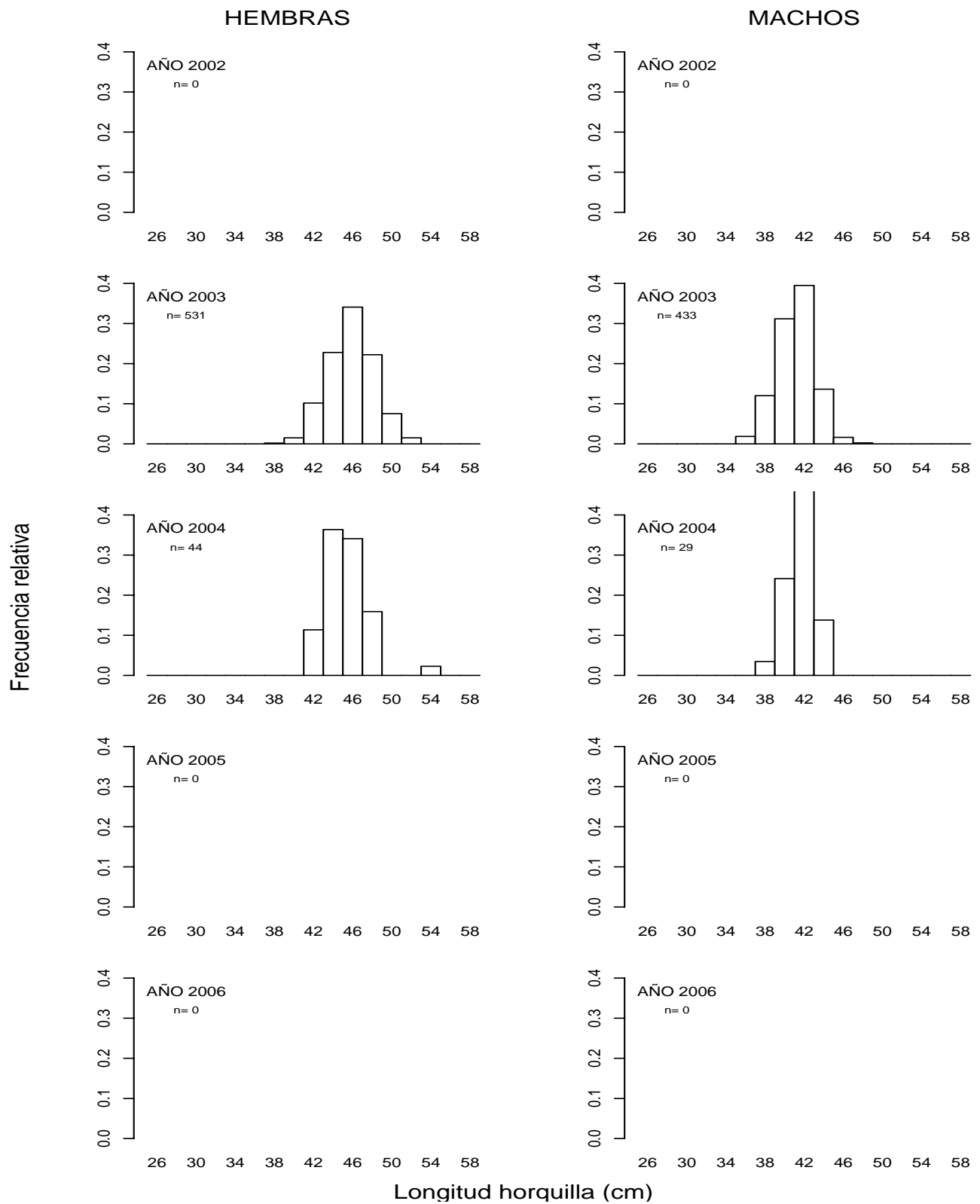


Figura 27: Estructuras de tallas de orange roughy a través de la historia de la pesquería. Sector Punta Sierra (PSI).

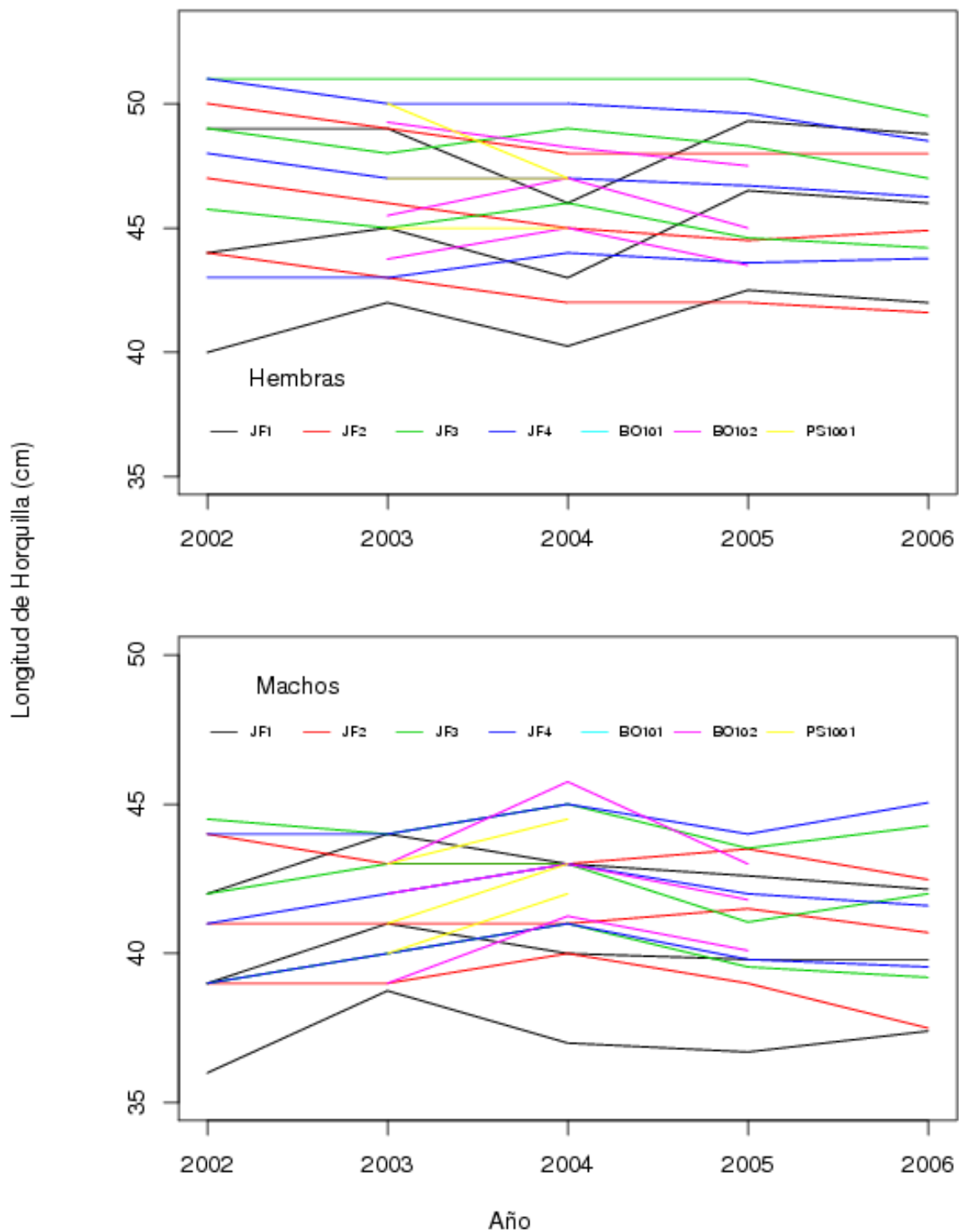


Figura 28: Mediana, primer y tercer cuartil de la estructura de tallas de orange roughy en las siete zonas de pesca a través de cinco años de historia de la pesquería

Relaciones peso-talla

Al comparar las relaciones talla-peso entre zonas (Figura 29 y 30), ignorando efectos temporales y de la pesca, se observó diferencias significativas a nivel de interceptos y pendientes entre zonas. El análisis de contrastes ortogonales pareados de estas diferencias (Tabla 36), indicó diferencias significativas entre los interceptos de la zona JF1 con las restantes zonas, tanto en machos como en hembras, con la excepción de Punta Sierra, para el caso particular de las hembras. Respecto de los efectos de la zona sobre las pendientes, sólo se identificó diferencias significativas, a nivel de hembras, entre las zonas JF1, JF2 y JF3.

De los modelos donde se incorporó efectos temporales y de la pesca por zona, sólo el modelo que incorporó la captura acumulada resultó ser mejor (menor AIC) que el modelo base que sólo incluyó el efecto de la zona sobre la relación peso-talla. Esto para el caso particular de las hembras (Tablas 36, 37, 38 y 39). Paradojalmente, este último modelo (Tabla 39) no indicó efectos significativos de la interacción zona×captura acumulada, sugiriendo efectos relevantes de la remoción pesquera sobre la relación peso-talla, pero similares entre áreas. Los efectos de la variable temporal año (Tabla 37) y del número acumulado de lances (Tabla 38) fueron inconsistentes entre sexos y zonas, con mayor evidencia de efectos significativos en machos que en hembras, especialmente entre las zonas JF2, JF3 y JF4, coincidiendo con un mayor número relativo de registros de peso y talla.

Tabla 36: Resultados del análisis de contrastes ortogonales entre los coeficientes del modelo de regresión lineal (variables log-transformadas) para la relación peso eviscerado-talla, bajo el modelo: $\log_{10}(PE)=\beta_0+\beta_1\cdot\log_{10}(LH)+\mathbf{B1}\cdot zona+\mathbf{B2}\cdot\log_{10}(LH)\times zona$. Donde **B1** y **B2** corresponden a los vectores de coeficientes de los respectivos efectos fijos, evaluados mediante contrastes ortogonales. Letras distintas indican diferencias significativas entre coeficientes.

Parámetros		Sexo	
		Machos	Hembras
Criterio de Información de Akaike		-41588,4	-37230,5
β_0		-1,043	-1,323
β_1		2,614	2,807
B1	JF1	-0,314 ^a	-0,110 ^a
	JF2	-0,226 ^b	0,024 ^b
	JF3	-0,163 ^{b,c}	0,150 ^c
	JF4	-0,096 ^{c,d}	0,090 ^{b,c}
	Bajo O'Higgins	-0,149 ^{b,c,d}	0,077 ^{b,c}
	Punta Sierra	0,000 ^d	0,000 ^{a,b,c}
B2	JF1	0,185 ^a	0,040 ^a
	JF2	0,131 ^a	-0,039 ^b
	JF3	0,098 ^a	-0,108 ^c
	JF4	0,055 ^a	-0,078 ^{b,c}
	Bajo O'Higgins	0,085 ^a	-0,065 ^{b,c}
	Punta Sierra	0,000 ^a	0,000 ^{a,b}

Tabla 37: Resultados del análisis de contrastes ortogonales entre los coeficientes del modelo de regresión lineal (variables log-transformadas) para la relación peso eviscerado-talla, bajo el modelo: $\log_{10}(PE) = \beta_0 + \beta_1 \cdot \log_{10}(LH) + \mathbf{B1} \cdot zona + \mathbf{B2} \cdot \log_{10}(LH) \times zona + \mathbf{B3} \cdot zona \times año_R + \mathbf{B4} \cdot \log_{10}(LH) \times zona \times año_R$; donde **B3** y **B4** corresponden a los vectores de coeficientes de los efectos fijos asociados a las interacciones de las variables zona y año, evaluados mediante contrastes ortogonales. Letras distintas indican diferencias significativas entre coeficientes.

Parámetros		Sexo	
		Machos	Hembras
Criterio de Información de Akaike		-38694.5	-36495.1
β_0		-0.889	-1.125
β_1		2.520	2.708
B1	JF1	-0.489	-0.313
	JF2	-0.519	-0.104
	JF3	-0.225	-0.056
	JF4	-0.261	-0.189
	Bajo O'Higgins	-0.368	-0.202
	Punta Sierra	0.000	0.000
B2	JF1	0.293	0.145
	JF2	0.309	0.018
	JF3	0.137	0.001
	JF4	0.152	0.070
	Bajo O'Higgins	0.222	0.091
	Punta Sierra	0.000	0.000
B3	JF1	0.079 ^{a,b}	0.050 ^a
	JF2	0.109 ^a	0.024 ^a
	JF3	0.047 ^b	0.042 ^a
	JF4	0.066 ^{a,b}	0.066 ^a
	Bajo O'Higgins	0.095 ^{a,b}	0.076 ^a
	Punta Sierra	-0.075 ^{a,b}	-0.049 ^a
B4	JF1	-0.049 ^{a,b}	-0.024 ^a
	JF2	-0.067 ^a	-0.008 ^a
	JF3	-0.029 ^b	-0.019 ^a
	JF4	-0.040 ^{a,b}	-0.033 ^a
	Bajo O'Higgins	-0.059 ^{a,b}	-0.042 ^a
	Punta Sierra	0.046 ^{a,b}	0.022 ^a

Tabla 38: Resultados del análisis de contrastes ortogonales entre los coeficientes del modelo de regresión lineal (variables log-transformadas) para la relación peso eviscerado-talla, bajo el modelo: $\log_{10}(PE) = \beta_0 + \beta_1 \cdot \log_{10}(LH) + \mathbf{B1} \cdot zona + \mathbf{B2} \cdot \log_{10}(LH) \times zona + \mathbf{B3} \cdot zona \times NAL_R + \mathbf{B4} \cdot \log_{10}(LH) \times zona \times NAL_R$; donde **B3** y **B4** corresponden a los vectores de coeficientes de los efectos fijos asociados a las interacciones de las variables zona y número acumulado de lances (NAL_R), evaluados mediante contrastes ortogonales. Letras distintas indican diferencias significativas entre coeficientes.

Parámetros		Sexo	
		Machos	Hembras
Criterio de Información de Akaike		-38691,3	-36488,6
β_0		-0,910	-1,128
β_1		2,531	2,707
B1	JF1	-0,463	-0,300
	JF2	-0,527	-0,106
	JF3	-0,202	-0,074
	JF4	-0,225	-0,197
	Bajo O'Higgins	-0,364	-0,322
	Punta Sierra	0,000	0,000
B2	JF1	0,277	0,138
	JF2	0,314	0,021
	JF3	0,122	0,011
	JF4	0,130	0,076
	Bajo O'Higgins	0,221	0,172
	Punta Sierra	0,000	0,000
B3	JF1	0,0065 ^{a,b}	0,0050 ^a
	JF2	0,0076 ^a	0,0044 ^a
	JF3	0,0055 ^b	0,0050 ^a
	JF4	0,0061 ^b	0,0056 ^a
	Bajo O'Higgins	0,0080 ^{a,b}	0,0102 ^a
	Punta Sierra	-0,0065 ^{a,b}	-0,0051 ^a
B4	JF1	-0,0044 ^a	0,0552 ^a
	JF2	-0,0050 ^a	0,0556 ^a
	JF3	-0,0037 ^a	0,0552 ^a
	JF4	-0,0041 ^a	0,0549 ^a
	Bajo O'Higgins	-0,0054 ^a	0,0517 ^a
	Punta Sierra	0,0043 ^a	-0,0552 ^a

Tabla 39: Resultados del análisis de contrastes ortogonales entre los coeficientes del modelo de regresión lineal (variables log-transformadas) para la relación peso eviscerado-talla, bajo el modelo: $\log_{10}(PE) = \beta_0 + \beta_1 \cdot \log_{10}(LH) + \mathbf{B1} \cdot \text{zona} + \mathbf{B2} \cdot \log_{10}(LH) \times \text{zona} + \mathbf{B3} \cdot \text{zona} \times CA_R + \mathbf{B4} \cdot \log_{10}(LH) \times \text{zona} \times CA_R$; donde **B3** y **B4** corresponden a los vectores de coeficientes de los efectos fijos asociados a las interacciones de las variables zona y captura acumulada (CA_R), evaluados mediante contrastes ortogonales. Letras distintas indican diferencias significativas entre coeficientes.

Parámetros		Sexo	
		Machos	Hembras
Criterio de Información de Akaike		-39023.1	-37283.8
β_0		-0.924	-1.235
β_1		2.540	2.772
B1	JF1	-0.421	-0.196
	JF2	-0.484	-0.001
	JF3	-0.187	0.043
	JF4	-0.125	-0.075
	Bajo O'Higgins	-0.241	-0.182
	Punta Sierra	0.000	0.000
B2	JF1	0.251	0.074
	JF2	0.287	-0.044
	JF3	0.113	-0.061
	JF4	0.068	0.002
	Bajo O'Higgins	0.144	0.088
	Punta Sierra	0.000	0.000
B3	JF1	0.000208 ^{a,b}	-0.001660 ^a
	JF2	0.000413 ^a	-0.001740 ^a
	JF3	0.000091 ^{a,b}	-0.001630 ^a
	JF4	0.000134 ^b	-0.001580 ^a
	Bajo O'Higgins	0.000139 ^{a,b}	-0.001030 ^a
	Punta Sierra	-0.000220 ^{a,b}	0.001655 ^a
B4	JF1	-0.000150 ^{a,b}	-0.000020 ^a
	JF2	-0.000270 ^a	0.000025 ^a
	JF3	-0.000070 ^b	-0.000040 ^a
	JF4	-0.000100 ^b	-0.000070 ^a
	Bajo O'Higgins	-0.000110 ^{a,b}	-0.000440 ^a
	Punta Sierra	0.000157 ^{a,b}	0.000026 ^a

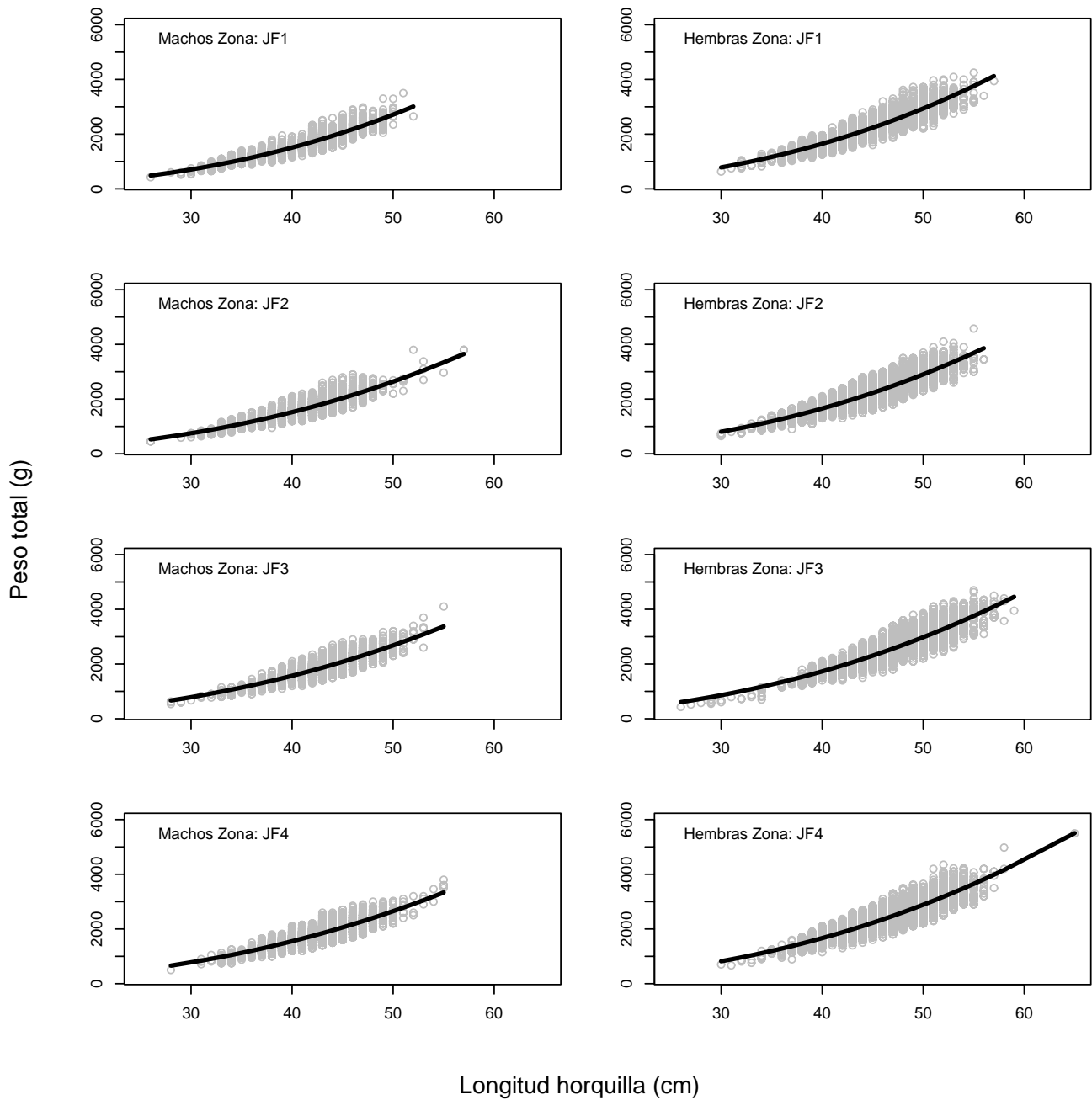


Figura 29: Relación peso talla de orange roughy por sexo para montes JF1, JF2, JF3 y JF4 (2002-2006).

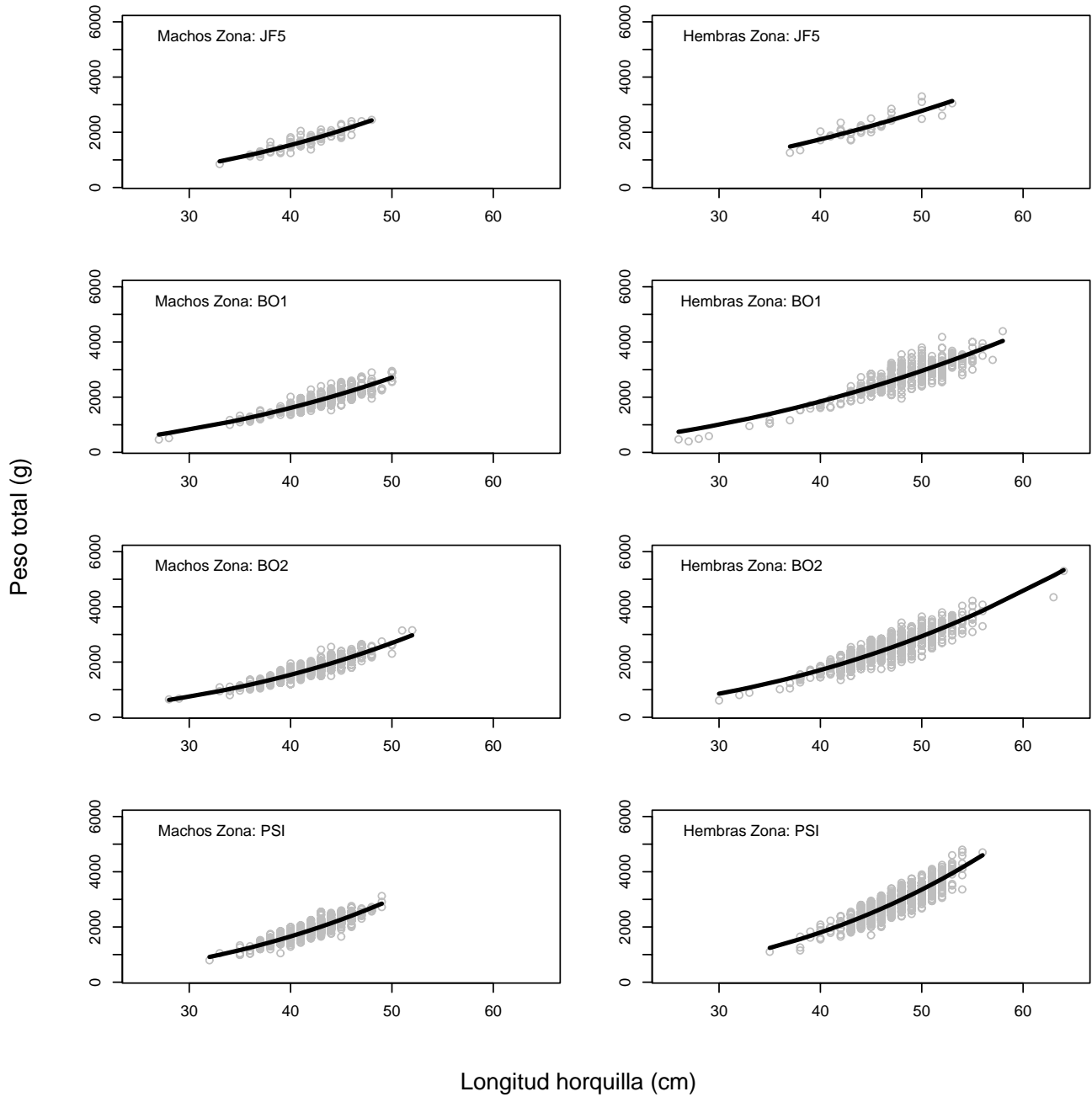


Figura 30: Relación peso talla de orange roughy por sexo para montes JF5, BO1, BO2 y PSI (2002-2006).

Distribución espacial

El análisis geo-estadístico de los lances de pesca indicó que el ajuste de modelos espaciales independientes para cada zona contribuyó escasamente a explicar la variabilidad de los datos, con valores del índice de Akaike (AIC) de 4983,6 y 4983,3 para los modelos nulo y por zona, respectivamente. Un modelo por zona y año presentó un ajuste incluso inferior (AIC=5020,5) al modelo general o por zona, indicando la ausencia de cambios significativos en los patrones de distribución espacial entre años, dentro de zonas. Sin perjuicio de lo anterior, nos ajustamos a la propuesta original y ajustamos modelos individuales para cada monte y año.

Los parámetros de los modelos espaciales ajustados para cada zona presentaron una alta variabilidad entre y dentro de zonas (Tabla 33), lo que indicó un bajo potencial de esta aproximación como herramienta de identificación de unidades poblacionales (al menos bajo la presente disponibilidad temporal y espacial de datos de captura). Los valores estimados para el rango, indicador del tamaño medio de las agregaciones de orange roughy, se encontraron entre 20 y 9.600 m, con similar variabilidad entre y dentro de zonas. Los estimados para la meseta (sill), equivalente a la varianza estimada para observaciones independientes, correspondieron a valores entre 0,5 y 4,5 $\text{ton}^2 \cdot \text{km}^{-4}$ (Tabla 33), sin indicación alguna de efectos significativos de la variable zona o de algún patrón temporal de interés.

Los rendimientos pesqueros (CPUE) y la proporción de lances exitosos mostraron diferencias significativas entre montes y una tendencia más bien decreciente en la mayoría de los montes analizados, con la excepción notable de JF1 (Tabla 33). La proporción de lances exitosos, por su parte, mostró una tendencia ascendente en todas las zonas (Tabla 33). Un análisis detallado de las tendencias por zona, se incluye a continuación.

Zona JF1

En el año 2003 sólo se obtuvo ocho observaciones positivas por lo que en este año no fue posible modelar la densidad y presencia del recurso mediante el modelo geoestadístico. Las densidades positivas y la probabilidad de observar el stock cambiaron substancialmente entre los años 2002, 2004 y 2005 (Figura 31), tanto en distribución espacial como en magnitud. En el año 2004 las densidades positivas se presentaron casi homogéneas y fueron de baja magnitud, mientras que en el 2005 estuvieron muy concentradas en el sector norte y alcanzaron valores muy altos (Figura 31). Una situación similar se observa con la probabilidad de observar el stock. El área efectiva del stock, por otro lado, se contrajo desde 2002 a 2004 y luego se expandió en 2005.

Zona JF2

También en esta zona hubo cambios interanuales substanciales en la distribución espacial del recurso, aunque no hubo grandes cambios en la magnitud de las densidades positivas (Figura 32). En los años 2002 y 2003 tanto la distribución de las densidades positivas como de las probabilidades de observar el stock fueron muy homogéneas, mientras que en 2004 y 2005 ambas variables se concentraron en la zona norte (Figura 32). El área efectiva del stock no cambió de manera consistente en los cuatro años de observación (Tabla 33).

Zona JF3

En los años 2003 y 2005 sólo se obtuvo 17 y 28 observaciones positivas, respectivamente, así que no fue posible aplicar el modelo geoestadístico. En los años 2002 y 2004 las distribuciones espaciales de las densidades positivas y de las probabilidades de observar el stock fueron homogéneas, sin cambios importantes entre los años (Figura 33). El área efectiva del stock de hecho aumentó entre el 2002 y el 2004 (Tabla 33).

Zona JF4

El stock presentó una distribución espacial homogénea en ambas variables, las densidades positivas y la probabilidad de observación, entre los años 2002 y 2004 (Figura 34). En el 2005 las densidades positivas se concentraron en la parte norte pero las probabilidades de observación permanecieron homogéneas (Figura 34). Consecuentemente, el área efectiva del stock no varió entre los años (Tabla 33).

Tabla 40: Parámetros de los modelos espaciales por zona y año: rango y meseta. CPUE: captura por lance efectivo; $p(C>0)$: probabilidad de lances efectivos; CPUE corregida: producto entre CPUE y $p(C>0)$; área efectiva: producto entre el área observada y $p(C>0)$.

Zona		Rango (km)	Meseta ($\text{ton}^2 \cdot \text{km}^{-4}$)	CPUE ($\text{ton} \cdot \text{lance}^{-1}$)	$p(C>0)$	CPUE corregida ($\text{ton} \cdot \text{lance}^{-1}$)	Area Observada (km^2)	Area efectiva (km^2)
JF1	2002	6.3	1.4	543	0,57	311	164	94
	2003			414				
	2004	0,11	4.9	239	0,63	149	144	96
	2005	7.6	1.4	1016	0,75	762	108	60
	2006			3101				
JF2	2002	0,02	2.61	968	0,63	613	128	81
	2003	0,16	4.57	756	0,70	527	112	78
	2004	2.67	1.72	625	0,74	462	172	127
	2005	9.71	0,54	282	0,78	219	116	90
	2006			99				
JF3	2002			591	0,52	309	88	46
	2003	0,11	2.14	1137				
	2004			931	0,67	627	104	70
	2005	1.09	0,14	374				
	2006			357				
JF4	2002	1.19	0,61	689	0,74	511	108	80
	2003			373	0,76	284	80	61
	2004	0,02	2.24	952	0,71	678	132	94
	2005	2.21	0,3	364	0,80	292	96	77
	2006			360				

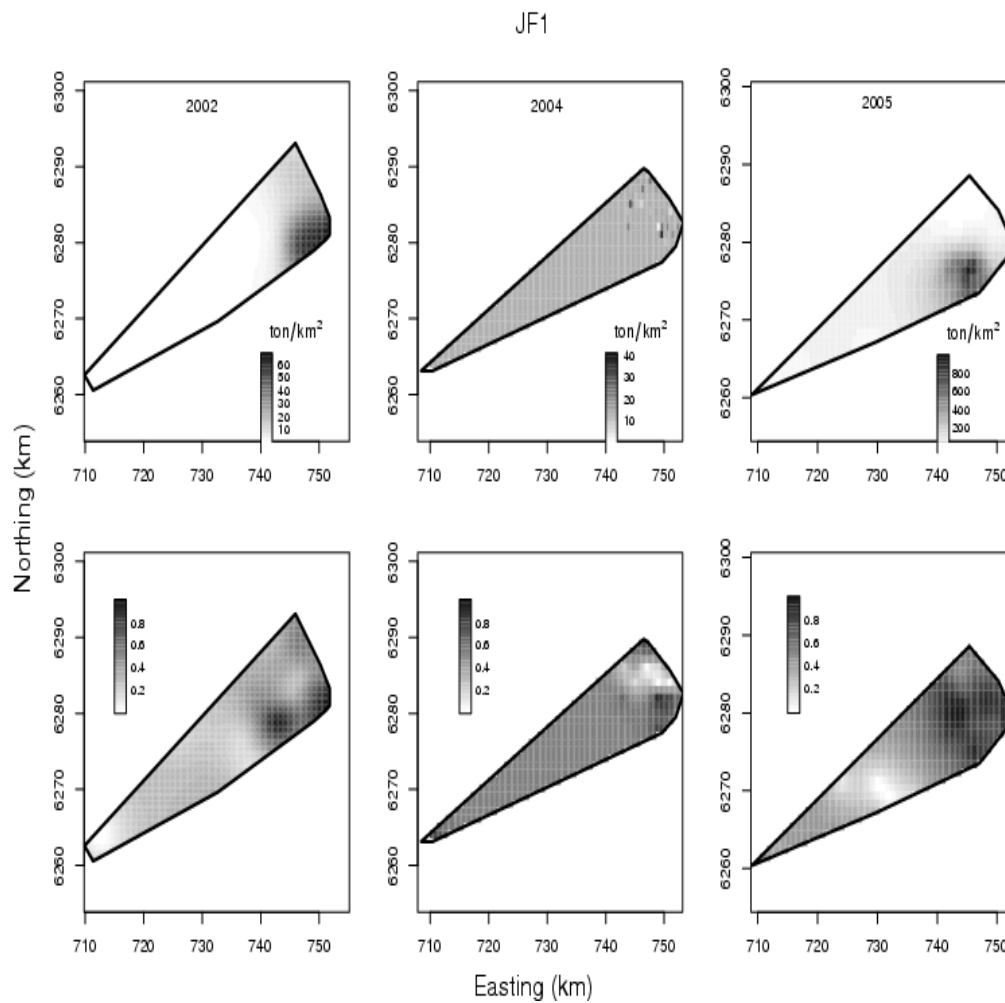


Figura 31: Distribución espacial de las densidades positivas (paneles superiores) y de la probabilidad de observar el stock en la zona JF1 (paneles inferiores) mediante un modelo geoestadístico basado en verosimilitud.

JF2

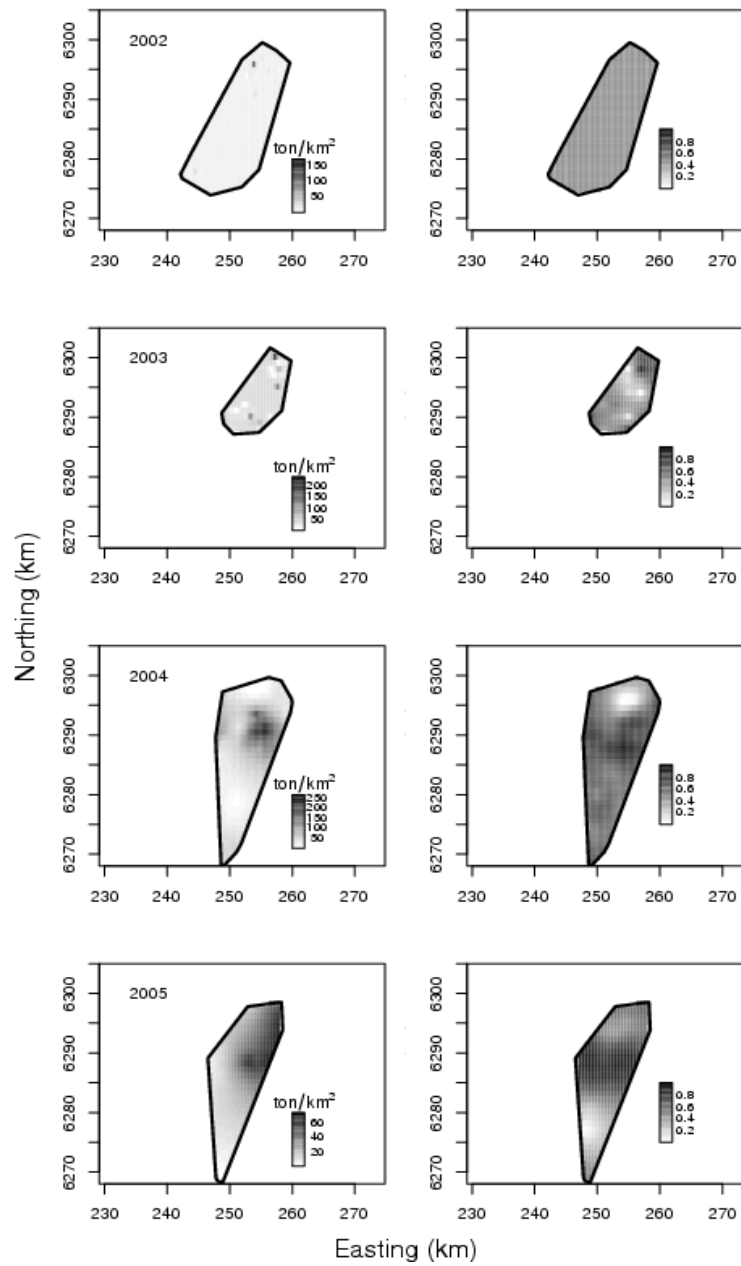


Figura 32: Distribución espacial de las densidades positivas (paneles izquierdos) y de la probabilidad de observar el stock en la zona JF2 mediante un modelo geoestadístico basado en verosimilitud.

JF3

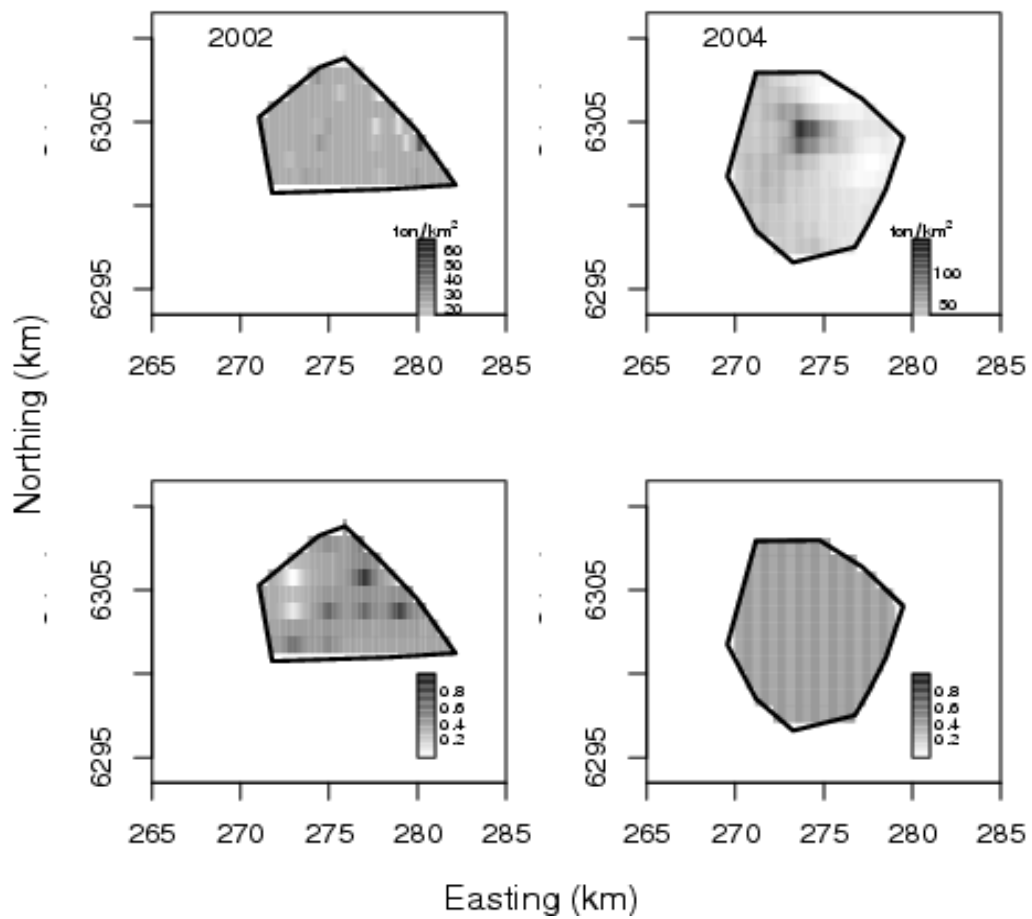


Figura 33: Distribución espacial de las densidades positivas (paneles superiores) y de la probabilidad de observar el stock en la zona JF3 mediante un modelo geoestadístico basado en verosimilitud.

JF4

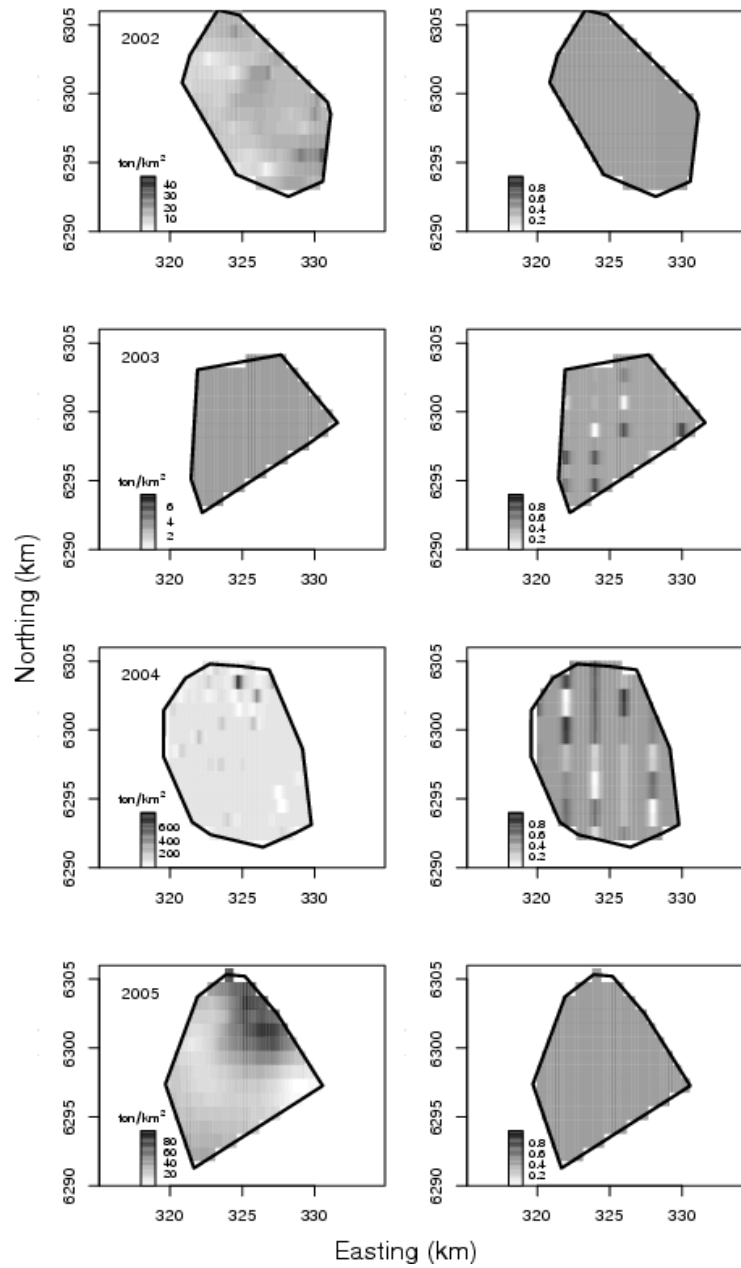


Figura 34: Distribución espacial de las densidades positivas (paneles izquierdos) y de la probabilidad de observar el stock en la zona JF4 mediante un modelo geoestadístico basado en verosimilitud.

DISCUSION

Tanto las relaciones de talla-peso como la estructura de tallas mostraron diferencias significativas entre montes, aunque los respectivos análisis de contrastes ortogonales arrojaron resultados que no fueron plenamente coincidentes entre ambos enfoques. El análisis de las relaciones de peso-talla, indicó diferencias entre los montes JF1, JF3, BO1-BO2 y PSI tanto para interceptos como para pendientes. Mientras que el monte JF4 no pudo ser diferenciado del par BO1-BO2, el monte JF2 presentó una pendiente aparentemente similar a la del monte JF3. Se debe destacar que los pares JF2-JF3 y BO1-BO2 son los que presentan la mayor cercanía geográfica del área de estudio (Figura 1).

En concordancia con las diferencias en talla media y estructura de tallas reportadas consistentemente para los montes del área de estudio (Boyer et al. 2003, Niklitschek et al. 2005, Niklitschek et al. 2007a, Niklitschek et al. 2007b), se identificó diferencias significativas en la composición de tallas de los montes JF1, JF2, JF3, JF4, el par BO1-BO2 (cuyos datos fueron combinados para los efectos de este análisis) y Punta Sierra. Es interesante notar una mayor proporción de tallas grandes en montes más profundos, como es el caso de JF3, Bajo O'Higgins y Punta Sierra.

Fue también posible evidenciar efectos significativos de la pesquería sobre la estructura de tallas de la fracción del(los) stock(s) presente(s) en las distintas zonas. Estas diferencias sugieren que la mezcla (migración) entre zonas sería limitada, dentro del horizonte evaluado de sólo cinco años. Llama la atención la insuficiente evidencia de diferencias significativas en los efectos de la pesquería sobre los montes JF1 y JF4, ya que estas son las dos zonas más distantes dentro del grupo de montes analizados en Juan Fernández. Por esta última razón, es más probable que se trate de problemas de tamaño muestral que de paralelismo en sus respuestas. En efecto, la operación pesquera sobre JF1 fue muy baja en 2003-2004, como lo fue en JF4 durante 2005-2006. Un caso distinto podría ser el de los efectos de la pesquería sobre la estructura de tallas del par JF2-JF3, donde tampoco se encontró evidencia suficiente para rechazar la hipótesis nula de stock único. En este caso, la gran cercanía geográfica de las dos zonas (Figura 1) y un número mayor de datos de talla y lances de pesca hace pensar en la posibilidad de un mayor nivel de intercambio de individuos que termine cancelando eventuales efectos diferenciales de la pesca.

El análisis efectuado no mostró efectos definidos de la presión de pesca ni sobre la relación peso talla, ni sobre la distribución espacial del stock, tanto en su densidad positiva media, como en su probabilidad de presencia. El modelamiento espacial por zona y año falló en mostrar patrones consistentes dentro de zonas o dentro de años para los parámetros de rango y meseta. Más aún, los modelos específicos para cada zona y año contribuyeron escasamente a explicar la varianza espacial de los datos, respecto de un modelo espacial general para todos los montes. Este conjunto de resultados indica una limitada capacidad de la aproximación empleada como herramienta para identificación de unidades poblacionales. En efecto, no tenemos conocimiento de la aplicación de una técnica similar para estos propósitos en la literatura.

La falta de consistencia interanual de los patrones de distribución espacial dentro de cada monte podría estar relacionada con un número limitado de datos (lances de pesca) efectuados y, posteriormente, validados para su análisis. Esto podría conjugarse con diferencias en el poder de pesca de los distintos barcos y patrones de pesca y con cambios en los patrones de distribución de la especie dentro de la estación seleccionada (invierno). Mientras que es muy difícil evaluar el efecto de los distintos binomios barco-patrón, dada la limitada disponibilidad de datos, existe

evidencia de que los patrones de distribución cambian en torno a eventos masivos de desove, donde se forman grandes agregaciones reproductivas cuya detectabilidad y capturabilidad aumenta (Niklitschek et al. 2007b).

Desde el punto de vista del hábitat, la especie posee un rango relativamente restringido de distribución batimétrica y se encontraría estrechamente relacionada con estructuras del fondo, tales como rocas, corales u otros refugios. Esto lleva a pensar que los patrones de distribución de la población estarán fuertemente definidos a nivel local por la topografía y conformación del fondo, y cambiarán rápidamente en la medida que los cardúmenes se desplacen dentro o entre las zonas de estudio. De esta manera el patrón de distribución espacial tendría un fuerte componente exógeno que podría enmascarar completamente propiedades inherentes a las distintas unidades poblacionales, si las hubiera.

Composición de la fauna parasitaria de los montes submarinos de Juan Fernández y entre el sector Juan Fernández y Bajo O'Higgins. (SOBREOFERTA)

Mario George-Nascimento¹, Karen Gonzalez¹, David Moscoso¹, Alejandra Lafon².

¹Universidad Católica de la Santísima Concepción; ²Universidad Austral de Chile.

INTRODUCCION

El uso de parásitos en estudios poblacionales de peces marinos consiste, en forma primordial, en la comparación de la magnitud de la parasitosis entre hospedadores específicos provenientes de muestras tomadas en distintas localidades geográficas, y en la interpretación biológica adecuada de los hallazgos. El uso de este método ha sido revisado en varias oportunidades, y actualmente es parte normal de cualquier protocolo de estudio de poblaciones de peces marinos (MacKenzie 1987, Lester 1990, Williams et al. 1992, Arthur 1997, Mosquera et al. 2000, MacKenzie 2002, Mackenzie et al. 2008).

El método parasitológico ha sido aplicado a un amplio espectro de especies de hospedadores y localidades geográficas. En la costa del Océano Pacífico suroriental (Chile-Perú) se han publicado estudios atinentes en *Trachurus murphyi*, *Engraulis ringens*, *Merluccius gayi*, *Merluccius australis* (MacKenzie 2002, Chávez et al. 2007). En el Océano Atlántico del hemisferio Sur, el uso de los parásitos como marcadores biológicos ha sido aplicado en *Scomber japonicus*, *Engraulis anchoita*, *Merluccius hubbsi* y *Cynoscion guatucupa* (Timi 2007). La última especie fue estudiada en un espectro geográfico más amplio, que incluyó muestras de Uruguay y Brasil y se encontró que los patrones de distribución de los parásitos marinos están determinados principalmente por los perfiles de temperatura y salinidad y por su asociación con masas de agua específicas. Los patrones de distribución de especies en gradientes latitudinales u oceanográficas resultaron evidentes para algunas especies, lo que parece asociado a características oceanográficas lo que a su vez determina la distribución y características de composición del zooplancton en masas de agua específicas. El gradiente en la distribución de los parásitos determina la composición diferencial de sus comunidades a diferentes latitudes, esto hace posible la identificación de diferentes stocks de sus peces hospedadores.

El método parasitológico también considera el empleo de análisis genético de los propios parásitos para usarlos como marcadores en la caracterización de stocks en peces pelágicos y demersales (Mattiucci et al. 2007). Los resultados más recientes tratan de especies de *Anisakis* spp. al estado larval en peces, analizadas mediante marcadores aloenzimáticos en una especie demersal (*Merluccius merluccius*), y en dos especies pelágicas, una pequeña (*Trachurus trachurus*) y otra de gran tamaño corporal (*Xiphias gladius*). Siete especies de *Anisakis* fueron identificadas en las tres especies de peces. El análisis discriminante canónico realizado en todas las muestras que cubren su distribución geográfica de las tres especies de peces recolectados de las diferentes especies de *Anisakis* identificadas, reveló la existencia de distintas poblaciones de estos peces en aguas de Europa. En las tres especies de peces hospedadores, el patrón de distribución de las larvas de *Anisakis* permitió la discriminación de stocks del Mediterráneo y stocks del Atlántico

El efecto del cambio ambiental en los parásitos del bacalao del Atlántico (*Gadus morhua*) como bioindicadores de poblaciones en el océano Atlántico noroeste es un aporte al método parasitológico que destaca la naturaleza dinámica de este método (Khan 2007). Es decir, que las

“marcas” pueden cambiar con los años. Por ejemplo, estudios conducidos en la década de los 80 sugerían que los parásitos eran útiles para distinguir poblaciones adyacentes del bacalao del noroeste del Atlántico *Gadus morhua*. Durante la mitad de esa década, las poblaciones de bacalao empezaron a declinar, lo que culminó en el cierre de la pesquería en 1992. El marcado decrecimiento del bacalao en la costa del Labrador coincidió con cambios climáticos, incluyendo una disminución de la temperatura del fondo del mar, y una virtual ausencia de su principal ítem presa, el capelín *Mallotus villosus*. Se sostiene que dichos cambios en algunos componentes del ecosistema fueron independientes de influencias antropogénicas. Un examen inicial de los parásitos del bacalao de la costa del Labrador en Canadá en el año 2000 mostró una dramática disminución de la abundancia de parásitos metazoos y un cambio en dominancia de las especies de Digenea, en comparación con 1980–1981. Los resultados de dicho estudio sugieren que los cambios ambientales en la trama trófica afectaban la abundancia de parásitos metazoos sólo en la costa del Labrador pero no afectaba la posibilidad de usar a los parásitos como herramientas para distinguir entre poblaciones del bacalao que habitan en el golfo de St. Pierre Banks.

Avances metodológicos recientes de este tipo de estudios son el análisis de la variabilidad local de los parásitos metazoos de la anchoveta *Engraulis ringens* en el norte de Chile (Chávez et al. 2007), y la necesidad de establecer planes y diseños de muestreo que permitan discernir la escala espacial relevante para la especie de hospedador en estudio (Ferrer-Castelló et al. 2007). Como se expuso, casi todos los estudios publicados acerca del uso de los parásitos como marcadores biológicos evalúan las diferencias entre localidades geográficas. Sin embargo, la variabilidad local de las comunidades parasitarias no había sido evaluada anteriormente. En dicho estudio se evaluó si la variación local de la fauna de parásitos metazoos de la anchoveta *E. ringens* con muestras tomadas de cinco lances de dos localidades cercanas en el norte de Chile, podían constituir un factor de sesgo en la identificación de stocks. Dicho estudio mostró que la variabilidad local, estimada por una muestra única, puede ser suficiente para representar la variabilidad de la comunidad componente, sin mayor necesidad de otras réplicas de los datos.

Los estudios en parásitos como marcadores de poblaciones de peces a menudo se usan sobre una única ronda de muestreo para identificar posibles stocks o para predecir las localidades de captura. Sin embargo, la falta de replicación genera pseudo-replicación, al asumir implícitamente que los niveles de infección son más similares entre muestras de una misma localidad que entre muestras de localidades diferentes. Este supuesto fue evaluado usando como modelo a la especie *Mullus surmuletus* en tres localidades del mar Mediterráneo español separadas aproximadamente por 300 km. Se tomó muestras de 25 peces de tamaño similar en cada localidad, en el verano y en el otoño de dos años consecutivos. La prevalencia y abundancia de tres taxa parasitarios de larga vida eran significativamente diferentes entre localidades, por tanto fueron considerados potenciales indicadores de stocks. Sin embargo, un análisis de clasificación para la prevalencia y un MANOVA para la abundancia indicaban una fuerte variabilidad entre muestras, incluso dentro de una misma localidad, con una pobre segregación espacial entre las muestras. Un análisis discriminante lineal (LDA) basado en la abundancia de 17 taxa parasitarios asignó correctamente a más del 80% de los peces a su localidad de origen. Sin embargo, cuando se usó los datos del primer año de estudio para predecir los del segundo año de estudio el poder predictivo decayó drásticamente (46% de asignaciones correctas).

Finalmente, uno de los estudios más acabados es el de variaciones espaciales y temporales en la prevalencia y estructura de las infracomunidades de parásitos del arenque (*Clupea harengus* L.) capturados al este de las islas Británicas, en el mar del Norte y en el mar Báltico (Campbell et al. 2007). En este estudio sólo se examinó las vísceras del arenque para un proyecto multidisciplinario en el que se aplicó una diversidad de técnicas de discriminación de stocks

aplicados a los mismos individuos para obtener resultados comparables para análisis multivariados. Se muestreó individuos adultos desovantes, no desovantes y juveniles durante tres años, con muestras obtenidas desde numerosas localidades por embarcaciones de la flota comercial, al oeste de UK e Irlanda, junto con muestras “control” de peces desovantes del este del mar Báltico, y juveniles desde sitios en el este y oeste del mar del Norte y del norte de Noruega. Se encontró que las metacercarias de dos Digenea (*Cercaria pythionike* y *Cercaria doricha*), y del nematodo larval (*Anisakis simplex* s.s.) y una larva de cestodo (*Lacistorhynchus tenuis*) eran especies adecuadas para ser usadas como marcas. Los resultados fueron comparados con datos obtenidos entre 1973 y 1982, y sugerían una destacable estabilidad de la fauna parasitaria del arenque en esa zona de estudio. Estas especies fueron usadas para comparar las infracomunidades de parásitos de arenques desovantes, y se encontró una variación significativa en la estructura de las infracomunidades en diferentes áreas de desove. Dichos resultados sugieren que la fauna de parásitos del arenque es espacialmente variable pero es temporalmente estable en el corto y en el largo plazo. Con estos resultados se pudo separar stocks putativos al oeste de las islas Británicas, en el que el arenque desovaría en aguas de tres unidades de manejo distintas del ICES, con significativas implicancias para el manejo en esta área.

MATERIALES Y MÉTODOS

Dado que la licitación del proyecto fue cercana al término de la temporada de pesca 2006 y desde el 2007 la pesquería de orange roughy se encuentra sujeta a una medida de administración de veda biológica, sólo se pudo obtener muestras de los montes JF3 y JF4, aledaños al archipiélago Juan Fernández (33 muestras provenientes de JF3 y 16 de JF4). Considerando esta situación, se evaluó para cada monte la variabilidad interanual en el contenido parasitario y dieta, contrastando los resultados del análisis de éstos con los de otros 94 muestreados en el año 2005. Esta información complementó los antecedentes obtenidos en el proyecto FIP 2005-13, que incluyó cuatro montes submarinos cercanos al Archipiélago Juan Fernández y uno del sector Bajo O'Higgins.

A cada ejemplar se le determinó el peso corporal total (g), longitud total y longitud estándar (cm), cuando fue posible (había ejemplares incompletos). Para el análisis del contenido estomacal se empleó las siguientes relaciones porcentuales:

- Frecuencia numérica (N%) = número total de individuos de cada categoría de alimento expresado como porcentaje del total de individuos en todas las categorías.
- Frecuencia de ocurrencia (F%) = número de estómagos que contiene uno o más individuos de una categoría de alimento, expresado como porcentaje del total de estómagos con contenido estomacal.

Los datos parasitarios contemplaron la determinación de los descriptores básicos (prevalencia y abundancia) para cada taxon y zona de pesca. Además, en cada infracomunidad (conjunto de taxa parasitarios en cada individuo hospedador), se calculó la abundancia total de parásitos, la diversidad y la dominancia (según índice de Brillouin). Luego, se usó pruebas de Chi-cuadrado para evaluar la significancia estadística de las diferencias en prevalencia de cada taxón entre zonas de pesca, y análisis de la varianza de dos vías de la abundancia de cada taxón y del total de parásitos, la riqueza taxonómica, la diversidad y la dominancia de los taxa en las infracomunidades, con la zona de pesca y el año de muestreo como factores de efecto fijo.

Las variaciones en la composición de los ensambles de parásitos encontrados en cada individuo hospedador fueron resumidas mediante un análisis de correspondencia sobre el vector de

abundancias relativas, y un posterior análisis de la varianza de los puntajes de la ordenación, con las zonas y año de pesca como variables independientes. Posteriormente se realizó una regresión lineal entre el peso y el puntaje de cada infracomunidad en el primer eje de la ordenación y se aplicó un análisis de la varianza de dos vías, de los residuos de dicha regresión, con la zona de pesca y año de muestreo como efectos fijos.

Finalmente, se usó análisis discriminantes lineales simples (ADL) para confrontar las asignaciones de los ejemplares a cada una de las cuatro muestras consideradas según año y zona de pesca (JF3-2005, JF3-2006, JF4-2005 y JF4-2006). En todos los ADL se consideró que las probabilidades de pertenecer a cada grupo era proporcional a su representación en el conjunto de grupos. En una etapa posterior del ADL se empleó un método paso a paso para seleccionar un subconjunto de los predictores que satisficiera un nivel de significancia igual a $P < 0,05$ para entrar al modelo.

En uno de los ADL se usó como variables independientes el $\log_{10}(x+1)$ de la abundancia (x) de cada uno de los siguientes ocho taxa, seleccionados por ocurrir en general, en ambos años: *Diclidophoridae*, *Hemiuridae*, *Ascarophis* sp., *Anisakis* I, *Anisakis* II, *Terranova* sp., *Grillotia* sp., y Muertos. El empleo de la transformación al $\log_{10}(x+1)$ de la abundancia de cada taxon se fundamenta en la necesidad de tratar de normalizar la altamente dispersa distribución de los datos y así cumplir con los supuestos del análisis. Se usó como criterio de normalidad el entregado por la prueba Kolmogorov-Smirnov, y como criterio de “outlier”, aquel dato que estaba más allá de 1,96 errores estándar de la media aritmética de su grupo.

En otro ADL se usó seis descriptores numéricos de las infracomunidades de parásitos: la abundancia total de parásitos, la diversidad, la dominancia, la proporción de parásitos muertos, el puntaje de las infracomunidades en el primer eje de la ordenación antes mencionada, y la densidad de parásitos, calculada como la abundancia total dividida por el peso corporal del hospedador.

RESULTADOS

El ANDEVA del peso corporal de los peces mostró diferencias no significativas entre zonas de pesca (Figura 35, $p = 0,12$), pero significativas entre años ($p = 0,048$). En este último análisis se encontró que los ejemplares muestreados el año 2006 eran levemente más pesados que los muestreados el año 2005.

Dieta

En siete de los 49 estómagos examinados en las dos zonas de pesca muestreadas en el año 2006 había restos alimentarios. Dos de ellos eran de ejemplares recolectados en JF3 (vértebras de peces), y el resto correspondió a muestras de JF4 (*Mastigoteuthis aggasizi*, *Oplophorus novaezeelandiae*, *Pyroteuthis margaritifera*, y restos de peces). En ellos se individualizó ocho presas pertenecientes a cuatro taxa (Tabla 41), las que ya habían sido registrados en estudios previos (Labbé & Arana 2001).

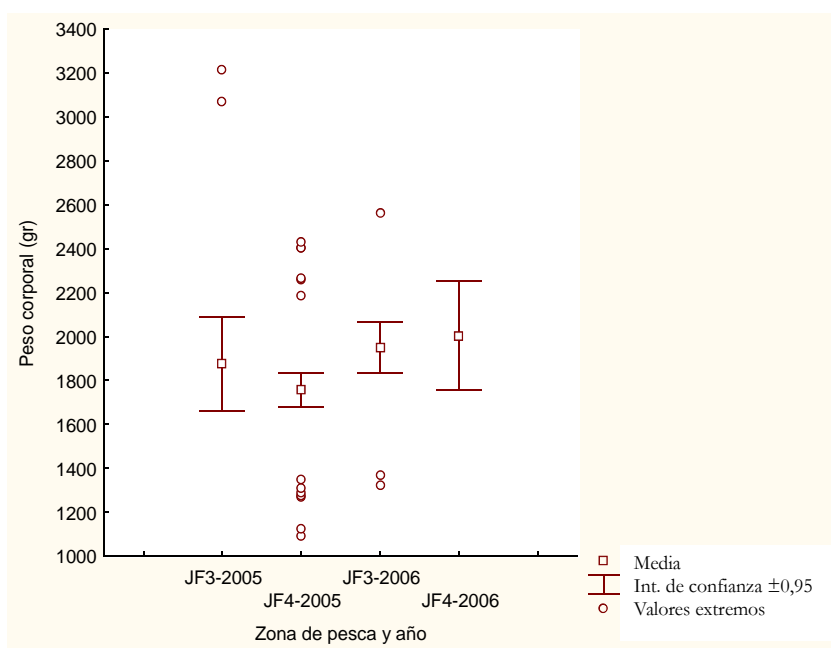


Figura 35: Diagramas Box-plot del peso corporal de ejemplares de orange roughy muestreados en 2005 y 2006 en JF3 y JF4 (Los tamaños muestrales son: JF3-2005= 31, JF4-2005 = 63, JF3-2006 = 33, JF4-2006 = 16).

Tabla 41: Contenido estomacal de orange roughy (*Hoplostethus atlanticus*): N° de presas (N), frecuencia porcentual de ocurrencia (F%) y n° de estómagos con contenido estomacal por zona de pesca (n)

AÑO	JF3 2005 (n= 3)		JF4 2005 (n= 8)		JF3 2006 (n=5)		JF4 2006 (n= 2)	
	N	F(%)	N	F(%)	N	F(%)	N	F %
CRUSTACEA								
<i>Oplophorus novaezeelandiae</i>	0	0	1	12,5	1	20,0	0	0,0
Restos no identificados de crustáceos	0	0	0	0	0	0,0	0	0,0
CEPHALOPODA								
<i>Brachioteuthis picta</i>	0	0	1	12,5	0	0,0	0	0,0
<i>Mastigoteuthis aggasizi</i>	2	66,7	2	25,0	1	20,0	0	0,0
<i>Vampiroteuthis infernalis</i>	0	0	3	37,5	0	0,0	0	0,0
<i>Euclideanus luminosa</i>	2	66,7	0	0	0	0,0	0	0,0
<i>Pyroteuthis margaritifera</i>	0	0	0	0	2	40,0	0	0,0
Restos no identificados de Teuthoidea	0	0	0	0	0	0,0	2	100,0
PISCES								
<i>Chauliadas vasnetzovi</i>	0	0	0	0	0	0,0	0	0,0
<i>Hygophum</i> sp.	0	0	0	0	0	0,0	0	0,0
<i>Lestidiopss</i> sp.	0	0	1	12,5	0	0,0	0	0,0
Stomiformes	0	0	1	12,5	0	0,0	0	0,0
Restos no identificados de peces	0	0	0	0	2	40,0	0	100,0

Parasitismo

Los 49 ejemplares provenientes de las muestras del año 2006 estaban parasitados. En ellos se recolectó 3.770 individuos, y se encontró ocho de los diez taxa encontrados en el año 2005 en dichas zonas de pesca (Tabla 42). La comparación de las prevalencias entre zonas de pesca mostró ausencia de diferencias significativas para cada taxon, excepto para Dicliphoridae ($p=0,023$, Tabla 42) que resultó ser mayor para JF3.

En el conjunto de los ejemplares examinados (Tabla 43), tendió a haber más larvas de *Anisakis* I, *Anisakis* II, *Terranova*, abundancia total, densidad numérica y diversidad en ejemplares con mayor peso corporal ($n=143$, $p<(0,05)$). La dominancia, en cambio, disminuyó con el peso corporal ($r=-0,26$, $p<(0,05)$). De este modo se detectó diferencias significativas en la composición de las infracomunidades parasitarias según el peso corporal de los hospedadores, al ser medida como abundancia relativa de los taxa parasitarios ($r=0,26$, $p<(0,05$, $n=143$, Figura 36). Sin embargo, las infracomunidades de parásitos del orange roughy son muy parecidas ya que la extensión del primer gradiente composicional no es mayor que 2,4 desviaciones estándar (valor propio del primer gradiente composicional = 0,162, Figura 37).

Tabla 42: Prevalencia (P%) y abundancia (A) de 10 taxa de parásitos encontrados en 143 ejemplares de orange roughy (*Hoplostethus atlanticus*) provenientes de dos zonas de pesca alrededor del Archipiélago de Juan Fernández, muestreadas en los años 2005 y 2006

Parásitos	2005				2006			
	JF3		JF4		JF3		JF4	
	(n=31)		(n=63)		(n=33)		(n=16)	
	P %	A	P %	A	P %	A	P %	A
ECTOPARÁSITOS								
Dicliphoridae	58,1	4,2	39,7	2,3	21,2	0,7	0,0	0,0
ENDOPARÁSITOS ADULTOS								
Hemiuridae	25,8	0,4	7,9	0,1	15,2	0,2	12,5	0,1
<i>Ascarophis</i> sp.	100,0	18,2	100,0	14,3	90,9	12,5	100,0	13,2
<i>Anisakis</i> I	100,0	29,7	100,0	22,4	100,0	24,5	100,0	32,1
<i>Anisakis</i> II	96,8	27,9	96,8	12,4	100,0	21,4	100,0	26,6
<i>Terranova</i> sp.	96,8	29,3	96,8	22,3	97,0	20,1	100,0	26,4
<i>Grillotia</i> sp.	0,0	0,0	4,8	0,2	3,0	0,1	6,2	0,1
Muertos	100,0	108,0	100,0	74,2	93,7	32,9	97,0	38,3
Total	100,0	217,7	100,0	148,2	100,0	112,4	100,0	136,8

Tabla 43: Peso corporal (g), abundancia total (\log_{10}), diversidad, dominancia y composición de las infracomunidades de parásitos encontrados en 143 ejemplares de orange roughy (*Hoplostethus atlanticus*) provenientes de dos zonas de pesca alrededor del Archipiélago de Juan Fernández, años 2005 y 2006.

Variables	2005				2006			
	JF3		JF4		JF3		JF4	
	(n=31)		(n=63)		(n=33)		(n=16)	
	Promedio	d.e.	Promedio	d.e.	Promedio	d.e.	Promedio	d.e.
Peso corporal (g)	1.876	582	1.758	310	1.950	322	2.004	466
Abundancia total (\log_{10})	1,979	0,239	1,835	0,175	1,864	0,177	1,956	0,200
Diversidad	1,263	0,145	1,164	0,176	1,649	0,165	1,663	0,173
Dominancia	0,373	0,079	0,427	0,103	0,142	0,096	0,140	0,096
Composición	72	25	65	30	106	30	111	29

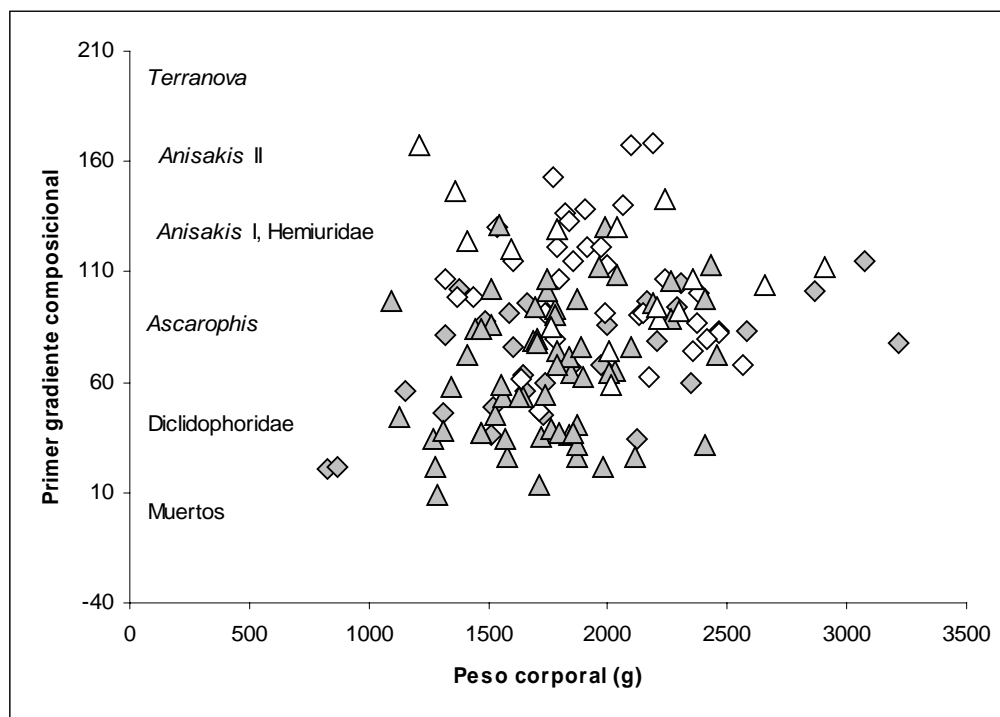


Figura 36: Relación entre el primer gradiente composicional de las infracomunidades de parásitos de *Hoplostethus atlanticus* según año y zona de pesca expresado en unidades de desviación estándar x 100, y el peso corporal de los huéspedes (g), (rombo gris: JF3, 2005, rombo blanco: JF3, 2006, triángulo gris: JF4, 2005, triángulo blanco: JF4, 2006).

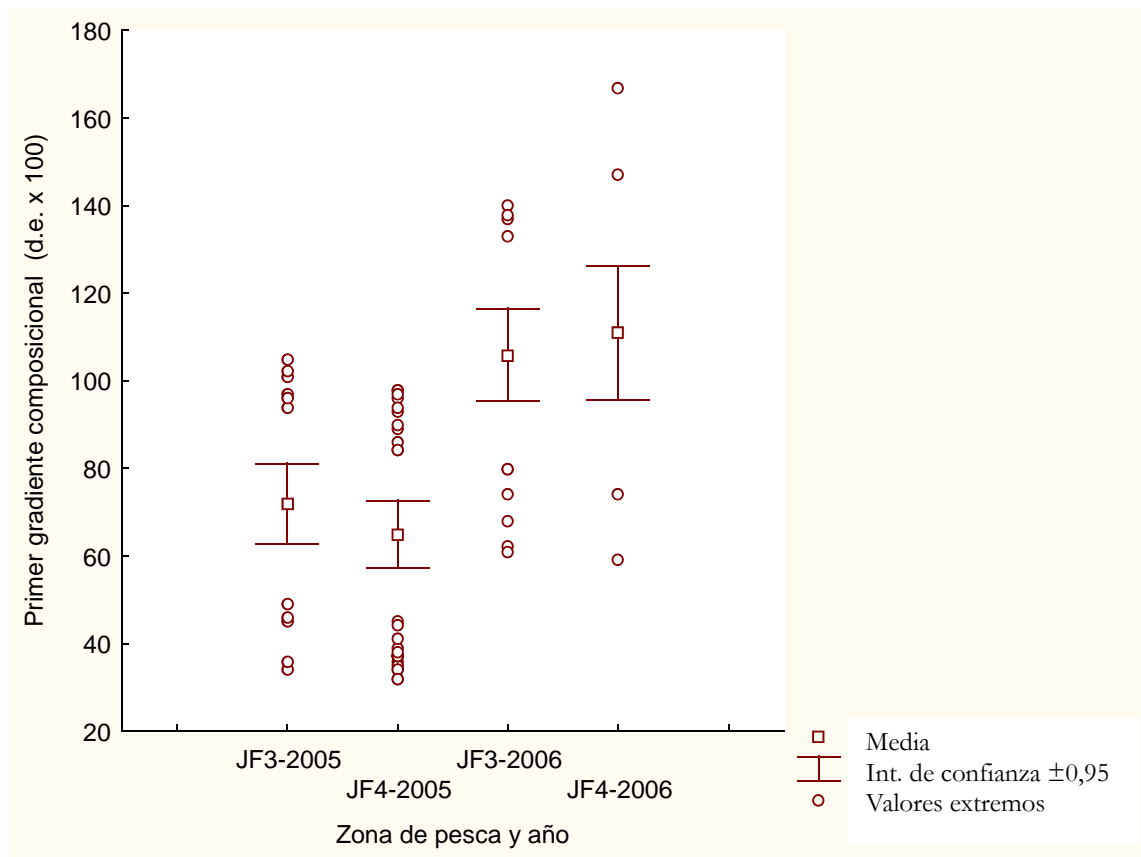


Figura 37: Diagramas Box-plot del primer gradiente composicional de las infracomunidades de parásitos de orange roughy muestreados en 2005 y 2006 en JF3 y JF4. Los tamaños muestrales son: JF3-2005= 31, JF4-2005 = 63, JF3-2006 = 33, JF4-2006 = 16.

No se encontró diferencias significativas entre las zonas de pesca en los ANDEVAs de la abundancia de cada taxon y abundancia total (Figura 38), excepto en el caso de *Anisakis* II que era más abundante en JF3 ($p < 0,004$), y del número de parásitos muertos que era mayor en JF4 ($p < 0,05$). Los descriptores numéricos de las infracomunidades de parásitos que resultaron distintos entre zonas de pesca fueron la composición (Figura 37, $p < (0,003)$), la diversidad (Figura 40, $p < < 0,001$), la dominancia (Figura 41, $p < 0,001$), y la proporción de parásitos muertos ($p < (0,05)$). Al comparar entre años, se encontró que la abundancia de Diclidophoridae ($p < (0,0001$, Figura 10) y la de parásitos muertos ($p < (0,001)$ fueron mayores en el año 2005.

El análisis discriminante efectuado sobre la composición de las infracomunidades parasitarias mostró una mayor tasa de asignaciones correctas (74%) cuando fue efectuado sobre los descriptores numéricos de las infracomunidades que cuando fue efectuado sobre la abundancia relativa de cada taxón (λ de Wilks = 0,4544, $p < (0,0001$, Tabla 44).

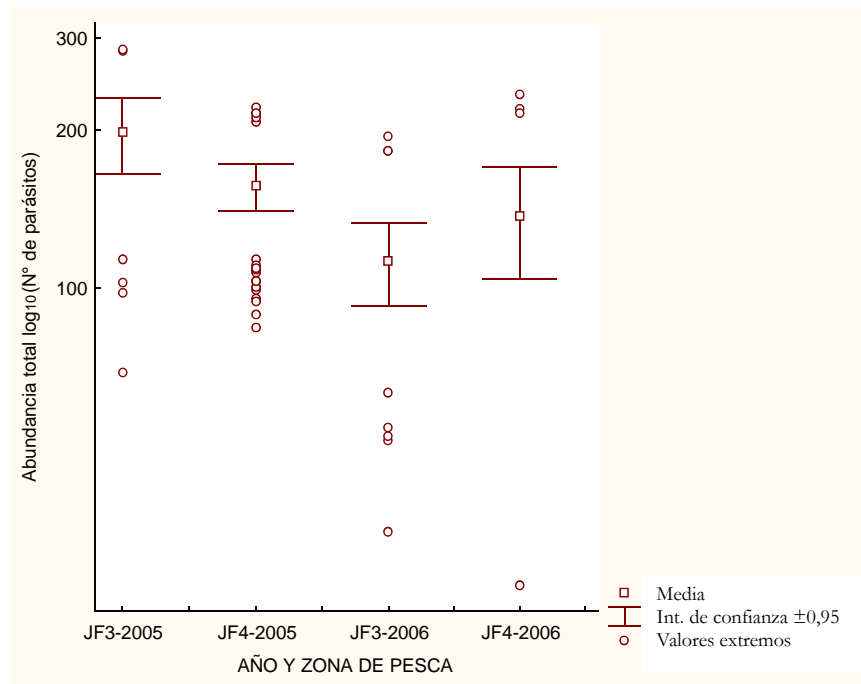


Figura 38: Diagramas Box-plot de la abundancia total de parásitos de 143 ejemplares de orange roughy muestreados en 2005 y 2006 en JF3 y JF4. Los tamaños muestrales son: JF3-2005= 31, JF4-2005 = 63, JF3-2006 = 33, JF4-2006 = 16.

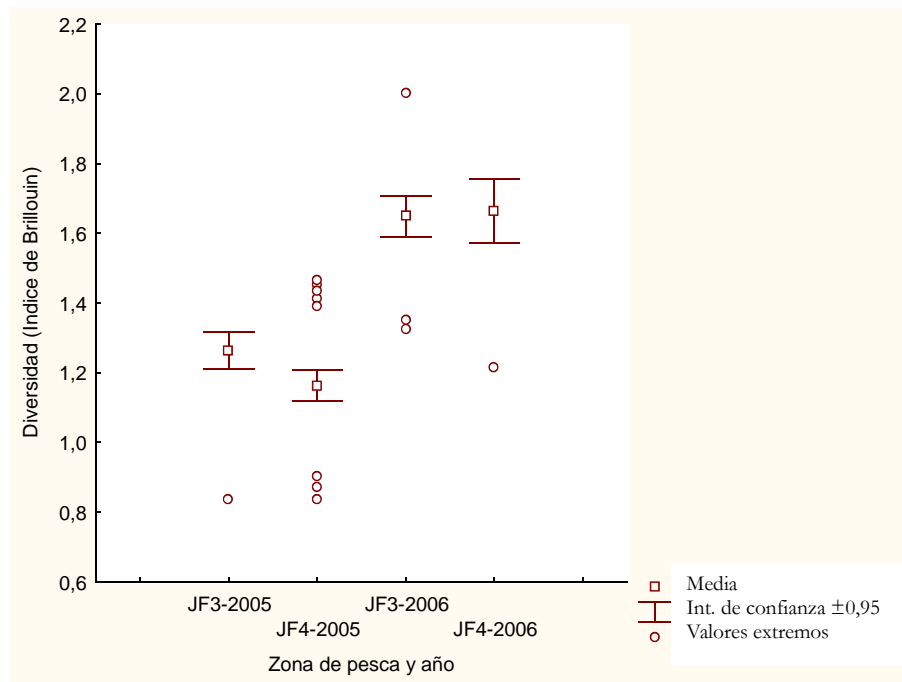


Figura 39: Diagramas Box-plot de la diversidad de parásitos de 143 ejemplares de orange roughy muestreados en 2005 y 2006 en JF3 y JF4. Los tamaños muestrales son: JF3-2005= 31, JF4-2005 = 63, JF3-2006 = 33, JF4-2006 = 16.

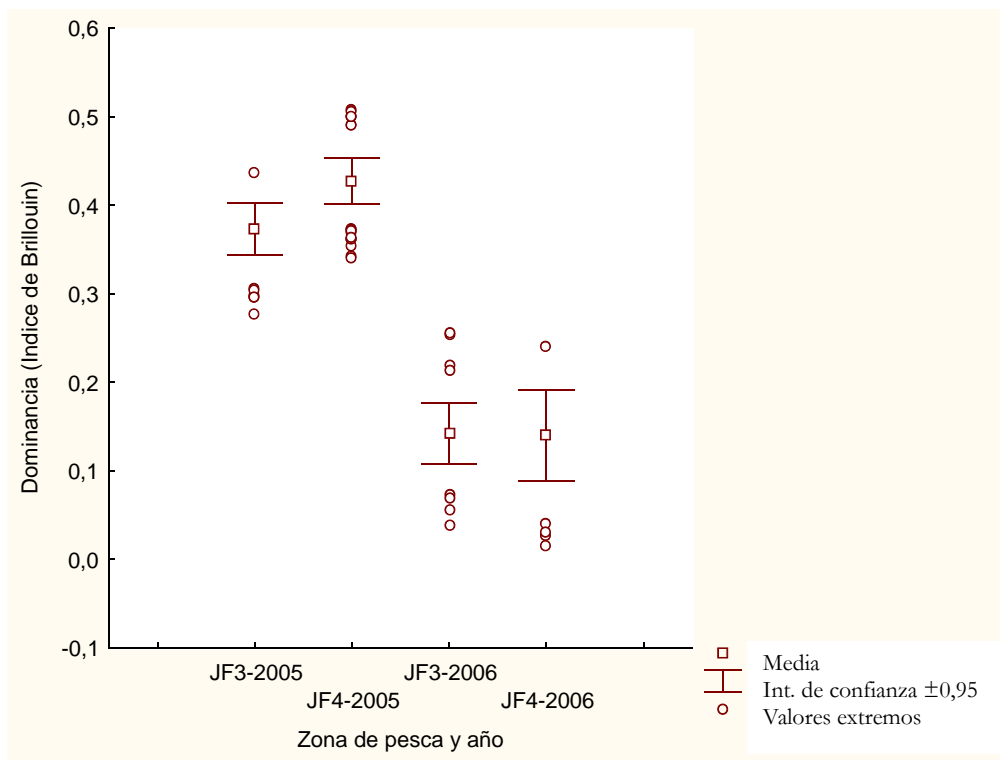


Figura 40: Diagramas Box-plot de la dominancia de parásitos de 143 ejemplares de orange roughy muestreados en 2005 y 2006 en JF3 y JF4.

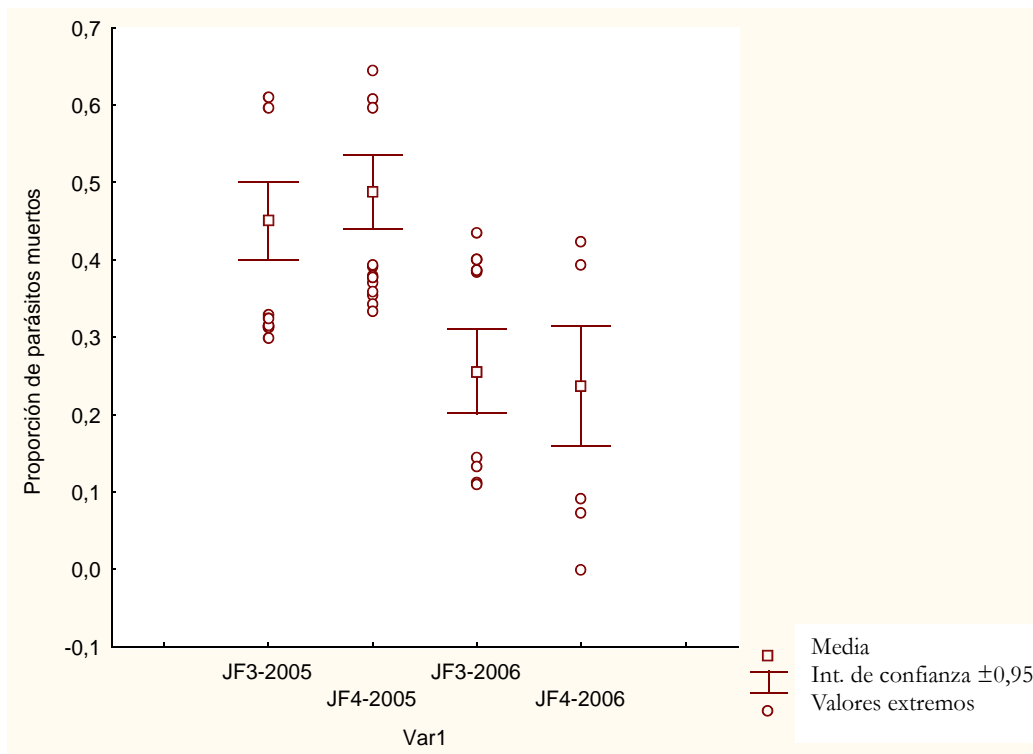


Figura 41: Diagramas box-plot de la proporción de parásitos muertos de 143 ejemplares de orange roughy muestreados en 2005 y 2006 en JF3 y JF4. Los tamaños muestrales son: JF3-2005=31, JF4-2005=63, JF3-2006=33, JF4-2006=16.

Tabla 44: Clasificación de los ejemplares de orange roughly de 4 muestras según un análisis discriminante simple realizado sobre a) la composición de los ensamblajes de 8 taxa parasitarios encontrados en 143 individuos hospedadores, y b) los valores de 6 descriptores cuantitativos de las infracomunidades.

a)

	% correcto	JF3- 2005	JF4- 2005	JF3- 2006	JF4- 2006	Total
JF3-2005	52	16	15	0	0	31
JF4-2005	92	5	58	0	0	63
JF3-2006	93	1	0	29	1	33
JF4-2006	20	0	0	12	3	16
Total	74	22	73	41	4	143

b)

	% correcto	JF3- 2005	JF4- 2005	JF3- 2006	JF4- 2006	Total
JF3-2005	48	15	15	1	0	31
JF4-2005	81	4	51	7	1	63
JF3-2006	67	3	8	22	0	33
JF4-2006	25	2	3	7	4	16
Total	64	24	77	37	5	143

En el modelo algebraico (Tabla 45), la primera variable canónica dió cuenta del 76,95% de la varianza entre muestras, y la segunda del 15,99%, por lo que en conjunto explican el 92,94%. El coeficiente de determinación (R^2) asociado a *Diclidophoridae* es 0,119 ($p < (0,0005)$), el de *Anisakis* II es 0,1031 ($p < (0,01)$), y el del número de parásitos muertos es 0,2914, ($p < (0,0001)$). En gran medida, estos son los patrones que se observan en la Figura 36, resultantes de la ordenación de las infracomunidades con análisis de correspondencia. En el análisis de correlación de cada una de los ocho taxa parasitarios con las dos primeras funciones discriminantes (Tabla 46) se aprecia que los taxa asociados significativamente a la primera función discriminante son *Diclidophoridae* y abundancia de parásitos muertos, en tanto que la abundancia de *Anisakis* II es la predominante en la segunda función discriminante.

El análisis discriminante efectuado sobre los seis descriptores cuantitativos de las infracomunidades (puntaje en el primer eje de AC, abundancia total, diversidad, dominancia, proporción de parásitos muertos y densidad de parásitos) mostró que la primera variable canónica da cuenta del 93,05% de la varianza entre muestras, y la segunda del 6,69%, por lo que en conjunto explican el 99,75% (λ de Wilks=0,4544, $p < (0,0001)$). El coeficiente de determinación (R^2) asociado a la dominancia es 0,67 ($p < (0,0005)$), el de diversidad es 0,66 ($p < 0,0001$), composición es 0,30, ($p < (0,0001)$), y el de la proporción de parásitos muertos es 0,29 ($p < (0,0001)$). Al analizar la correlación de cada una de las variables con las dos primeras funciones discriminantes, se aprecia que la diversidad y la dominancia están significativamente asociadas a la primera función discriminante, aunque con signos opuestos (Tabla 47). En el modelo algebraico utilizado, las funciones de clasificación para cada una de las muestras se señalan en la Tabla 48.

Tabla 45: Funciones de clasificación de ocho taxa parasitarios de *H. atlanticus* para cada una de las cuatro muestras consideradas.

Variables	2005		2006	
	JF3	JF4	JF3	JF4
Constante	-39,609	-34,793	-29,948	-37,661
Diclidophoridae	-0,758	-1,448	-2,935	-4,280
<i>Anisakis 1</i>	23,996	23,846	24,190	27,654
<i>Anisakis 2</i>	-3,156	-4,608	-1,564	2,229
<i>Ascarophis</i>	12,394	11,189	10,566	11,727
<i>Terranova</i>	9,717	8,951	8,095	9,503
Hemiuridae	-10,645	-13,168	-11,323	-13,415
<i>Grillotia</i>	1,034	3,149	0,039	-1,202
Muertos	10,060	10,313	5,637	5,733

Tabla 46: Coeficientes de correlación de la abundancia de cada uno de los ocho taxa parasitarios con las dos primeras funciones discriminantes.

Variable	1 ^{er} eje Canónico	2 ^o eje Canónico
Diclidophoridae	0,456	0,324
<i>Anisakis 1</i>	-0,103	0,514
<i>Anisakis 2</i>	-0,277	0,700
<i>Ascarophis</i>	0,200	0,501
<i>Terranova</i>	0,080	0,445
Hemiuridae	0,022	0,488
<i>Grillotia</i>	0,103	-0,300
Muertos	0,805	0,246

Tabla 47: Coeficientes de correlación de cada uno de los descriptores numéricos de las infracomunidades de parásitos con las dos primeras funciones discriminantes.

Variable	1 ^{er} eje Canónico	2 ^o eje Canónico
Densidad numérica	-0,084	0,911
Abundancia total (log10)	-0,243	0,589
Diversidad	0,846	0,264
Dominancia	-0,860	-0,181
Composición	0,398	0,079
Proporción de parásitos muertos	-0,388	-0,058

Finalmente, y a modo de síntesis (ya que estos resultados no son mostrados), tanto los análisis discriminantes de la composición de las infracomunidades parasitarias como los de los descriptores numéricos de dichas infracomunidades, mostraron que había claras diferencias entre años, mas no así entre las zonas de pesca JF3 y JF4. Al efectuar ADLs con el año de muestreo como variable de agrupamiento (tanto el efectuado sobre la composición de las infracomunidades parasitarias, como el efectuado con los descriptores numéricos de las infracomunidades), mostraron que más del 92% de los ejemplares fueron correctamente asignados a su año de muestreo. En cambio, al efectuar los ADL con sólo la zona de pesca como variable de agrupamiento, cerca del 69% de los ejemplares capturados en JF3 fueron asignados a JF4, y sólo el 13% de los ejemplares provenientes de JF4 fueron asignados a JF3. En forma similar, al efectuar el ADL sobre los de las propiedades numéricas de dichas infracomunidades se encontró que cerca del 44% de los ejemplares capturados en JF3 fueron asignados a JF4, y sólo el 20% de los ejemplares provenientes de JF4 fueron asignados a JF3.

Tabla 48: Funciones de clasificación de seis descriptores numéricos de las infracomunidades de parásitos de *H. atlanticus* para cada una de las cuatro muestras consideradas.

Variables	2005		2006	
	JF3	JF4	JF3	JF4
Constante	-1003	-1023	-1053	-1057
Densidad numérica	-521,91	-531,85	-538,35	-535,25
Abundancia total (log10)	357,78	360,44	360,71	360,78
Diversidad	196,38	196,33	209,26	211,09
Dominancia	318,56	325,85	310,48	311,08
Composición	1,938	1,930	1,994	2,018
Proporción parásitos muertos	58,32	54,61	58,19	62,58

DISCUSION

El método parasitológico ha sido aplicado dos veces en el orange roughy *H. atlanticus* (Lester et al. 1988, Gauldie & Jones 2000). El primer estudio se realizó en 11 áreas de manejo de los alrededores del sur de Australia y en torno a Nueva Zelanda. El segundo en cambio, se realizó cerca de una década después, y sobre 9 áreas de manejo de cuotas en torno a Nueva Zelanda. Aunque muy distintos en aproximación y en resultados de riqueza total de taxa registrados, los resultados cualitativos coinciden en la diferenciación geográfica del parasitismo del orange roughy aproximadamente correspondiente a las zonas de manejo de cuotas adoptadas en dichos países. Cabe destacar que los principales taxa encontrados en dichos estudios son los mismos que en Chile. En suma, se dispone de “buenas” marcas ya que corresponden a los taxa seleccionados por los estudios anteriores. Cabe resaltar que en este estudio se agregó los descriptores numéricos de las infracomunidades parasitarias, entre los que se incluye la proporción de parásitos muertos como una nueva variable, que mostró ser informativa.

En cada uno de los dos estudios realizados en el Pacífico sudoccidental se examinó cerca de 1.000 ejemplares, lo que supera el muestreo de los dos proyectos FIP efectuados en Chile, que suman cerca de 250 ejemplares. Esta diferencia en tamaño muestral puede ser parte importante de la explicación de la menor riqueza taxonómica de parásitos registrada en Chile. La escasez de Digenea en Chile, sin embargo, puede ser un reflejo de una baja diversidad de estos platelmintos en las profundidades vecinas al archipiélago. Destaca que tampoco se encontró Myxozoa ni Cestoda adultos. En todo caso, estos son taxones de muy baja prevalencia en los estudios realizados en el océano Pacífico Sudoccidental.

Este estudio es el que se realiza a menor escala espacial de los tres. Por ello no es de extrañar que se encontrara una relativamente alta similitud entre las zonas de pesca. Sin embargo, el análisis del comportamiento de los descriptores numéricos de las infracomunidades parece una idea promisoría ya que la disminución significativa en la proporción de parásitos muertos en relación a lo hallado en el año 2005 podría ser un reflejo de la juvenilización del stock, ya que esta variable depende de la edad del pez.

La interpretación biológica de la mayor presencia de Diclidophoridae en JF3 sugiere un mayor aislamiento o densidad del roughy en esa zona de pesca, ya que es un parásito de transmisión directa. La variación en la abundancia relativa de los taxa y por ende de los descriptores numéricos se explican por la disminución de la abundancia de parásitos muertos entre años de muestreo, más que entre JF3 y JF4. La mayor diversidad y menor dominancia en las infracomunidades de los ejemplares recolectados en el año 2006 se deben en gran medida a la menor abundancia y proporción de parásitos muertos.

OBJETIVO 4: Análisis integrado de la evidencia disponible sobre la estructura poblacional de orange roughy en sus principales zonas de extracción.

Rubén Roa¹, Edwin Niklitschek²

¹Universidad de Concepción; ²Universidad Austral de Chile.

INTRODUCCION

El presente proyecto ha aportado antecedentes y aplicado un conjunto de metodologías complementarias, orientadas a someter a prueba la hipótesis de stock único, asumida actualmente en el manejo de orange roughy en Chile. Cada uno de estos enfoques fue aplicado por expertos que lideran sus respectivas áreas a nivel nacional, los que emplearon métodos de análisis estadístico propios del estado del arte en sus disciplinas, pero disímiles entre si.

En la presente sección nos propusimos re-analizar los resultados de cada una las técnicas de discriminación aplicadas, utilizando un enfoque estadístico común, basado en máxima verosimilitud, que permitiera una integración formal de las distintas piezas de evidencia. en una función común de verosimilitud.

MATERIALES Y METODOS

Dado que las diferentes aproximaciones empleadas en los objetivos anteriores aplican distintos métodos de análisis estadístico, algunos realizados con software específicos, se re-analizó los resultados crudos de ADN mitocondrial, microsátélites y parásitos, para desarrollar una aproximación metodológica común que permitiera integrar la información.

Haplotipos ADN mitocondrial

Bajo la hipótesis que los stocks de orange roughy de los distintos montes submarinos del Archipiélago de Juan Fernández, Bajo O'Higgins, y Punta Sierra, son genéticamente idénticos en los 53 haplotipos elegidos como unidad genética básica, el vector

$$\begin{bmatrix} h_1 \\ h_2 \\ \dots \\ h_{53} \end{bmatrix}$$

donde h_i es el número de peces en la muestra que contiene el haplotipo i , va a corresponder a una única distribución multinomial con parámetros,

$$\begin{bmatrix} p_1 \\ p_2 \\ \dots \\ p_{52} \\ n \end{bmatrix}$$

donde $n = \sum n_i$, $p_i \leq 1$, y $\sum p_i = 1$.

En cambio, si hay diferencias en la proporción de los distintos haplotipos entre zonas entonces las proporciones van a depender de la zona. Una técnica poderosa y que corresponde a una categoría metodológica de los modelos lineales generalizados es la regresión logística multinomial, que corresponde a la generalización multinomial de la regresión logística binomial. Esta técnica general de análisis fue usada para la detección del efecto de factores y variables sobre la frecuencia de haplotipos por Chen y Kao (2006), entre otros, y será usada ampliamente en este trabajo.

En el caso del análisis de haplotipos mitocondriales, el modelo nulo en puntaje logit corresponde a

$$\log\left(\frac{p_{i,j}}{p_{1,j}}\right) = \alpha_i$$

donde $p_{i,j}$ es la probabilidad del haplotipo i en la zona $JF1$, que será usada como la zona de referencia para todos los análisis, y α_i es una constante independiente de la zona.

En contraste, el modelo que predice efecto de la zona es

$$\log\left(\frac{p_{i,j}}{p_{1,j}}\right) = \alpha(i, Zona_j)$$

donde la notación indica que la Zona es considerada un factor, y no una covariable, en el ajuste del modelo lineal generalizado.

No fue posible incluir el área de Punta Sierra por carecer de datos en esa zona, así que las zonas corresponden a los cuatro montes de Juan Fernández y un monte de Bajo O'Higgins.

El análisis se realizó por separado para hembras y machos, y se contó con un total de 71 hembras y 42 machos. La preparación y codificación de la base de datos para el análisis fue hecha en el sistema de programación estadística R 2.6.1, y el ajuste de los datos al modelo fue efectuado con la función *multinom()* del paquete contribuido *nnet* de redes neuronales (Ripley 1996). Para la comparación del modelo nulo versus el modelo con efecto de la zona se utilizó tanto el Índice de información de Akaike (AIC) como el prueba de la razón de verosimilitud, con función *anova.multinom()* de R.

Microsatélites

La metodología fue la misma que la antes indicada para los haplotipos, con la diferencia que el número de microsatélites fue de 103, y el número de observaciones fue de 150 en hembras, y 126 en machos.

Parásitos

Como en el caso de los datos de genética, el número de parásitos o carga parasitaria por pez presenta una distribución multinomial, por lo que se aplicó una metodología de regresión logística multinomial. El modelo fue diferente a los anteriores, ya que la carga parasitaria puede ser dependiente del tamaño del pez, además de la zona. Por lo tanto, se consideró una co-variable continua en el modelo lineal generalizado (peso del pez). El número de categorías de parásitos incluidas fue seis: monogéneos, *Anisakis I*, *Anisakis II*, *Ascarophis sp.*, *Terranova sp.* y cuerpos muertos. Los restantes grupos de parásitos presentaron frecuencias demasiado bajas.

El modelo nulo correspondió a:

$$\log\left(\frac{s_{i,j}}{s_{1,j}}\right) = \delta_i$$

donde $s_{i,j}$ es la probabilidad de ocurrencia del parásito i en la zona j y la zona JF1 fue usada como referencia, y δ es el puntaje logit.

El primer modelo con efecto fue

$$\log\left(\frac{s_{i,j}}{s_{1,j}}\right) = \delta_i + w_i$$

donde w_i es el efecto de la masa corporal sobre la ocurrencia del parásito i .

El segundo modelo con efecto, que no considera el efecto de la masa corporal pero sí el de la zona codificada como factor, correspondió a,

$$\log\left(\frac{s_{i,j}}{s_{1,j}}\right) = \delta(i, Zona_j)$$

El modelo completo fue

$$\log\left(\frac{s_{i,j}}{s_{1,j}}\right) = \delta(i, Zona_j) + w_i$$

No fue posible incluir el área de Punta Sierra por carecer de datos de ocurrencia de parásitos en esa zona, así que las zonas corresponden a los cuatro montes de Juan Fernández y un monte de Bajo O'Higgins. La comparación entre los modelos se realizó mediante razón de verosimilitud como se indica para el caso de los estudios genéticos, con la función `anova.multinom()` del paquete `nnet`.

Hasta este punto, los diferentes análisis implementados para determinar diferencias entre zonas inherentes a los stocks (objetivos específicos 1 y 2) han involucrado números diferentes de zonas según la disponibilidad de muestras o información, como se muestra en la Tabla 49. Puesto que el estudio de fecundidad incluyó sólo dos zonas, fue excluido del análisis integrado estadístico. Por otra parte, el análisis de la morfometría de los otolitos consideró una zona que no fue cubierta por ninguna de las otras metodologías, por lo que se realizó un ajuste del modelo multivariado excluyéndola.

La integración se realizó entre los resultados de genética (haplotipos y microsátélites), otolitos,

madurez sexual a la talla, y carga parasitaria. El modelo integrado involucró el uso de las funciones de verosimilitud marginales (Royall 1997). Los dos conceptos básicos detrás de esta metodología son: (1) que la fuerza de la evidencia a favor de determinada hipótesis que existe en ciertos datos básicos es transferida desde los datos a los estimados de máxima verosimilitud en la matriz de covarianza estimada de los estimados, y (2) que estos estimados son aproximadamente variables aleatorias de distribución normal multivariada. Una proposición para completar la metodología que hemos utilizado es (3) que los distintos análisis involucrados (dos metodologías genéticas, morfometría, talla de madurez sexual, y carga parasitaria) resultan en estimados independientes entre si.

Con los conceptos (1)-(3) propuestos, el negativo del logaritmo de la función de verosimilitud conjunta bajo una hipótesis dada es,

$$-L \propto (\hat{\theta}_{HT} - \hat{\theta}_{HT})^T \hat{\Sigma}_{HT}^{-1} (\hat{\theta}_{HT} - \hat{\theta}_{HT}) + (\hat{\theta}_{MS} - \hat{\theta}_{MS})^T \hat{\Sigma}_{MS}^{-1} (\hat{\theta}_{MS} - \hat{\theta}_{MS}) + (\hat{\theta}_{OT} - \hat{\theta}_{OT})^T \hat{\Sigma}_{OT}^{-1} (\hat{\theta}_{OT} - \hat{\theta}_{OT}) \\ + (\hat{\theta}_{SX} - \hat{\theta}_{SX})^T \hat{\Sigma}_{SX}^{-1} (\hat{\theta}_{SX} - \hat{\theta}_{SX}) + (\hat{\theta}_{PS} - \hat{\theta}_{PS})^T \hat{\Sigma}_{PS}^{-1} (\hat{\theta}_{PS} - \hat{\theta}_{PS})$$

donde $\hat{\theta}$ son los vectores de estimados de máxima verosimilitud de cada análisis, $\hat{\theta}$ son los vectores de hiper-parámetros de la distribución marginal de los estimados, $\hat{\Sigma}$ son las matrices de covarianza estimadas de los estimados provenientes de cada análisis, y los sub-índices indican HT: haplotipos, MS: microsátélites, OT: otolitos, SX: madurez sexual, y PS: parásitos. Los vectores de hiper-parámetros fueron obtenidos desde una distribución normal multivariada con vector de medias igual al vector de estimados y con matriz de covarianza igual a la matriz de covarianza estimada.

Tabla 49: Zonas cubiertas por las bases de datos para todos los análisis implementados en este estudio.

Zona/ Monte	Genética		Morfometría	Historia de Vida		Ecología
	Haplotipos	Microsátélites	Otolitos	Talla de Madurez	Fecundidad	Parásitos
JF1	X	X	X	X	X	X
JF2	X	X	X	X		X
JF3	X	X	X	X	X	X
JF4	X	X	X	X		X
BO101						
BO2	X	X	X	X		X
PS1001			X			

La función de verosimilitud marginal se calculó bajo dos hipótesis. La hipótesis nula, que no existe diferencia entre zonas, y la hipótesis alternativa, con efecto de zona. Para la definición de la hipótesis más soportada por el conjunto de datos de los cinco análisis, se calculó el Índice de Información de Akaike,

$$AIC = -2L + 2P$$

donde P es el número de parámetros estimados en cada análisis.

Para el análisis integrado se escribió código en el sistema de programación estadística R 2.6.1, importando los vectores de estimados y las matrices de covarianza estimadas desde las sesiones de trabajo de cada análisis particular.

RESULTADOS

En los modelos de genética de las hembras, las matrices de covarianza resultaron mal condicionadas tanto para haplotipos como para microsatélites en el modelo con efecto de zona (Tabla 50), por lo tanto no fue posible incluirlos en el modelo estadístico integrado. En el caso de los machos, las matrices de covarianza de microsatélites sí pudieron ser invertidas para ambos modelos, incorporando su información en el modelo integrado (Tabla 51).

Los resultados del modelo estadístico integrado indican que si se incluyen los resultados de genética (caso de machos) existe una fuerte evidencia a favor de la hipótesis que no hay diferencias entre zonas. Si no se incluyen los resultados de los estudios genéticos (caso de hembras), existe una clara ventaja de la hipótesis que postula diferencias entre zonas. Lamentablemente, en el actual nivel de desarrollo de este enfoque integrado, no es posible generar comparaciones múltiples basadas, simultáneamente, en las distintas fuentes de evidencia. En consecuencia, la generación de hipótesis respecto de la agrupación de las zonas analizadas en potenciales unidades de stock debe aún basarse en los análisis de comparaciones múltiples efectuados separadamente para cada técnica (resumidos en Tabla 52).

Tabla 50: Condicionamiento de las matrices de covarianza de los distintos análisis para la construcción del modelo conjunto de verosimilitud marginal.

	Hembras		Machos	
	Modelo simple	Modelo Zona	Modelo simple	Modelo Zona
Genética haplotipos	Invertible	Singular	Singular	Singular
Genética microsatélites	Singular	Singular	Invertible	Invertible
Otolitos	Invertible	Invertible	Invertible	Invertible
Madurez sexual	Invertible	Invertible	Invertible	Invertible
Parásitos	Invertible	Invertible	Invertible	Invertible

Tabla 51. Contribuciones de los distintos análisis a la log-verosimilitud marginal (LogL) de las hipótesis de igualdad entre zonas (Modelo Simple) y de diferencias entre zonas (Modelo Zona) asumiendo un modelo normal multivariado independiente para cada análisis, número de parámetros aportado por cada análisis (P), y valor de AIC de cada modelo. La log-verosimilitud marginal total en hembras del Modelo Simple no considera el resultado de haplotipos.

	Hembras				Machos			
	Modelo simple		Modelo Zona		Modelo simple		Modelo Zona	
	LogL	P	LogL	P	LogL	P	LogL	P
Genética haplotipos	-586851,5	50	-----		-----		-----	
Genética microsatélites	-----		-----		789,4707		-8656,521	
Otolitos	-29,26322	46	196,6971	230	-55,12706	46	-92,028	230
Madurez sexual	-6,202146	2	-2,216670	6	-2,457364	2	-5,376405	6
Parásitos	-6,288937	10	3,891005	30	-87,53646	10	-3,430466	30
Total	-41,75431	58	198,3714	266	644,3498	58	-8757,356	266
AIC	199,5086		135,2571		-1172,700		18046,71	

Tabla 52. Síntesis de resultados del re-análisis de datos obtenidos aplicando una aproximación común, basada en máxima verosimilitud, para las distintas técnicas empleadas en la evaluación de la hipótesis nula de stock único. Diferentes letras indican diferencias significativas entre zonas. n.i. No incluida en el análisis

Zona	Genética		Fecundidad	Talla media de madurez	Distribución de tallas	Efectos de la pesquería		Distribución espacial	Morfometría de otolitos	Parasitofauna
	DLoop	Microsatélites				Relación peso-talla	Distribución de tallas			
JF1	a	a		a,b	a	a	a	a	a	a
JF2	a	a		b	b	b	b	a	a	a
JF3	a	a	a	b	c	b	c	a	a	b
JF4	a	a	a	a	d	c	b	a	a	b
BO1	a	a		a,b	e	d	d	n.i.	n.i.	n.i.
BO2	a	a						n.i.	a	c
PSI	a	a		n.i.	d	n.i.	a,b,c	n.i.	a	n.i.

DISCUSION

En el presente estudio, hemos intentado integrar distintas metodologías y fuentes de información, abarcando análisis cuyos resultados se extrapolan a procesos que ocurren a escalas de tiempo completamente diferentes. Es así como se ha combinado procesos de escala evolutiva (genética), con otros de escala generacional (respuesta a la pesca) y ecológica (morfometría de otolitos, parásitos). Esta aproximación ha respondido a las tendencias internacionales más recientes que,

considerando las limitaciones y problemas de las distintas aproximaciones, han insistido en el uso de enfoques holísticos que utilicen un conjunto de técnicas complementarias (Begg & Waldman 1999) (Abaunza et al. 2008). Sin embargo, a pesar de las ventajas inherentes a un enfoque multidisciplinario, la discusión e interpretación de los diferentes resultados presenta importantes dificultades, ya sea por la diversidad de escalas temporales, como por el desarrollo aún limitado de métodos cuantitativos que permitan integrar satisfactoriamente las distintas fuentes de evidencia (Hutchings et al. 2007 , Abaunza et al. 2008) .

Considerando tantos los resultados de los análisis parciales, como del modelo integrado, parece razonable suponer que los stocks de orange roughy de las distintas zonas y/o montes no son evolutivamente diferentes, pero podrían diferir a escala ecológica. De este modo, algunos de ellos presentan diferencias en su estructura de tallas, respuesta demográfica a la presión de pesca y carga parasitaria (Tabla 52). Aunque la evidencia de unidades discretas de stock proporcionada por las distintas técnicas no es completamente coincidente en cuanto a las posibles agrupaciones de las zonas estudiadas, existen elementos como para aventurar algunas hipótesis sobre la estructura poblacional del área de estudio. En primer lugar, todas las técnicas, donde fue rechazada la hipótesis nula, coincidieron en identificar diferencias significativas entre los montes JF1, JF3 y BO1-BO2. Resultados menos concluyentes fueron obtenidos para los montes JF2 y JF4. En efecto, no se evidenció diferencias significativas entre los pares JF1-JF2 y JF3-JF4 respecto de su carga parasitaria, como tampoco entre los montes JF2 y JF4 respecto de su estructura de tallas y entre los montes JF2 y JF3 respecto de sus relaciones peso-talla.

Es muy importante destacar que la ausencia de evidencia estadística para rechazar la hipótesis nula no implica que la misma sea correcta. Esta falta de evidencia puede deberse tanto a la veracidad de la hipótesis nula, como a la insuficiente potencia estadística del análisis empleado (independientemente de la veracidad o falsedad de la hipótesis nula). Mientras que el análisis estadístico clásico se basa en estimar la probabilidad de rechazar la hipótesis nula, siendo esta verdadera (error de tipo I, comúnmente simbolizado α), no evalúa el riesgo de aceptar la misma hipótesis nula siendo falsa (error de tipo II). El error de tipo II (β) aumenta con la variabilidad de los datos, con la inclusión de fuentes de covarianza que son omitidas del análisis, y con tamaños muestrales insuficientes dada la variabilidad de los datos. Mientras que la estimación precisa de β o de la potencia estadística del análisis ($1-\beta$) es compleja para la mayoría de los métodos cuantitativos empleados, es evidente que análisis como los de fecundidad relativa y talla media de madurez sexual, adolecieron de una baja potencia estadística.

Para efectos de manejo, corresponderá discutir ampliamente el peso que se dará a los resultados aquí presentados que, lamentablemente, no son concluyentes. Habida consideración de la gran longevidad de la especie, y del limitado o nulo conocimiento de su rutas migratorias y ciclo de vida, se deberá ponderar y buscar un equilibrio entre algunos elementos, en cierta medida contradictorios:

- i) Los mayores riesgos de conservación asociados al asumir una hipótesis errónea de stock único, respecto de los mismos riesgos al asumir una hipótesis errónea de unidades discretas.
- ii) Las dificultades de implementación y fiscalización del manejo espacial.
- iii) La percepción de la industria de una menor eficacia y rentabilidad de sus operaciones al existir cuotas espacialmente discretas.

En el desarrollo de futuras investigaciones y programas de monitoreo de esta especie, es necesario

considerar la necesidad de nueva información. Las bases de datos disponibles adolecen de problemas de cobertura y calidad que debilitan el análisis y aumentan severamente los riesgos de subestimar sesgo e incertidumbre en nuestras conclusiones. Entre las necesidades más evidentes de nueva información y estudios futuros se destacan:

- Mantener y perfeccionar el monitoreo permanente de la pesquería, incluyendo:
 - Distribución de tallas, con mayor precisión (1 mm) y cobertura (número de lances por muestra y número de lances por viaje), enfatizando el muestreo dirigido a juveniles.
 - Seguimiento microscópico de la madurez y desarrollo gonadal a lo largo del año, evaluando la ocurrencia de adultos no reproductivos en los eventos de desove y perfeccionando el conocimiento del periodo reproductivo.
 - Estudio de la estructura de edad de las poblaciones en las distintas zonas y su variación interanual (la evidencia parasitológica sugiere un cambio etéreo entre los años 2005 y 2006).
- Mantener muestreos anuales de indicadores genéticos y parasitológicos, destinados a corroborar los resultados del proyecto y detectar la eventual presencia de múltiples contingentes desovando alternadamente en una misma zona (Smolenski et al. 1993).
- Focalizar esfuerzos en la identificación de áreas de crianza, tal vez realizando prospecciones a mayor profundidad (Existe evidencia que sugiere que los primeros estadios y etapas juveniles se distribuirían asociados al fondo y probablemente a mayores profundidades que las poblaciones de adultos explotadas por la flota comercial).
- Evaluar alternativas metodológicas para el estudio de rutas migratorias ontogenéticas, reproductivas y/o estacionales del recurso
- Evaluar nuevos enfoques analíticos, como ser el análisis de norma de reacción, orientados a analizar conjuntamente variabilidad genotípica y fenotípica, resolviendo exitosamente aparentes inconsistencias como las encontradas en el presente estudio (Hutchings et al. 2007).

CONCLUSIONES GENERALES

El análisis de todos los temas tratados en este informe se puede resumir en las siguientes conclusiones :

- No se encontró evidencia de heterogeneidad genética entre las distintas zonas analizadas, existiendo antecedentes que hacen pensar en una colonización relativamente reciente de las actuales zonas de distribución.
- Sin perjuicio de lo anterior, se encontró alguna evidencia de diferencias significativas entre zonas en parámetros vitales y demográficos, incluyendo talla de primera madurez, estructura de tallas, respuesta de la estructura de tallas a la pesquería y carga parasitaria de las muestras obtenidas.
- A pesar de la existencia de piezas de evidencia de segregación ecológica de unidades poblacionales como la antes señalada, tales resultados muestran niveles importantes de

inconsistencia entre métodos, sexos y zonas lo que lleva a postular que no existen suficientes argumentos como para rechazar la hipótesis nula de stock único ni desde el punto de vista evolutivo, ni ecológico, ni pesquero.

- Integrando los resultados obtenidos, es posible observar que los montes JF1, JF3 y BO1-BO2 aparecen consistentemente separados entre sí, mientras que los montes JF2 y JF4 aparecen ligados entre si o a otras zonas, dependiendo de la técnica empleada. El caso del monte PSI destaca por el reducido número de muestras con que se contó en cada una de las técnicas empleadas, lo que llevó a estimados con un notorio error estándar que impidieron a menudo su separación de las otras zonas.
- Dada la debilidad de la evidencia encontrada, los patrones de distribución localizada de stocks descritos y utilizados para el manejo de esta misma especie en otras zonas de pesca, y las consecuencias negativas de asumir erradamente homogeneidad poblacional en la zona de pesca, se sugiere aplicar un enfoque precautorio, que considere la posibilidad de múltiples unidades de stock en el área de estudio.

REFERENCIAS

- Abaunza, P., A.G. Murta, N. Campbell, R. Cimmaruta, A.S. Comesaña, G. Dahle, M.T.G. Santamaría, L.S. Gordo, S.A. Iversen, K. MacKenzie, A. Magoulas, S. Mattiucci, J. Molloy, G. Nascetti, A.L. Pinto, R. Quinta, P. Ramosb, A. Sanjuan, A.T. Santos, C. Stransky & C. Zimmermann. 2008. Stock identity of horse mackerel (*Trachurus trachurus*) in the Northeast Atlantic and Mediterranean Sea: Integrating the results from different stock identification approaches. *Fish. Res.* 89: 196-209.
- Arthur, J.R. 1997. Recent advances in the use of parasites as biological tags for marine fish. In: *Diseases in Asian Aquaculture III*. Asian Fisheries Society, Manila. 141-154 p.
- Avise, J.C. (ed.). 2000. *Phylogeography: the history and formation of species*. Harvard University Press, Cambridge, MA. 447 p.
- Baker, C.S., A. Perry, G.K. Chambers & P.J. Smith. 1995. Population variation in the mitochondrial cytochrome *b* gene of the orange roughy *Hoplostethus atlanticus* and the hoki *Macruronus novaezelandiae*. *Marine Biology* 122: 503-509.
- Bandelt, H.-J., P. Forster & A. Röhl. 1999. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Mol. Biol. Evol.* 16: 37-48.
- Becerra, V. & M. Paredes. 1999. Uso de los marcadores bioquímicos y moleculares en estudios de diversidad genética. *Agricultura Técnica* 60: 270-279.
- Begg, G., W. Overholtz & N. Munroe. 2001. The use of internal otolith morphometrics for identification of haddock (*Melanogrammus aeglefinus*) stocks on George Bank. *Fish. Bull.* 99: 1-14.
- Begg, G.A., K.D. Friedland & J.B. Pearce. 1999. Stock identification and its role in stock assessment and fisheries management: an overview. *Fish. Res.* 43: 1-8.
- Begg, G.A. & J.R. Waldman. 1999. An holistic approach to fish stock identification. *Fish. Res.* 43: 35-44.

- Bell, J.D., J.M. Lyle, C.M. Bulman, K.J. Graham, G.M. Newton & D.C. Smith. 1992. Spatial variation in reproduction and occurrence of non-reproductive adults in orange roughy *Hoplostethus atlanticus* Collet (Trachichthyidae) from south-eastern Australia. *J. Fish Biol.* 40: 107-122.
- Bembo, D., G. Carvalho, M. Snow, N. Cingolani & T. Pitcher. 1995. Stock discriminations among European anchovies *Engraulis encrasicolus* by means of PCR-amplified mitochondrial DNA analysis. *Fishery Bulletin* 94: 31-40.
- Black, M. & P. Dixon. 1989. Population structure of roughy *Hoplostethus atlanticus* in Australian waters. Centre of Marine Science, University of New South Wales, Sydney.
- Bowcock, A., A. Ruiz, J. Tomfohrde, E. Minch, J. Kidd & L. Cavalli-Sforza. 1994. High resolution of human evolutionary trees with polymorphic microsatellite. *Nature* 368: 455-457.
- Boyer, D., E. Niklitschek, I. Hampton, J. Nelson, M. Soule, A. Lafon & H. Boyer. 2003. Evaluación hidroacústica de biomasa de las principales agregaciones reproductivas de orange roughy *Hoplostethus atlanticus* (2003) en los montes submarinos adyacentes al Archipiélago de Juan Fernández (V Región de Valparaíso). Universidad Austral de Chile/Fisheries Resource Surveys, Cape Town, South Africa. CT 03-12. 95 p.
- Branch, T. 2001. A review of orange roughy *Hoplostethus atlanticus* fisheries, estimation methods, biology and stock structure. *S. Afr. J. mar. Sci.* 23: 181-204.
- Cadrin, S. & K.D. Friedland. 1999. The utility of image processing techniques for morphometric analysis and stock identification. *Fish. Res.* 43: 129-139.
- Cadrin, S., K.D. Friedland & J. Waldman. 2005. Stock identification methods - An overview. pp. 3-6 Stock identifications methods. Applications in Fishery Science. *In*: E.A. Press (ed.), San Diego, California.
- Campbell, N., M.A. Cross, J.C. Chubb, C.O. Cunningham, E.M.C. Hatfield & K. MacKenzie. 2007. Spatial and temporal variations in parasite prevalence and infracommunity structure in herring (*Clupea harengus* L.) caught to the west of the British Isles and in the North and Baltic Seas: implications for fisheries science. *Journal of Helminthology* 81: 137-146.
- Cardinale, M., P. Doering-Arjes, M. Kstowsky & H. Mosegard. 2004. Effects of sex, stock, and environment on the shape of known-age Atlantic cod (*Gadus morhua*) otoliths. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 61: 158-167.
- Chávez, R.A., I.M. Valdivia & M.E. Oliva. 2007. Local variability in metazoan parasites of the pelagic fish species, *Engraulis ringens*: implications for fish stock assessment using parasites as biological tags. *Journal of Helminthology* 81: 113-116.
- Chen, Y.-H. & J.-T. Kao. 2006. Multinomial logistic regression approach to haplotype association analysis in population-based case-control studies. *BMC Genetics* 7(43).
- Chistiakov, D.A., B. Hellemans & F.A.M. Volckaert. 2006. Microsatellites and their genomic distribution, evolution, function and applications: A review with special reference to fish genetics. *Aquaculture* 255: 1-29.
- Clark, M., D.J. Finncham & D.M. Tracey. 1994. Fecundity of orange roughy (*Hoplostethus atlanticus*) in New Zealand waters. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research.* 28: 193-200.
- Clement, M., D. Posada & K.A. Crandall. 2000. TCS a computer program to estimate gene genealogies.

Mol. Ecol. 9: 1657-1659.

- Cronin, M., W. Spearman, R. Wilmont, J. Patton & J. Bickham. 1993. Mitochondrial DNA variation in chinook (*Oncorhynchus tshawytscha*) and chum salmon (*Oncorhynchus keta*) detected by restriction enzyme analysis of polymerase chain reaction (PCR) products. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 50: 708-715.
- Crow, J., M Kimura. 1970. An Introduction to population genetics theory. *In*: Harper&Row (ed.), New York.
- Cruz, P., C.H. Mejia-Ruiz, R. Perez-Enriquez & A.M. Ibarra. 2002. Isolation and characterization of microsatellites in Pacific white shrimp *Penaeus (Litopenaeus) vannamei*. *Molecular Ecology Notes* 2 (3): 239-241.
- De Woody, J. & J. Avise. 2000. Microsatellite variation in marine, freshwater and anadromous fishes compared with other animals. *Journal of Fish Biology* 56: 461-473.
- Di Rienzo, A., A. Peterson, J. Garza, A. Valdes, M. Slatkin & N. Freimer. 1994. Mutational processes of simple sequence repeat loci in human populations. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A* 91: 3166-3170.
- Du Buit, M.H. 1995. Note preliminaries sur la ponte de l'Hoplostèthe (*Hoplostethus atlanticus*, Trachichthyidae) a l'ouest des Isles Britanniques. *Cybium* 19(2): 199-200.
- Dupanloup, I., S. Schneider & L. Excoffier. 2002. A simulated annealing approach to define the genetic structure of populations. *Molecular Ecology*. 11(12): 2571-81.
- Durán, J. 2006. Época reproductiva y fecundidad en orange roughy, *Hoplostethus atlanticus* (COLLET, 1889) (Pisces: Trachichthyidae), capturados en el Archipiélago de Juan Fernández, Chile. Seminario de Título para optar al grado académico de Licenciado en Ciencias mención Biología Marina. Facultad de Ciencias, Universidad Católica de la Santísima Concepción, Concepción. 80 p.
- Edmonds, J., N. Caputi & M. Morita. 1991. Stock discrimination by trace-element analysis of otoliths of orange roughy (*Hoplostethus atlanticus*), a deepwater marine teleost. *Aust. J. Mar. Freshwater Res.* 42: 383-389.
- Edwards, C. & D. Skibinski. 1987. Genetic variation of mitochondrial DNA in mussel (*Mytilus edulis* and *M. galloprovincialis*) population from South West England and South Wales. *Marine Biology* (Berlin). 94: 547-556.
- Elliot, N. & R. Ward. 1992. Enzyme variation in orange roughy *Hoplostethus atlanticus* (Teleostei, Trachichthyidae), from southern Australian and New Zealand waters. *Aust. J. Mar. Freshwater Res.* 43.
- Elliot, N.G., A.J. Smolenski & R.D. Ward. 1994. Allozyme and mitochondrial DNA variation in orange roughy, *Hoplostethus atlanticus* (Teleostei: trachichthyidae): little differentiation between Australia and North Atlantic populations. *Marine Biology* 119: 621-627.
- Estoup, A., L. Garnery, M. Solignac & J. Cornuet. 1995. Microsatellite variation in honey bee (*Apis mellifera*.L.) populations: hierarchical genetic structure and test of the infinite allele and stepwise mutation models. *Genetics* 40: 679-695.
- Excoffier, L., P.E. Smouse & J.M. Quattro. 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data.

- Genetics 131: 479-491.
- Falush, D., M. Stephens & J.K. Pritchard. 2003. Inference of population structure: extensions to linked loci and correlated allele frequencies. *Genetics* 164: 1567-1587.
- Ferreira, M. & D. Grattapaglia. 1989. Introducción al uso de marcadores moleculares en el análisis genético. pp. 221. *In: C.d.R.G.y.B. Embrapa (ed.), Brasilia.*
- Ferrer-Castelló, E., J.A. Raga & F.J. Aznar. 2007. Parasites as fish population tags and pseudoreplication problems: the case of striped red mullet *Mullus surmuletus* in the Spanish Mediterranean. *Journal of Helminthology* 81: 169-178.
- Gauldie, R.W. & J.B. Jones. 2000. Stocks, or geographically separated populations of the New Zealand orange roughy, *Hoplostethus atlanticus*, in relation to parasite infestation, growth rate, and otolith shape. *Bull. Mar. Sci.* 67: 949-971.
- Gili, R., L. Cid, H. Pool, Z. Young, D.M. Tracey, P. Horn & P. Marriot. 2002. Estudio de edad, crecimiento y mortalidad natural de los recursos orange roughy y alfonsino. Fondo de Investigación Pesquera, Chile, Valparaiso. FIP 2000-12. 129 p.
- Glaubitz, J.C. 2004. CONVERT (version 1.2): A user-friendly program to reformat diploid genotypic data for commonly used population genetic software packages. *Molecular Ecology Notes* 4: 309-310.
- Goldstein, D. & D. Pollock. 1997. Launching microsatellites: A review of mutation processes and methods of phylogenetic inference. *J. Hered.* 88: 335-471.
- Goudet, J. 2002. Fstat version 2.9.3.2., Institute of Ecology, Lausanne, Switzerland.
- Grijalva-Chon, J.M., Numachi, K., Sosa-Nishizaki, O. and de la Rosa-Velez, J. 1994. Mitochondrial DNA analysis of North Pacific swordfish *Xiphias gladius* population structure. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 115: 15-19.
- Hall, T. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucl. Acids. Symp. Ser.* 41: 95-98.
- Hartl, D.L. 1980. Principles of populations genetics, Massachusetts. 488 p.
- Hartl, D.L. & A.G. Clark. 2007. Principles of population genetics. 565 p.
- Hauser, L., R. Ward. 1998. Population identification in pelagic fish: the limits of molecular markers. pp. 191-224. *In: C. G.R. (ed.) Advances in Molecular Ecology, IOSPress, Amsterdam.*
- Hoarau, G., D. Rijnsdorp, W. Van der Veer, W.T. Stam & L. Olsen. 2002. Population structure of plaice (*Pleuronectes platessa* L.) in northern Europe, microsatellites revealed large-scale spatial and temporal homogeneity. *Molecular Ecology* 11: 1165-1176.
- Hoffmann, R., L. Boore & M. Brown. 1992. A novel mitochondrial genome organization for the blue Mussel, *Mytilus edulis*. *Genetics* 131: 397-412.
- Holland, B.R., K.T. Huber, V. Moulton & P.J. Lockhart. 2004. Using consensus networks to visualize contradictory evidence for species phylogeny. *Molecular Biology and Evolution* 21 1459-1461.
- Horn, P.L., D.M. Tracey & M.R. Clark. 1998. Between area differences in age and length at first maturity of the orange roughy *Hoplostethus atlanticus*. *Marine Biology* 132 (2): 187-194.

- Hudson, D. & D. Bryant. 2006. Applications of phylogenetic networks in evolutionary studies. *Mol. Biol. Evol.* 23(2): 254-267.
- Huson, D. & D. Bryant. 2006. Application of phylogenetic networks in evolutionary studies. *Molecular Biology and Evolution* 23: 254-267.
- Hutchings, J.A., D.P. Swain, S. Rowe, J.D. Eddington, V. Puvanendran & J.A. Brown. 2007 Genetic variation in life-history reaction norms in a marine fish. *Proc. Biol. Sci.* 274: 1693-1699.
- Jarne, P. & J. Lagoda. 1996. Microsatellites, from molecules to populations and back. *Trends Ecol. Evol.* 11: 424-430.
- Jordan, A. & B. Bruce. 1993. Larval development of three roughy species complexes (Pisces, Trachichthyidae), from southern Australian waters, with comments on the occurrence of orange roughy larvae, *Hoplostethus atlanticus*. *Fishery Bulletin US* 91: 76-86.
- Khan, R.A. 2007. Effect of environmental change on parasites of Atlantic cod (*Gadus morhua*) as bioindicators of populations in the north-western Atlantic Ocean. *Journal of Helminthology* 81: 129-135.
- Kimura, M. & J. Crow. 1964. The number of alleles that can be maintained in a finite populations. *Genetics* 49: 725-738.
- Kimura, M. & T. Ohta. 1978. Stepwise mutation model and distribution of allelic frequencies in a finite populations. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 75: 2868-2872.
- Labbé, F.J. & P.M. Arana. 2001. Alimentación de orange roughy, *Hoplostethus atlanticus* (Pisces: Trachichthyidae), en el Archipiélago de Juan Fernández, Chile. *Revista de Biología Marina y Oceanografía* 36 (1): 75-82.
- Lafon, A., E. Niklitschek, J. Cornejo-Donoso & K. Gonzalez. In review. New records of orange roughy *Hoplostethus atlanticus* (Collet, 1889) juveniles in Chile. *J. Fish Biol.*
- Lester, R.J.G. 1990. Reappraisal of the use of parasites for fish stock identification. *Aust. J. Mar. Freshwater Res.* 41: 855-864.
- Lester, R.J.G., K.B. Sewell, A. Barnes & K. Evans. 1988. Stock discrimination of orange roughy, *Hoplostethus-Atlanticus*, by parasite analysis. *Marine Biology* 99: 137-143.
- Li, W.H. 1977. Distribution of nucleotide differences between two randomly chosen cistrons in a finite population. *Genetics* 85: 331-337.
- Litt, M. & A. Luty. 1989. A hypervariable microsatellite revealed by in vitro amplification of a dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene. *Am. J. Hum. Genet.* 44: 397-401.
- Luque, J., A. Herráez. 2001. *Biología molecular e ingeniería genética: conceptos, técnicas y aplicaciones en ciencias de la salud.* pp. 469, Barcelona, España.
- MacKenzie, K. 1987. Parasites as indicators of host populations. *International Journal for Parasitology* 17: 345-352.
- MacKenzie, K. 2002. Parasites as biological tags in population studies of marine organisms: an update. *Parasitology* 124: 153-163.
- Mackenzie, K., N. Campbell, S. Mattiucci, P. Ramos, A.L. Pinto & P. Abaunza. 2008. Parasites as

- biological tags for stock identification of Atlantic horse mackerel *Trachurus trachurus*. *Fish. Res.* 89: 136-145.
- Mattiucci, S., P. Abaunza, S. Damiano, A. Garcia, M.N. Santos & G. Nascetti. 2007. Distribution of *Anisakis* larvae, identified by genetic markers, and their use for stock characterization of demersal and pelagic fish from European waters: an update. *Journal of Helminthology* 81: 117-127.
- McGoldrick, D.J., D. Hedgecock, L.J. English, P. Baoprasertkul & R.D. Wars. 2000. The transmission of microsatellite alleles in Australian and North American stocks of the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*), selection and null alleles. *Journal of Shellfish Research*. 19: 779-788.
- Metzgar, D., J. Bytof & C. Wills. 2000. Selection against frameshift mutations limits microsatellite expansion in coding DNA. *Genome Research*. 10: 72-80.
- Minto, C. & C.P. Nolan. 2006. Fecundity and maturity of orange roughy (*Hoplostethus atlanticus* Collett 1889) on the Porcupine Bank, Northeast Atlantic. *Environmental Biology of Fishes* 77 (1): 39-50.
- Mosquera, J., M. Gómez-Gesteira & V. Pérez-Villar. 2000. Using parasites as biological tags of fish populations: a dynamical model. *Bulletin of Mathematical Biology* 62: 87-99.
- Moxon, E.R. & C. Wills. 1999. DNA microsatellites: agents of evolution. *Scientific American* 1: 94-99.
- Nei, K. & N. Takezaki. 1996. The root of the phylogenetic tree of human populations. *Mol. Biol. Evol.* 13: 170-177.
- Niklitschek, E., D. Boyer, A. Lafon, M. Soule, J. Cornejo-Donoso, I. Hampton, E. Hernández, R. Merino, P. Toledo, L.R. Castro, G. Aedo & M. George Nascimento. 2007a. Evaluación hidroacústica y TS de alfonsino y orange roughy. Informe Final FIP 2005-13. Universidad Austral de Chile, Coyhaique. 187 p.
- Niklitschek, E., D. Boyer, R. Merino, I. Hampton, M. Soule, J. Nelson, J. Cornejo, A. Lafon, C. Oyarzún, R. Roa & T. Melo. 2005. Estimación de la biomasa reproductiva de orange roughy en sus principales zonas de concentración, 2004. Universidad Austral de Chile, Valparaíso. FIP 2004-13. 159 p.
- Niklitschek, E., J. Cornejo, E. Hernández, P. Toledo, C. Herranz, R. Merino, A. Lafon, L.R. Castro, R. Roa & G. Aedo. 2007b. Evaluación hidroacústica de alfonsino y orange roughy, año 2006. Informe final proyecto FIP 2006-09. Universidad Austral de Chile, Coyhaique. 202 p.
- O' Connel, K. & M. Wriarth. 1997. Microsatellite DNA in fishes. *Rev. Fish Biol. Fish.* 7: 331-363.
- Okasaki, M., K.S. Naruse, R. & R. Arai. 2001. Phylogenetic relationships of bitterlings based on mitochondrial 12S ribosomal DNA sequences. *Journal of Fish Biology*. 58 (1): 89 -106.
- Oke, C., Y.C. Crozier, R.H. Crozier & R.D. Ward. 1999. Microsatellites from a teleost, orange roughy (*Hoplostethus atlanticus*), and their potential for determining population structure. *Molecular Ecology* 8: 2141-2152.
- Oosterhout, C.V., W.F. Hutchinson, D.P.M. Wills & P.F. Shipley. 2004. Micro-checker: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Molecular Ecology Notes* 4: 535-538.

- Ovenden, J. 1990. Mitochondrial DNA and marine stock assesment: A review. *Aust. J. Mar. Freshwater Res.* 41: 835-853.
- Palumbi, S. 1996. Nucleic acids II: the polymerase chain reaction. pp. 665. *In: D.C.M. Hillis, B. Mable (ed.) Molecular Systematics, Sinauer Associates, Inc. Publishers, USA.*
- Pankhurst, N.W. & A.M. Conroy. 1987. Size-fecundity relationships in the orange roughy, *Hoplostethus atlanticus*. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research.* 21: 295-300.
- Pankhurst, N.W., P.J. McMillan & D.M. Tracey. 1987. Seasonal reproductive cycles in three commercially exploited fishes from the slope waters off New Zealand. *J. Fish Biol.* 30: 193-211.
- Park, J., J. Lee, J. Kim, H. Lee & S. Min. 1993. Mitochondrial cytochrome *b* sequence variation in Korean salmonids. *Journal of Fish Biology.* 56 (5): 1145-1154.
- Payá, I., M. Montecinos, V. Ojeda & L. Cid. 2006. An overview of the orange roughy (*Hoplostethus sp.*) fishery off Chile. pp. 97-116 *Deep Sea 2003. Conference on the Governance and Management of Deep -sea Fisheries, Part 2 Conference poster papers and workshop papers., FAO, Rome.*
- Pressa, P., M. Pérez & A. Díaz. 2002. Polymorphic microsatellite markers for blue mussels (*Mytilus spp.*). *Conservation Genetics.* 3: 441- 443.
- Pritchard, J.K., M. Stephens & P. Donnelly. 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155: 945-959.
- Raymond, M. & F. Rousset. 1995. Genepop (version 1.2), population genetics software for exact tests and ecumenicism. *J. Hered.* 86: 248-249.
- Ripley, B.D. 1996. *Pattern recognition and neural networks.* Cambridge University Press, New York.
- Roa-Ureta, R. & E. Niklitschek. 2007. Biomass estimation from surveys with likelihood-based geostatistics. *ICES J. Mar. Sci.* 64: 1723-1734.
- Robertson, S. & S. Talman. 2002. Shape analysis and ageing of orange roughy otoliths from the South Tasman Rise. Final Report to the Australian Fisheries Management Authority, 16 pp. Marine Freshwater Resources Institute. Victoria. 16 p.
- Rodgers, A. & H. Harpending. 1992. Population growth makes waves in the distribution of pairwise differences. *Mol. Biol. Evol.* 9: 552-569.
- Rodgers, A.R. 1995. Genetic evidence for a Pleistocene population explosion. *Evolution* 49: 608-615.
- Ronquist, F. & J. Huelsenbeck. 2003. MrBayes 3: Bayesian phylogetic inference under mixed models. *Bioinformatics* 19: 1572-1574.
- Royall, R. 1997. *Statistical evidence: A likelihood paradigm.* Chapman & Hall, London
- Rozas, J., J. Sanchez-DelBarrio, X. Messeguer & R. Rozas. 2003. DnaSP, DNA polymorphism by the coalescent and other methods. *Bioinformatics* 19: 2496-2497.
- Sambrook, J., E.F. Fritsch & T. Maniatis. 1989. *Molecular cloning: a laboratory manual.* Cold Spring Harbor Laboratory Press, N.Y. 1659 p.
- Schneider, S., D. Roessli & L. Excoffier. 2000. *A software for population genetics data analysis,* University of Geneva. Switzerland, Geneva.

- Secor, D.H. 1999. Specifying divergent migrations in the concept of stock: the contingent hypothesis. *Fish. Res.* 43: 13-34.
- Shephard, S. & E. Rogan. 2006. Seasonal distribution of orange roughy (*Hoplostethus atlanticus*) on the Porcupine Bank west of Ireland. *Fish. Res.* 77: 17-23.
- Shephard, S., C. Trueman, R. Rickaby & E. Rogan. 2007. Juvenile life history of NE Atlantic orange roughy from otolith stable isotopes. *Deep-Sea Research Part I-Oceanographic Research Papers* 54: 1221-1230.
- Slatkin, M. 1995. A measure of population subdivision based on microsatellite allele frequencies. *Genetics* 139: 457-462.
- Smith, P. 1986. Genetic similarity between samples of the orange roughy *Hoplostethus atlanticus* from the Tasman Sea, southwest Pacific Ocean and northeast Atlantic. *Ocean. Mar. Biol.* 91: 173 – 180.
- Smith, P., R. Francis & M. McVeagh. 1991. Loss of genetic diversity due to fishing pressure. *Fish. Res.* 10: 309-316.
- Smith, P.J. & P.G. Benson. 1997. Genetic diversity in orange roughy from the east of New Zealand. *Fish. Res.* 31: 197-213.
- Smith, P.J., S.M. McVeagh & A. Ede. 1996. Genetically isolated stocks of orange roughy (*Hoplostethus atlanticus*), but not of hoki (*Macruronus novaezelandiae*), in the Tasman Sea and Southwest Pacific Ocean around New Zealand. *Mar. Biol.* 125: 783-793.
- Smith, P.J., S.G. Robertson, P. Horn, B. Bull, O.F. Anderson, B.R. Stanton & C.S. Oke. 2002. Multiple techniques for determining stock relationships between orange roughy, *Hoplostethus atlanticus*, fisheries in the eastern Tasman Sea. *Fish. Res.* 58: 119-40.
- Smolenski, A.J., J.R. Ovenden & R.W. White. 1993. Evidence of stock separation in southern hemisphere orange roughy (*Hoplostethus atlanticus*, Trachichthyidae) from restriction-enzyme analysis of mitochondrial DNA. *Mar. Biol.* 116: 219-230.
- Song, Q., E. Fickus & P. Cregan. 2002. Characterization of trinucleotide SSR motifs in wheat. *Theoretical and Applied Genetics* 104 (2-3): 286-293.
- Spanakis, E., N. Tsimenides & E. Zoures. 1989. Genetic difference between populations of sardine *Sardina pilchardus*, and anchovy *Engraulis encrasicolus*: in the Aegean and Ionian seas. *J. Fish Biol.* 35: 365-378.
- Stransky, C. 2004. Stock separation and growth of redfish (genus *Sebastes*) in the North Atlantic by means of shape and elemental analysis of otoliths. *Fachbereich Biologie, Universität Hamburg, Hamburg.* 58 p.
- Stransky, C. 2005. Geographic variation of golden redfish (*Sebastes marinus*) and deep-sea redfish (*S. mentella*) in the North Atlantic based on otolith shape analysis. *ICES J. Mar. Sci.* 62: 1691-1698.
- Swain, D.P., J.A. Hutching & C.J. Foote. 2005. Environmental and genetic influences on stock identification characters. pp. 45-85. *In: S.X. Cadrin, K.D. Friedland & J.R. Waldman (ed.) Stock identification methods, Elsevier Academic Press, Burlington-San Diego-London.*
- Tamura, K. & M. Nei. 1993. Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. *Molecular Biology and Evolution* 10: 512-

- Tautz, D. 1989. Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers. *Nucleic. Acid Res.* 17: 6463-6471.
- Templeton, A.R., K.A. Crandall & C.F. Sing. 1992. A cladistic analysis of phenotypic associations with haplotypes inferred from restriction endonuclease mapping and DNA sequence data. III. Cladogram estimation. *Genetics* 132: 619-633.
- Thresher, R.E. & C.H. Proctor. 2007. Population structure and life history of orange roughy (*Hoplostethus atlanticus*) in the SW Pacific: inferences from otolith chemistry. *Marine Biology* 152: 461-473.
- Timi, J.T. 2007. Parasites as biological tags for stock discrimination in marine fish from South American Atlantic waters. *Journal of Helminthology* 81: 107-111.
- Tracey, S., J. Lyle & G. Duhamel. 2006. Application of elliptical Fourier analysis of otolith form as a tool for stock identification. *Fish. Res.* 77: 138-147.
- Venables, W.N. & B.D. Ripley. 2002. *Modern applied statistics with S*. Springer, New York. 495 p.
- Waldman, J. 2005. Definition of stocks. An evolving concept. pp. 7-16. *In*: S. Cadrin, Friedland, K, J. Waldman Eds (ed.) *Stock identification methods. Applications in fishery science*, Elsevier Academic Press, USA.
- Ward, R., M. Woodwark & D.O.F. Skibinski. 1994. A comparison of genetic diversity levels in marine, freshwater and anadromous fish. *Journal of Fish Biology* 44: 213-232.
- Ward, R.D. 2000. Genetics in fisheries management. *Hydrobiologia* 420: 191-201.
- Weber, J. 1990. Informativeness of human (dC- dA)_n, (dG-dT)_n polymorphism. *Genomics* 7: 524-530.
- Weir, B.S. & C.C. Cockerham. 1984. Estimating F-Statistics for the analysis of population structure. *Evolution* 38: 1358-1370.
- Williams, H.H., K. Mackenzie & A.M. McCarthy. 1992. Parasites as biological indicators of the population biology, migrations, diet and phylogenetics of fish. *Rev. Fish Biol. Fish.* 2: 144-176.
- Winans, G. 1987. Using morphometric and meristic characters for identifying stocks of fish. National Marine Fisheries Service Northwest and Alaska Fisheries Center. NOAA Technical Memorandum NMIS- SEFC. 25-62 p.
- Workman, P.L. & J.D. Niswander. 1970 Population studies on southwestern Indian tribes. II. Local genetic differentiation in the Papago. *Am J Hum Genet.* 22: 24-49.
- Wright, S. 1978 *Evolution and the Genetics of Populations*. University of Chicago Press, Chicago, USA. 590 p.
- Young, Z., F. Balbontín, J. Rivera, M. Ortego, R. Tascheri, M. Rojas & S. Lillo. 2000. Estudio biológico pesquero del recurso orange roughy,. Fondo de Investigación Pesquera, Valparaíso, Chile. Informe Final FIP N° 99-05. 73 p.
- Young, Z., E. Díaz, R. Bahamonde, R. Tascheri, Y. Muñoz, A. Olivares, M.I. Ortego, J. Rivera & J. Oliva. 2004. Monitoreo y prospección orange roughy, año 2001. Instituto de Fomento

- Pesquero, Valparaíso (Chile). Informe FIP 2001-04. 127 p.
- Zane, L., L. Bargelloni & T. Patarnello. 2002. Strategies for microsatellite isolation. A review *Molecular Ecology* 11: 1-16.
- Zbawicka, M., D. Skibinski & R. Wenne. 2003. Doubly uniparental transmission of mitochondrial DNA length variants in the mussel *Mytilus trossulus*. *Marine Biology* 142: 455-460.
- Zeldis, J., P. Grimes & A. Hart. 1998. Embriology and early larval development of orange roughy (*Hoplostethus atlanticus*, Collet). *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research* 32: 159-174.
- Zeldis, J., P. Grimes & J. Ingerson. 1995. Ascent rates, vertical distribution and a thermal history model of development of orange roughy, *Hoplostethus atlanticus*, eggs in the water column. *Fishery Bulletin* 93: 373-385.

Anexo 1: Taller metodológico. Concepción, septiembre de 2007.

El taller, organizado por la Universidad Austral de Chile, contó con la presencia de profesionales de la Subsecretaría de Pesca, del Fondo de Investigación Pesquera, de la Universidad de Concepción, de la Universidad Austral de Chile y de investigadores responsables de los distintos objetivos del proyecto. Se realizó el 5 de septiembre de 2007, en la ciudad de Concepción.

Se expuso seis presentaciones en las que se discutió antecedentes de:

- Historia de vida y biología de orange roughy.
- Resultados preliminares de la aplicación de marcadores moleculares y del análisis de la composición de fauna parasitaria.
- Modelación estadística de los procesos de historias de vida y posibles diferencias de la respuesta de la población a la actividad pesquera.
- Metodología de modelación estadística e integración de las distintas fuentes de información generadas para la identificación de unidades poblacionales.

En la primera presentación, Edwin Niklitschek mostró las diferentes aproximaciones con las que se abordará el proyecto e hizo un resumen de la metodología de morfometría de otolitos, indicando que los resultados de ésta se entregarán en el pre-informe final. Posteriormente, Alejandra Lafon presentó un compendio bibliográfico de la historia de vida de orange roughy, incluyendo las investigaciones realizadas tanto a nivel nacional como internacional. De los antecedentes recabados emergió la necesidad de incorporar en futuras investigaciones nuevos estudios de fecundidad, edad y época de reproducción, haciendo hincapié en que estas debieran ser diseñadas en una escala temporal y espacial adecuada a éstos objetivos, para definir con mayor claridad el patrón reproductivo de la especie. Los resultados analizados sugieren que éste tal vez no es sincrónico y que la fecundidad necesita ser validada, considerando el efecto que pudiese tener sobre ella el momento de muestreo, con respecto al periodo temporal entre cada tanda de desove por monte. El Dr. Oyarzún hizo notar la importancia que esto podría tener para el manejo.

En la tercera presentación, Mario George-Nascimento expuso los resultados del análisis de la fauna parasitaria en distintos montes submarinos aledaños al Archipiélago Juan Fernández y sector Bajo O'Higgins en los años 2005 y 2006. En ésta destacó la drástica variación en el porcentaje de parásitos muertos encontrados para un mismo monte entre años, lo que a su parecer sugiere la existencia de diferencias en la composición de la estructura de edad de la población muestreada. Con respecto al análisis estadístico aplicado, se discutió la asignación de la variable año como variable aleatoria dentro del diseño del modelo, quedando como tema a trabajar entre el equipo de investigadores.

Cristian Canales expuso los resultados preliminares de los análisis de marcadores moleculares, utilizando la región D-loop mitocondrial y microsatélites. Considerando que ambas mostraron resultados opuestos, se discutió la sensibilidad de cada una de ellas, destacando que tienen distinta resolución en escala temporal. El Sr. Rivas consultó sobre cual aproximación es la mejor y su pertinencia, lo que fue respondido indicando que ambas son metodologías de punta, adecuadas al objetivo propuesto: En el caso de estudio se recomienda utilizar la más sensible, esto es, los

resultados de la secuenciación de la región D-Loop mitocondrial. Atendiendo a la separación o agrupación de las poblaciones en base a los resultados de análisis genéticos, el Sr. Roa consultó sobre los criterios utilizados y la base del software estadístico utilizado para el análisis genético. Se fijó una reunión de trabajo para discutir éste punto.

Rubén Roa presentó la metodología a utilizar en la modelación de los procesos de historia de vida y posibles diferencias de la respuesta de la(s) población(es) de orange roughy a la actividad pesquera. Al revisar los requerimientos y fuentes de información disponibles para los distintos puntos, resulta evidente que si los datos crudos de edad y talla por monte obtenidos por el proyecto FIP 2000-12 no son suficientes o adecuados, se dificultará el análisis de tasas de crecimiento propuesta. En el taller hubo un error de interpretación en la presentación del Sr. Roa, que sugirió la necesidad de realizar nuevos estudios de edad dentro del proyecto para poder cumplir con los objetivos propuestos. De acuerdo a la propuesta técnica, los insumos necesarios para fecundidad y edad serán obtenidos de los las bases de datos de los proyectos FIP 99-05 y 2000-12, de no ser posible lo anterior, se realizará un proposición formal de requerimientos de información básica o términos técnicos de referencia para futuros estudios que puedan abordar éstos aspectos.

El Sr. Pinochet sugirió la posibilidad de gestionar al Consejo de Investigación Pesquera, para incrementar el presupuesto del FIP 2006-55 y así financiar la lectura de edades de los otolitos disponibles. Otra forma sería presentando un proyecto para el FIP 2008.

El Sr. Roa presentó un modelo para la integración de las distintas fuentes de información en la definición de unidades poblacionales de orange roughy en Chile. Se acordó reuniones de trabajo con los líderes de los distintos objetivos para revisar en conjunto los supuestos de éste modelo.

El Taller concluyó con una discusión abierta sobre las presentaciones y resultados expuestos.

Tabla 53: Lista de asistentes al taller metodológico efectuado en Concepción en septiembre de 2007.

Nombre	Institución
Darío Rivas	Subsecretaría de Pesca
Rubén Pinochet	Fondo de Investigación pesquera
Alejandra Lafon	Universidad Austral de Chile
Edwin Niklitschek	Universidad Austral de Chile
Pamela Toledo	Universidad Austral de Chile
Mario George –Nascimento	Universidad Católica de la Santísima Concepción
Billy Ernst	Universidad de Concepción
Christian Canales	Universidad de Concepción
Ciro Oyarzún	Universidad de Concepción
Leonardo Castro	Universidad de Concepción
Ricardo Galleguillos	Universidad de Concepción
Rubén Roa	Universidad de Concepción
Sandra Ferrada	Universidad de Concepción
Sofía Astete	Universidad de Concepción



Universidad Austral de Chile

Centro Trapananda

Unidades poblacionales de orange roughy (*Hoplostethus atlanticus*).

Proyecto FIP 2006-55

Programa de Actividades Taller Metodológico.

Concepción, 05 de Septiembre de 2007.

9:15 – 9:25 Resumen general del proyecto.

Edwin Niklitschek, *Universidad Austral de Chile*.

9:25 – 9:50 Revisión y compendio bibliográfico de la historia de vida de orange roughy, de acuerdo a los antecedentes y estudios realizados tanto en aguas chilenas como en otras áreas.

Alejandra Lafon, *Universidad Austral de Chile*.

9:50 – 10:15 Análisis de la composición de fauna parasitaria en la identificación de unidades poblacionales de orange roughy en Chile.

Mario George-Nascimento, *Universidad Católica de la Santísima Concepción*.

10:15 – 10:30 Coffee Break

10:30 – 10:55 Avance de resultados en la aplicación de marcadores moleculares para la identificación de unidades poblacionales de orange roughy.

Ricardo Galleguillos, *Universidad de Concepción*.

10:55 – 11:20 Modelación estadística de los procesos de historias de vida y posibles diferencias de la respuesta de la(s) población(es) de orange roughy a la actividad pesquera.

Rubén Roa, *Universidad de Concepción*.

11:20 – 11:35 Coffee Break

11:35 – 12:00 Modelación estadística e integración de las fuentes de información para la identificación de stocks.

Rubén Roa, *Universidad de Concepción*.

12:00 – 12:30 Discusión .

Anexo 2: Taller de difusión final. Concepción, 4 abril de 2008

4 de Abril de 2008, 09:30 – 13:30 hrs.

Salón Auditorio, Instituto de Investigación Pesquera, Talcahuano.

El taller, organizado por la Universidad Austral de Chile, contó con la presencia de profesionales de la Subsecretaría de Pesca, Fondo de Investigación Pesquera, Instituto de Fomento Pesquero, Centro de Estudios Pesqueros, Instituto de Investigación Pesquera, Universidad de Concepción y de los investigadores responsables de los distintos objetivos del proyecto.

Se efectuaron cinco presentaciones en las que se resumieron los resultados del proyecto. En la primera presentación, referida a la evaluación de posibles diferencias de carácter genotípico entre las zonas de captura y dentro de la zona de Juan Fernández, se concluyó que no existen diferencias genéticas significativas, ni estructuración poblacional en las muestras analizadas procedentes de la zona Juan Fernández y Bajo O'Higgins. Lo anterior se podría explicar por la existencia de flujo génico entre los sectores muestreados, lo que es plausible considerando la gran longevidad del pez y el posible solapamiento en las áreas de desove, esto último debiera ser confirmado en futuros estudios de ciclo de vida y reproducción.

En la siguiente presentación se discutió los resultados del análisis de diferencias fenotípicas asociadas a la historia ambiental de las agregaciones, según la morfometría de otolitos, talla media de primera madurez y fecundidad. El análisis discriminante aplicado a la morfometría de otolitos mostró baja capacidad de asignar correctamente las zonas, por lo que la metodología no parece adecuada como herramienta en la discriminación de unidades poblacionales. A pesar del bajo número de individuos inmaduros, se obtuvieron ajustes apropiados de las curvas de madurez para las zonas JF1, JF2, JF3, y BO2 y la prueba de razón de verosimilitud evidenció diferencias significativas entre las zonas Bajo O'Higgins y JF1-JF2. Se presentó tres hipótesis alternativas para explicar estas diferencias: 1) diferencias en la productividad de las zonas, 2) diferencias en la presión de pesca en las distintas zonas y, 3) representación inadecuada de las tallas y sexos en el análisis. De estas tres hipótesis se piensa que la menos probable es el efecto de la pesca, indicando que los resultados obtenidos se deberían analizar en función de la calidad de los datos y representación adecuada de tallas y sexos y posibles diferencias en la productividad entre montes.

La evaluación de posibles diferencias en la respuesta de la(s) población(es) de orange roughy a la actividad pesquera 1999-2004, según el análisis de la estructura de talla por zona, año y sexo, evidenció la existencia de cambios entre zonas, entre años y entre zonas a través de los años. Estos resultados sugirieron que la respuesta de las poblaciones al efecto pesca ha sido significativamente diferente. Al respecto, el Sr. Zuleta indicó que aparentemente hay un efecto de reducción de la talla explicado más por el efecto pesca que por la diferencia entre zonas, también llamó la atención sobre la dificultad de realizar una curva de captura cuando la distribución de tallas involucra una gran acumulación de edades y que el área explotada por la pesquería es una pequeña parte del área de distribución del recurso, lo que podría explicar la supuesta estabilidad de tamaños. Por otra parte, el Sr. Ernst acotó que las características de los datos (proceden de capturas y son numerosos) podrían dificultar la visualización de la distribución multinomial de la población real.

Los resultados del análisis de la composición de la fauna parasitaria mostraron interesantes diferencias en la cantidad de parásitos muertos entre los años 2006 y 2006, lo que a juicio del Sr.

George-Nascimento podría ser una señal de juvenalización del stock o que la estructura de edades de las poblaciones muestreadas es distinta (ya que esta variable depende de la edad del pez). El análisis estadístico global de composición parasitaria sugirió que las zonas de los 4 montes del Archipiélago Juan Fernández son muy parecidas, pero hay algunas diferencias que pueden ser explicadas biológicamente (tiempos de residencia, ciclo del parásito, etc). Por ejemplo, diferencias en los valores de parasitismo por *Terranova* entre JF1 y BO se pueden relacionar con la fauna presente en cada zona y sugerirían que en JF1 existen más elasmobranquios que en BO. Como conclusión general, esta aproximación más ecológica indicó que las zonas analizadas aunque se parecen mucho no son iguales y, que este grado de similitud haría difícil detectar diferencias entre las poblaciones si existiese movilidad entre zonas. El Sr. Cubillos sugirió que a la vista de que algunos parásitos se acumulan con la edad y pueden servir como señales indicadoras, se debería incorporar en los estudios de edad el análisis de parasitismo.

La última presentación, referida a la integración de los resultados de las distintas aproximaciones utilizadas para la definición de unidades poblacionales, mostró tendencias discrepantes Si se incluye en el análisis de integración los resultados de genética, no se evidencia diferencias significativas, pero estas resultan claras al excluirlas. Esto sin lugar a dudas está relacionado con el tipo de escala utilizada y el tiempo de respuesta de la población. Basta un pequeño flujo génico para evitar estructuración genética en las poblaciones, pero sin embargo a escala ecológica es posible observar diferencias claras entre ellas que son evidenciadas estadísticamente, por ejemplo, a través del estudio de parasitismo. El Sr. George-Nascimento acota sobre resultados del estudio de unidades de stock de jurel en Europa, coherentes con nuestros resultados, donde el stock puro (genético) no revela diferencias existentes a escala ecológica

La discusión en torno a que metodología utilizar para la definición de unidades poblacionales, su significado biológico y utilidad para el manejo es un tema de permanente discusión. La opinión entre los presentes es que dado que la pesquería opera a una escala más ecológica que evolutiva y, que las características de longevidad del pez significarán que respuestas en parámetros biológicos se manifiesten tardíamente en relación al efecto de la pesca (como talla media de madurez por ejemplo), se debería dar mayor peso a atributos ecológicos.

Tabla 54: Lista de Asistentes al taller de difusión de resultados.

Nombre	Institución
Darío Rivas	Subsecretaría de Pesca
Rubén Pinochet	Fondo de Investigación pesquera
Alejandra Lafon	Universidad Austral de Chile
Edwin Niklitschek	Universidad Austral de Chile
Mario George –Nascimento	Universidad Católica de la Santísima Concepción
Billy Ernst	Universidad de Concepción
Christian Canales	Universidad de Concepción
Ciro Oyarzún	Universidad de Concepción
Ricardo Galleguillos	Universidad de Concepción
Rubén Roa	Universidad de Concepción
Sandra Ferrada	Universidad de Concepción
Luis Cubillos	Universidad de Concepción
Alejandro Zuleta	Centro de Estudios Pesqueros (CEPES)
Sergio Nuñez	Instituto de Investigación Pesquera
Claudio Gatica	Instituto de Investigación Pesquera
Rubén Alarcón	Instituto de Investigación Pesquera
Patricia Ruiz	Instituto de Investigación Pesquera
Sebastián Vasquez	Instituto de Investigación Pesquera
Roberto San Martín	Instituto de Investigación Pesquera
Pamela Toledo	Instituto de Fomento Pesquero
Nelson Salinas	Instituto de Fomento Pesquero
Patricio Herrera	Pesquera Bío Bío



Universidad Austral de Chile
Centro Trapananda

Unidades poblacionales de orange roughy (*Hoplostethus atlanticus*).
Proyecto FIP 2006-55

Programa de Actividades Taller de difusión de resultados.

09:30 – 09:40 Palabras de bienvenida y resumen del proyecto

Edwin Niklitschek, *Universidad Austral de Chile*.

09:40 - 10:10 Evaluación de posibles diferencias intra-específicas de carácter genotípico entre las 3 zonas de captura y dentro de la zona de Juan Fernández, entre al menos 2 de los montes explotados por la pesquería. (Objetivo 1).

Ricardo Galleguillos, *Universidad de Concepción*.

10:10 – 10:30 Evaluación de posibles diferencias fenotípicas asociadas a la historia ambiental de las agregaciones de orange roughy entre y dentro de las zonas de estudio. (Objetivo 2).

Alejandra Lafon, *Universidad Austral de Chile*.

10:30 – 11:05 Evaluación de posibles diferencias en la respuesta de la(s) población(es) de orange roughy a la actividad pesquera 1999-2004, entre y dentro de las zonas de estudio. (Objetivo 3)

Edwin Niklitschek, *Universidad Austral de Chile*.

11:05 – 11:25 Pausa para café

11:25 – 11:55 Composición de la fauna parasitaria de los montes submarinos de Juan Fernández y entre el sector Juan Fernández y Bajo O'Higgins. (Sobreoferta).

Mario George-Nascimento, *Universidad Católica de la Santísima Concepción*

11:55 – 12:20 Análisis integrado de la evidencia disponible sobre la estructura poblacional de orange roughy en sus principales zonas de extracción. (Objetivo 4).

Rubén Roa, *Universidad de Concepción*.

12:20 – 13:30 Intervención de panelistas y asistentes. Discusión sobre los resultados, conclusiones generales.

Anexo 3: Personal participante por objetivo específico del proyecto.

Nombre: Edwin Niklitschek

Institución: Universidad Austral de Chile

Objetivo	Actividad	Total
General	Taller de discusión metodológica	10
General	Elaboración informes (avance, pre informe final, informe final)	88
General	Inicio de Proyecto, permisos, coordinación, diseño.	10
2 – 3	Análisis estadísticas pesqueras de la especie	176
	Recopilación de información	44
	Taller de difusión y discusión de resultados	12
	Adquisición de equipamiento y materiales	0
	Análisis de laboratorio	0
	Muestreo biológico	0
	Preparación bases de datos	0
	Total	340

Nombre: Alejandra Lafon

Institución: Universidad Austral de Chile

Objetivo	Actividad	Total
General	Taller de discusión metodológica	22
General	Informes (avance, pre informe final, informe final)	44
General	Taller de difusión y discusión de resultados	22
General	Inicio de Proyecto, permisos, coordinación, diseño.	44
1, 2 y 3	Análisis de laboratorio	44
	Preparación bases de datos	0
	Adquisición de equipamiento y materiales	22
	Muestreo	0
	Análisis estadísticas pesqueras de la especie	0
	Recopilación de información	66
	Total	264

Nombre: Jorge Cornejo

Institución: Universidad Austral de Chile

Objetivo	Actividad	Total
General	Preparación bases de datos	220
	Taller de difusión y discusión de resultados	0
	Análisis estadísticas pesqueras de la especie	0
	Taller de análisis y discusión de resultados	0
	Informes (avance, pre informe final, informe final)	0
	Análisis de laboratorio	0
	Adquisición de equipamiento y materiales	0
	Inicio de Proyecto, permisos, coordinación, diseño.	0
	Muestreo	0
	Recopilación de información	0
	Total	220

Nombre: Mario George-Nacimiento

Institución: Universidad Católica de la Santísima Concepción

Objetivo	Actividad	Total
General	Taller de difusión y discusión de resultados	9
General	Taller de análisis y discusión de resultados	16
4	Análisis de laboratorio	132
4	Informes (avance, pre informe final, informe final)	35
	Recopilación de información	0
	Adquisición de equipamiento y materiales	0
	Inicio de Proyecto, permisos, coordinación, diseño.	0
	Muestreo	0
	Preparación bases de datos	0
	Análisis estadísticas pesqueras de la especie	0
	Total	192

Nombre: Ruben Roa

Institución: Universidad de Concepción

Objetivo	Actividad	Total
General	Taller de análisis y discusión de resultados	52
2 y 3	Análisis estadísticas pesqueras de la especie	60
2 y 3	Informes (avance, pre informe final, informe final)	40
	Preparación bases de datos	0
	Taller de difusión y discusión de resultados	0
	Análisis de laboratorio	0
	Adquisición de equipamiento y materiales	0
	Inicio de Proyecto, permisos, coordinación, diseño.	0
	Muestreo	0
	Recopilación de información	0
	Total	152

Nombre: Ricardo Galleguillos

Institución: Universidad de Concepción

Objetivo	Actividad	Total
General	Taller de difusión y discusión de resultados	10
General	Taller de análisis y discusión de resultados	10
1	Análisis de laboratorio	30
1	Informes (avance, pre informe final, informe final)	50
	Recopilación de información	0
	Adquisición de equipamiento y materiales	0
	Inicio de Proyecto, permisos, coordinación, diseño.	0
	Muestreo	0
	Preparación bases de datos	0
	Análisis estadísticas pesqueras de la especie	0
	Total	100

Nombre: Sandra Ferrada

Institución: Universidad de Concepción

Objetivo	Actividad	Total
1	Análisis de laboratorio	160
1	Recopilación de información	20
1	Informes (avance, pre informe final, informe final)	70
	Análisis estadísticas pesqueras de la especie	0
	Taller de análisis y discusión de resultados	0
	Taller de difusión y discusión de resultados	0
	Inicio de Proyecto, permisos, coordinación, diseño.	0
	Adquisición de equipamiento y materiales	0
	Muestreo	0
	Preparación bases de datos	0
	Total	250

Nombre: Eduardo Hernández

Institución: Universidad Austral de Chile

Objetivo	Actividad	Total
General	Preparación bases de datos	161
	Taller de difusión y discusión de resultados	0
	Análisis estadísticas pesqueras de la especie	0
	Taller de análisis y discusión de resultados	0
	Informes (avance, pre informe final, informe final)e	0
	Análisis de laboratorio	0
	Adquisición de equipamiento y materiales	0
	Inicio de Proyecto, permisos, coordinación, diseño.	0
	Muestreo	0
	Recopilación de información	0
	Total	161

Nombre: Pamela Toledo

Institución: Universidad Austral de Chile

Objetivo	Actividad	Total
General	Informes (avance, pre informe final, informe final)e	88
	Análisis estadísticas pesqueras de la especie	0
	Preparación bases de datos	0
	Taller de análisis y discusión de resultados	0
	Taller de difusión y discusión de resultados	0
	Análisis de laboratorio	0
	Adquisición de equipamiento y materiales	0
	Inicio de Proyecto, permisos, coordinación, diseño.	0
	Muestreo	0
	Recopilación de información	0
	Total	88

Nombre: Claudio Herranz
Institución: Universidad Austral de Chile

Objetivo	Actividad	Total
2 y 3	Análisis de datos y preparación de mapas gráficos y tablas	88
General	Preparación bases de datos	88
	Taller de difusión y discusión de resultados	0
	Informes (avance, pre informe final, informe final)	0
	Taller de análisis y discusión de resultados	0
	Análisis de laboratorio	0
	Adquisición de equipamiento y materiales	0
	Inicio de Proyecto, permisos, coordinación, diseño.	0
	Muestreo	0
	Recopilación de información	0
	Total	176

Nombre: Observador Biológico
Institución: Universidad Austral de Chile

Objetivo	Actividad	Total
General	Muestreo	352
General	Recopilación de información	624
	Taller de análisis y discusión de resultados	0
	Análisis estadísticas pesqueras de la especie	0
	Informes (avance, pre informe final, informe final)e	0
	Taller de difusión y discusión de resultados	0
	Inicio de Proyecto, permisos, coordinación, diseño.	0
	Adquisición de equipamiento y materiales	0
	Análisis de laboratorio	0
	Preparación bases de datos	0
	Total	976