



**UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y OCEANOGRÁFICAS
DEPARTAMENTO DE OCEANOGRAFÍA**

INFORME FINAL

PROYECTO DEL FONDO DE INVESTIGACION PESQUERA

**“DETERMINACIÓN DE UNIDADES POBLACIONALES DE SARDINA
AUSTRAL ENTRE LA X Y XII REGIONES DE CHILE”**

FIP N° 2010-17

**PROPONENTE : DEPARTAMENTO DE OCEANOGRAFIA
UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN**

REQUIRENTE : FONDO DE INVESTIGACIÓN PESQUERA

CONCEPCIÓN, DICIEMBRE 2012

JEFE DE PROYECTO

Ricardo Galleguillos González

AUTORES

**Sandra Ferrada Fuentes
Cristian B. Canales-Aguirre
Cristian E. Hernández
Marcelo E. Oliva
María Teresa González
Luis Cubillos
Edwin Niklitschek
Pamela Toledo**

COAUTORES

**Claudio Castillo Jordán
Sandra Curin Osorio
Milton Pedraza García**

COLABORADORES

**Natacha Torres
Oscar Inostroza
Hernán Rebolledo Fernández
Claudio Carrasco
Cristian Parra Venegas
Carolina Alarcón Muñoz
Claudia Barría
Oriana Rojas**

CONCEPCION, DICIEMBRE 2012

RESUMEN EJECUTIVO

El presente Informe Final comunica los resultados generados del proyecto FIP N°2010 – 17, que tiene como objetivos determinar si la sardina austral, *Sprattus fuegensis*, presente entre la X y XII regiones de Chile, constituye una o más unidades poblacionales o stocks pesqueros independientes, estimar flujos moleculares o genéticos entre unidades poblacionales o stocks y por último desarrollar un modelo conceptual respecto de las migraciones ontogénicas de sus individuos y los posibles procesos de conectividad entre dichas unidades poblacionales.

Para cumplir estos objetivos, además de la aproximación basada en marcadores nucleares, correspondiente a marcas biológicas heredables del tipo microsátélites y marcadores mitocondriales, se incorporó otras metodologías para evaluación de unidades poblacionales, todas ellas basadas en variables con influencia medioambiental como son la morfología y microquímica de otolitos, morfología corporal, parámetros de historia de vida y fauna parasitaria, con la finalidad de tener una visión amplia de la dinámica poblacional de la especie entre la X y XII región de Chile, considerando además la distribución de *Sprattus fuegensis* en el Atlántico.

Con el objeto de identificar las unidades poblacionales de sardina austral, se analizó la variación morfométrica de los otolitos, del cuerpo, y parámetros de historia de vida. Para ello se obtuvo muestras de ejemplares provenientes de la región de Los Lagos (X región), de la región de Aysén (XI región), de la región de Magallanes (XII región), y del Atlántico en Argentina. En el caso de los parámetros de historia de vida se realizó una revisión bibliográfica, y se recopiló datos de abundancia para detectar patrones de distribución espacial.

En la morfología de otolitos de sardina austral, se analizó muestras de otolitos colectadas en la Región de Los Lagos y Región de Aysén en Chile, y del Sur de Argentina. Se realizó un análisis tradicional sobre la base del largo, ancho, área, perímetro e índices de forma, como también un análisis de contornos utilizando los coeficientes de 11 armónicos normalizados de la transformada elíptica de Fourier. Tanto la morfometría tradicional como de contornos evidencia variabilidad interregional que permite diferenciar los otolitos de la Región de Los Lagos de la Región de Aysén, y del Sur de Argentina, pero con un grado de mezcla importante entre regiones. El otolito sagita de la sardina austral de la región de Los Lagos presentó una forma elíptica, rostrum definido y antirostrum cóncavo. El otolito de la región de Aysén y del Sur de Argentina presentó un aspecto globoso, con partes muy poco definidas o ausentes

como el postrostrum y antirostrum. El rostrum del otolito de los ejemplares provenientes de la región de Los Lagos está muy bien definido, siendo ésta una característica importante y diferenciadora del otolito. En tanto, el contorno de los otolitos de sardina proveniente de la Región de Aysén y del Sur de Argentina es más similar que aquellos de los especímenes colectados en la Región de Los Lagos. Se concluye que la sardina austral presenta variación fenotípica significativa en la forma y tamaño de sus otolitos. Existiendo una importante grado de mezcla entre las zonas analizadas.

Sobre la base de 16 variables morfométricas, corregidas para evitar el efecto del tamaño de los ejemplares, se analizó si los ejemplares colectados en la región de Los Lagos y de la región de Aysén presentaban diferencias morfométricas significativas. Al aplicar un Análisis de Componentes Principales, se observó segregación de los ejemplares de cada región, que se explica por variaciones la distancia de la aleta pectoral al inicio de la aleta anal y la longitud de la cabeza. El Análisis Discriminante Lineal permitió establecer la segregación de los grupos, y el Análisis de Varianza Multivariado demostró diferencias significativas en la morfología del cuerpo entre la sardina austral de la región de Los Lagos y la región de Aysén. Por otra parte, se analizó si los ejemplares colectados en Chile (X-XI región) y en la costa Argentina presentaban diferencias morfométricas significativas. En este caso, se observó mayor segregación entre ejemplares respecto a lo encontrado entre regiones, la que se explica por variaciones de la distancia del punto inicial de la aleta pectoral al inicio de la aleta anal y en la Distancia del punto inicial del hocico superior al punto inicial de la aleta pectoral, principalmente

Con el objeto de analizar la variabilidad en parámetros de historia de vida de sardina austral y los patrones de distribución de su abundancia, se realizó una revisión bibliográfica y se recopiló datos de abundancia. Se recopiló datos de abundancia acústica de un crucero de evaluación realizado entre diciembre de 2010 y enero de 2011 en la región de Los Lagos y región de Aysén. Asimismo se recopiló parámetros de crecimiento en longitud, estructura de tallas, parámetros de la relación longitud-peso, y talla media de madurez. El patrón de distribución de la abundancia de sardina austral revela una discontinuidad en la Boca del Guafo (43°30'S), siendo más alta hacia el sector norte de la región de Los Lagos, y hacia el Canal Moraleda y fiordos de la región de Aysén. Los parámetros de crecimiento revelan diferencias en la tasa de crecimiento de la sardina austral de las Islas Falkland y del mar interior de Chiloé, y aunque se observó tasas de crecimiento bajas en otras zonas se piensa que una comparación válida debe

tomar en cuenta la correlación estadística entre la longitud asintótica y el coeficiente de crecimiento. La estructura de tallas de la región de Aysén se caracteriza por ser bimodal, representada por ejemplares de 10-11 cm y de 13 cm con presencia de peces de 5-6 cm de longitud total. En la región de Los Lagos, en cambio, la estructura de tallas estuvo representada por ejemplares comprendidos entre 10,0 y 16,5 cm. Los parámetros de la relación longitud- peso no parecen ser diferentes entre zonas, pero sí con los parámetros que comunican otros autores. En cuanto a la talla media de madurez, se recopiló estimaciones de la literatura, observándose que se han reportado tallas que fluctúan entre 11 y 12 cm, y solo recientemente (2011) se comunica una talla de 13.5 cm en aguas interiores de la región de Los Lagos.

De acuerdo al análisis morfométrico tradicional efectuado sobre la base de 16 variables (distancias entre puntos), corregidas para evitar el efecto del tamaño de los ejemplares, y a al análisis de morfometría geométrica sobre 9 marcas de coordenadas bidimensionales (landmark), se analizó si los ejemplares colectados en la región de Los Lagos y de la región de Aysén presentaban diferencias morfométricas significativas. Al aplicar un Análisis de Componentes Principales, se observó segregación de los ejemplares de cada región, que se explica por variaciones de la distancia de la aleta pectoral al inicio de la aleta anal y la longitud de la cabeza. El Análisis Discriminante Lineal permitió establecer la segregación de los grupos, y el Análisis de Varianza Multivariado demostró diferencias significativas en la morfología del cuerpo entre la sardina austral de la región de Los Lagos y la región de Aysén. Por otra parte, se analizó mediante las mismas técnicas, si los ejemplares colectados en Chile (X-XI región) y en la costa Argentina presentaban diferencias morfométricas significativas. En este caso, se observó mayor segregación entre ejemplares respecto a lo encontrado entre regiones, la que se explica por variaciones de la distancia del punto inicial de la aleta pectoral al inicio de la aleta anal y en la Distancia del punto inicial del hocico superior al punto inicial de la aleta pectoral, principalmente

Los resultados obtenidos mediante el análisis de morfometría geométrica validada lo obtenido por morfometría tradicional, estableciendo también segregación de los grupos explicada por diferencias morfológicas entre los ejemplares de ambas regiones.

En el análisis de microquímica de otolitos se sometió a prueba distintas hipótesis acerca del número y conectividad de las zonas de crianza de *Sprattus fuegensis* en aguas interiores de Chiloé, Aysén y Magallanes. Para ello, se comparó la concentración relativa de isótopos de ^{13}C y ^{18}O en 178 núcleos de otolitos de individuos adultos y juveniles procedentes de las distintas zonas. Las

diferencias univariadas y multivariadas significativas, encontradas en la composición de estos isótopos, indicaron que los juveniles y adultos muestreados en cada una de las áreas desarrolló sus primeros meses de vida bajo condiciones ambientales distintas. De esta manera, los resultados obtenidos sugieren la existencia de al menos tres áreas de desove y crianza distintas. Las diferencias significativas encontradas entre adultos capturados en distintas zonas fueron consistentes con las encontradas a nivel de juveniles y sustentan la idea que la segregación espacial inicial continuaría a lo largo de toda la vida para la mayor parte de estos individuos. No obstante lo anterior, el análisis de mezcla de distribuciones finitas indicó niveles relativamente altos de conectividad entre Aysén y Chiloé, estimándose que un 26-32% de los adultos capturados en Chiloé y Aysén provendrían de las zonas de crianza vecinas. No se encontró, por otro lado, evidencia de que adultos originados en Magallanes estuvieran presentes en Chiloé o Aysén.

La fauna de parásitos metazoos es cualitativamente pobre, dominada por un nemátodo Anisakidae *Hysterothylacium* sp. y otras dos especies *Anisakis* sp. y un copépodo no identificado de la familia Bomolochidae, *Anisakis* sp. estuvo presente en un sólo ejemplar de la región de Magallanes y el copépodo Bomolochidae presente en una sola muestra de la Región de Los Lagos con bajos valores de prevalencia y abundancia media de infección. En términos cuantitativos es importante la alta prevalencia y abundancia del nemátodo *Hysterothylacium* sp.

Tanto la talla media de las sardinas analizadas, como la abundancia y prevalencia de infección, difieren significativamente entre regiones, sin embargo estas diferencias no permiten soportar la hipótesis de más de un stock de sardina austral, en las costas de Chile, pero si sugieren que habría una segregación por tallas de las sardinas y/o procesos de migración en Chile, desde sur hacia el norte. Esta última hipótesis se sustenta en las diferencias en talla y una asociación positiva y significativa entre talla y abundancia de infección. Sardinas australes del Atlántico tienen una talla significativamente mayor que las de la XII Región, pero una carga parasitaria menor que las provenientes de esta región.

Del análisis de los marcadores moleculares utilizados en el presente proyecto, se puede establecer que existe una mínima tendencia a la diferenciación genética entre las áreas de muestreo en Chile para el pelágico *Sprattus fuegensis*.

De manera específica la región control del ADN mitocondrial resulto ser altamente variable en la especie, tal cual como ocurre en otros pequeños pelágicos y congenéricos con *S. fuegensis*, donde la mayoría de los individuos presento un haplotipo único, lo que se ha encontrado en

algunos otros peces pelágicos, y que sería producto de un alto tamaño efectivo poblacional. Al agrupar las zonas de pesca por región administrativa el índice F_{st} es bajo y no muestra diferencias significativas. El análisis de diferenciación por zona de pesca, nos permite establecer que la zona L que se encuentra en la XI región muestra diferencias genéticas de las demás zonas de pesca. Este último se corrobora en el análisis AMOVA, el cual da cuenta que la agrupación L comparada con el resto explica un 10,8% de la variación. No obstante utilizando e incorporando en el análisis la disposición espacial de las zonas de pesca, no se encontró diferencias genéticas significativas, considerándose que *Sprattus fuegensis* a través de su distribución en Chile, se comporta poblacionalmente como una gran agrupación reproductiva. Dada la poca reproducibilidad de loci microsatélites heterólogos que inicialmente estaba propuesto en la oferta técnica, y debido a la ausencia de marcadores microsatélites específicos para *S. fuegensis* se desarrolló una librería genómica especie específica para la cual no estaba considerada en la propuesta inicial del proyecto. De la librería se obtuvieron 33 loci polimórficos, de los cuales 8 fueron aplicados para los análisis genéticos poblacionales para la distribución de *Sprattus fuegensis* en Chile.

El patrón de diversidad genética de los microsatélites presenta un alto número de alelos por loci siendo estos valores similares a los obtenidos en especies de pequeños pelágicos, indicando que estos marcadores son herramientas útiles de discriminación de poblaciones. Al evaluar el equilibrio de H&W se observa que para todas las regiones administrativas analizadas, los ocho loci presentaron desviaciones significativas al equilibrio, producto en un déficit de heterocigotos.

Los resultados marcadores moleculares tipo microsatélites sustentan la existencia de un fuerte flujo génico entre las localidades muestreadas a lo largo de Chile, exceptuando la zona D frente al Golfo Corcovado, observándose dos agrupaciones reproductivas a través de su distribución en Chile. Este escenario parece realista considerando que los datos de microsatélites representan procesos genéticos más recientes, comparado con el ADN mitocondrial, rescatando mutaciones ocurridas hasta 1000 generaciones atrás en una población. Las diferencias observadas sugieren que la estructuración generada a partir del punto de muestreo D representa el resultado de una población aislada geográficamente, de pequeño tamaño efectivo, cuyo flujo génico fundamental es de inmigración, lo que se ve corroborado en los resultados. Esto repercutiría en procesos de deriva génica local y acumulación de nuevas mutaciones que no serían aportadas a la población de amplia distribución por existir una baja

probabilidad de emigración, en donde los factores ambientales no jugarían un papel fundamental, o por lo menos aquellos factores ambientales evaluados en este estudio. Por esta razón argumentamos que procesos a mesoescala, corrientes costeras, y geomorfología de la costa podrían generar el patrón observado de aislamiento en la población D.

Aunando las aproximaciones podemos establecer que en Chile, *Sprattus fuegensis*, a nivel poblacional conforma un único stock genético con una importante cohesión reproductiva, compuesto por al menos dos stock ecológicos, como lo evidencian sus caracteres de historia de vida.

Para finalizar debemos destacar la importancia de este estudio en términos de la biodiversidad y conservación del recurso pesquero *Sprattus fuegensis*. Esta investigación corresponde al primer estudio de línea base en la genética de un recurso pesquero incipiente en la actividad, en donde se podrá contar con una base de datos de variables genéticas de esta especie y realizar monitoreos y evaluaciones de la calidad genética del recurso a través de la historia de su pesquería formal.

Índice general	
Resumen ejecutivo	i
Índice general	I
Índice figuras	III
Índice tablas	XII
Introducción general	1
Objetivos	9
Metodología general	10
Capítulo I. Aproximación basada el uso de marcadores moleculares	
Antecedentes.....	12
Metodología de trabajo.....	14
Resultados.....	26
Análisis y discusión de los resultados.....	46
Conclusiones.....	48
Capítulo II. Aproximación basada en el uso de morfología de otolitos	
Antecedentes.....	49
Metodología de trabajo.....	53
Resultados.....	58
Análisis y discusión de los resultados.....	74
Conclusiones.....	76
Capítulo III. Aproximación basada en el uso de morfología corporal	
Antecedentes.....	78
Metodología de trabajo.....	80
Resultados.....	85
Análisis y discusión de los resultados.....	107
Conclusiones.....	108
Capítulo IV. Aproximación basada en parámetros de historia de vida	
Antecedentes.....	109
Metodología de trabajo.....	111
Resultados.....	115
Análisis y discusión de los resultados.....	143
Conclusiones.....	144
Capítulo V. Aproximación basada en microquímica de otolitos	
Antecedentes.....	146
Metodología de trabajo.....	149
Resultados.....	156

Análisis y discusión de los resultados.....	165
Conclusiones.....	166
Capítulo VI. Aproximación basada en parásitos metazoos	
Antecedentes.....	167
Metodología de trabajo.....	171
Resultados.....	173
Análisis y discusión de los resultados.....	191
Conclusiones.....	193
Capítulo VII: Aproximación integrativa para modelo conceptual	
Análisis y discusión de los resultados.....	194
Discusión y conclusiones finales.....	199
Referencias bibliográficas.....	201
Taller de Discusión y Difusión.....	221
Anexo I.....	226

Índice figuras

Capítulo I. Aproximación basada el uso de marcadores moleculares

Figura 1: Mapa de distribución de las muestras de <i>S. fuegensis</i>	15
Figura 2. Número de poblaciones K y Densidad de probabilidades del numero de poblaciones en base a las secuencias obtenidas.....	26
Figura 3. Número de poblaciones K y Densidad de probabilidades del numero de poblaciones en base a los marcadores microsatélites.....	27
Figura 4. Isolíneas de distribución de probabilidad a posteriori asociadas a cada cluster geográfico o unidad poblacional.....	28
Figura 5: Frecuencias alélicas para 8 loci microsatélite de <i>S. fuegensis</i> en las agrupaciones reproductivas evidenciadas en el sur de Chile.....	40

Capítulo II: Aproximación basada en el uso de morfología de otolitos

Figura 1. Longitud total del pez, Largo del otolito, Área del otolito y Factor Forma por región de estudio para sardina austral.....	59
Figura 2. Otolitos de sardina austral extraídos de las 4 regiones de estudio:	60
Figura 3. Relación entre el ancho, largo, perímetro, y área del otolito y la longitud total del pez (cm), sardina austral.....	61

Figura 4. Matriz de correlaciones entre las medidas unidimensionales e índices de forma del otolito sagita de sardina austral.....	62
Figura 5. Estabilización de la forma a través de los Índices de forma en función de la longitud de sardina austral.....	63
Figura 6. Primer y segundo componente principal de las medidas unidimensionales e índices de forma del otolito sagita de sardina austral.....	65
Figura 7. Análisis discriminante lineal aplicado a los atributos morfométricos de otolitos de sardina austral considerando “form” (tamaño y forma) y “shape” (solo forma).....	67
Figura 8. Histograma de frecuencia porcentual de los puntajes discriminantes para las medidas unidimensional e índices de forma del otolito sagita de sardina austral para la X y XI regiones de Chile, y Sur de Argentina.....	68
Figura 9. Primer y segundo componente principal de 11 armónicos normalizados de Fourier (An, Bn, Cn y Dn) que describen el contorno de los otolitos de sardina austral provenientes de la X Región (“d”), XI Región (“y”), y Sur de Argentina (“a”).	70
Figura 10. Histograma de frecuencia porcentual de los puntajes discriminantes para los armónicos normalizados del contorno del otolito sagita de sardina austral para la X y XI regiones de Chile, y Sur de Argentina.....	71
Figura 11. Variación extrema en la forma del otolito (amplificada x 2) descrita por el discriminante lineal.....	72

Figura 12. Contorno promedio del otolito de sardina austral en la X Región (línea segmentada negra), XI Región (línea continua roja), y Sur de Argentina.....73

Capitulo III. Aproximación basada en el uso de morfología corporal

Figura 1. Distancias morfométricas propuestas (rojo), adicionales (azul) y landmark (amarillo) a ser utilizadas en el análisis morfométrico de sardina austral. Imagen obtenida de FAO (<http://www.fishbase.org>).....80

Figura 2. Imagen de sardina austral y ejemplo del uso de Image J para en obtener las distancias morfométricas.....83

Figura 3. Relación entre T1 y LE de sardina austral para ambas regiones.....85

Figura 4. La matriz muestra el grado de correlación entre las variables luego de la normalización de las distancias corporales de sardina austral, X y XI regiones.....87

Figura 5. Representación grafica de dirección y magnitud de los vectores de las distancias, asociado al grado de correlación con el CP1 y CP2.....89

Figura 6. Análisis de componentes principales (CP1 v/s CP2) de las 16 distancias medidas para ejemplares de sardina austral, X y XI regiones.....90

Figura 7. Histograma de distribución de frecuencia de los puntajes discriminantes para 16 distancias morfométricas de sardina austral, X y XI Región.....92

Figura 8. Corrección de las coordenadas bidimensionales de los landmark mediante Procrustes.....	93
Figura 9. Análisis de Componentes Principales (ACP) para las variables utilizadas en la metodología de morfometría geométrica.....	95
Figura 10. Análisis Discrimínate Múltiple (ADM) por región para los 9 landmark seleccionados.....	95
Figura 11. Análisis de componentes principales (CP1 v/s CP2) de las 16 distancias medidas para ejemplares de sardina austral, X y XI regiones.....	99
Figura 12. Histograma de distribución de frecuencia de los puntajes discriminantes para 16 distancias morfométricas de sardina austral, X y XI Región.....	101
Figura 13. Corrección de las coordenadas bidimensionales de los landmark mediante Procrustes.....	102
Figura 14. Análisis de Componentes Principales (ACP) para las variables utilizadas en la metodología de morfometría geométrica.....	104
Figura 15. Análisis Discrimínate Múltiple (ADM) por región para los 9 landmark seleccionados.....	105

Capitulo IV. Aproximación basada en parámetros de historia de vida

Figura 1. Cobertura espacial de estudios acústicos desarrollados sobre la X y XI regiones, tendientes a entregar información de densidad/abundancia/biomasa de sardina austral.....	119
Figura 2. Información de densidad (ton/mn ³) de sardina austral presente en la X y XI regiones.....	121
Figura 3. Distribución de la abundancia (Ind x 10 ⁶) por región.....	122
Figura 4. Cobertura espacial de cruceros acústicos desarrollados sobre la costa Argentina, tendientes a entregar información de biomasa de sardina austral.....	124
Figura 5. Grafico de Violín para el registro de longitud total en cada una de las regiones incluidas en el estudio.....	127
Figura 6. Transformación logarítmica de los parámetros de crecimiento de L _∞ y K.....	130
Figura 7. Ajustes de la relación longitud-peso de sardina austral para diferentes zonas de estudio.....	135
Figura 8. Diagrama xy Plot de los parámetros de la relación longitud-peso de sardina austral, obtenidos desde la literatura y base de datos.....	139

Capítulo V Aproximación basada en microquímica de otolitos

Figura 1. Lances para muestreo de otolitos (●) y muestreo de agua (*) realizado en las distintas zonas de estudio para análisis de isótopos estables de carbono y oxígeno.....	150
Figura 2. Concentración relativa de isótopos estables de oxígeno (δ ¹⁸ O) y carbono (δ ¹³ C) en las muestras de agua, colectadas a 10 y 30 m de profundidad en el Mar Interior de Chiloé y en la zona de Fiordos y Canales de Aysén.....	157

Figura 3. Relación entre $\delta^{18}\text{O}$ y salinidad y entre $\delta^{13}\text{C}$ y salinidad, en muestras procedentes del Mar Interior de Chiloé y de la zona de Fiordos y Canales de Aysén, tomadas a 10 y 30 m de profundidad.....158

Figura 4. Diagrama bivariado de la concentración de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{18}\text{O}$ en muestras procedentes del Mar Interior de Chiloé y del Sistema de Fiordos y Canales de Aysén, tomadas a 10 y 30 m de profundidad.....158

Figura 5. Concentraciones relativas de isótopos estables de carbono ($\delta^{13}\text{C}$) y oxígeno ($\delta^{18}\text{O}$) en secciones nucleares (cores) de otolitos de juveniles y adultos de *Sprattus fuegensis* según zona de captura.....161

Figura 6. Diagrama bivariado de las concentraciones relativas de isótopos estables de carbono ($\delta^{13}\text{C}$) y oxígeno ($\delta^{18}\text{O}$) en secciones nucleares de otolitos representando los primeros meses de vida de juveniles y adultos de *Sprattus fuegensis* según zona de captura.....163

Capítulo VI. Aproximación basada en parásitos metazoos

Figura 1. Modelo conceptual de la utilización de parásitos como herramienta en la identificación de movimientos migratorios y unidades de stock.....168

Figura 2. Talla media (cm) de especímenes de *S. fuegensis* por regiones provenientes de Chile y Argentina.....174

Figura 3. Talla media (cm) de especímenes de *S. fuegensis* de distintas zonas de pesca en la X Región.....175

Figura 4. Talla media (cm) de especímenes de *S. fuegensis* de distintas zonas de pesca en la XI Región.175

Figura 5. Abundancia media infección de <i>Hysterothylacium</i> sp. en <i>S. fuegensis</i> por Regiones en Chile y Argentina.....	179
Figura 6. Abundancia media de infección de <i>Hysterothylacium</i> sp. en <i>S. fuegensis</i> por zona de pesca en la X región.....	180
Figura 7. Abundancia media de infección de <i>Hysterothylacium</i> sp. en <i>S. fuegensis</i> por Zonas de pesca en la XI región.....	180
Figura 8. Intensidad de infección <i>Hysterothylacium</i> sp. en <i>S. fuegensis</i> por Regiones en Chile y Argentina.....	181
Figura 9. Intensidad media de infección de <i>Hysterothylacium</i> sp. en <i>S. fuegensis</i> por zonas de pesca de la X Región.....	182
Figura 10. Intensidad media de infección de <i>Hysterothylacium</i> sp. en <i>S. fuegensis</i> por zonas de pesca de la XI Región.....	182
Figura11. Relación entre talla de <i>S. fuegensis</i> y abundancia de <i>Hysterothylacium</i> sp. en la zona de pesca A.....	184
Figura 12. Relación entre talla de <i>S. fuegensis</i> y abundancia de <i>Hysterothylacium</i> sp. en la zona de pesca B.....	184
Figura 13. Relación entre talla de <i>S. fuegensis</i> y abundancia de <i>Hysterothylacium</i> sp. en la zona de pesca D.....	185
Figura 14. Relación entre talla de <i>S. fuegensis</i> y abundancia de <i>Hysterothylacium</i> sp. en la zona de pesca E.....	185
Figura 15. Relación entre talla de <i>S. fuegensis</i> y abundancia de <i>Hysterothylacium</i> sp. en la zona de pesca H.....	186

Figura 16. Relación entre talla de <i>S. fuegensis</i> y abundancia de <i>Hysterothylacium</i> sp. en la zona de pesca I.....	186
Figura 17. Relación entre talla de <i>S. fuegensis</i> y abundancia de <i>Hysterothylacium</i> sp. en la zona de pesca J.....	187
Figura 18. Relación entre talla de <i>S. fuegensis</i> y abundancia de <i>Hysterothylacium</i> sp. en la zona de pesca K.....	187
Figura 19. Relación entre talla de <i>S. fuegensis</i> y abundancia de <i>Hysterothylacium</i> sp. en la zona de pesca L.....	188
Figura 20. Relación entre talla de <i>S. fuegensis</i> y abundancia de <i>Hysterothylacium</i> sp. en la zona de pesca única de la XII Región (Zona única)	188
Figura 21. Relación entre talla de <i>S. fuegensis</i> y abundancia de <i>Hysterothylacium</i> sp. en muestras integradas de la X Región.....	189
Figura 22. Relación entre talla de <i>S. fuegensis</i> y abundancia de <i>Hysterothylacium</i> sp. en muestras integradas de la XI Región.....	189
Figura 23. Relación entre talla de <i>S. fuegensis</i> y abundancia de <i>Hysterothylacium</i> sp. en muestras integradas de la X, XI y XII Región.....	190
Figura 24. Relación entre talla de <i>S. fuegensis</i> y abundancia de <i>Hysterothylacium</i> sp. en muestras integradas de Chile y Argentina.....	190
Figuras 25. Función logística que relaciona talla con prevalencia de infección por rango de talla.....	193

Capítulo VII: Aproximación integrativa para modelo conceptual

Figura 1. Modelo conceptual respecto a los procesos de conectividad en el área de distribución de *Sprattus fuegensis*.....195

Figura 2. Modelo conceptual respecto a los procesos de conectividad en el área de distribución de *Sprattus fuegensis*.....196

Figura 3. Diagrama conceptual que muestra la influencia de diversos factores microevolutivos (conectividad, la historia poblacional y tamaño) sobre los niveles de diferenciación genética estimados a partir de los índices F_{st}197

Índice tablas

Metodología general

Tabla 1: Número de muestras mínimas y número de muestras utilizadas en los análisis de las diferentes aproximaciones por región analizada.....	11
--	----

Capítulo I. Aproximación basada el uso de marcadores moleculares

Tabla 1: Localidades de muestreo de <i>Sprattus fuegensis</i>	14
Tabla 2: Parámetros de diversidad genética de la región DLoop del ADN mitocondrial de <i>S. fuegensis</i> por región administrativa.....	29
Tabla 3: Parámetros de diversidad genética de la región DLoop del ADN mitocondrial de <i>S. fuegensis</i> para el Pacífico Sur Oriental y para el Atlántico.....	29
Tabla 4: Índice Φ_s por pares de regiones administrativas.....	30
Tabla 5: Índice Φ_s entre países.....	30
Tabla 6: Índice Φ_s entre zonas de pesca.....	31
Tabla 7: Índices Φ_{st} , Φ_{sc} y Φ_{ct} obtenidos en AMOVA.....	32
Tabla 8. Características de los 33 loci microsatélites polimórficos desarrollados para <i>Sprattus fuegensis</i>	34-35
Tabla 9: Parámetros de variabilidad genética en ocho loci microsatélites de <i>S. fuegensis</i> descritos por región administrativa de Chile.....	37

Tabla 10: Índice de diferenciación poblacional F_{st} por pares de zonas de pesca para los ocho marcadores moleculares microsatélites de <i>Sprattus fuegensis</i>	39
Tabla 11. Índice de diferenciación poblacional F_{st} por pares de regiones administrativas en <i>S. fuegensis</i> a través de su distribución en Chile.....	41
Tabla 12. Resultados de agrupaciones testados para <i>S. fuegensis</i> según AMOVA para los ocho loci analizados.....	41
Tabla 13. Resultados de agrupaciones testados para <i>S. fuegensis</i> según AMOVA por loci analizado.....	42
Tabla 14. Determinación de tamaño efectivo poblacional (N_e) y Magnitud del número de migrantes (m) estimados para <i>S. fuegensis</i> mediante el parámetro de diversidad genética.....	43
Tabla 15. Nivel de ajuste de modelos lineales para los factores ambientales.....	44-45

Capítulo II. Aproximación basada en el uso de morfología de otolitos

Tabla 1. Coeficiente de alometría para cada medida morfométrica del otolito sagita de sardina austral de la X y XI región de Chile, y Sur de Argentina.....	61
Tabla 2. Estadígrafos de dispersión de los componentes principales de las medidas unidimensionales, índices de formas, factor forma y redondez del otolito sagita de sardina austral de la X y XI región de Chile.....	64
Tabla 3. Componentes de carga de las medidas unidimensionales e índices de forma y los componentes principales del otolito sagita de sardina austral de la X y XI región de Chile.....	64

Tabla 4. Resultados del Análisis de Varianza Multivariante (MANOVA) y MANOVA semi-paramétrico entre las variables morfométricas de los otolitos de sardina austral provenientes de tres zonas geográficas: X Región y XI Región en Chile y Sur de Argentina.....66

Tabla 5. Matriz de confusión para las medidas unidimensionales e índices de forma de los otolitos de sardina austral para la X y XI regiones de Chile.....69

Tabla 6. Poder acumulado (%) de los armónicos normalizados de Fourier, y proporción de la varianza total explicada por el número de armónicos.....69

Capítulo III. Aproximación basada en el uso de morfología corporal

Tabla 1. Distancias propuestas según metodología utilizada por Kristoffersen & Magoulas (2008) y medidas adicionales.....81

Tabla 2. Coeficiente de alometría para cada medida morfométrica del otolito sagita de sardina austral de la X y XI Región de Chile.....86

Tabla 3. Muestra el valor de desviación estándar, la proporción de la varianza y la proporción acumulada para los primeros diez CP.....88

Tabla 4. Análisis Componente Principal de las distancias morfométricas para los primeros 10 diez componentes principales.....88

Tabla 5. Resumen de valores en términos de media y desviación estándar para las cuatro medidas que definen a los CP 1y 2, según región.....90

Tabla 6. Análisis de varianza multivariado, MANOVA, para las 16 distancias corporales de sardina austral, X y XI región de Chile.....	91
Tabla 7. Tabla de mezcla de distancias corporales de sardina austral, X y XI.....	92
Tabla 8. Porcentaje de varianza Y Porcentaje de Varianza acumulada según CP.....	94
Tabla 9. Muestra el valor de desviación estándar, la proporción de la varianza y la proporción acumulada para los primeros diez CP.....	97
Tabla 10. Análisis Componente Principal de las distancias morfométricas para los primeros 10 diez componentes principales.....	98
Tabla 11. Análisis de varianza multivariado, MANOVA, para las 16 distancias corporales de sardina austral, X y XI región de Chile.....	100
Tabla 12. Tabla de mezcla de distancias corporales de sardina austral, X y XI.....	101
Tabla 13. Porcentaje de varianza Y Porcentaje de Varianza acumulada según CP.....	103
Tabla 14. Tabla de mezcla de distancias corporales de sardina austral, X y XI.....	106

Capítulo IV. Aproximación basada en parámetros de historia de vida

Tabla 1. Desembarques (toneladas) de sardina austral en la Región de los Lagos y la Región de Aysén.....	118
Tabla 2. Resumen de la información disponible de densidad/abundancia/biomasa para sardina austral.....	120

Tabla 3. Abundancia por categoría de talla registrada en Cubillos et al. (2011) para sardina común en la X y XI regiones.....	123
Tabla 4. Resumen de la información disponible de densidad/abundancia/biomasa de sardina austral, derivada del desarrollo de cruceros acústicos (“EH-04/96” y “OB-13/96”); costa Argentina.....	125
Tabla 5. Resumen de la información disponible de longitud total promedio y rango de talla de sardina austral para distintas áreas de distribución.....	128-129
Tabla 6. Parámetros de crecimiento en longitud, índice del desempeño del crecimiento (ϕ), y tasa de crecimiento de juveniles (G_{juv}) y de adultos (G_{adul}) de <i>Sprattus fueguensis</i> , sardina austral en diferentes localidades y de <i>S.sprattus</i> de Mar negro.....	132-134
Tabla 7. Resultados del análisis de la relación longitud-peso para sardina austral, a través de Modelos Mixtos No lineales.....	135
Tabla 8. Parámetros de la relación longitud-peso de sardina austral, reportados a lo largo de su distribución geográfica.....	137-138
Tabla 9. Antecedentes de mortalidad total obtenidos de literatura revisada y estimados desde información disponible para sardina austral (<i>Sprattus fueguensis</i>).....	140
Tabla 10. Talla media de madurez y Parámetros de ojiva de madurez para sardina austral (<i>Sprattus fueguensis</i>).....	142

Capítulo V. Aproximación basada en microquímica de otolitos

Tabla 1: Número de otolitos de <i>Sprattus fueguensis</i> analizados (contenido de $\delta^{18}\text{O}$ y $\delta^{13}\text{C}$ en secciones nucleares) por estado de desarrollo y zona.....	151
---	-----

Tabla 2: Posición, salinidad y temperatura de las muestras de agua obtenidas en las regiones X y XI a profundidades de 10 y 30 m, año 2011 para análisis de isótopos de carbono y oxígeno.....	152-153
Tabla 3: Medias ajustadas (error estándar) de las concentraciones relativas de los isótopos estables ^{13}C y ^{18}O en secciones nucleares de otolitos de peces juveniles y adultos capturados en las distintas zonas del área de estudio.....	160
Tabla 4: Matriz de auto-clasificación de juveniles (edades 0+ y 1+) de <i>Sprattus fuegensis</i> . Modelo discriminante lineal basado en la concentración de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{18}\text{O}$ en fragmentos nucleares de otolitos seccionados para representar el primer año de vida.....	162
Tabla 5: Matriz de clasificación de adultos de <i>Sprattus fuegensis</i> (edades 2+ en adelante) según modelo discriminante lineal basado en la concentración de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{18}\text{O}$ en fragmentos nucleares de otolitos de juveniles (edades 0+ y 1+).....	162
Tabla 6: Matriz composicional estimada para juveniles (edades 0+ y 1+) de <i>Sprattus fuegensis</i> según área de captura.....	164
Tabla 7: Matriz composicional estimada para adultos (edades 2+ y superior) de <i>Sprattus fuegensis</i> según área de captura.....	164

Capítulo VI. Aproximación basada en parásitos metazoos

Tabla 1. Características de las muestras de <i>S. fuegensis</i> analizadas parasitológicamente, por región.....	173
Tabla 2. Características de las muestras de <i>S. fuegensis</i> analizadas parasitológicamente, por Zona de pesca.....	174

Tabla 3. Prevalencia y abundancia de <i>Hysterothylacium</i> sp. en <i>S. fuegensis</i> , por Regiones en Chile y Argentina (ARG)	176
Tabla 4. Prevalencia y abundancia de <i>Hysterothylacium</i> sp. en <i>S. fuegensis</i> , por Zona de pesca (ZP).....	177
Tabla 5. Intensidad media de <i>Hysterothylacium</i> sp. en <i>S. fuegensis</i> , por Regiones en Chile y Argentina (ARG)	177
Tabla 6. Intensidad de infección de <i>Hysterothylacium</i> sp. en <i>S. fuegensis</i> , por Zona de pesca (ZP).....	178
Tabla 7. Parámetros de la función de correlación entre Talla (cm) y abundancia parasitaria de <i>Hysterothylacium</i> sp. en <i>S. fueguensis</i>	183

Introducción general

Una de las mayores interrogantes en el ámbito del manejo de recursos marinos, es el como identificar y preservar la biocomplejidad de las especies a nivel intra e inter poblacional a través de sus tres ejes; la heterogeneidad espacial, la conectividad y las contingencias históricas (Cadenasso et al., 2006). De esta forma la evolución de la estructura espacial de las poblaciones depende del balance entre la heredabilidad, flujo génico (conectividad) y adaptación a regimenes de selección (Lenormand, 2002). Es así como el conocimiento de la conectividad y la estructuración espacial a través de la distribución de las especies es vital para el entendimiento de la dinámica poblacional, diseñar estrategias de conservación, y desarrollo de prácticas sustentables de manejo (Hutchings et al., 2007). En este contexto la conectividad entre poblaciones ha sido el foco de un rápido incremento en el número de estudios desde hace unos 15 años (Crooks & Sanjayan, 2006), debido principalmente por un interés teórico de entender la dinámica poblacional y la necesidad de mantener poblaciones conectadas para la conservación de especies (Waples & Gaggiotti, 2006).

Los primeros estudios sobre la temática se focalizaron especialmente sobre sistemas terrestres, frecuentemente sobre problemáticas de fragmentación de hábitat, pero en los últimos años, especies marinas y sus hábitats han recibido mayor atención, considerando que la escala de dispersión de organismos marinos es frecuentemente mayor que los organismos terrestres y de aguas continentales (Awise, 1998; Waples, 1998). Estudios de conectividad en sistemas marinos se han focalizado sobre especies con un amplio rango de distribución, desde invertebrados con larvas pelágicas a ballenas, en que los diferentes estados de sus ciclos de vida habitan en áreas separadas (Bjorndal & Bolten, 2008). Especial interés ha despertado la cuantificación de la conectividad en stocks de especies comercialmente importantes o que se encuentran amenazadas, pues para un manejo efectivo de estos recursos es requisito el conocimiento de los patrones de estructuración temporal y espacial, así como la identificación de unidades evolutivamente significativas (Landi et al., 2005; Pereyra et al., 2004; VanDeHey et al., 2009).

En el contexto de la actividad extractiva desarrollada en torno a especies de importancia comercial, uno de los requerimientos básicos para el adecuado manejo de poblaciones naturales, ya sea por razones comerciales o de conservación, es el conocimiento de sus

aspectos reproductivos, como por ejemplo, si una población es reproductivamente autosustentable o depende de inmigrantes para el reemplazo de sus individuos adultos, ya que el nivel de intercambio génico originado por la inmigración entre poblaciones, puede afectar su sustentabilidad en el largo plazo.

Un método para determinar si una población es reproductivamente autosustentable es determinar diferencias fenotípicas entre grupos. Si una población es suficientemente diferente del punto de vista fenotípico de otras poblaciones, se podría deber a que se encuentran separadas reproductivamente. Sin embargo, de haber diferencia poblacional, a menos que las condiciones ambientales sean idénticas para ambas poblaciones, es igualmente posible que las diferencias fenotípicas observadas sean producto de: a) plasticidad fenotípica, b) norma de reacción, c) variaciones adaptativas y/o, d) correlación de caracteres con fitness (Hutchings et al., 2007). Por otro lado, un segundo método para evaluar las diferencias poblacionales es examinar directamente la estructura de las poblaciones a partir de evidencia genética (e.g. Ferrada et al. 2002, Canales-Aguirre et al. 2010b). El grado en el cual las diferentes poblaciones son genéticamente divergentes puede reflejar el balance entre los procesos diversificantes de la deriva génica y la selección, versus, el efecto homogeneizador del flujo génico.

De esta manera y tomando en cuenta que poblaciones diferenciadas pueden ser medidas desde un punto de vista morfológico o genético, establecer el grado de conectividad que exista entre ellas es importante para determinar el grado de aislamiento de las poblaciones. De este modo y dado que el monitoreo directo de la conectividad de una especie a través de su rango de distribución geográfica es muy difícil, se han desarrollado métodos indirectos (e.g. Genéticos) para evaluar el grado de conectividad entre diferentes poblaciones (e.g. Hedgecock et al. 2007). Siendo válido estos métodos indirectos cuando las poblaciones se han diferenciado genéticamente debido a una separación de periodos y/o lugares de desove (aislamiento reproductivo), según el concepto operacional de stock (Bailey & Smith, 1981). Por otro lado, desde un punto de vista de la conservación de recursos pesqueros, identificando unidades de manejo, donde cada unidad es reconocida como grupos con divergencia significativa de frecuencias alélicas de loci nucleares (Moritz, 1994).

Uno de los principales objetivos de la evaluación y manejo de las poblaciones explotadas es la identificación y conectividad de él o los stocks sobre los cuales se está ejerciendo la acción pesquera; ya que el stock es la unidad básica sobre la cual deben sostenerse las evaluaciones y las medidas de ordenamiento (Grant & Waples, 2000; Tyler, 1988). En este contexto existen varias acepciones de este concepto, el cual depende si se consideran aspectos pesqueros, ecológicos o genéticos. Por ejemplo, un stock pesquero se refiere a subconjuntos de individuos que responden más o menos discretamente al esfuerzo de pesca aplicado sobre una determinada área geográfica y en una escala temporal de años a decenios. Así mismo, un stock ecológico, se refiere a la persistencia de patrones espaciales de distribución y abundancia en escala temporal ecológica sin que exista necesariamente una diferenciación genética entre unidades poblacionales. Por último, un stock genético, se refiere a que una población evolucionó independientemente de otras y por lo tanto acumuló diferencias genéticas con respecto a ellas (Spanakis et al., 1989).

Entre las diferentes aproximaciones que hay para identificar stocks de recursos silvestres, es importante destacar que, en el manejo de las pesquerías por ejemplo, hay una distinción importante entre caracteres heredables y adquiridos. Estos últimos incluyen una variedad de atributos inducidos ambientalmente, usados ampliamente en el análisis poblacional, tales como la proporción de isótopos en los tejidos, carga parasitaria, o varias características fenotípicas, tales como el número de vértebras, que pueden ser producto de la plasticidad del desarrollo y al menos parcialmente indicadoras de exposiciones ambientales.

Antecedentes biológicos – pesqueros de *Sprattus fuegensis* (Jenyns 1842)

Aunque los peces Clupeiformes han sido ampliamente capturados y desembarcados en la costa de Chile, todavía persisten dificultades en el reconocimiento de los ejemplares, especialmente si se trata de individuos aislados o confinados geográficamente o donde sus distribuciones geográficas se sobreponen (Aranis et al., 2007). Los primeros estudios taxonómicos sobre clupeiformes se registran en Delfín (1901) y De Buen (1958), y no es hasta 1985 que Whitehead en su revisión mundial de sardinas y anchovetas establece que la sardina austral ó sardina de los canales *Sprattus fuegensis* se distribuiría en el Atlántico sur occidental (40°S hasta Tierra del Fuego, incluida las Islas Malvinas), y que los registros de la costa del Pacífico sur oriental se asociarían con el género *Strangomera*. Así, la especie *Strangomera bentincki* se

distribuiría en el Pacífico sur oriental (Coquimbo, Valparaíso y sur de Talcahuano), y quizás los registros más australes corresponderían a *Sprattus fuegensis*. Nakamura (1986), señala a *Sprattus fuegensis* (Jenyns 1842) sólo para la Patagonia argentina. Pequeño (1989) en su listado sistemático de los peces chilenos, incluye por primera vez como parte de los clupeidos regulares a la especie *Sprattus fuegensis* (Jenyns 1842). También, Lloris y Rucabado (1991) identifican para el canal Beagle solamente a *Sprattus fuegensis*. Otros estudios recientes, ignoran su presencia en canales patagónicos chilenos (Madirolas & Hansen 2000).

De acuerdo con Cousseau & Perrotta (1998), los caracteres externos distintivos de *Sprattus fuegensis* del Atlántico sur occidental serían: cuerpo fusiforme comprimido, altura máxima concordante con el cuarto o quinto radio de aleta dorsal, altura comprendida cuatro veces y media en el largo total, cabeza relativamente pequeña, ojos de tamaño moderado, boca terminal protractil su extremo posterior alcanza línea media del ojo, mandíbula superior sin dientes con una muesca amplia en la línea media anterior, mandíbula inferior con dientes diminutos en la parte anterior y edéntula en la posterior. Los especímenes poseen una sola aleta dorsal, cuyo origen es ligeramente anterior a la aleta pélvica, aleta anal con 12 a 23 radios blandos, aleta pectoral sin espinas y con 16 a 18 radios blandos, sin presencia de aleta adiposa.

La sardina austral es muy similar a la sardina común. Whitehead (1985) señala que los géneros *Strangomera* y *Sprattus* pueden ser reconocidos por una diferencia osteológica a nivel del hueso pterótico, que está ubicado en la parte posterior del neurocráneo e igualmente, por la presencia de la cápsula o bulla timpánica en el género *Strangomera*, la cual esta ausente en *Sprattus*. Aranís et al. (2006, 2007) analizaron los rangos de variación de las medidas corporales y de recuento de estructuras duras de ambas especies, indicando que la forma más sencilla y segura de diferenciar estas las especies, es la presencia (*S. fuegensis*) o ausencia (*S. bentincki*) de dientes sobre la lengua; carácter no utilizado por autores previos, probablemente porque no son fácilmente distinguibles a simple vista.

Distribución geográfica

Whitehead (1985) en su revisión mundial de sardinas y anchovetas establece que *Sprattus fuegensis* se distribuye sobre el Atlántico sur occidental con registros desde los 40°S hasta Tierra del Fuego, incluyendo las Islas Malvinas. Aranís et al. (2006, 2007) y Niklitschek et al. (2009)

demuestran que sardina austral se distribuye desde el mar interior de Chiloé hasta los canales y fiordos de la Región de Aysén. La sardina austral realiza migraciones verticales circadianas; durante el día presenta agregaciones compactas tipo cardumen a mayor profundidad, que tienden a dispersarse durante la noche hacia la superficie, en agregaciones de distintas densidades (Aranis et al. 2006). Es una especie pelágica y zooplanctófaga a lo largo de todo su ciclo vital, distribuida en las zonas costeras sur-australes de Chile y Argentina, principalmente en los primeros 50 metros de la columna de agua (Madirolas et al. 2000, Sabatini et al. 2001, Castillo et al. 2004, Aranis et al. 2006).

Importancia comercial

La sardina austral es el recurso pelágico pequeño de mayor importancia en la pesca artesanal de las aguas interiores de Chiloé, con desembarques que en promedio representan el 66% del total, seguido por sardina común y anchoveta que aportan con alrededor del 17% cada una (Aranis et al. 2006). Sin embargo, solo a partir de año 2007 se informa oficialmente los registros de desembarque pesquero de la especie (Sernapesca 2009).

Estructura de tallas

Aranis et al. (2006), obtuvo entre mayo-diciembre del 2005, ejemplares distribuidos en un rango entre 9,5 y 18,5 cm LT, registrando una estructura de talla bi-modal; la moda principal centrada en 12,5 cm LT y la secundaria en 17,0 cm LT, estableciéndose una talla media de 13,7 cm LT. Niklitschek et al. (2009), reporta un rango de tallas entre 6,5 y 15,7 cm, el cual es un rango mas acotado con tallas inferiores al reportado por Aranis et al. (2006). Se indica la presencia de individuos juveniles, con tallas medias entre 6,5-8,2 cm, en los fiordos y canales más orientales de Aysén (Canal Puyuguapi, Fiordos Aysén y Quitralco, Canal Costa y zonas adyacentes)(XI región), sugiriéndose a estos lugares como posibles áreas de crianza o refugio invernal; situación que contrasta con los canales occidentales (Tuamapu, Pérez Norte, Goñi, Ninualac), que se abren al Pacífico, donde se reportó una mayor proporción de individuos adultos, algunos en actividad reproductiva evidente, con un promedio de longitud total de 11,5 cm (Niklitschek et al. 2009, Aranis et al. 2009)

Edad y crecimiento

Antecedentes iniciales sobre el crecimiento de esta especie son entregados por Gru & Cousseau (1982) y Hansen (1999) (Tabla 2). A nivel nacional, se destaca el trabajo de Aranís et al. (2006), estos autores estiman la edad de ejemplares de sardina austral con un rango de talla entre los 9,5 y 18,5 cm de longitud total (LT), indicando una edad máxima observada de 6 años. El ajuste de la función de crecimiento de von Bertalanffy, usando procedimientos no-lineales, entregó los siguientes parámetros con su error estándar: $L_{\infty} = 17,7$ cm (0,229) $K=0,78$ (0,069) $t_0 = -0,46$ (0,100) con un $r^2 = 0,75$ (Aranís et al. 2006).

La validación de la edad, mediante el ajuste de modelos MIX, con tallas promedio por cohorte ajustadas con la ecuación de von Bertalanffy, entregaron los siguientes parámetros de crecimiento: $L_{\infty} = 18,7$; $K = 0,70$; $t_0 = -0,36$ (Aranís et al. 2006)

Talla de madurez

Aranís et al. (2006), obtiene una longitud de madurez de 11,0 cm de LT para esta especie. En recientes trabajos, la talla media de madurez sexual para esta especie en la Región de Aysén fue estimada en $10,109 \text{ cm} \pm 0,0075$ (EE), con un percentil del 95% en $11,51 \text{ cm} \pm 0,012$ (EE) (Niklitschek et al. 2009). En el Atlántico, Feodorov & Barabanov (1976) han definido a la sardina fueguina como un desovante parcial con no menos de tres pulsos reproductivos por estación, cuya longitud y edad de primera madurez serían de 11,0 a 12,0 cm y 2 años, respectivamente. Shirakova (1978), concuerda en su estudio, con la talla de madurez obtenida por Feodorov & Barabanov (1976), pero con una edad equivalente a 3 años. Hansen, 1999 estima una talla media de madurez igual 11,99 cm de LT con una edad equivalente a 2,05 años.

Mortalidad

Antecedentes de mortalidad son entregados por Hansen (1999), este autor estima la tasa instantánea de mortalidad total, en ausencia de pesca, para *Sprattus fuegensis* del Atlántico mediante linealización de la curva de captura, reportando valores de $Z=M$ de 1,4 y 1,51. En este mismo trabajo, se estima mediante métodos empíricos la mortalidad natural, como por ejemplo, Pauly (1980), con valores que oscilaron entre $M=0,63$ y $0,67$; Rikhter & Efanov (1976) con $M=0,59$. Barabanov & Tshcherbich 1977, estima por el mismo método un $Z=1,66$.

Diversidad Genética

Antecedentes genéticos de especies del género son escasos, Smith & Robertson (1981), utilizando alozimas diferencian a dos especies del género *Sprattus* (Girgensohn, 1846) presente en aguas de Nueva Zelanda, las que posteriormente fueron denominadas *Sprattus muelleri* (Klunzinger, 1880) y *Sprattus antipodum* (Hector, 1872) (Whitehead et al. 1985). Dentro de los antecedentes genéticos poblacionales para el género encontramos que para *Sprattus sprattus* (Linnaeus, 1758) utilizando la región control del ADN mitocondrial, se evidencian dos clados con el Estrecho de Sicilia actuando como barrera al flujo génico entre ellos (Debes et al. 2008), en muestras provenientes del océano Atlántico Norte, mar mediterráneo y mar negro. Limborg et al. (2009) utilizando nueve loci microsatélites ensayados en 931 ejemplares desde diferentes zonas de desove, revela una fuerte diferenciación genética entre muestras del Mar del Norte, Mar Báltico y Mar Adriático, aludiendo que esta diferenciación estaría relacionado con gradientes ambientales, como gradientes de salinidad. . En el caso de *Sprattus fuegensis*, estudios en base a marcadores moleculares son nulos. A pesar que *S. fuegensis* no presenta marcadores microsatélites específicos la utilidad de loci ya descritos de especies cercanamente emparentadas puede ser de gran utilidad (e.g. Canales-Aguirre et al. 2010a), esto debido a la conservación de regiones flanqueantes en loci microsatélites (Schlötterer et al. 1991, Rico et al. 1996). Gracias a esta característica es posible utilizar los loci ya descritos para *Sprattus sprattus* (Dailianis et al. 2008), sobre *Sprattus fuegensis*. Para dar cumplimiento al objetivo general del presente proyecto se utilizarán en el contexto de la aproximación genética, marcadores moleculares tipo microsatélites descritos para especies filogenéticamente emparentadas.

Finalmente, en términos operacionales podemos inferir sobre la estructura de un stock a través de diversas metodologías, tanto genéticas como no-genéticas, cuya aplicación dependerá de la escala temporal considerada y los objetivos planteados. Abordando el problema bajo una aproximación moderna, utilizando metodologías robustas y un diseño de muestreo adecuado a los objetivos en escala temporal y espacial, se recomienda realizar estudios genéticos acoplados a otras técnicas que aporten mayor información biológica y permitan analizar la definición de la(s) unidad(es) poblacional(es) desde una perspectiva más amplia. Para dar cumplimiento a los objetivos planteados en los Términos Básicos de Referencia del proyecto FIP N° 2010-17 “Determinación de unidades poblaciones de sardina austral entre la X y XII regiones de Chile”, se utilizó un enfoque holístico de metodologías actualmente aplicadas a la identificación

de stock, para lo cual se cuenta con la experiencia de científicos nacionales. Las herramientas a utilizar involucrarán la genética de poblaciones, la biometría como la morfología corporal, morfología de otolitos, microquímica de otolitos, parasitología y estudios de parámetros de historia de vida.

Objetivos

Objetivo General:

Evaluar y determinar las unidad(es) poblacional(es) o stock pesqueros de sardina austral (*Sprattus fuegensis*) presente entre la X y XII regiones de Chile.

Objetivos Específicos:

- 2.1 Determinar si *Sprattus fuegensis* presente entre la X y XII regiones de Chile, constituye una o más unidades poblacionales o stocks pesqueros independientes.
- 2.2 Estimar flujos moleculares o genéticos entre unidades poblacionales o stocks.
- 2.3 Desarrollar un modelo conceptual respecto de las migraciones ontogénicas de sus individuos y los posibles procesos de conectividad entre dichas unidades poblacionales.

Metodología general

Obtención de individuos y tamaño muestral

Los aspectos comunes en la obtención de muestras, las cuales son transversales para las aproximaciones de genética, parasitología, morfología de otolitos, morfología del cuerpo y microquímica de otolitos se detallan a continuación:

Primero, se seleccionó los sitios de muestreos basados en la información referente a las áreas de mayores capturas (caladeros) de la flota de cerco artesanal de la X y XI regiones. Esta información se basó en el seguimiento de la pesquería desarrollado por el Instituto de Fomento Pesquero (IFOP) (Informes Pesca Investigación años 2007, 2008, 2009) y la Universidad del Mar (año 2009). Para la XII región, dado que no existe una unidad de pesquería del recurso fue imposible solicitar una pesca de investigación, razón por la cual estas muestras se obtuvieron por una única vez, sin poder contar con un mayor número de muestras, ni explorar el área en busca de mayor representatividad del recurso en el sector.

Por otro lado se incorporó muestras provenientes desde la costa Atlántica en Argentina, gestionadas a través del Instituto Nacional de Investigación y Desarrollo Pesquero de Argentina (INIDEP <http://www.inidep.edu.ar/>).

El número de individuos para cada aproximación fueron estimados según metodologías asociadas a cada aproximación (ver tabla 1) por cada región administrativa. Para la aproximación genética se utilizó estimaciones del número de individuos empíricas basadas en el polimorfismo alélicas de los microsatélites y análisis de rarefacción para un segmento del ADN mitocondrial obtenido (ver metodología en aproximación genética). Para las aproximaciones de morfología del cuerpo, morfometría geométrica, morfología de otolitos se utilizó aproximación basada en tres elementos básicos para estrategia de muestreo los cuales son detallados en específicamente en el anexo al final del informe. Para la aproximación de microquímica de otolitos se utilizó el número mínimo obtenido por un análisis previo en de potencia estadística en *Micromesistius australis* (ver metodología en aproximación microquímica de otolitos). Por último, para la aproximación parasitológica el número mínimo de individuos muestreados se basó en, de acuerdo a Mc Daniel (1975) y basado en desarrollo estadístico a partir de poblaciones de tamaño 4000 o mayores, es necesario revisar al menos 58 ejemplares

para asegurar con un 95% de confianza que al menos un individuo albergará parásitos que tengan una prevalencia igual o superior al 5%. El valor 58 es un compromiso para pruebas de una - dos colas. Este número mínimo es una recomendación de la Fish health section of the American Fisheries society (ampliado a 60 en esta oferta).

Tabla 1: Número de muestras mínima y número de muestras utilizadas en los análisis de las diferentes aproximaciones por región analizada.

	Genética				Morfometría				Microquímica		Parasitología			
	ADNmt		Microsatélites		Otolitos		Cuerpo		Geométrica		Otolitos		Parásitos	
	$N_{\text{mínimo}}^1$	$N_{\text{utilizado}}$	$N_{\text{mínimo}}^2$	$N_{\text{utilizado}}$	$N_{\text{mínimo}}^3$	$N_{\text{utilizado}}$	$N_{\text{mínimo}}^3$	$N_{\text{utilizado}}$	$N_{\text{mínimo}}^3$	$N_{\text{utilizado}}$	$N_{\text{mínimo}}^4$	$N_{\text{utilizado}}$	$N_{\text{mínimo}}^5$	$N_{\text{utilizado}}$
X	31	54	47	120	105	300	105	150	105	150	20	68	60	238
XI	31	79	47	150	105	389	105	230	105	230	20	85	60	302
XII	31	9	47	30	35	70	35	40	35	40	20	25	60	63
ARG	31	193	0	0	35	109	35	130	35	130	0	0	60	76
Total	124	335	141	300	280	868	280	550	280	550	60	178	240	679

1: Número mínimo de muestras estimado basado en el segmento 12S del fragmento amplificado.

2: Número mínimo de muestras estimado basado en el número de alelos promedio.

3: Número mínimo de muestras estimado basado en especificaciones del Anexo.

4: Número mínimo de muestras basado en (Niklitschek et al., 2009).

5: Número mínimo de muestras basado en recomendación de la Fish health section of the American Fisheries society y en McDaniel (1975).

Capítulo I: Aproximación basada el uso de marcadores moleculares

Autores: Ricardo Galleguillos¹, Sandra Ferrada¹, Cristian B. Canales-Aguirre¹, Cristián E. Hernández¹,
Oscar Inostroza¹ y Natacha Torres¹

¹Universidad de Concepción

En este capítulo se responden los objetivos, 2.1 el cual es “Determinar si *Sprattus fuegensis* presente entre la X y XII regiones de Chile, constituye una o más unidades poblacionales o stocks pesqueros independientes” y el 2.2 el cual es “Estimar flujos moleculares o genéticos entre unidades poblacionales o stocks” presentados en la propuesta técnica.

ANTECEDENTES

Uno de los principales objetivos de la evaluación y manejo de las poblaciones explotadas es la identificación y conectividad de él o los stocks sobre los cuales se está ejerciendo la acción pesquera; ya que el stock es la unidad básica sobre la cual deben sostenerse las evaluaciones y las medidas de ordenamiento (Grant & Waples, 2000). Esto ha llevado a utilizar diferentes aproximaciones metodológicas para determinar si una población es autosustentable en términos reproductivos. Un método es utilizar características es determinar las diferencias fenotípicas presentes en el grupo de interés. Sin embargo, si una población es diferente del punto de vista fenotípico de otras poblaciones, se podría deber a que se encuentran separadas reproductivamente o a el producto de la expresión genética en ambientes diferentes por lo que las diferencias fenotípicas observadas podrían ser producto también de: a) plasticidad fenotípica, b) norma de reacción, c) variaciones adaptativas y/o, d) correlación de caracteres con fitness (Hutchings et al 2007). Por otro lado, un segundo método para evaluar las diferencias poblacionales es examinar directamente la estructura de las poblaciones a partir de evidencia genética (e.g. Ferrada et al. 2002, Canales-Aguirre et al 2010). El grado en el cual las diferentes poblaciones son genéticamente divergentes puede reflejar el balance entre los procesos diversificantes de la deriva génica y la selección, versus, el efecto homogeneizador del flujo génico.

La sardina austral, *S. fuegensis*, es una especie de importancia comercial en Chile y Argentina, con desembarques registrados en Chile desde el 2007. Para Argentina no se conoce estadística pesquera. Es un desovante parcial con no menos de tres pulsos reproductivos por estación, con una longitud de madurez dentro del rango de 11 - 12 cm de LT (Aranis et al. 2006, Niklitschek et al. 2009) y una edad de primera

madurez entre 2 a 3 años. *S. fuegensis* realiza migraciones verticales circadianas; durante el día presenta agregaciones compactas tipo cardumen a mayor profundidad, que tienden a dispersarse durante la noche hacia la superficie, en agregaciones de distintas densidades (Aranis et al. 2006). Es una especie pelágica y zooplanctófaga a lo largo de todo su ciclo vital, distribuida en las zonas costeras sur-australes de Chile y Argentina, principalmente en los primeros 50 metros de la columna de agua (Aranis et al. 2006). Se distribuye en el océano Atlántico Suroeste (alrededor de 40°S hasta Tierra del Fuego, también en las islas Falkland / Malvinas), y por el océano Pacífico Suroriental desde el mar interior de Chiloé hacia Tierra del fuego (Whitehead, 1988; Aranis et al. 2006, 2007; Niklitschek et al. 2009).

Antecedentes genéticos para *S. fuegensis* no hay a la fecha y para el género son escasos. Los únicos trabajos a nivel poblacional corresponden a investigaciones realizadas en *Sprattus sprattus*, el cual se distribuye en el océano Atlántico Norte, mar mediterráneo y mar negro. Entre estos encontramos que, utilizando ADN mitocondrial, se han evidenciado dos grupos en su área de distribución teniendo como barrera el estrecho de Sicilia (Debes et al. 2008). Por otro lado, utilizando loci microsatélites se encontró una fuerte diferenciación genética entre muestras del Mar del Norte, Mar Báltico y Mar Adriático, aludiendo que esta diferenciación estaría relacionada con gradientes de salinidad (Limborg et al. 2009).

Dada la escasa información de un recurso explotado desde hace años, es necesario conocer sus parámetros de diversidad genética básicos, así como la distribución de su diversidad genética en el espacio administrativo donde habita. El presente trabajo tiene como objetivo, determinar si *Sprattus fuegensis* presente entre la X y XII regiones de Chile, constituye una o más unidades poblacionales o stocks pesqueros independientes.

METODOLOGÍA DE TRABAJO

Zona de muestreo y Tamaño de la Muestra

Para la elección de los sitios de muestreos se utilizó como referencia la información referente a las áreas de mayor capturas (caladeros) de la flota de cerco artesanal entre la X y XII regiones para la especie; zonas establecidas en el seguimiento de la pesquería desarrollado por el Instituto de Fomento Pesquero (IFOP) (Informes Pesca Investigación años 2007, 2008, 2009) y la Universidad del Mar (año 2009). El diseño de muestreo además de cubrir aquellas zonas de mayor importancia pesquera, buscó cubrir la distribución geográfica de la especie, por lo cual se incluyó muestras provenientes desde la costa Atlántica en Argentina, gestionadas a través del Instituto Nacional de Investigación y Desarrollo Pesquero de Argentina (INIDEP <http://www.inidep.edu.ar/>).

Hay que destacar que al no existir una unidad de pesquería del recurso en la XII región fue imposible solicitar una pesca de investigación, razón por la cual estas muestras se obtuvieron por una única vez, sin poder contar con un mayor número de muestras, ni muestras de aguas del lugar de muestreo, ni explorar el área en busca de mayor representatividad del recurso en el sector. El número de muestras utilizadas en las aproximaciones genéticas se indican en la Tabla 1. El mapa indicando la distribución de las muestras en el espacio se indica en la Figura 1.

Tabla 1: Localidades de muestreo de *Sprattus fuegensis* en el proyecto FIP 2010-17.

	Genética			
	ADNmt		Microsatélites	
	N_{minimo}^1	$N_{\text{utilizado}}$	N_{minimo}^2	$N_{\text{utilizado}}$
X	31	54	47	120
XI	31	79	47	150
XII	31	9	47	30
ARG	31	193	0	0
Total	124	335	141	300

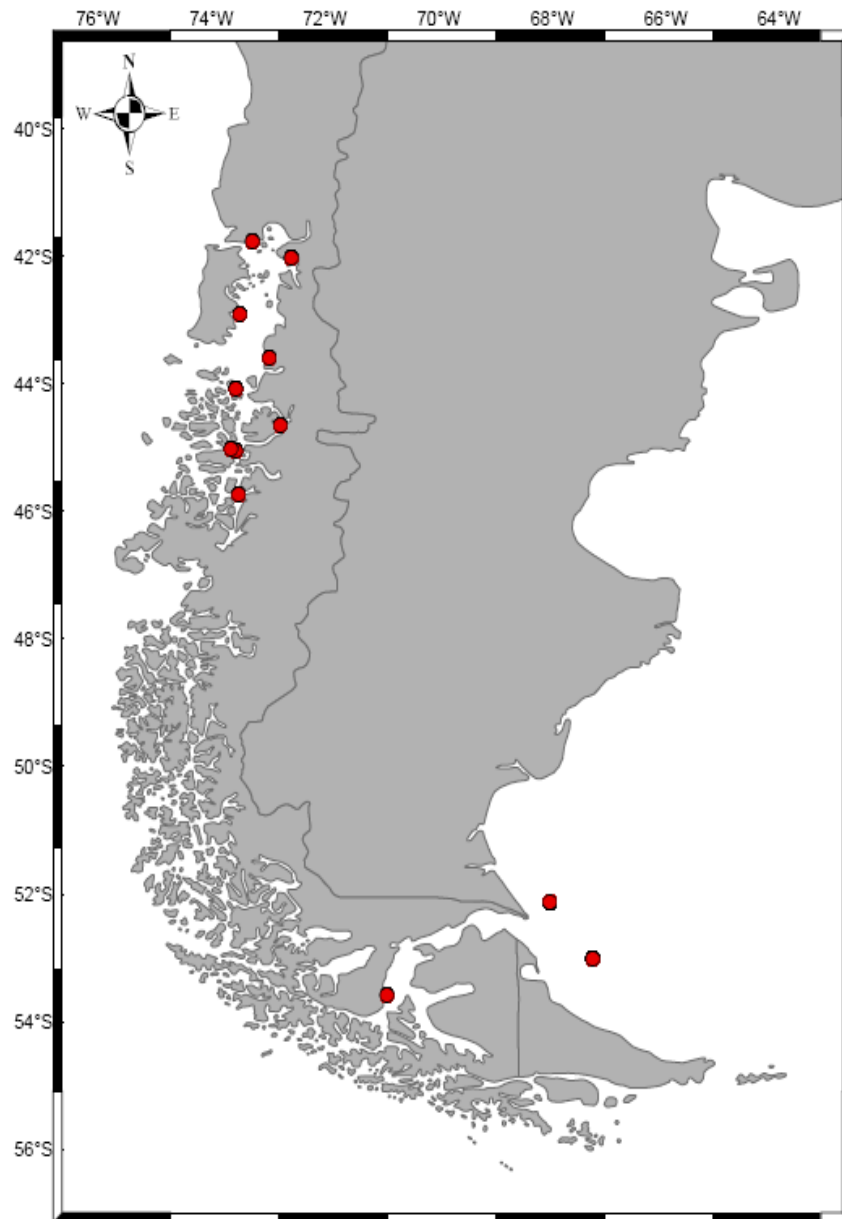


Figura 1: Mapa de distribución de las muestras de *Sprattus fuegensis* en el proyecto FIP 2010-17.

Tamaño de la muestra

Un punto crítico a considerar en el diseño de muestreo es el número de loci e individuos que se deben muestrear para obtener importante información.

En el caso del marcador mitocondrial se utilizó un análisis de rarefacción para estimar el número mínimo de muestras para captar la variabilidad en la población. El Fragmento de ADN mitocondrial secuenciado contuvo dos genes (Region Contro y 12S). Debido a que el fragmento de la Region Control presenta una hipervariabilidad (casi cada individuo es un haploitpo diferente) se decidió tomar el fragmento del 12 S para realizar los analisis de rarefacción. Los analisis se realizaron en el programa RAREFAC software (<http://www.icbm.de/pmbio/downlist.htm>). Los resultados indican que con un minimo de 31 individuos por región es posible capturar toda la variabilidad de la población.

En el caso de marcadores moleculares tipo microsátélites, consideraciones teóricas, establecen que la resolución y calidad de los datos es mejorada si un gran número de loci son examinados; esto es particularmente cierto si los loci examinados exhiben moderados niveles de diversidad alélica. Así el número de individuos a ser muestreados dependen principalmente del número de alelos presentes en cada locus examinado. Cuando la diversidad alélica es baja, pocos individuos son necesarios en el análisis. Sin embargo, en el caso de loci hipervariables, un gran tamaño muestral es necesario para determinar frecuencias alélicas con confianza estadística (Kornfield & Parker, 1997).

La relación empírica derivada de estas simulaciones establece que el tamaño muestral para análisis de microsátélites en poblaciones es:

$$\text{Tamaño Muestral} = 1.5 (\text{Número de alelos})^{1.35}$$

En base a estas estimaciones empíricas, en el caso de la *Sprattus fuegensis*, el número promedio de alelos por loci es de 13, lo que se traduce en 47 ejemplares (ver resultados Desarrollo de una batería de loci microsátélites de *S. fuegensis* mediante secuenciación masiva), con un máximo de 24 alelos para el locus Spfu_44, lo que se traduce en 109 ejemplares. De este análisis se establece que un tamaño muestral entre 47 a 109 ejemplares por agrupación reproductiva sería suficiente para capturar la variabilidad genética de los loci analizados. El tamaño muestral utilizado supera el requerido estadísticamente. En el caso específico de los marcadores microsátélites las muestras del Atlántico no serán incluidas en este informe final, aclarando que esta falta no compromete el cumplimiento del objetivo general del presente proyecto.

Las muestras recolectadas fueron individualizadas en bolsas herméticas y congeladas. Así las muestras fueron muestreadas para fines genéticos en el Laboratorio de Genética y Acuicultura de la Universidad de Concepción.

Para el muestreo de los ejemplares para aproximaciones genéticas se procedió con el siguiente protocolo: Se disectó de cada ejemplar un trozo de tejido de 1x1x1 cm de la zona caudal, el cual se depositó en un tubo de transporte de 10 ml que contenía Alcohol Etilico Puro (96%) para análisis, enrasando el tubo para que la muestra quedara toda cubierta de alcohol. Para que el tejido quedara flotando en el tubo, se seccionó en pequeños trozos.

Para la disección del tejido se utilizó un bisturí estéril para cada animal, (esto evita la contaminación cruzada entre individuos que puede llevar a errores en los resultados). Para este efecto se cambió la hoja del bisturí entre ejemplares o bien se limpió con alcohol y flameo. Las pinzas utilizadas fueron lisas (pinzas con dientes pueden contener tejido entre ellos de muestra en muestra, lo que podría contaminarlas), limpiando al igual que el bisturí con alcohol y flameando.

El tejido así muestreado fue depositado en tubos para la posterior extracción de ADN genómico, y también tejido de reserva.

Extracción de ADN genómico

El ADN genómico total fue aislado mediante el kit de extracción de ADN NucleoSpin Tissue®, el cual no utiliza solventes orgánicos. El ADN genómico fue resuspendido en 100 µL de agua ultrapura (GIBCO Technology™). La calidad y cantidad del ADN fue medida en un Biofotómetro Eppendorf® y el ADN templado fue diluido a 50 ng/ µL para las posteriores amplificaciones por PCR.

ADN mitocondrial: Amplificación y secuenciación de la región control

Se amplificó un fragmento de ADN mitocondrial que contiene parte del gen de la región de control (RC), el criterio para utilizar la RC está dado porque existen antecedentes que presenta niveles adecuados de variación intraespecífica en vertebrados (e.g. Bernatchez et al 1992, Gorbachev et al. 2011) y ha sido utilizado en el género *Sprattus* (Debes et al 2008). El fragmento de la RC fue amplificado utilizando en un volumen total de 30 µL, el cual contenía 1X del buffer PCR, 1,5 mM de MgCl₂, 0,02 mM dNTPs, 0,2 mM del primer L19 (Bernatchez et al 1992) y 0,2 mM del primer 12Sar 0,24 U/µL de Taq ADN Polimerasa

(Invitrogen®). La amplificación por PCR fue realizada en un termociclador PTC-200 MJ-Research®, con los siguientes parámetros de temperatura: un ciclo de 94°C por 50 seg de una denaturación inicial, seguido de 32 ciclos de 95°C por 30 seg, 54°C por 120 seg y 72°C por 90 seg; y finalmente un ciclo de extensión final de 72°C por 300 seg. Los productos de PCR fueron visualizados en geles de agarosa al 1% con bromuro de etidio, mediante un transiluminador de luz UV. Los productos PCR fueron secuenciados en ambos sentidos con la finalidad de eliminar y/o corregir ambigüedades en la lectura. Esto fue realizado en un secuenciador ABI 3730xl BigDye Terminator Cycle Sequencing 3.1 (Applied Biosystems).

ADN Nuclear: Desarrollo y estandarización de loci microsatélites

En primera instancia se ensayó un total de 34 loci microsatélites heterólogos, 9 de su congénica *S. sprattus* (Dailianis et al. 2008), 5 de *Sardinops sagax sagax* (Pereyra et al. 2004), 5 de *Clupea harengus* (Mc Pherson et al. 2001), 2 de *Clupea harengus pallasii* (O'Connell et al., 1998), 2 de *Clupea pallasii* (Miller et al. 2001), 5 de *Engraulis encrasicolus* (Landi et al. 2005), y 6 de *Engraulis japonicus* (Chiu et al. 2002). Para amplificar cada locus se siguieron las condiciones y los programas de amplificación entregada por cada uno de los autores que describieron los loci. En el caso que las condiciones entregada por los autores no dieron buenos resultados se procedió a realizar modificaciones, tanto a las condiciones como los programas de amplificación.

Finalmente los resultados obtenidos con microsatélites heterólogos indican una baja resolución y reproducibilidad, razón por la cual estos marcadores no fueron utilizados.

Desarrollo de una batería de loci microsatélites de *S. fuegensis* mediante secuenciación masiva

Si bien no estaba considerado en la oferta técnica desarrollar marcadores microsatélites especie específicos de *S. fuegensis*, esfuerzos técnicos y financieros fueron realizados y a partir de los servicios ofrecidos por el Savannah River Ecology Laboratory de la Universidad de Georgia en Estados Unidos, se ha desarrollado una batería de microsatélites de *S. fuegensis*.

El método de obtención de loci microsatélites esta basado en tecnología de de secuenciación masiva de última generación de Illumina Hi-Seq. Una vez desarrollada la librería se aplicaron a nivel poblacional 8 loci microsatélites polimorficos. El desarrollo de la librería se detalla en los Resultados.

Metodología del Análisis estadístico de los marcadores moleculares

Dado que la información que existe respecto a caracteres de historia de vida o patrones de migración de *S. fuegensis* sobre el área de estudio es dispersa y no abarca toda el área de la presente investigación, se adoptó una estrategia de análisis donde como primer paso se utilizaron modelos espacialmente explícitos de agrupamiento bayesiano sin utilizar información previa respecto al origen de la muestra. Este algoritmo está implementado en el software GENELAND (Guillot et al., 2008). Las agrupaciones detectadas en este análisis fueron caracterizadas posteriormente en cuanto a su diversidad genética, diferenciación poblacional, flujo génico y tamaños efectivos poblacionales.

Delimitación de unidades poblacionales de *S. fuegensis* sin información a priori respecto al origen geográfico de las muestras

Para evaluar la presencia de estructuración poblacional en la especie *Sprattus fuegensis* se utilizó una aproximación Bayesiana implementada en el programa GENELAND v. 4.0.2 (Guillot et al., 2005a, 2005b, 2008, 2009; Guillot, 2008; Guillot&Foll, 2009) bajo la plataforma R (<http://cran.r-project.org/>). Este método, basado en la información genética y la localización geográfica (coordenadas geográficas) de los individuos muestreados, permite distinguir el número de poblaciones, sus límites geográficos, y calcular la incertidumbre de la asignación de individuos a las poblaciones estructuradas geográficamente. El número de poblaciones se estimó con un valor a priori uniforme del número de poblaciones (**K**) entre 1 y 10, usando un modelo de frecuencias alélicas correlacionadas, y luego uno no correlacionadas durante 4 millones de generaciones muestreando cada 1000 parámetros. Luego, comparamos el ajuste de ambos modelos por medio de la prueba Factor de Bayes (FB; Gelman et al., 1995; Drummond & Rambaut, 2007) usando el método descrito en el programa Tracer 1.5 (<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/tracer/>). El FB está definido por las Verosimilitudes Marginales de los modelos ($\text{pr}(D/M)$) contrastados. En donde B_{10} define el logaritmo base 10 de FB que nos permite evaluar qué modelo (M) da cuenta de una mayor proporción de la probabilidad total de los datos. Para interpretar los valores de B_{10} se usó la clasificación de Raftery (1996: 165), según la cual valores entre 3 y 20 muestran evidencia positiva para el modelo 1, y mayores de 20 una fuerte evidencia. Posteriormente, se volvió a ejecutar el análisis usando el modelo seleccionado y el número de **K** con el valor de convergencia de este modelo. Esta corrida final del programa se realizó por 10 millones de generaciones muestreando cada 1000 parámetros, para estimar a posteriori la probabilidad de asignación de individuos a grupos geográficos basados en su georreferenciación y el genotipo de los individuos. Finalmente, sobre este último análisis se efectuó una exploración gráfica en el programa Tracer para eliminar aquellas generaciones fuera de la zona de

convergencia. Luego, se realizó un post-proceso de los parámetros (valor de k ; contornos poblacionales; pertenencia del i -ésimo individuo a la k -ésima población) en un espacio de 400 x 400 píxeles los cuales representan un soporte gráfico que nos indica: 1) quiebres poblacionales en la zona de estudio; y 2) isóclinas de probabilidad de pertenencia a la k -ésimas población del i -ésimo individuo. Estos análisis fueron llevados a cabo tanto sobre las secuencias nucleotídicas de los genes secuenciados, así como también sobre los marcadores microsatélites.

Análisis estadísticos de la región control

Todas las secuencias fueron alineadas utilizando el programa SEQUENCHER y editadas visualmente. Se estimó el modelo de sustitución nucleotídica que mejor se ajusta a las secuencias obtenidas utilizando el Criterio de Información Akaike (CIA) implementado en el programa JMODELTEST. El modelo que mejor se ajusta al set de datos de secuencia fue el modelo HKY+I+G (Hasegawa et al 1985) con una proporción de sitios invariantes (I) de 0,755 y una tasa de heterogenidad gamma (G) de 0,285. La base de datos presento una tasa de transición/transversión (Ti/Tv) de 5,599 y frecuencias nucleotídicas de A= 0,2769, C= 0,1929, G= 0,2286 y T= 0,3016. Dado que el modelo elegido bajo el CIA no está implementado en algunos de los programas de los subsecuentes análisis, se eligió el modelo más cercano disponible, en este caso fue utilizado TrN. Para describir la diversidad genética por región administrativa y por país se estimó el número de haplotipos (H), diversidad haplotípica (Hd) y diversidad nucleotídica (Pi) en el programa DNAsp V5.0 (Librado & Rozas 2009). La diferenciación genética fue estimada mediante el índice Φ_{st} por pares de poblaciones (Excoffier et al. 1992) y la estructuración poblacional se estimó mediante un análisis de la varianza molecular (AMOVA: Analysis of molecular variance) agrupando las localidades por región administrativa y utilizando cada zona de pesca por separado, esto fue implementado en el programa ARLEQUIN 3.5 (Excoffier et al. 1992). Para determinar diferencias significativas se utilizó 10100 permutaciones.

Análisis estadístico de loci microsatélites

Para dar cumplimiento al objetivo 2.1 y 2.2 del presente proyecto se han realizado los siguientes análisis estadísticos.

Parámetros de variabilidad genética

Con fines de análisis poblacional se analizaron 283 ejemplares, con un total de 2264 genotipos, que representan la variabilidad de los 8 loci microsatélites y 10 puntos de muestreo en el Pacífico Sur Oriental.

Como primera aproximación a la diversidad genética de la especie se determinó las frecuencias alélicas de cada uno de los ocho loci analizados a nivel poblacional y el número de alelos de cada uno de ellos. Como medidas de variabilidad genética básicas se determinó la heterocigosidad observada (H_o), mediante conteo directo de homocigotos – heterocigotos y la heterocigosidad esperada (H_e) del equilibrio de Hardy & Weinberg (H&W), todo esto en el programa GENALEX v6 (Peakall & Smouse 2006). Estos análisis se realizaron considerando las zonas de muestreo, regiones administrativas (X, XI y XII región), y las agrupaciones geográficas evidenciadas mediante aproximaciones estadísticas sin información a priori respecto al origen geográfico de las muestras.

Evaluación de Estructuración poblacional: Objetivo Específico 2.1 Determinar si *Sprattus fuegensis* presente entre la X y XII regiones de Chile, constituye una o más unidades poblacionales o stocks pesqueros independientes.

Para evaluar y evidenciar patrones de estructuración poblacional a través del área de estudio se estimó el índice F_{st} de Wright, considerando que dentro del análisis de flujo génico y estructuración poblacional un aspecto importante a considerar es el modelo poblacional considerado en los algoritmos matemáticos. En este contexto se han diseñado varios modelos teóricos para predecir la variabilidad genética esperada en una población subdividida y parcialmente aisladas bajo el efecto de las fluctuaciones al azar de las frecuencias génicas determinadas por el tamaño de las poblaciones y bajo el efecto del flujo génico existente entre ellas. El modelo poblacional más ampliamente usado por su simplicidad matemática, es el propuesto por Sewall Wright (1931), pionero en la genética de poblaciones y denominado modelo insular. La principal característica de este modelo es que representa una población idealizada de una especie diploide, dividida en subpoblaciones, con un tamaño poblacional denotado por N que se considera constante, donde los cruzamientos ocurren al azar entre ellos (panmixia), no existiendo un solapamiento de generaciones, de modo que todos los individuos mueren en la reproducción siguiente.

Dentro de los modelos matemáticos, los estadísticos de F introducidos por Wright (1951) describen la estructura génica de organismos diploides en términos de tres estadísticos o correlaciones alélicas, F_{is} , F_{it} ,

Fst. Éstos han sido llamados índices de fijación y sus valores pueden interpretarse como la desviación de las frecuencias genotípicas esperadas en el equilibrio de Hardy-Weinberg dentro de las poblaciones locales y la población total (Avice, 1994), los cuales se describen como sigue:

Para marcadores moleculares neutros como los microsatélites el índice $F_{st} \approx 1 / (1 + 4N_e m)$, donde un $N_e m < 5$ implica un $F_{st} > 0,05$, donde N_e representa el tamaño poblacional efectivo, y m la tasa de migración.

$F_{st} \approx (\text{Heterocigosidad total} - \text{Heterocigosidad en la subpoblación}) / \text{Heterocigosidad total}$

Fit: Coeficiente de endogamia que mide la reducción o el aumento en la heterocigosidad observada en los individuos debido a los apareamientos no al azar dentro de su subpoblación.

Fit: Coeficiente de endogamia global incluye los efectos de los apareamientos no al azar dentro de las subpoblaciones y de la subdivisión geográfica. Por lo tanto, la medida de Fit mide la reducción de la heterocigosidad de un individuo relativo a la población total.

Fst: Coeficiente de Fijación que representa la reducción de la heterocigosidad de una población debido a la deriva genética, cuyos valores pueden variar entre 0 y 1, existiendo además una escala de valores que pueden definir el grado de estructuración presente en las poblaciones en estudio:

0-0,15: NO HAY ESTRUCTURACION POBLACIONAL

0,15-0,25: ESTRUCTURACIÓN DÉBIL

>0,25: GRAN ESTRUCTURACIÓN POBLACIONAL

El nivel de significancia del valor de F_{st} se evalúa a partir de un valor de P asociado. Si F_{st} es significativamente distinto de cero, es decir del equilibrio, existe evidencia de estructuración genética poblacional. Estos estadísticos F (Wright, 1931) son una herramienta que utiliza las frecuencias alélicas y genotípicas (ó haplotípicas) obtenidas de diferentes localidades geográficas para estudiar el flujo génico o para cuantificar la subdivisión de la población (a través del tiempo o del espacio), ya que muestra una relación no lineal entre la cantidad de flujo génico y el grado de diferenciación genética entre las subpoblaciones. Cuando una población llega a un estado de equilibrio como resultado del balance entre la

mutación, la deriva génica y el intercambio genético, el flujo génico dentro y entre las poblaciones reales puede expresarse como una tasa de migración m . Ésta se define como la proporción de alelos (en el caso de microsátélites) u haplotipos (en el caso de secuencias de ADN) en cada generación que es de origen migratorio (Avice, 1994). Las estimaciones del F_{st} se realizaron considerando las zonas de muestreo, regiones administrativas (X, XI y XII región), y las agrupaciones geográficas evidenciadas mediante aproximaciones estadísticas sin información a priori respecto al origen geográfico de las muestras.

Posteriormente se realizó un análisis de varianza de frecuencias alélicas (AMOVA: Analysis of molecular variance) en la cual se puso a prueba las hipótesis de panmixia, estructuración a nivel de regiones administrativas (X, XI y XII región), y al nivel de las agrupaciones genéticas, geográficas evidenciadas, mediante aproximaciones estadísticas sin información a priori respecto al origen geográfico de las muestras. Tanto el F_{st} por pares como AMOVA se realizó en el programa Arlequin 3.0 (Excoffier *et al.* 2005). Para determinar diferencias significativas en cada uno de los análisis se utilizó un test de permutación basado en 10100 permutaciones.

Respecto al análisis de la AMOVA el evaluador indica la necesidad de evaluar los supuestos de Distribución normal y homogeneidad de Varianza entre poblaciones o grupos de poblaciones, relacionados con los datos de frecuencias alélicas y genotípicas antes de realizar el Análisis de Varianza Molecular (AMOVA), que trabaja en el marco de una ANOVA jerárquica o anidada. Y de no cumplirse estos supuestos, trabajar con pruebas no paramétricas.

Estas recomendaciones son válidas para la mayoría de caracteres, pero en el caso de marcadores moleculares, ya sean bases nucleotídicas, secuencias nucleotídicas, fragmentos de restricción, alelos microsátélites, etc, existen algunas limitaciones. El análisis AMOVA trata cualquier dato molecular como un vector de Boolean, indicando los 1s presencia del marcador y los 0 ausencia del marcador, generando una matriz a partir de las distancias Euclidianas entre pares de vectores que corresponden a genotipos u haplotipos es calculada, y particionando esta matriz, en tantas matrices como grupos geográficos analizados. Entonces las distancias Euclidianas derivadas de los vectores 1s y 0s probablemente no seguirán una distribución normal, por lo tanto una distribución nula debe ser computarizada por remuestreo de los datos, en cada permutación cada individuo es asignado aleatoriamente a una población, permaneciendo los tamaños de las muestras constantes.

En el caso del análisis de variación molecular AMOVA, el valor de probabilidad asociado a las comparaciones esta dado por un test de permutación, debido a esto los supuestos de Normalidad y Homogeneidad de varianza no son aplicables, ya que las comparaciones entre lo observado y esperado esta dado solo por la distribución de los datos, y no en una distribución normal como se realiza en una ANOVA.

Objetivo 2.2: Estimar flujos genéticos entre unidades poblacionales o stocks

Dado los resultados encontrados en el ADN mitocondrial no mostró diferencias genéticas en el área geografía estudiada, no es posible estimar la conectividad entre las diferentes localidades. Por otro lado, dado que la base de datos microsátélites presento diferencias genéticas en una de las localidades, se realizaron los análisis de conectividad genética además de estimar el tamaño efectivo poblacional de cada agrupación reproductiva evidenciada.

Tasa de migración, direccionalidad y magnitud de la conectividad genética

Considerando que las estimaciones tradicionales de los parámetros poblacionales genéticos (i.e. tasa de migración, dirección de migración y tamaño poblacional efectivo) presentan un grado de incertidumbre en general no evaluado (e.g. Hey & Nielsen, 2007), calculamos estos parámetros a través de una estimación que toma en cuenta la incertidumbre de los genotipos así como de las genealogías. Para esto utilizamos una reciente implementación de aproximaciones Bayesianas en el programa MIGRATE-N (v.2.4.2) (Beerli, 2006). El programa MIGRATE-N (v.2.4.2) utiliza teoría de coalescencia e implementa análisis basados en aproximación Bayesiana para estimar parámetros poblacionales genéticos, tales como la probabilidad a posteriori de las tasas de migración (M), dirección de la migración (\leftrightarrow) entre localidades, estimadores del tamaño efectivo poblacional ($\theta = 2N_e \mu$) y la ubicación del ancestro común más reciente. Los parámetros estimados por estos métodos se usaron para proponer un escenario poblacional basado en la probabilidad o distribución de densidad a posteriori de los parámetros (e.g. Hey & Nielsen, 2007), como una evaluación de la incertidumbre de las hipótesis de conectividad y migración de genotipos (individuos) entre los grupos obtenidos en el área de estudio. En este análisis tanto el valor de K como la asignación de individuos a las poblaciones para implementar el programa fueron los estimados en la aproximación de Geneland. El análisis en MIGRATE-N se realizó para todos los loci microsátélites asumiendo un modelo de mutación “Single Step” y una tasa de mutación constante. La estrategia de análisis fue basada en aproximación bayesiana y el muestreo de los parámetros para la diversidad genética θ y para la tasa de migración por generación M por “Slice Sampling”. El largo de la Cadena de Markov fue de 500000 y los parámetros de

búsqueda fueron muestreadas cada 5000 iteraciones. Se excluyeron todos los parámetros estimados previos a las 10000 iteraciones, antes de la zona de convergencia.

El valor estimado del parámetro de diversidad genética θ para los loci microsatélites fue estimado con MIGRATE-N para luego ser incorporado en la fórmula $N_e = \theta / 2 \mu$ para estimar el tamaño efectivo poblacional tal como lo propone Kimura (1983), donde N_e corresponde al tamaño efectivo poblacional y μ , la tasa de mutación. En este caso el valor de tasa de mutación utilizado fue de 1×10^{-5} mutaciones por locus por (Ruzzante et al. 1998).

Factores ambientales y estructuración genética

Para determinar el efecto de factores ambientales sobre la estructuración poblacional se utilizó el programa GESTE v 2.0 (Foll y Gaggiotti, 2006). Este programa implementa un método Bayesiano jerárquico que permite la estimación de valores de F_{ST} para cada población local (determinada a través de Geneland, ver sección anterior) usando la aproximación propuesta por Balding & Nichols (1995), y relaciona estos valores calculados con factores ambientales usando un modelo lineal generalizado. La consideración de n factores y sus interacciones conlleva a la generación de 2^n modelos de regresión alternativos. Esta aproximación proporciona probabilidades *a posteriori* para cada uno de los modelos de regresión ajustados, mediante Cadenas de Markov Monte Carlo (CMMC) de Salto reversible. El modelo con la probabilidad posterior más alta, es el que mejor explica los datos observados. Para llevar a cabo estos análisis usamos 10 “corridas pilotos” o de entrenamiento de 10000 iteraciones (100000 corridas totales) para obtener los parámetros de la distribución propuesta (*proposal distribution*) usadas luego por el método CMMC, seguido por un descarte de las primeras 50000 iteraciones y un intervalo de muestreo de 50. Las estimaciones finales fueron obtenidas usando un tamaño de muestra (i.e. número de generaciones CMMC) de 2000000. A través de esta aproximación evaluamos el efecto de 5 factores ambientales (temperatura superficial promedio, concentración de clorofila *a* promedio, concentración de oxígeno disuelto, Coeficiente de difusión de atenuación y salinidad promedio) considerando los datos de cada punto de muestreo obtenidos de la base mundial de datos ambientales marinos BIO-ORACLE (Tyberghein et al., 2011), las cuales están relacionados a las características físicas de las localidades de muestreo y potencialmente a la biología de los individuos bajo estudio. Los datos ambientales geo referenciados fueron obtenidos usando la herramienta ArcGis 9.3 (ESRI Inc. 2010).

RESULTADOS

Delimitación de unidades poblacionales

Los resultados obtenidos mediante Geneland para las secuencias de ADN de la región DLoop del ADNmt indican que todas las localidades de muestreo se comportan como una única gran población panmíctica, con una alta probabilidad de $K = 1$ (Fig. 2). Por otra parte, los marcadores microsatélites, indican la presencia de dos unidades poblacionales o agrupaciones reproductivas bien definidas (Fig. 3): una conformada por todos los individuos colectados en las coordenadas $72,9^{\circ}$ O y $43,6^{\circ}$ S, que corresponde a la zona D del muestreo frente al Golfo del Corcovado (Fig. 4a); y la otra, corresponde a los individuos de las zonas de muestreo restantes de Chile (Fig. 4b).

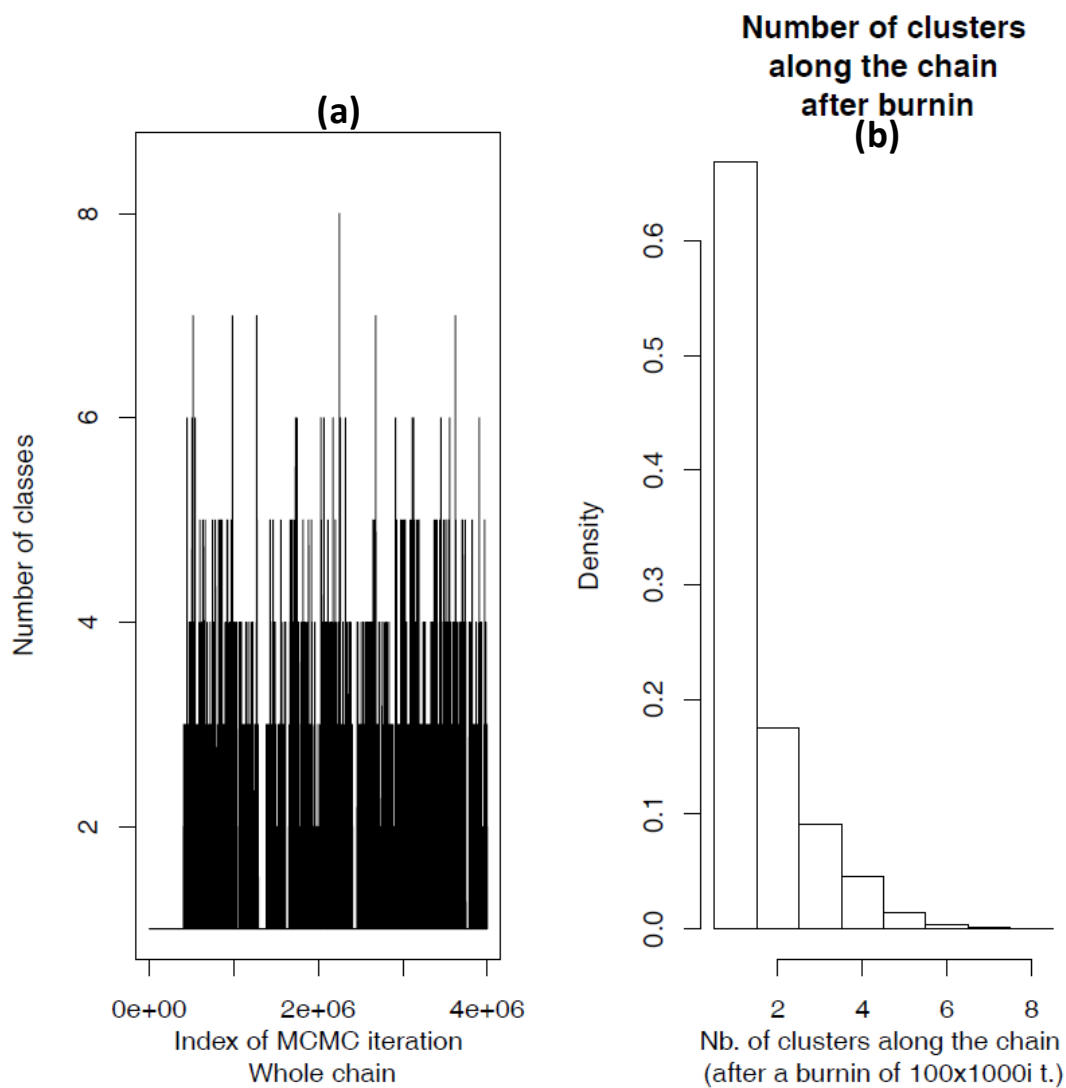


Figura 2. Número de poblaciones K (Number of classes) a través de las cadenas de markov (a) y Densidad de probabilidades del numero de poblaciones (b) en base a las secuencias obtenidas.

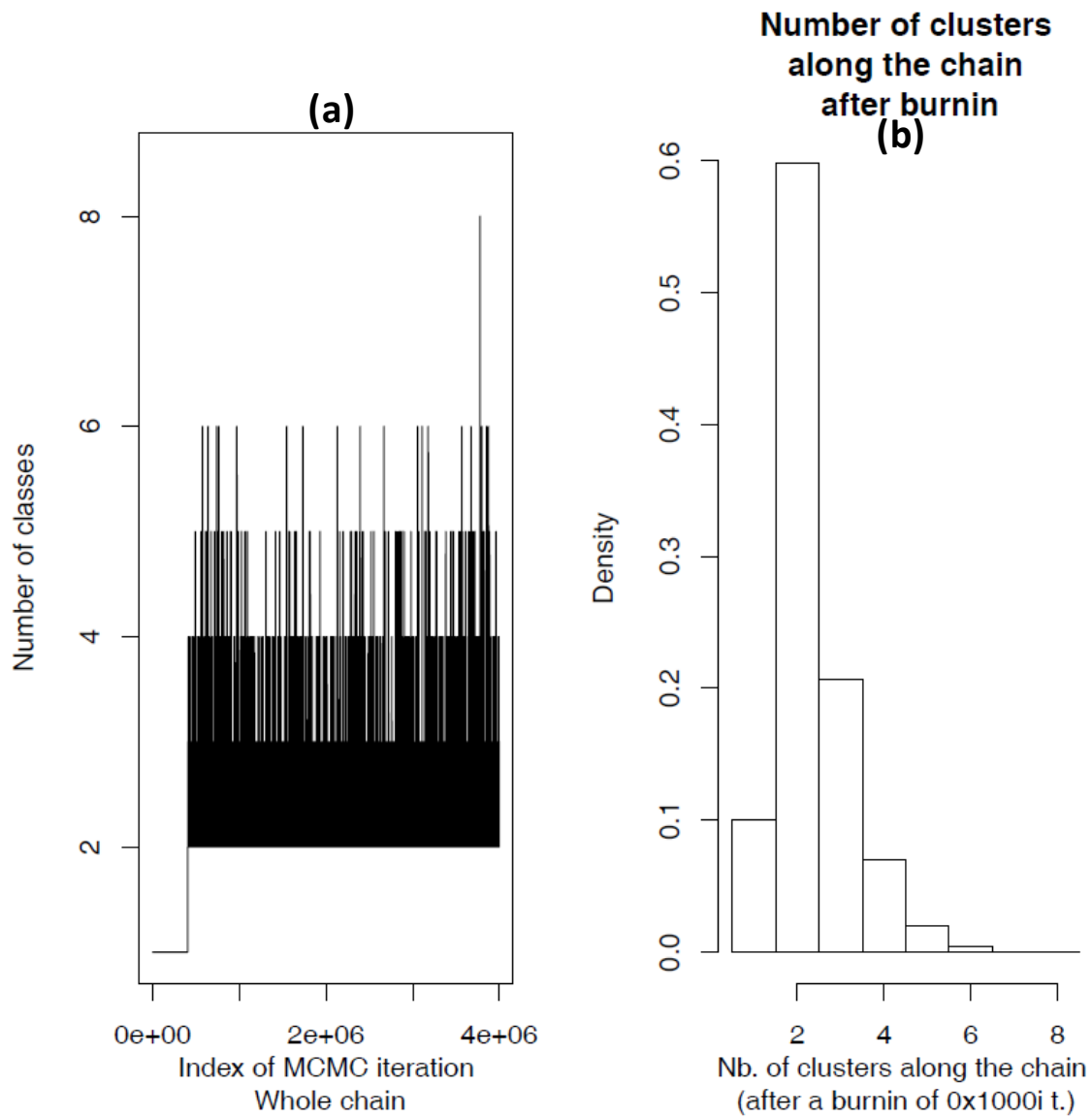


Figura 3. Número de poblaciones K (Number of classes) a través de las cadenas de markov **(a)** y Densidad de probabilidades del numero de poblaciones **(b)** en base a los marcadores microsatélites.

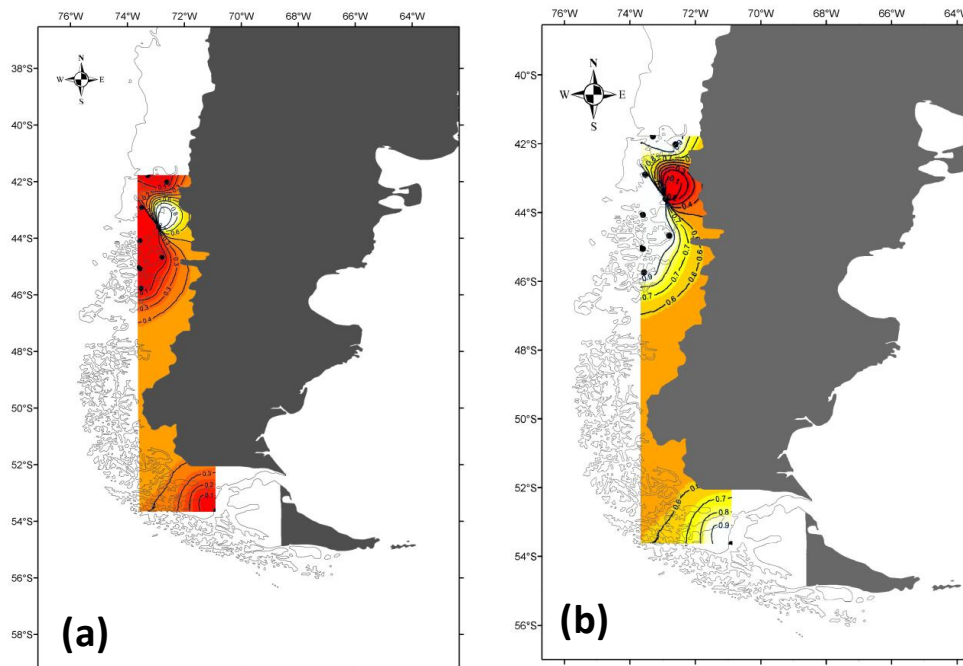


Figura 4. Isolinias de distribución de probabilidad a posteriori asociadas a cada cluster geográfico o unidad poblacional: Población del Golfo de Corcovado **(a)** y población de las zonas restantes **(b)**.

ADN mitocondrial: secuencias de la región control

Se amplificó un total aproximado de 1451 pares de bases (pb), de los cuales 178 posiciones corresponden a sitios variables y 115 corresponden a posiciones informativas (sinapomorfias). La composición nucleotídica promedio fue de 28,2% T; 22,5% C; 30,8% A y 18,5% G. La diversidad genética encontrada por región administrativa mostró que el número de haplotipos oscilo entre 9 (XII Región) y 74 (XI Región), la diversidad haplotípica entre 1(XII Región) y 0,998 (X y XI regiones) y la diversidad nucleotídica entre 0,70% (X Región) y 0,90% (XII Región) (Tabla 2). Por otro lado, diversidad genética encontrada por país mostró que el número de haplotipos oscilo entre 131 (Chile) y 183 (Argentina), la diversidad haplotípica fue 0,999 para ambos países y la diversidad nucleotídica entre 0,72% (Argentina) y 0,75% (Chile) (Tabla 3). Por otro lado, la diversidad genética observada para el total de muestras fue de 306 haplotipos, traduciéndose en una diversidad haplotípica de 0,999 y una diversidad nucleotídica de 3%.

Tabla 2: Parámetros de diversidad genética de la región DLoop del ADN mitocondrial de *S. fuegensis* por región administrativa. N corresponde al número de secuencias analizadas, h al número de haplotipos, Hd a la diversidad haplotípica y Pi a la diversidad nucleotídica. SD corresponde a la desviación estándar de los estimadores.

Localidad	N	h	Hd	SD Hd	Pi (π)	SD Pi (π)
X	54	51	0,998	0,004	0,00706	0,00035
XI	79	74	0,998	0,002	0,00775	0,00032
XII	9	9	1	0,052	0,00904	0,0009

Tabla 3: Parámetros de diversidad genética de la región DLoop del ADN mitocondrial de *S. fuegensis* para el Pacífico Sur Oriental y para el Atlántico. N corresponde al número de secuencias analizadas, h al número de haplotipos, Hd a la diversidad haplotípica y Pi a la diversidad nucleotídica. SD corresponde a la desviación estándar de los estimadores.

Localidad	N	h	Hd	SD Hd	Pi (π)	SD Pi (π)
Chi	142	131	0,999	0,001	0,00754	0,00023
Arg	193	183	0,999	0,001	0,00723	0,00019

Los análisis de diferenciación genética utilizando los datos de frecuencias haplotípicas, por región administrativa (Tabla 4), y por país (Tabla 5) y por localidad (Tabla 6) no muestran diferencias significativas entre sí, con valores de Φ_{st} bajos y no significativos (valor p, según análisis).

Tabla 4: Índice Φ_s por pares de regiones (bajo la diagonal), estimadas con frecuencias haplotípicas y basado en el Modelo Tamura Nei. Valor de probabilidad (sobre la diagonal). Valor-p después de la corrección de Bonferroni $p < 0,001$ ($(p = \alpha / (n \text{ loci} \times n \text{ regiones}))$).

	Frecuencias Haplotípicas				Modelo Tamura Nei			
	X	XI	XII	Arg	X	XI	XII	Arg
X	-	0,087	0,749	0,329	-	0,550	0,642	0,560
XI	0,001	-	0,372	0,041	-0,002	-	0,815	0,112
XII	-0,001	0,001	-	0,677	-0,012	-0,019	-	0,434
Arg	0,000	0,001	0,000	-	-0,001	0,004	-0,001	-

Tabla 5: Índice Φ_s entre países (bajo la diagonal), estimadas con frecuencias haplotípicas y basado en el Modelo Tamura Nei. Valor de probabilidad (sobre la diagonal). Valor-p después de la corrección de Bonferroni $p < 0,003$ ($(p = \alpha / (n \text{ loci} \times n \text{ países}))$).

	Frecuencias haplotípicas		Modelo Tamura Nei	
	Chile	Argentina	Chile	Argentina
Chile	-	0,104	-	0,228
Argentina	0,0025	-	0,00017	-

Tabla 6: Índice Φ_s entre localidades (bajo la diagonal), estimadas con frecuencias haplotípicas. Valor de probabilidad (sobre la diagonal). Valor-p después de la corrección de Bonferroni $p < 0,0005$ ($(p = \alpha / (n \text{ loci} \times n \text{ localidades}))$).

Localidades	Frecuencias haplotípicas											
	A	B	D	E	H	I	J	K	L	N	ARG1	ARG2
A	-	1	0,143	0,49	0,257	0,505	0,499	0,51	1	1	0,73	0,403
B	0,000	-	0,078	0,216	0,240	0,223	0,238	0,486	1	1	0,643	0,303
D	0,017	0,016	-	0,292	0,086	0,108	0,112	0,095	0,206	0,204	0,02	0,017
E	0,004	0,004	0,013	-	0,357	0,175	0,39	0,172	0,52	0,51	0,104	0,288
H	0,007	0,007	0,023	0,004	-	0,107	0,108	0,115	0,375	0,376	0,003	0,022
I	0,004	0,004	0,02	0,008	0,01	-	0,237	0,174	0,529	0,526	0,02	0,076
J	0,004	0,004	0,02	0,004	0,01	0,007	-	0,18	0,528	0,525	0,04	0,047
K	0,003	0,003	0,02	0,007	0,01	0,007	0,007	-	0,533	0,537	0,024	0,082
L	0,000	0,000	0,018	0,004	0,007	0,004	0,004	0,003	-	1	0,782	0,465
N	-0,009	0,000	0,018	0,004	0,007	0,004	0,004	0,003	0,000	-	0,794	0,465
ARG1	0,000	0,000	0,014	0,002	0,007	0,004	0,002	0,003	-0,001	-0,001	-	0,031
ARG2	0,001	0,001	0,017	0,001	0,006	0,004	0,005	0,003	0,001	0,001	0,001	-

El AMOVA realizado agrupando por región administrativa no muestra diferencias significativas, con un valor Φ_{ct} de -0,005 y un valor de P igual a 0,542. Al agrupar por país, el AMOVA no muestra diferencias significativas con un valor Φ_{ct} de -0,001 y un valor de P igual a 0,306. Cuando se agrupan las áreas de pesca de manera independientes testeando homogeneidad genética (1 población) esta también indica que hay pequeñas diferencias significativas (e.g. $\Phi_{st} = 0,011$ y valor $p = 0,011$). Estas diferencias indican que alguna(s) de las área(s) de pesca que compone(n) alguna de las agrupaciones testeadas presenta diferencias con respecto a las otras. Esta pequeña diferencia esta dada por la localidad L, la cual, al compararla con las demás las diferencias son explicadas en un 10% (Tabla 7).

Tabla 7: Índices Φ_{st} , Φ_{sc} y Φ_{ct} obtenidos en el AMOVA para las diferentes agrupaciones testeadas. Valores en negrita presentan valores significativos a un nivel de significancia del 0,05.

Agrupación	% Variación	Índice Φ		
		Φ_{st}	Φ_{sc}	Φ_{ct}
Un Grupo (CADA ZONA DE PESCA)	1,11	0,011	-	-
Dos Grupos (CHI - ARG)	-0,13	0,010	0,011	-0,001
Dos Grupos (L - RESTO DE ZONAS DE PESCA)	10,8	0,111	0,003	0,108
Cuatro Grupos (X - XI -XII -ARG)	-0,54	0,009	0,014	-0,005

ADN Nuclear: desarrollo de loci microsatélites de *Sprattus fuegensis*

Construcción de librería microsatélites para *Sprattus fuegensis*

Mediante tecnología Illumina HiSeq 100 bp paired-end reads, fue secuenciado el ADN de ejemplares de *S. fuegensis*, generando 5 millones de lecturas que fueron analizadas con el programa *PAL_FINDER v0.02.03* (Castoe et al. in press) para extraer las lecturas que contuvieran microsatélites (di, tri, tetra, penta y hexanucleotidos). Una vez que las lecturas positivas para bloques microsatélites fueron identificadas, se diseñaron los partidores en el programa Primer3 (2.0.0), de tal forma que permitiesen su amplificación por PCR. De 2446 secuencias positivas para microsatélites se caracterizaron 33 loci polimórficos. De estos loci, 8 fueron analizados a nivel poblacional.

Un partidor de cada pareja fue modificado en su extremo 5' con la secuencia (CAG tag 5'-CAGTCGGGCGTCATCA-3') para ser utilizada como tercer partidor en la PCR (idéntico al CAG tag) que fue marcado con fluorescencia. La secuencia GTTT fue adherida al partidor sin la CAG tag.

48 pares de partidores fueron ensayados para amplificación y polimorfismo utilizando ADN de 24 individuos. Las PCR fueron realizadas en un volumen de 12,5 μL (10 mM Tris pH 8,4; 50 mM KCl, 25 $\mu\text{g/ml}$ BSA, 0,4 μM de partidor no marcado, 0,04 μM de partidor con CAG tag, 0,36 μM de partidor marcador con fluorescencia, 3,0 mM MgCl_2 , 0,8 mM dNTPs, 0,5 Unidades de AmpliTaq Gold® Polymerase (Applied Biosystems), y 20 ng DNA) utilizando un termociclador Applied Biosystems GeneAmp 9700. Un programa de amplificación termal touchdown fue utilizado para todos los microsatélites (Don *et al.* 1991) abarcando un lapso de 10°C desde la temperatura de annealing entre 65°C a 55°C. EL programa de amplificación touchdown consiste de un paso de denaturación inicial de 95°C por 5 minutos, seguido por 20 ciclos de 95°C por 30 segundos, la más alta temperatura de annealing de 65 °C (decrece a 0,5°C por ciclo) por 30 segundos, y 72°C por 30 segundos; y 20 ciclos de 95 °C por 30 segundos, 55 °C por 30 segundos, y 72 °C por 30 segundos. Los productos de PCR fueron analizados en un secuenciador ABI-3130xl y se utilizó como marcador de peso molecular a Naurox preparado como lo describe DeWoody *et al.* (2004). Los resultados fueron analizados en el programa GeneMapper v3.7 (Applied Biosystems). 33 de las parejas de partidores ensayadas generan productos de PCR de alta calidad y exhiben polimorfismo.

El nivel de variabilidad de los 33 loci polimorficos fue evaluado en 24 ejemplares colectados desde aguas del mar interior de la región de Aysén, Chile. Características de los loci se muestran en la Tabla 8. Se estimó el número de alelos por loci (k), y la heterocigosidad observada y esperada (H_o y H_e) utilizando GenAlEx v6.4 (Peakall & Smouse 2006). Desviaciones al equilibrio de Hardy-Weinberg equilibrium (HWE) y desequilibrio por ligamiento fueron realizadas utilizando GENEPOP v4.0 (Rousset 2008). Después de la corrección por Bonferroni para múltiples comparaciones, 12 loci muestran desviaciones significativas de lo esperado bajo el equilibrio por HWE, para el equilibrio por ligamiento, 3 de 528 comparaciones se observan en desequilibrio.

Tabla 8. Características de los 33 loci microsatélites polimorficos desarrollados para *Sprattus fuegensis*. El tamaño indica el rango de tamaño observado de los alelos en pares de bases, e incluye la longitud de la CAG tag; el número de individuos genotipados es N ; k es el número de alelos observados; H_o y H_e heterocigosidad observada y esperada, respectivamente. En cursiva los loci que fueron ensayados a nivel poblacional.

Locus	Secuencia del Partidor 5' --> 3'	Motivo Repetición	Tamaño(bp)	N	K	Ho	He
Spfu2†	F: *CCTGCTGCTCTCATGTCTCTAGC	TCTG	202-318	22	20	0,409	0,942
Spfu3	F: *CGTCGCTGGAGACACAAAGG	AAAG	138-170	24	9	0,75	0,817
Spfu4†	F: *ATGGGTCTTCCACAGTCC	TCTG	134-214	23	11	0,391	0,868
Spfu5†	F: *CCTCTCTCCGTCCATCTATTC	TCTG	263-377	23	13	0,217	0,889
Spfu6	F: *CTTCTCCCGTGACGTGTAGC	TCTG	230-280	22	10	0,87	0,847
Spfu7	F: *CACTACAGTGC GACTCAGCC	ACTG	139-183	24	9	0,583	0,811
Spfu9	F: *CAGCACAGCATCTCAAAGCC	TCTG	200-252	24	14	0,667	0,908
Spfu10	F: *AGTTTGCACCGAGTCTGGC	TCTG	200-272	23	13	0,609	0,853
Spfu11	F: *CAGAACTTAAACGGCCCCAGC	AATC	223-285	24	16	0,875	0,878
Spfu12†	F: *GGGTGTCTTTGACAGGTCG	AATC	150-186	21	9	0,333	0,83
Spfu13†	F: *TGACGTGTTGGTTTCCTTGG	AAAG	333-397	21	18	0,333	0,92
Spfu14†	F: *TCCCTGTCTCATAGATAGAGATGCC	TCTG	128-222	23	17	0,217	0,926
Spfu17	F: *ACTCATGACTTGCTGCCTCC	AAAC	201-227	24	7	0,375	0,706
Spfu23	F: *GATAAGGCC CAGACTGAAGC	TCTG	124-192	24	17	0,708	0,894
Spfu24†	F: *CCACCTGCTTGCTTGC	AAAG	142-182	24	11	0,458	0,875
Spfu25	F: *CCA ACTACCCAGTGTGAGTGC	TCTG	158-286	24	17	0,625	0,924
Spfu26	F: *CAGTCAAGGAGATAGAGAGAGGC	TCTG	140-232	22	18	0,727	0,916

† indica las desviaciones significativas de lo esperado bajo el equilibrio de Hardy-Weinberg después de la corrección de Bonferroni.

Tabla 8. (Continuación) Características de los 33 loci microsatélites polimorficos desarrollados para *Sprattus fuegensis*. El tamaño indica el rango de tamaño observado de los alelos en pares de bases, e incluye la longitud de la CAG tag; el número de individuos genotipados es *N*; *k* es el número de alelos observados; *H_o* y *H_e* heterocigosidad observada y esperada, respectivamente. En cursiva los loci que fueron ensayados a nivel poblacional.

Locus	Secuencia del Partidor 5' --> 3'	Motivo Repetición	Tamaño(bp)	N	K	Ho	He
Spfu27†	F: *TCAACTCCGCTGTGATGAGG	ATCT	255-379	20	21	0,45	0,94
Spfu28†	F: *CATTTAGTATCTCTCAACCTCAGTTGC	TCTG	191-239	20	12	0,25	0,895
Spfu29	F: *TGGGAGAAGGAATTTAGAGAGGG	AATC	238-306	22	11	0,682	0,857
Spfu30	F: *CAACCTCTAACTCTACGGCAGG	AATC	111-191	24	16	0,833	0,92
Spfu31†	F: *CAATCTTCTCTCTCAATCCAGCC	ATCT	175-299	21	15	0,333	0,789
Spfu32†	F: *TGTCTGATTTGGACTGATTTGGG	AATC	160-188	21	9	0,238	0,833
Spfu38	F: *CACTCATTTCAATTCAACTCC	ACTG	259-303	21	12	0,429	0,788
Spfu39†	F: *TCCCTCACGAAGTGATGAGC	ATCT	147-227	21	13	0,238	0,898
Spfu41	F: *GGAACAGCTCAGGTGCAGG	TCTG	298-398	22	14	0,818	0,904
Spfu42	F: *TCCACAAGTTTCCACTGCCC	AATG	165-233	24	14	0,875	0,885
Spfu43	F: *CAAAGGATTTGGTGGCGTAGC	TCTG	229-293	23	16	0,696	0,863
Spfu44	F: *GCTGATGCTGGAGAGCTGC	TCTG	184-302	23	24	0,696	0,942
Spfu45	F: *TGTACCTGTCCCTCAGTGCC	TCTG	133-193	23	14	0,826	0,895
Spfu46	F: *GGACAATGCTTTCCCTGACC	AATC	124-152	24	8	0,833	0,863
Spfu47	F: *CCACCTCCTGCTTCTGTGC	AAAC	147-183	24	9	0,542	0,803
Spfu48	F: *GGCAGAGCACTCAATTCACC	AAAC	138-172	24	13	0,792	0,885

† indica las desviaciones significativas de lo esperado bajo el equilibrio de Hardy-Weinberg después de la corrección de Bonferroni.

ADN Nuclear: 8 loci microsatélites de *Sprattus fuegensis*

Con fines de análisis poblacional se analizaron 283 ejemplares, con un total de 2264 genotipos, que representan la variabilidad de los 8 loci microsatélites y 10 puntos de muestreo en el Pacífico Sur Oriental. Como se indico en la metodología por razones de tiempo las muestras provenientes desde el Atlántico no fueron incorporadas para los datos microsatélites en el presente informe.

En los análisis cada loci se consideró para posteriores análisis que segregan de forma independiente, dado que la prueba de desequilibrio por ligamiento entrega valores no significativos. En la Tabla 9 en los parámetros de variabilidad genética básicos se estimó una heterocigosidad observada entre 0,666 (Spfu_6) y 0,338 (Spfu_029) y una heterocigosidad esperada de acuerdo al equilibrio de HW de 0,892 (Spfu_42) y 0,874 (Spfu_0,874). Con un número de alelos por locus que fluctuó entre 11 (Spfu_42, Spfu_45) y 16 (Spfu_6, Spfu_9, Spfu_29, Spfu_30, Spfu_42, Spfu_44, Spfu_45, Spfu_48), con un promedio de 13 alelos por loci, siendo estos valores similares a los obtenidos en peces marinos, indicando que estos marcadores son herramientas útiles de discriminación de poblaciones en *S. fuegensis*.

La heterocigosidad reportada para *S. fuegensis* se ubica por sobre los valores promedio informados para peces marinos, con valores de 0,79. Este alto número de alelos y altas heterocigosidades podría reflejar altos tamaños efectivos poblacionales de la especie y/o tasas de mutaciones mayores de lo usual para microsatélites (10^{-7} mutaciones por gen y por generación) (Jarne & Lagoda, 1996).

Al evaluar el equilibrio de HW se observa desviaciones significativas ($p \leq 0,05$) para todos los microsatélites y en todas las agrupaciones evaluadas, resultando en un déficit de heterocigotos. Estos resultados podrían deberse a que los ejemplares analizados son representativos de diferentes stocks o unidades panmicticas capturadas en una amplia distribución geográfica, atribuible al efecto Wahlund (Wahlund, 1928). Si esto fuera lo correcto diferencias significativas entre localidades deberían observarse, resultados posteriores apoyan este argumento. La acción de la selección natural sobre variantes alélicas bajo consideración, podría igualmente generar desviaciones al equilibrio de H&W, lo cual no ha sido evaluado. Además, la presencia de alelos privativos de localidades particulares, podrían contribuir a las desviaciones el equilibrio de H&W observadas (Pamilo & Varvio-Aho, 1984), este podría ser el caso de la localidad D, donde en el microsatélite Spfu_6 se observan 2 alelos exclusivos, y en el microsatélite Spfu_9 el alelo 306pb es exclusivo de la localidad D, con una frecuencia de más del 20% (Figura 5)

Tabla 9: Parámetros de variabilidad genética en ocho loci microsatélites de *S. fuegensis* descritos por región administrativa de Chile. En negrita los valores significativos del ajuste del equilibrio de H&W.

Región	Parámetro	Locus							
		Spfu_6	Spfu_9	Spfu_29	Spfu_30	Spfu_42	Spfu_44	Spfu_45	Spfu_48
X Región	N	105	107	109	110	114	103	115	115
	Na	16	13	13	13	11	13	11	12
	Ho	0,666	0,710	0,422	0,690	0,754	0,757	0,660	0,652
	He	0,874	0,904	0,874	0,923	0,916	0,949	0,898	0,894
	H&W	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
XI Región	N	129	132	133	134	124	132	130	133
	Na	16	16	16	16	16	16	16	11
	Ho	0,744	0,651	0,338	0,776	0,814	0,674	0,692	0,646
	He	0,887	0,908	0,839	0,92	0,934	0,967	0,901	0,852
	H&W	0,000	0,000	0,000	0,000	0,004	0,000	0,000	0,000
XII									
Región	N	29	28	27	29	28	23	29	30
	Na	13	15	13	13	12	13	15	8
	Ho	0,758	0,5	0,185	0,758	0,892	0,434	0,689	0,6
	He	0,9	0,909	0,893	0,915	0,943	0,953	0,924	0,887
	H&W	0,434	0,000	0,000	0,130	0,782	0,000	0,000	0,000

Los niveles de diferenciación poblacional estimados por el F_{st} por pares de zona de muestreo, evidenciaron valores significativamente ($p \leq 0,05$) alejados del equilibrio migración – deriva (Tabla 10), para las comparaciones de la zona D frente al Golfo Corcovado con el resto de las localidades muestreadas en el Pacífico. Ratificando los resultados obtenidos sin información a priori respecto al origen geográfico de las muestras. Destacando que si bien los estimados del F_{st} son cercanos a cero, todos los F_{st} de las comparaciones de la zona D (F_{st} entre 0,04 a 0,06), con el resto de Chile (F_{st} entre 0,00 a 0,01) son de un

orden de magnitud mayor, indicando algún grado de diferenciación genética, basándonos en las frecuencias alélicas.

Al realizar las comparaciones agrupando las zonas de muestreo en regiones administrativas (Tabla 11), la comparación entre la X y XI región arroja valores significativos del F_{st} ($p \leq 0,05$), que de acuerdo a los resultados anteriores debería estar dado por las diferencias genéticas encontradas particularmente entre la zona D y el resto de las muestras de Chile. Los resultados del AMOVA (Tabla 12) muestran que de las hipótesis evaluadas, sólo la hipótesis de estructuración de los datos genéticos al nivel de la zona D respecto al resto de las muestras de Chile tendría sustento con un F_{st} de 0,05 altamente significativo ($p \leq 0,05$). El análisis AMOVA para cada uno de los ocho microsatélites analizados (Tabla 13), indica que todos ellos muestran congruencia en detectar diferenciación genética particularmente dentro de las agrupaciones, esto también ratifica que el modelo de mutación de cada loci analizado no sesgaría los resultados.

Tabla 10: Índice de diferenciación poblacional F_{st} por pares de zonas de muestreo para los ocho marcadores moleculares microsatélites de *Sprattus fuegensis*. Valor de probabilidad asociado mayor a 0,05. En negrita los valores significativos.

	Zona A	Zona B	Zona E	Zona D	Zona H	Zona I	Zona L	Zona J	Zona K	Zona N
Zona A	0									
Zona B	0,000	0								
Zona E	0,001	0,006	0							
Zona D	0,048	0,056	0,051	0						
Zona H	0,004	0,002	0,007	0,057	0					
Zona I	0,000	0,006	0,005	0,054	0,005	0				
Zona L	0,000	0,000	0,005	0,064	0,005	0,004	0			
Zona J	0,000	0,003	0,010	0,057	0,009	0,003	0,012	0		
Zona K	0,006	0,009	0,004	0,052	0,008	0,003	0,003	0,010	0	
Zona N	0,001	-0,002	0,057	0,057	0,006	0,001	0,003	0,004	0,009	0

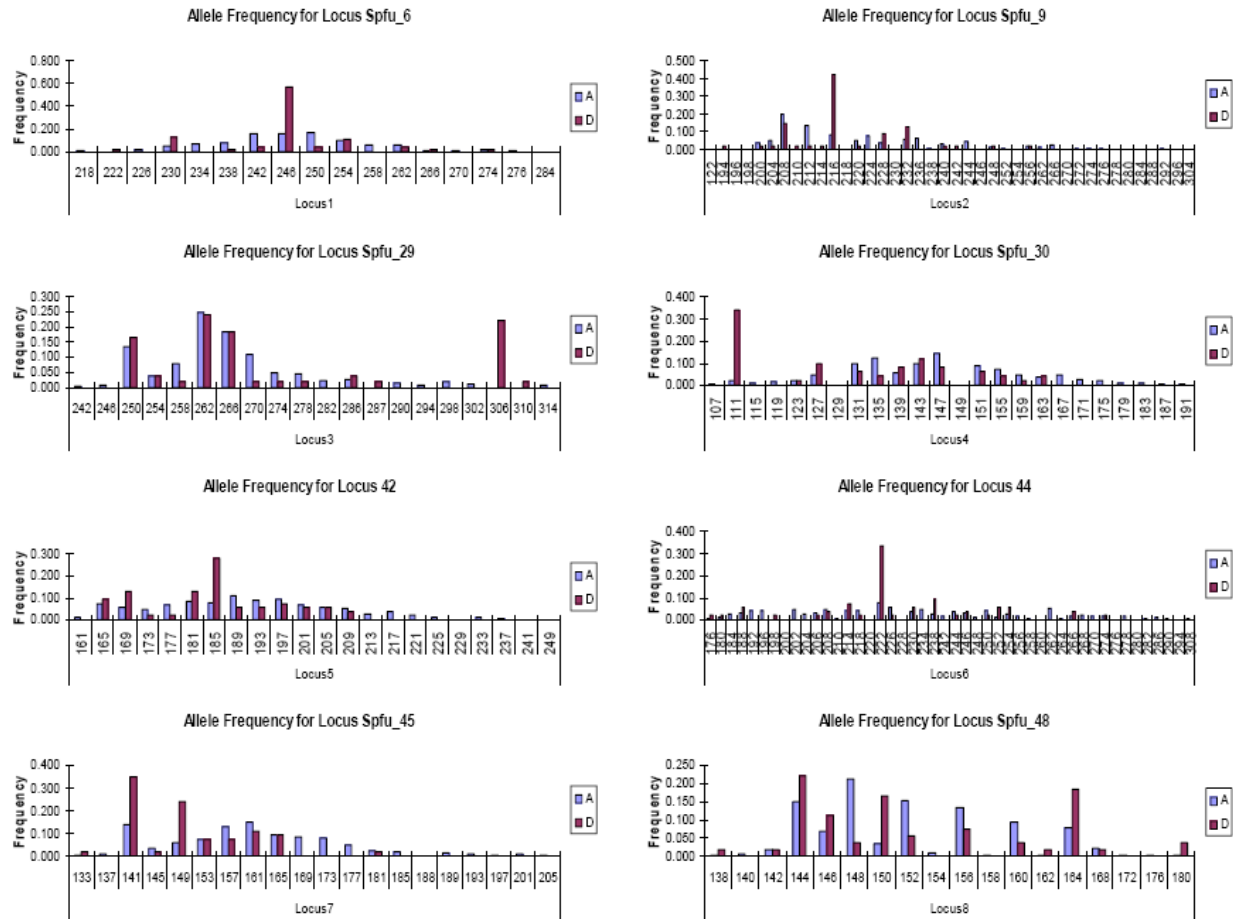


Figura 5: Frecuencias alélicas para 8 loci microsatélite de *S. fuegensis* en las agrupaciones reproductivas evidenciadas en el sur de Chile.

Tabla 11. Índice de diferenciación poblacional F_{st} por pares de regiones administrativas en *S. fuegensis* a través de su distribución en Chile, sobre la diagonal. Valor de probabilidad asociado mayor a 0,05, bajo la diagonal. En negrita los valores significativos.

	X Región	XI Región	XII Región
X Región	*	0,00471	0,00426
XI Región	0,0010	*	0,00151
XII Región	0,2206	0,6580	*

Tabla 12. Resultados de agrupaciones testados para *S. fuegensis* según AMOVA para los ocho loci analizados. Valor de probabilidad asociado mayor a 0,05. En negrita los valores significativos.

Agrupaciones por región administrativa	Grupo testeado	Variación (%)	Índice F (Φ)	Valor-P
3 Grupos	Grupo 1X, Grupo 2XI y Grupo 3XII	-0,12	$\Phi_{ct} = -0,001$	0,400
2 Grupos	Grupo 1 (X) vs Grupo 2 (XI y XII)	0,16	$\Phi_{ct} = 0,001$	0,149
2 Grupos	Grupo 1 (X y XI) vs Grupo 2 (XII)	-0,56	$\Phi_{ct} = -0,005$	0,696
2 Grupos	Grupo 1 (Zona D frente al Golfo Corcovado) vs Zonas del Resto de Chile	5,04	$\Phi_{st} = 0,050$	0,000

Tabla 13. Resultados de agrupaciones testados para *S. fuegensis* según AMOVA por loci analizado. Valor de probabilidad asociado mayor a 0,05. En negrita los valores significativos.

Locus	Entre agrupaciones:				Dentro de agrupaciones:				Indice Fst	
	SSD	g.1	Va	% variación	SSD	g.1	Vb	% variación	Fst	P-value
Spfu_6	544,677	1	0,0517	10,6	22695,056	524	0,433	89,3	0,107	0,000
Spfu_9	382,167	1	0,035	7,1	23906,597	532	0,449	92,8	0,072	0,001
Spfu_29	160,799	1	0,012	2,74	23050,911	536	0,430	97,3	0,027	0,022
Spfu_30	282,853	1	0,026	5,4	24876,121	544	0,457	94,6	0,054	0,000
Spfu_42	139,498	1	0,010	2,03	24538,509	530	0,463	98,0	0,020	0,001
Spfu_44	224,024	1	0,018	3,67	24552,333	514	0,478	96,3	0,037	0,000
Spfu_45	243,792	1	0,020	4,35	24476,646	546	0,448	95,6	0,044	0,000
Spfu_48	205,344	1	0,017	3,66	24155,268	554	0,436	96,3	0,037	0,000

Tamaño efectivo poblacional y flujo genético

En cuanto a los estimados de tamaño efectivo de las agrupaciones reproductivas y el flujo genético, los resultados de estimación del parámetro de diversidad genética θ fueron bastante diferentes para las dos agrupaciones evidenciadas por Geneland utilizando los loci microsatélites. En términos proporcionales el parámetro de diversidad genética, θ , de la zona D frente al Golfo Corcovado es 3920 veces más pequeño que la agrupación que representa el resto de Chile. Para la zona D del Golfo Corcovado el parámetro θ fue bajo con un valor de 0,00003, en cambio para el resto de Chile el valor fue de 0,0987. El tamaño efectivo poblacional es cuantitativamente diferente, siendo de solo 2 individuos por generación para la zona D del Golfo Corcovado y 4935 individuos por generación para el resto de Chile. La proporción del tamaño efectivo poblacional entre la agrupación reproductiva del resto de Chile, en comparación con la zona D, es 2467 más grande (Tabla 14). El flujo genético entre ambas agrupaciones es desproporciona, notándose una fuerte tendencia de la zona D a retener a su población, con una fuerte inmigración desde el resto de Chile, pero una baja emigración de los individuos de la zona D.

Tabla 14. Determinación de tamaño efectivo poblacional (N_e) y Magnitud del número de migrantes (m) estimados para *S. fuegensis* mediante el parámetro de diversidad genética Theta (θ). N_e , calculado según la fórmula $\theta = 2N_e\mu$, donde μ corresponde a la tasa de mutación. Tasa de mutación (μ) utilizada para microsatélites es de 10^{-5} mutaciones por locus por generación (Ruzzante et al., 1998).

	Microsatélites	
	Θ	N_e
Corcovado	0,00003	2
Chile	0,0987	4935
	Número de Migrantes	
	Moda	Promedio
Chile→Corcovado	867	854
Corcovado→Chile	62	61

Factores ambientales y estructuración genética

Los análisis realizados en el programa GESTE, revelan que ninguno de los factores ambientales considerados en este estudio, o interacciones entre ellos son capaces de explicar la diferencias genéticas entre las dos poblaciones encontradas por Geneland utilizando los marcadores microsatélites. De los 32 modelos lineales generados (Tabla 15), la mayor probabilidad *a posteriori* (pp = 0.0351) fue un modelo constante con parámetros $a = -0,704$ (95% -6,71; 5,92; moda -1,23) y $\sigma^2 = 2,35E3$ (230; 6,62E3; moda 1,27E+03), el cual no incluyo ninguno de los factores considerados en el estudio.

Tabla 15. Nivel de ajuste de modelos lineales considerados para los factores ambientales que podrían afectar la dinámica genética de *S. fuegensis* en el sur de Chile, para datos microsatélites. Proyecto FIP N°2010-17.

Modelos ajustados	Probabilidad Posterior	Variables incluidas (Gi)
modelo 1	0,0351	-
modelo 2	0,0338	G1
modelo 3	0,0326	G2
modelo 4	0,0346	G1 G2
modelo 5	0,0344	G3
modelo 6	0,0312	G3 G1
modelo 7	0,0304	G3 G2
modelo 8	0,0284	G3 G2 G1
modelo 9	0,0328	G4
modelo 10	0,0314	G4 G1
modelo 11	0,0324	G4 G2
modelo 12	0,0293	G4 G2 G1
modelo 13	0,0318	G4 G3
modelo 14	0,03	G4 G3 G1

G1: Clorofila; G2: Coeficiente de Atenuación; G3: Oxígeno disuelto; G4: Salinidad; G5: Temperatura Superficial del Mar.

Tabla 15 (continuación). Nivel de ajuste de modelos lineales considerados para los factores ambientales que podrían afectar la dinámica genética de *S. fuegensis* en el sur de Chile, para datos microsatélites. Proyecto FIP N°2010-17.

Modelos ajustados	Probabilidad Posterior	Variables incluidas (Gi)
modelo 15	0,0289	G4 G3 G2
modelo 16	0,0287	G4 G3 G2 G1
modelo 17	0,0334	G5
modelo 18	0,0313	G5 G1
modelo 19	0,0335	G5 G2
modelo 20	0,0323	G5 G2 G1
modelo 21	0,0316	G5 G3
modelo 22	0,0301	G5 G3 G1
modelo 23	0,0296	G5 G3 G2
modelo 24	0,029	G5 G3 G2 G1
modelo 25	0,0331	G5 G4
modelo 26	0,0304	G5 G4 G1
modelo 27	0,0311	G5 G4 G2
modelo 28	0,0312	G5 G4 G2 G1
modelo 29	0,029	G5 G4 G3
modelo 30	0,0315	G5 G4 G3 G1
modelo 31	0,0303	G5 G4 G3 G2
modelo 32	0,0277	G5 G4 G3 G2 G1

G1: Clorofila; G2: Coeficiente de Atenuación; G3: Oxígeno disuelto; G4: Salinidad; G5: Temperatura Superficial del Mar.

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

Del análisis de los marcadores moleculares utilizados en el presente proyecto, se puede establecer que existe una mínima tendencia a la diferenciación genética entre las áreas de muestreo en Chile para el pelágico *Sprattus fuegensis*, destacando que las áreas de muestreo cubren el rango de distribución de la especie en el cono sur.

De manera específica la región control del ADN mitocondrial resulto ser altamente variable, tal cual como ocurre en otros pequeños pelágicos y congenéricos con *S. fuegensis* (e.g. *Sprattus sprattus*: Debes et al. 2008; *Clupea pallasii*: Liu et al. 2011). La mayoría de los individuos presento un haplotipo único, lo que se ha encontrado en algunos otros peces pelágicos y contrasta con otros pelágicos de mayor envergadura que presentan una muy baja variabilidad genética (e.g. *Trachurus murphyi*, Cardenas et al. 2009), lo que sería producto de un alto tamaño efectivo poblacional. Al agrupar las zonas de pesca por región administrativa el índice F_{st} es bajo y no muestra diferencias significativas. El análisis de diferenciación por zona de pesca, nos permite establecer que la zona L que se encuentra en la XI región muestra diferencias genéticas de las demás zonas de pesca. Este último se corrobora en el análisis AMOVA, el cual da cuenta que la agrupación L comparada con el resto explica un 10,8% de la variación. No obstante utilizando e incorporando en el análisis la disposición espacial de las zonas de pesca, no se encontró diferencias genéticas significativas, considerándose que *Sprattus fuegensis* a través de su distribución en Chile, se comporta poblacionalmente como una gran agrupación reproductiva.

La homogeneidad genética observada en esta especie contrasta con lo encontrado en otros peces pelágicos Clupeidos (e.g. *Clupea pallasii*, Liu et al. 2011, Gorbachev et al. 2011; y la especie congenérica *Sprattus sprattus*, Debes et al. 2008), utilizando la región control como marcador genético. Esta homogeneidad no es inusual en peces marinos que se distribuyen en océano pacifico Sureste, tal como *Engraulis ringens* (Ferrada et al. 2002), *Strangomera bentincki* (Galleguillos et al. 1997), *Genypterus blacodes* (Canales-Aguirre et al. 2010c), *T. murphyi* (Galleguillos & Torres, 1988, Cardenas et al. 2009, Galleguillos et al. 2012) y *Macroclinnus eleginops* (Ceballos et al. 2011). En muchos peces marinos las diferencias genéticas poblacionales son bajas, mostrando valores del índice de diferenciación $F_{st} < 0.01$ (Ward et al., 1994). Este patrón de nula o leve diferenciación genética puede ser consecuencia de factores tales como el solapamiento de

temporadas y áreas de desove, una fuerte migración o mezcla reproductiva entre poblaciones adyacentes (Ward et al., 1994; Hauser and Ward, 1998), tamaños poblacionales grandes, amplia distribución geográfica, y alta fecundidad (DeWoody & Avise 2000). La estabilidad temporal del patrón observado debe ser evaluada en futuros estudios.

El patrón de diversidad genética de los microsatélites presenta un alto número de alelos por loci siendo estos valores similares a los obtenidos en especies de pequeños pelágicos, indicando que estos marcadores son herramientas útiles de discriminación de poblaciones. El número de alelos y heterocigosidad reportada para *S. fuegensis* se ubican en los valores promedio informados para peces marinos (*ver* DeWoody & Avise, 2000). Este alto número de alelos y altas heterocigosidades podría reflejar altos tamaños efectivos poblacionales de la especie y/o tasas de mutacionales mayores de lo usual para microsatélites (Jarne & Lagoda, 1996).

Al evaluar el equilibrio de H&W se observa que para todas las regiones administrativas analizadas, los ocho loci presentaron desviaciones significativas ($p \leq 0,05$) al equilibrio, producto en un déficit de heterocigotos. Un factor que podría causar el déficit de heterocigotos es la presencia de alelos nulos (Pemberton et al., 1995), lo que no es corroborado por estimados realizados bajo el algoritmo de Brookfield 1. La acción de la selección natural sobre las variantes alélicas bajo consideración, podría igualmente generar desviaciones al equilibrio de H&W, lo cual no ha sido evaluado, pero si ha sido evidenciado en otros clupeiformes con historias de vida semejantes a la *S. fuegensis*, como es el Arenque del Atlántico *Clupea harengus* (Gaggiotti et al., 2009; Larsson et al., 2007:2010; Watts et al., 2008). Por último el déficit de heterocigotos podría deberse a que los ejemplares analizados y agrupados para el análisis en zonas administrativas son representativos de diferentes stocks o unidades panmicticas capturadas en una amplia distribución geográfica, atribuible al efecto Wahlund (Wahlund, 1928).

En el caso de los marcadores moleculares tipo microsatélites los resultados sustentan la existencia de un fuerte flujo génico entre las localidades muestreadas a lo largo de Chile, exceptuando la zona D frente al Golfo Corcovado, observándose dos agrupaciones reproductivas a través de su distribución en Chile. Este escenario parece realista considerando que los datos de microsatélites representan procesos genéticos más recientes, comparado con

el ADN mitocondrial, rescatando mutaciones ocurridas hasta 1000 generaciones atrás en una población (Weber, 1993). Las diferencias observadas sugieren que la estructuración generada a partir del punto de muestreo D representa el resultado de una población aislada geográficamente, de pequeño tamaño efectivo, cuyo flujo génico fundamental es de inmigración, lo que se ve corroborado en los resultados. Esto repercutiría en procesos de deriva génica local y acumulación de nuevas mutaciones que no serían aportadas a la población de amplia distribución por existir una baja probabilidad de emigración, en donde los factores ambientales no jugarían un papel fundamental, o por lo menos aquellos factores ambientales evaluados en este estudio. Por esta razón argumentamos que procesos a mesoescala, corrientes costeras, y geomorfología de la costa podrían generar el patrón observado de aislamiento en la población D.

CONCLUSIONES

Del análisis de los marcadores moleculares utilizados en el presente proyecto, se puede concluir que existe una mínima tendencia a la diferenciación genética entre las áreas de muestreo en Chile para el pelágico *Sprattus fuegensis*. Por lo tanto, *S. fuegensis* través de su distribución en Chile, se comporta poblacionalmente como una gran agrupación reproductiva.

Capítulo II: Aproximación basada en el uso de morfología de otolitos

Autores: Luis Cubillos¹, Sandra Curin¹, Hernán Rebolledo¹, Claudio Carrasco¹, Cristian Parra¹
Universidad de Concepción

En este capítulo se responde el objetivo 2.1 el cual es “Determinar si *Sprattus fuegensis* presente entre la X y XII regiones de Chile, constituye una o más unidades poblacionales o stocks pesqueros independientes”.

ANTECEDENTES

La sardina austral (*Sprattus fuegensis*) es una especie pelágica y zooplanctófaga que se distribuye en las zonas costeras sur-australes de Chile y Argentina (Sabatini et al. 2001). Esta especie, también conocida como sardina fueguina, patagónica o quichay, es fácilmente confundida con sardina común (*Strangomera bentincki*) por observadores poco entrenados. Existen, no obstante, criterios diagnósticos externos que pueden ser considerados para diferenciar ambas especies con niveles razonablemente altos de certidumbre.

Al considerar la alta heterogeneidad espacial que impone la geografía de canales y fiordos de la zona sur austral de Chile, donde la sardina austral se distribuye, y considerando la probabilidad que esta especie esté estructurada en más de una subpoblación, se plantea que las diferencias basadas en la forma del otolito sagita podrían determinar la existencia de más de una subpoblación de la especie.

Existen diferentes enfoques para identificar adecuadamente unidades de stock, en la actualidad las técnicas utilizadas para la determinación de stock pueden ser clasificadas en dos grandes grupos: i) técnicas de análisis genotípico, y ii) técnicas de análisis fenotípico. Las técnicas genéticas se enfocan en distinguir unidades poblacionales reproductivamente aisladas, mientras que las técnicas de análisis fenotípico solo pretenden identificar subpoblacionales con características similares. En este contexto, se identifica la merística y morfometría del cuerpo, la morfometría de otolitos, parámetros de la historia de vida, y el análisis de la carga parasitaria como marcas naturales (Begg et al. 2000).

La morfometría de los otolitos es un rasgo característico de una especie (Hecht & Appelbaum

1982, Volpedo & Echeverría 2000) y en algunos casos también es específico de una población (Bird et al. 1986, Smith 1992, Friedland y Reddin 1994, Begg & Brown 2000). La forma de los otolitos ha sido importante en estudios de ecología trófica (Harkönen 1986, Tuset et al. 1996), y taxonomía (Lombarte & Castellon 1991, Martínez & Monasterio de Gonzo 1991). Estos trabajos ponen de manifiesto la importancia de dicha estructura y la necesidad de un exhaustivo conocimiento morfológico de la misma. El estudio de las características morfológicas de los otolitos ha tomado relevancia en los últimos años, debido a que su forma es un carácter ligado a la especie (Härkönen 1986, Hecht 1987, Williams & McEldowney 1990, Martínez & Monasterio de Gonzo 1991, Pereda & Villamor 1991, Lombarte 1991, Smale et al. 1995, Simoneau et al. 2000). De esta manera, la variación en la forma de los otolitos puede revelar la presencia de diferentes stocks (Bird et al. 1986, Campana & Casselman 1993, Begg & Brown 2000, Turan 2000, 2006).

Las principales características morfométricas en otolitos, que han sido usadas como indicadores para identificar distintos stock, pueden resumirse en tres categorías: i) las tradicionales medidas lineales de una dimensión, atributos relativos al tamaño, como longitud y ancho del otolito (Begg & Brown 2000, Bolles & Begg 2000), distancias entre puntos específicos del otolito, incluyendo medidas internas del otolito como la longitud del núcleo y ancho de las bandas hialinas e incrementos; ii) medidas bidimensionales, y que comprende el área y perímetro (Campana & Casselman 1993, Begg & Brown 2000, Bolles & Begg 2000) y diferentes índices de forma que incluyen la circularidad, rectangularidad, elipticidad, excentricidad, redondez y factores de forma (Pothin et al. 2006). Donde el factor de forma indica la irregularidad de un objeto y tiende a 1 cuando éste es un círculo perfecto. La redondez y la forma circular proporcionan información sobre la proximidad morfológica de una figura a un círculo, tomando respectivamente un valor mínimo de 1 y $4p$ cuando es un círculo perfecto. La forma rectangular describe las variaciones en longitud y anchura respecto al área, siendo 1 para un cuadrado perfecto. La forma elíptica indica si los cambios en los ejes son proporcionales o no. Finalmente, la excentricidad determina el cambio de posición del centro de masa respecto al lugar que ocuparía en un círculo perfecto. Por último, iii) La más reciente técnica morfológica analiza el contorno de la forma del otolito en dos dimensiones usando análisis de frecuencia, por medio de transformadas de Fourier (Iwata & Ukai 2002).

Las transformadas de Fourier constituyen el procedimiento matemático más utilizado para definir la silueta de un objeto y se basan en descriptores denominados armónicos. La amplitud de cada armónico representa la contribución relativa a la figura empírica de un componente de forma característica, i.e. la amplitud del segundo armónico es una medida de elongación, la del tercero es una medida de elongación o forma triangular, entre otras (Bird et al. 1986). Los armónicos definen los parámetros de forma del otolito, dando una imagen similar a la real mediante combinación de todos ellos.

En la cual describe una línea trazada a través de una serie de curvas seno y coseno generadas a partir de las coordenadas que posicionan la línea trazada. La serie de curvas coseno y seno pueden ser definidos como una serie de Fourier y ser utilizadas como variables para comparar la forma del otolito entre individuos o potenciales unidades de stocks (Christopher & Waters 1974, Younker & Ehrlich 1977).

La transformada rápida de Fourier (TRF) puede ser calculada como una TRF cartesiana que utiliza más de 100 coordenadas x-y como números complejos ($a+ib$), donde a es la parte real y ib es la parte imaginaria que representan las amplitudes de ondas coseno y seno, respectivamente. El conjunto resultante de números complejos o descriptores deben ser subsecuentemente normalizados para diferentes posiciones en los otolitos. Los descriptores normalizados ($a'+ib'$) se utilizan para calcular el valor absoluto (armónico) de cada descriptor de acuerdo con las ecuaciones propuestas por Christopher & Waters (1974). A su vez, los armónicos se utilizan en conjunto con otras variables morfológicas e índices de formas para comparar otolitos entre cohortes y entre localidades. Mientras más alto es el número de puntos equidistantes y subsecuentes números complejos incluidos en el modelo, más cercano a la forma original es el ajuste. Las principales características de la forma del otolito son generalmente capturadas con 10 ó 20 armónicos (Campana & Casselman 1993, Friedland & Reddin 1994). El mínimo número de descriptores de Fourier requeridos para explicar al menos 90% de la forma registrada de los otolitos debe ser calculada similar al procedimiento de Smith et al. (2002).

De acuerdo con los antecedentes expuestos, el análisis bidimensional y las TRF constituirán el principal enfoque para evaluar diferencias morfológicas en los otolitos de sardina austral, y

sobre la base de este análisis determinar si existe variación intrapoblacional en la morfología del otolito de *Sprattus fuegensis* en la zona de estudio.

METODOLOGÍA DE TRABAJO

Obtención de muestras

De acuerdo con el diseño, la unidad muestral está representada por el individuo que contiene en sus otolitos los atributos que serán medidos, y que aproximadamente con un tamaño mínimo de 35 ejemplares obtenidos mediante muestreo aleatorio simple por ámbito geográfico son suficientes para el proceso de inferencia. Los ejemplares de sardina austral fueron recolectados a partir de muestras aleatorias de la captura de embarcaciones artesanales entre diciembre de 2010 y enero de 2011. El muestreo cubrió las localidades de Huequi (n=100), Seno y Estero de Reloncaví (n=100), e Islas Butacheuques (n=100) para la región de Los Lagos (n=300); mientras que para la región de Aysén (n=389), se obtuvieron muestras del Fiordo Aysén (n=100), Canal Moraleda (n=189) y Laguna San Rafael (n=100). Se contó con un total de 689 individuos de sardina austral, con un rango de 6 a 17.7 cm de longitud total. En marzo de 2012, se obtuvo una muestra de 70 individuos provenientes de la XII región, de los cuales 60 (86%) fueron útiles para el análisis morfométrico con tallas entre los 8 a 11.5 cm de longitud total. Por último, en agosto de 2012 se obtuvo una muestra de sardina austral proveniente del Sur de Argentina (n=109). Cada ejemplar fue medido en su longitud total, y se pesó con una balanza de 0,01 g de precisión.

Extracción de otolitos

Se obtuvo el par de otolitos *sagita* desde las cápsulas óticas y los sáculos que contienen las estructuras calcáreas en el neurocraneo de cada individuo. La extracción se realizó ventralmente con la ayuda de una pinza fina. Una vez que los otolitos fueron extraídos, se limpiaron con agua destilada para eliminar los restos orgánicos adheridos. Los otolitos fueron almacenados en tubos eppendorf, debidamente rotulados para su posterior estudio.

Medidas morfométricas

Para todos los análisis se utilizó el otolito derecho, a los que se les realizó las siguientes mediciones en un plano bidimensional sobre la base de una imagen digital obtenida bajo una

lupa (aumento 5.0 a 3.2 para las distintas longitudes), con una cámara digital Canon Modelo PowerShot A640 de 10.0 mega pixeles adaptada a una Lupa Zeiss Stemi 2000-C. Los otolitos fueron colocados en una placa petri, con el sulcus hacia arriba y el extremo anterior del otolito hacia la derecha. Una vez obtenidas las imágenes, las mediciones fueron realizadas con el software IMAGE J, obteniéndose el área del otolito (A_o), longitud (L_o), perímetro (P_o), ancho (Ancho). A partir del área del otolito se determinaron tres índices de forma: índice de circularidad (IC), índice de rectangularidad (IR), e índice de elipticidad (IE), según Curin et al. (en revisión). El IR se calculó como el área del otolito dividida por el área mínima de un rectángulo que cubre al otolito, el IC se calculó como el área del otolito dividida por el área de un círculo que contenga un diámetro equivalente al largo del otolito, y el IE como la razón del área del otolito y el área de una elipse que lo contenga. El perímetro del otolito puede ser trazado siguiendo una dirección contra reloj y digitalizado en más de 100 coordenadas x-y a lo largo del borde distal y comenzando desde el rostro del otolito, el cual representó el punto de partida para la medición.

Aparte de los IC, IR, e IE, se utilizó el factor de forma, la redondez, y la razón de aspecto. El factor de forma es una manera de estimar la irregularidad de superficie, tomando valores de 1 cuando es un círculo perfecto y <1 cuando es irregular. La redondez y la circularidad dan información sobre la similitud de características diferentes a un círculo perfecto, con un valor mínimo de 1 y $4p$, respectivamente. La ortogonalidad describe la variación de la longitud y anchura con respecto a la zona, siendo 1 un cuadrado perfecto, y la elipticidad indica si los cambios en la longitud del eje son proporcionales (Russ, 1990).

Análisis de contornos

La transformada elíptica de Fourier es una aproximación para ajustar curvas a contornos complejos cerrados. Giardina & Kull (1977) y Kull & Giardina (1982) desarrollaron el algoritmo para ajustar series de Fourier sobre coordenadas x-y en función de la abscisa curvilínea. El perímetro del contorno se considera el periodo de la señal (T), y la fase viene dada por $\omega = 2\pi/T$. De esta manera, la abscisa curvilínea varía de 0 a T , y el sistema de coordenadas se puede expresar por

$$\begin{aligned}x(t) &= \frac{a_0}{2} + \sum_{n=1}^{\infty} a_n \cos(n\omega t) + b_n \sin(n\omega t) \\y(t) &= \frac{c_0}{2} + \sum_{n=1}^{\infty} c_n \cos(n\omega t) + d_n \sin(n\omega t)\end{aligned}$$

El contorno contiene un número k de puntos finitos, y por lo tanto los coeficientes de los n -ésimo armónicos pueden ser calculados, según

$$\begin{aligned}a_n &= \frac{T}{2\pi^2 n^2} \sum_{p=1}^k \frac{\Delta x_p}{\Delta t_p} \left(\cos \frac{2\pi n t_p}{T} - \cos \frac{2\pi n t_{p-1}}{T} \right) \\b_n &= \frac{T}{2\pi^2 n^2} \sum_{p=1}^k \frac{\Delta x_p}{\Delta t_p} \left(\sin \frac{2\pi n t_p}{T} - \sin \frac{2\pi n t_{p-1}}{T} \right)\end{aligned}$$

donde $\Delta x_i = x_i - x_p$, y c_n y d_n pueden ser calculados de manera similar. En estas ecuaciones, a_0 y c_0 corresponden a las estimaciones de las coordenadas del centroide de la configuración, i.e.

$$\begin{aligned}a_0 &= \frac{2}{T} \sum_{i=1}^p x_i \\c_0 &= \frac{2}{T} \sum_{i=1}^p y_i\end{aligned}$$

Aunque este método incrementa el número de coeficientes por armónico, se puede esperar contar con un menor número de armónicos para describir confiablemente el contorno en comparación con otros métodos. Los armónicos de orden superior corresponden a pequeñas elipses, y se aproximan al contorno por el desplazamiento de un punto viajando alrededor de varias elipses superpuestas. El primer armónico define una primera elipse que mejor se ajusta al contorno. Se pueden utilizar los parámetros del primer armónico para normalizar los datos de tal manera que sean invariante al tamaño, rotación, y punto de partida para trazar el contorno. La Elíptica Normalizada de Fourier determina cuatro coeficientes (A_n, B_n, C_n, D_n) que son los que se utilizaron para el análisis multivariado.

Los coeficientes de la transformada elíptica de Fourier se obtuvieron utilizando el programa computacional R (R Development Core Team 2010), haciendo uso de los algoritmos descritos por Claude (2008). El análisis consiste en una serie de pasos secuenciales para el tratamiento de

las imágenes, y que son: i) transformación de la imágenes es escala de grises, desde el formato jpg a ppm; ii) binarización de la imagen del otolito, utilizando un umbral que permita identificar plenamente la forma externa del otolito haciendo uso de las biblioteca de programas “rimage”; iii) el contorno se resuelve con la función “conte”, que extrae las coordenadas de los pixeles que definen la forma externa de una imagen. La función comienza con un punto y busca el pixel vecino más cercano, rotando y extrayendo las coordenadas en el sentido del reloj.

Para comenzar, se utilizó un umbral adecuado para la binarización (aquí de 0.4) y 0.1 para el vecino más cercano. Una vez que se probó diferentes umbrales que resultasen mejor para cada imagen, la imagen binarizada fueron guardadas. Se ubicó el primer punto en la imagen y se realizó un muestreo de 50 puntos en sentido contrario del reloj sobre el perímetro del contorno de cada otolito. Este protocolo fue idéntico para dada imagen de otolito disponible. El muestreo de 50 puntos se realizó considerando la función “regularis” que permite determinar coordenadas polares desde el centro del otolito (promedio de coordenadas x-y). El análisis de contorno se basó en 50 puntos a lo largo del perímetro del otolito, y se calculó 25 armónicos para reconstruir la forma.

Análisis estadísticos

Análisis de las medidas morfométricas

Con el objeto de eliminar el efecto asociado con el tamaño de los ejemplares, a cada medición del otolito se realizó una corrección por alometría dada por;

$$d_c = d \left(\frac{\bar{L}}{L} \right)^b$$

donde L_{barra} es la longitud promedio del individuo, L es la longitud del individuo, d es la medición original de la variable a corregir (largo, ancho, perímetro del otolito, etc.), y b es el coeficiente de alometría que se calcula por regresión lineal utilizando logaritmo natural entre d y L (Hurlbut & Clay, 1998; Ihssen et al. 1981).

Una vez corregida las mediciones, se utilizó el Análisis de Componentes Principales (ACP) para detectar grupos entre las mediciones del otolito sagita (longitud, ancho y área del otolito) y los índices de forma.

Análisis estadístico de contornos

Para determinar la existencia de grupos con características morfológicas diferentes se comparó los coeficientes armónicos de Fourier de los otolitos provenientes de la región de Los Lagos (X región), región de Aysén (XI región), y Sur de Argentina. Al interior de la X región, se utilizaron muestras de otolitos provenientes de Huequi (HI), Seno y Estero Reloncaví (ER), Islas Butacheuques (IP), Puyuhuapi (PH); En tanto, las muestras de la XI región provienen del Fiordo Aysén (AS), Canal Moraleda (CM) y Laguna San Rafael.

Los coeficientes de los armónicos de cada grupo fueron comparados mediante Análisis de Componentes Principales (ACP), MANOVA, y Análisis Discriminante Lineal (ADL). Para determinar el número de armónicos a ser utilizados en las comparaciones múltiples, se usó el espectro de poder de los armónicos de Fourier. El poder es proporcional a la amplitud de los armónicos y se considera como el grado de información de la forma. Al considerar que el rango de los armónicos se incrementa, el poder decrece y ofrece menor información. El número de armónicos se puede evaluar considerando el poder acumulado respecto de la suma total acumulada del poder. El poder de un armónico se calcula por:

$$P_n = \frac{(A_n^2 + B_n^2 + C_n^2 + D_n^2)}{2}$$

Para utilizar el poder en la selección del número de armónicos, se utilizó un criterio de entre 90 y 95% de información de la forma. A su vez, se calculó la desviación promedio del contorno original (Crampton 1995).

RESULTADOS

Análisis tradicional de mediciones del otolito

La longitud del pez y del otolito de sardina austral presentó diferencias de acuerdo a la región de estudio analizada, encontrándose menores tamaños a medida que la muestra fue más austral en Chile, pero los ejemplares del sur de Argentina presentaron atributos similares a los de la X y XI Región (Figura 1). El examen visual de los otolitos, mediante las imágenes obtenidas, y el conjunto de las mediciones efectuadas, indica que el otolito de los individuos provenientes de la XII región presenta algunas diferencias morfológicas evidentes y están asociadas con el desarrollo del rostrum y antirostrum (Figura 2). A su vez, la muestra obtenida en la XII región presentó un rango de talla entre 8 a 11.5 cm, encontrándose todos los individuos bajo la talla de primera madurez (13.5 cm, Leal et al. 2011). Por otra parte, el largo del otolito de la región de Magallanes, presenta una distribución de valores menores a los 3 mm. Es probable que las diferencias morfológicas evidentes de dichos otolitos sea consecuencia del efecto alométrico, o que realmente no tengan un antirostrum pronunciado y la escisura sea difusa (Fig. 2). El área del otolito también presenta una distribución acotada, entre 1.6 y 3.1 mm². A la vez, el factor forma de la XII región, presenta los valores más cercanos a 1, con lo que muestra que el otolito presenta menor irregularidad de superficie (Fig. 1 y 2). Ante diferencias morfológicas evidentes, se optó por no incluir esta muestra en la comparación morfométrica, recomendándose verificar si el *antirostrum* en los otolitos de los individuos de la XII región se desarrolla en peces adultos.

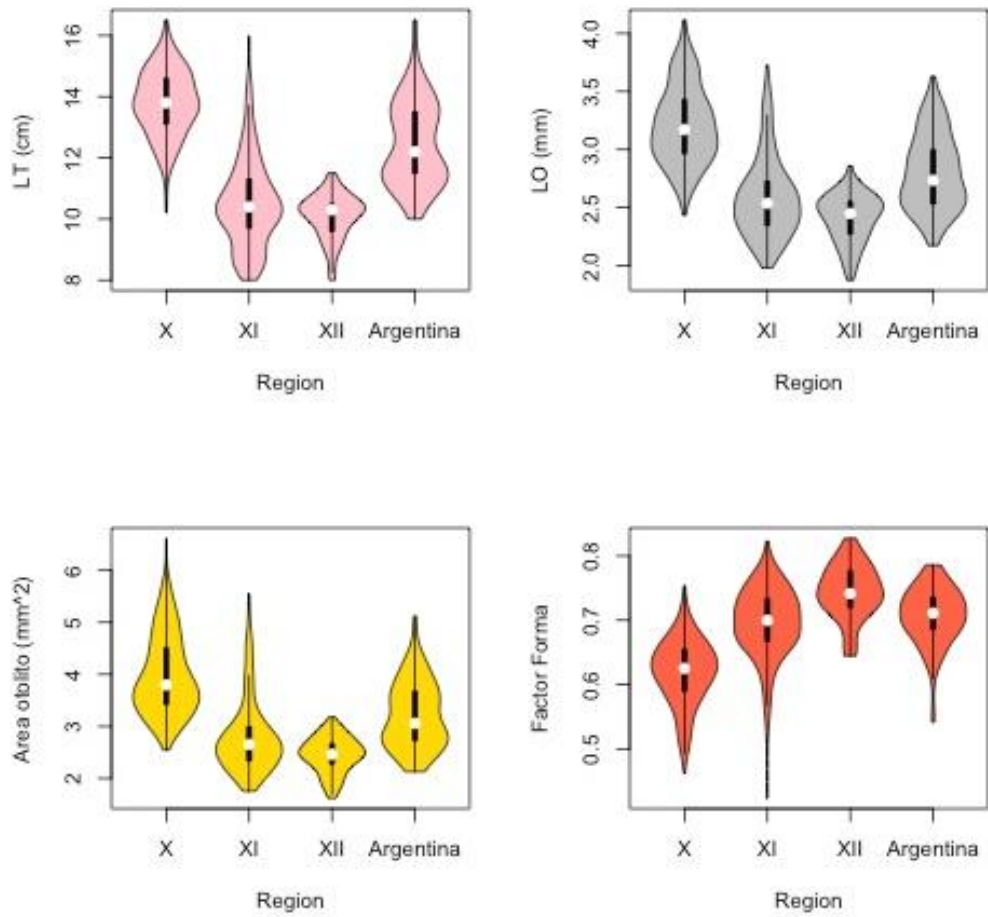


Figura 1. Longitud total del pez (LT), Largo del otolito (LO), Área del otolito y Factor Forma por región de estudio para sardina austral.

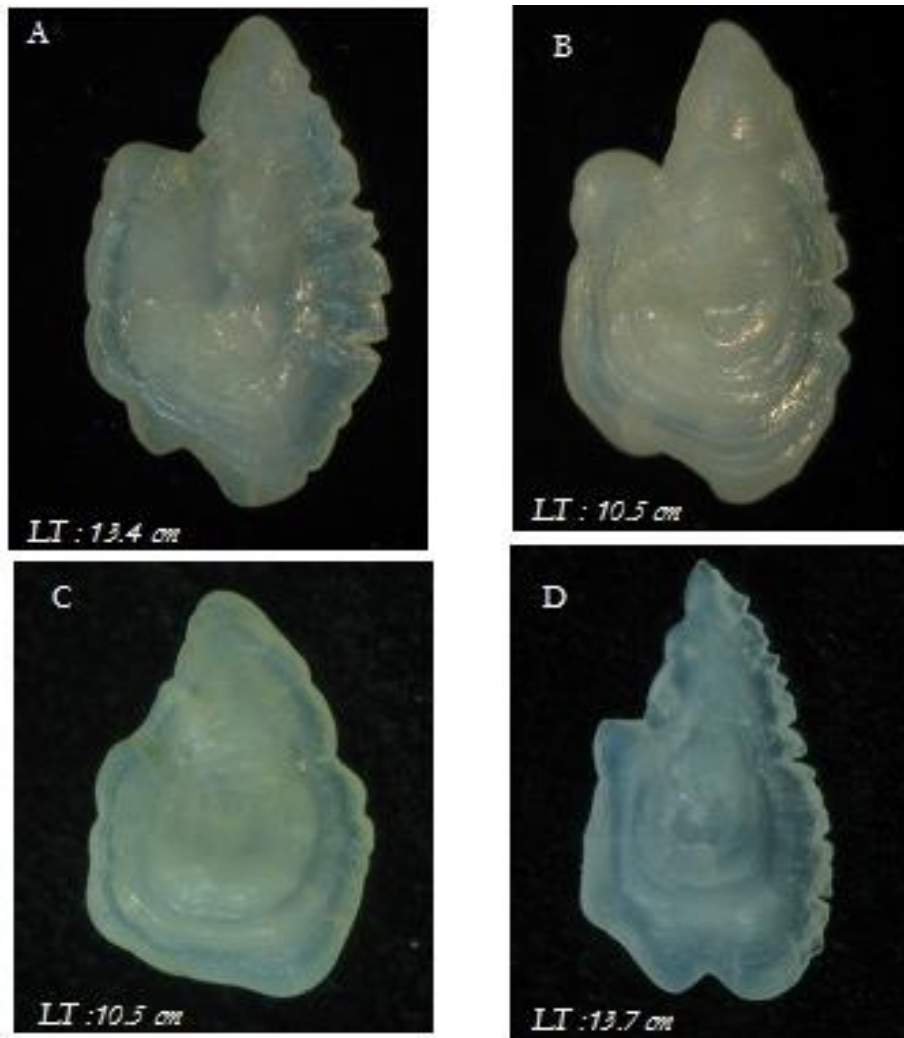


Figura 2. Otolitos de sardina austral extraídos de las 4 regiones de estudio: A) X Región, B) XI región, C), LT largo total del individuo donde se extrajo el otolito).

En relación con los otolitos de la región de Los Lagos (X Región), de Aysén (XI Región), y del Sur de Argentina, se observó relaciones levemente potenciales entre la longitud del otolito de sardina austral con la longitud total (Figura 3). Asimismo, se encontró que ancho, área, y perímetro del otolito se relacionan directamente proporcional con la longitud total (Figura 3).

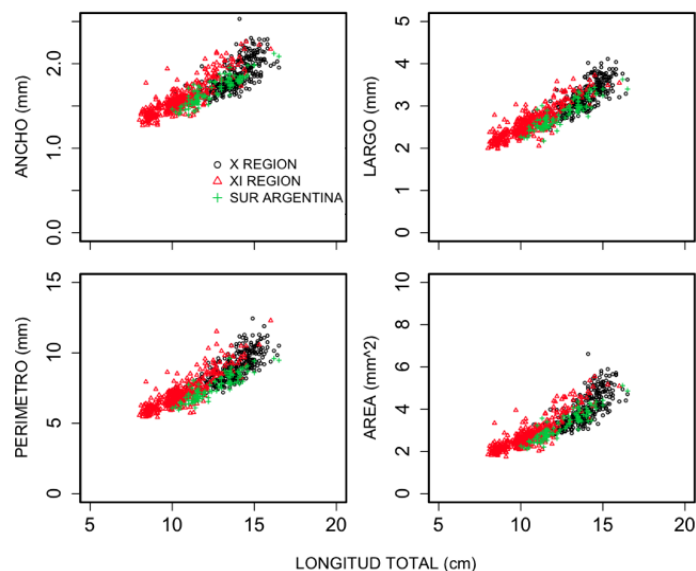


Figura 3. Relación entre el ancho, largo, perímetro, y área del otolito y la longitud total del pez (cm), sardina austral.

Para remover el efecto del tamaño se calculó el coeficiente de alometría (Tabla 1) y cada una de las mediciones fue corregida antes de ejecutar el análisis multivariado. No obstante lo anterior, entre las mediciones del otolito corregidas aún subyacen importantes correlaciones entre las variables (Figura 4).

Tabla 1. Coeficiente de alometría para cada medida morfométrica del otolito sagita de sardina austral de la X y XI región de Chile, y Sur de Argentina.

Medidas morfométricas y unidades	Coeficiente de alometría y error estándar	Pr(> t)	F _{1,792}	r ²
Largo (mm)	0.816 (0.013)	<0.01	3455	0.814
Ancho (mm)	0.651 (0.013)	<0.01	2419	0.753
Área (mm ²)	1.396 (0.024)	<0.01	3331	0.808
Perímetro (mm)	0.887 (0.016)	<0.01	2954	0.789

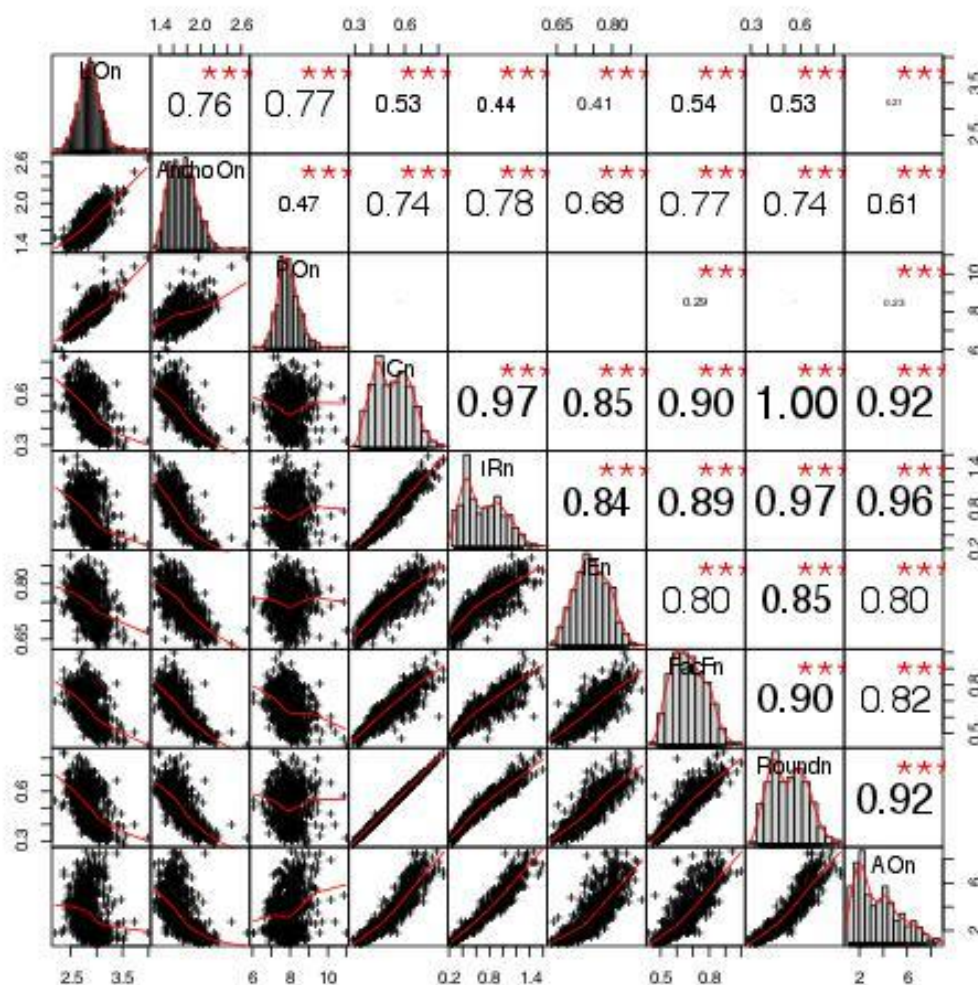


Figura 4. Matriz de correlaciones entre las medidas unidimensionales (largo, ancho, perímetro) e índices de forma (IC, IR, IE, Redondez, Factor Forma) del otolito sagita de sardina austral.

Los índices de forma, rectangularidad (IR), elipticidad (IE), circularidad (IC), fueron graficadas en función del tamaño de los ejemplares (Fig. 5). La relación indica que la forma elíptica es la que mejor representa al otolito, y se muestra estable en el rango de tallas observado. La forma rectangular presenta una leve disminución con el tamaño, mientras que la circularidad disminuye con la talla y se estabiliza a partir de los 12 cm. Aunque se observa que el índice de elipticidad es más cercano a 1 después de los 8 cm, con el objeto de evitar comparación con individuos pequeños cuyos otolitos no estén desarrollados en su forma adulta, se optó trabajar con ejemplares que tengan más de 10 cm de LT. A partir de esta longitud, la forma del otolito

llega a ser más elíptico y la forma rectangular se estabiliza. El número de ejemplares que queda después de esta selección fue de $n=300$, $n=239$, y $n=104$ ejemplares para la X Región, XI Región, y Sur de Argentina, respectivamente.

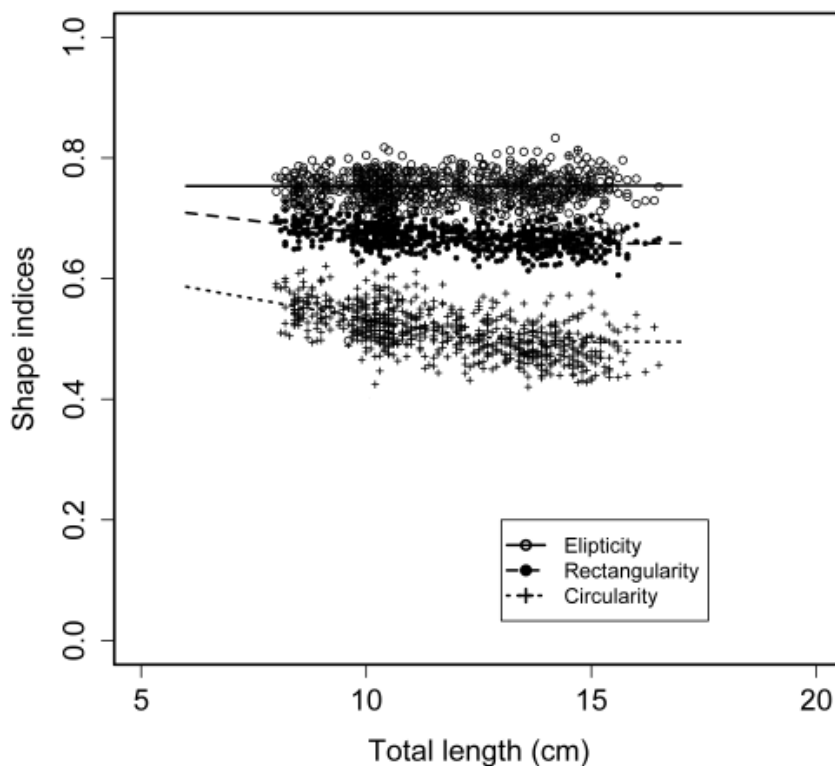


Figura 5. Estabilización de la forma a través de los Índices de forma en función de la longitud de sardina austral.

Las medidas unidimensionales (ancho, largo, perímetro y área) y los índices de forma (elipticidad, rectangularidad, circularidad, factor forma, y redondez) del otolito sagita de sardina austral de la X y XI Región de Chile, y sur de Argentina, fueron analizadas con Análisis de Componentes Principales, sobre la base de las medidas corregidas por alometría. El primer componente (CP1) explicó 47.5% de la varianza total, mientras que el segundo componente (CP2) explicó el 27.1% (Tabla 2).

Se observó que las variables que están correlacionadas con el CP1 son la longitud, perímetro, ancho y el factor forma, e índices de forma, mientras que en el CP2 está asociado con la redondez y el largo (Tabla 3).

Tabla 2. Estadígrafos de dispersión de los componentes principales de las medidas unidimensionales (largo, ancho, área y perímetro), índices de formas (IC, IE e IR), factor forma y redondez del otolito sagita de sardina austral de la X y XI región de Chile.

	CP1	CP2	CP3	CP4	CP5	CP6	CP7	CP8	CP9
Desviación Estándar	2.068	1.561	0.939	0.826	0.736	0.342	0.241	0.048	0.033
Proporción de Varianza	0.475	0.271	0.098	0.076	0.060	0.013	0.006	0.000	0.000
Proporción Acumulada	0.475	0.746	0.844	0.920	0.980	0.993	0.999	0.999	1.000

Tabla 3. Componentes de carga de las medidas unidimensionales e índices de forma y los componentes principales del otolito sagita de sardina austral de la X y XI región de Chile.

	PC1	PC2	PC3	PC4	PC5	PC6	PC7	PC8	PC9
IC	-0.276	0.453	0.21	0.31	0.105	0.721	-0.218		
IR	-0.278	0.334		-0.258	-0.795	-0.115	-0.161		-0.245
IE		0.293	-0.93		0.212				
Fac.F	-0.334	0.172	0.114	-0.723	0.375		0.277	-0.317	
Round	-0.284	0.474	0.177	0.249		-0.441	0.43	0.426	0.186
Ancho	0.342	0.402	0.18		0.322	-0.344	-0.317	-0.163	-0.582
LO	0.445	0.112		-0.388		0.341	0.206	0.652	-0.226
PO	0.434	0.212		0.207	-0.235	0.154	0.622	-0.508	
AO	0.388	0.352		-0.233			-0.368		0.718

Según el resumen de los atributos morfométricos en los dos componentes principales, el grupo del Sur de Argentina tiende a discriminarse de la X y XI Región de Chile a lo largo del primer componente principal. A su vez, los otolitos de sardina austral tienden a segregarse entre la X y XI Región a lo largo del segundo componente principal. No obstante, el grado de mezcla es importante (Figura 6).

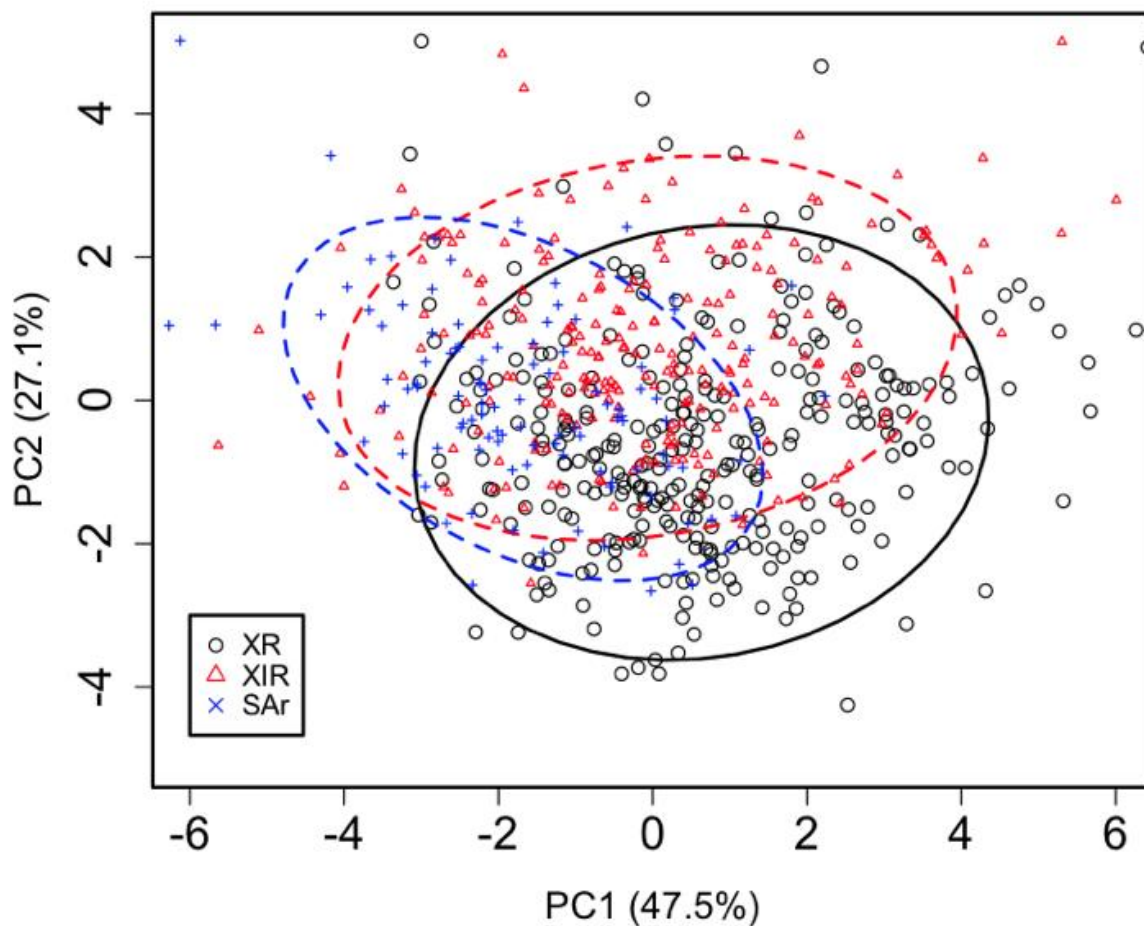


Figura 6. Primer y segundo componente principal de las medidas unidimensionales e índices de forma del otolito sagita de sardina austral. Las elipses representan 95% de confianza.

El test de varianza multivariado con test de Hotelling revela diferencias significativas entre los tres grupos, como entre cada par de grupos ya sea entre la X y XI Región, X Región y Sur de Argentina, y XI Región y Sur de Argentina (Tabla 4). La comparación de las tres zonas se realizó también con MANOVA semi-paramétrico, disponible en la biblioteca “vegan” para R.

Tabla 4. Resultados del Análisis de Varianza Multivariante (MANOVA) y MANOVA semi-paramétrico entre las variables morfométricas de los otolitos de sardina austral provenientes de tres zonas geográficas: X Región y XI Región en Chile y Sur de Argentina.

MANOVA	g.l.	Hotelling- Lawley	F aproximado	g.l. numerador	g.l. denominador	Pr(>F)
Zona	2	1.563	54.79	18	1262	< 0.001
Residuales	640					
X vs XI						
Zona	1	1.64	96.40	9	529	< 0.001
Residuales	537					
X vs. Ar						
Zona	1	0.96	41.87	9	394	< 0.001
Residuales	402					
XI vs. Ar						
Zona	1	0.67	24.68	9	333	< 0.001
Residuales	341					
MANOVA semi- parametrico		Suma de Cuadrados	Cuadrado Medio	F	R2	Pr(>F)
Zona	2	0.109	0.055	41.579	0.115	<0.001
Residual	640	0.846	0.001		0.885	
Total	642				1.000	

El análisis discriminante lineal permite calcular la proyección una vez que ha sido realizado, y se obtiene al multiplicar las observaciones por los coeficientes de la función discriminante lineal. Debido a que el análisis discriminante se ha realizado con los atributos morfométricos que contienen tamaño y forma, es posible comparar las diferencias entre tamaño-forma (form) y forma (shape) (Figura 7). En ambos análisis, los puntajes del primer discriminante lineal muestra que se observa que la XI Región y el sur de Argentina. La segunda dimensión, en cambio, segrega los otolitos de la X Región (círculos negros). Sin embargo, existe una considerable sobreposición entre forma y tamaño de los otolitos de la X Región con el resto de las zonas a lo largo del primer eje (Figura 7).

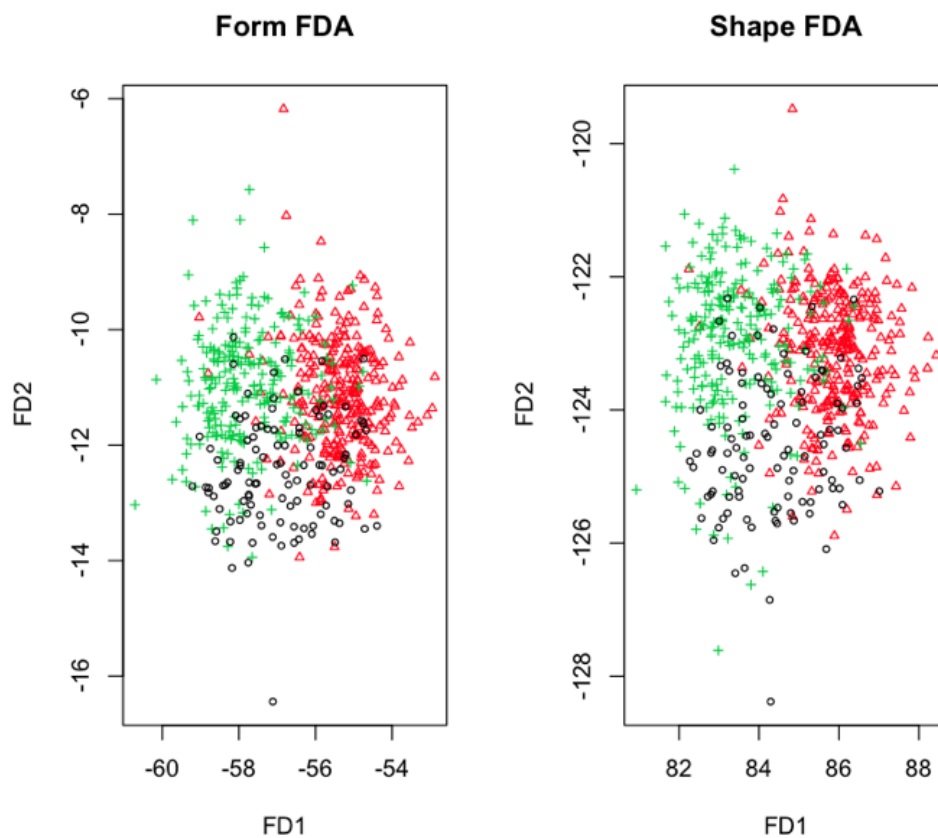


Figura 7. Análisis discriminante lineal aplicado a los atributos morfométricos de otolitos de sardina austral considerando “form” (tamaño y forma) y “shape” (solo forma). Las zonas geográficas están representadas por X Región: círculos negros, XI Región: triángulos rojos, y Sur de Argentina: cruces verdes.

Los puntajes del predictor lineal fluctuaron en el rango -4,5 y 4, encontrándose modas en 1,5, -1,75, y -1, para la X, XI y Sur de Argentina, respectivamente (Figura 8). Esto significa que existen grupos que presentan características morfológicas distintas en los otolitos. La matriz de confusión (Tabla 5) muestra la clasificación en grupos según los puntajes de discriminación. Se observó que el análisis discriminante de las medidas unidimensionales e índices de forma clasificó a 276 individuos con características morfológicas de la X región, a 194 individuos como de la XI región, y solo 41 especímenes del Sur de Argentina. En tanto, 132 individuos fueron clasificados en otras zonas.

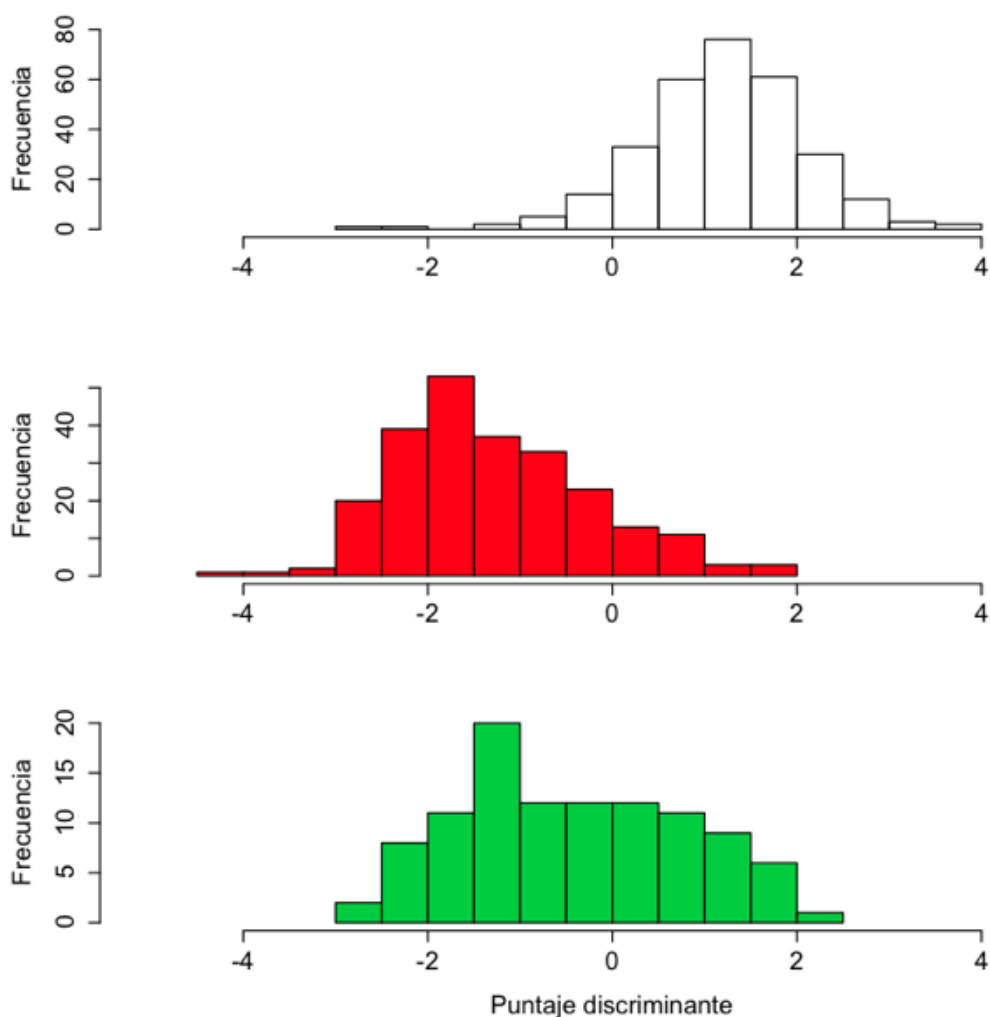


Figura 8. Histograma de frecuencia porcentual de los puntajes discriminantes para las medidas unidimensional e índices de forma del otolito sagita de sardina austral para la X (blanco) y XI (rojo) regiones de Chile, y Sur de Argentina (verde).

La clasificación según las variables discriminantes muestra que las medidas unidimensionales e índices de forma fueron clasificados como dos grupo (decima y decima primera región) con un porcentaje importante de mezcla para ambas zonas (16.16%), con 94.91% de especificidad, 93.64% de sensibilidad, y 98.05% de precisión.

Tabla 5. Matriz de confusión para las medidas unidimensionales e índices de forma de los otolitos de sardina austral para la X y XI regiones de Chile.

	Sur			Total	Asignación correcta (%)
	X Región	XI Región	Argentina		
X Región	276	15	9	300	94.91% *
XI Región	33	194	12	239	93.64% **
Sur Argentina	30	33	41	104	
Total	339	242	62	643	98.03% ***

*Especificidad; **Sensibilidad; ***%Correcto

Análisis de contornos

El muestreo de 50 distancias a lo largo del perímetro de los otolitos de sardina austral permitió contar con una estimación de 25 armónicos. El poder respecto del poder acumulado reveló que 12 armónicos son suficientes para reconstruir el otolito de sardina austral, con un poder de reconstrucción del 99.4% y 96% de la varianza de la forma promedio (Tabla 6).

Tabla 6. Poder acumulado (%) de los armónicos normalizados de Fourier, y proporción de la varianza total explicada por el número de armónicos.

Armónicos (n)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Poder (P_n)	0,44	0,70	0,85	0,91	0,95	0,96	0,97	0,97	0,98	0,98	0,99	0,99
Varianza	0,39	0,55	0,68	0,76	0,81	0,84	0,87	0,89	0,92	0,93	0,95	0,96
Explicada	7	5	9	1	2	9	5	8	0	7	0	0

El Análisis de Componentes Principales muestra que existe una gran mezcla, con dos grupos con características morfológicas más similares entre sí y que vienen dados por la XI Región y el Sur de Argentina, mientras que el contorno de los otolitos que provienen de la X Región cubren una mayor recorrida de los puntajes del primer componente principal y se sobrepone a los dos grupos previamente identificados. La variación extrema, a lo largo del primer componente principal, indica que el contorno de los otolitos varía en el desarrollo del rostrum y antirostrum, y en la zona posterior (Figura 9).

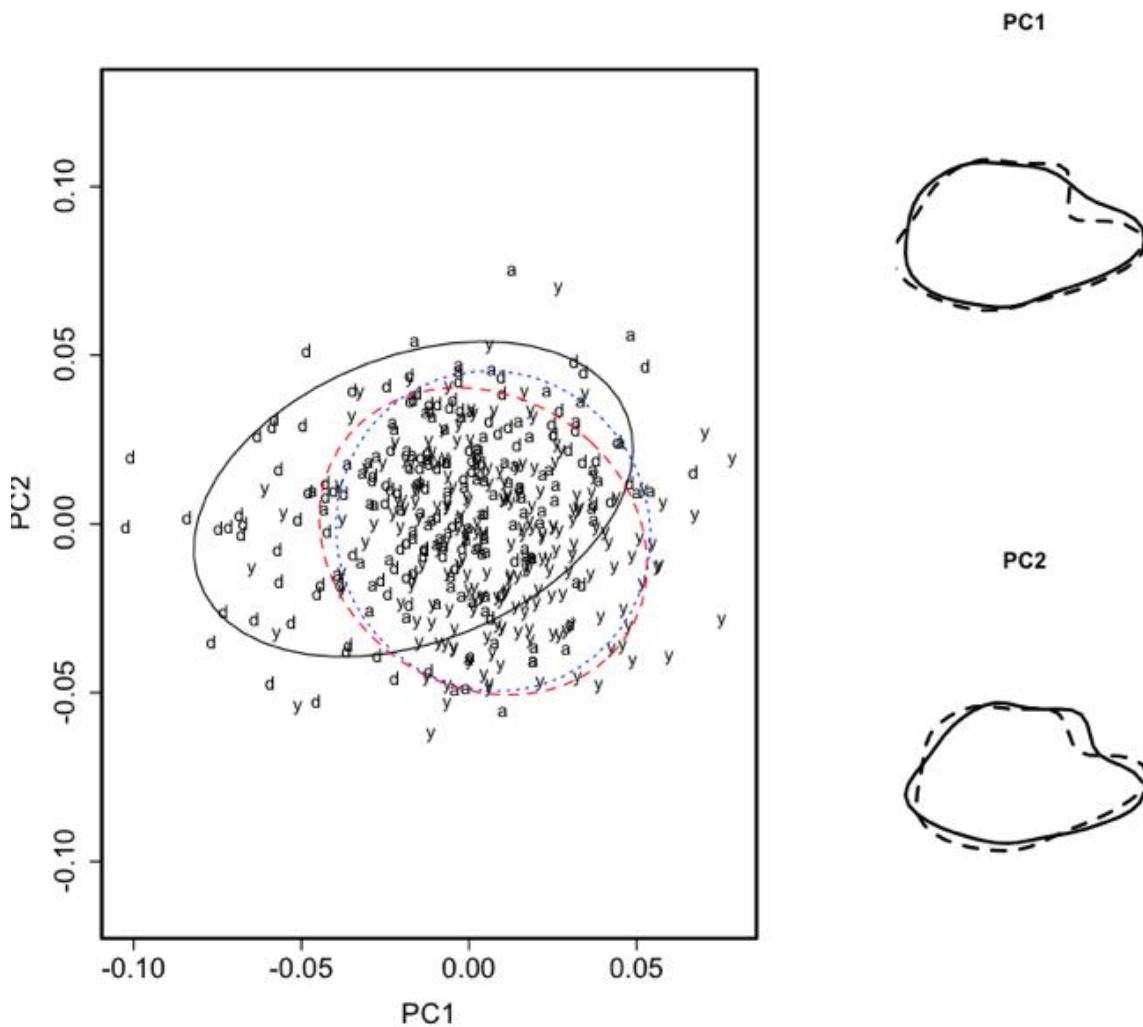


Figura 9. Primer y segundo componente principal de 11 armónicos normalizados de Fourier (A_n , B_n , C_n y D_n) que describen el contorno de los otolitos de sardina austral provenientes de la X Región (“d”), XI Región (“y”), y Sur de Argentina (“a”). Las elipses representan 95% de confianza. La variación extrema a lo largo del CP 1 y CP 2 se reconstruye para los otolitos en el costado derecho.

El Análisis de Varianza Multivariante (MANOVA), indica que existen diferencias significativas entre los coeficientes normalizados de los armónicos que describen el contorno de los otolitos de sardina austral entre las tres zonas geográficas ($F = 5,61$; $P < 0,001$). Asimismo, existen diferencias significativas entre la X y XI Región ($F = 6,95$, $P < 0,001$), entre la X Región y el Sur de Argentina ($F=6,14$, $P < 0,001$), y entre la XI Región y el Sur de Argentina ($F=3,63$, $P < 0,001$). El análisis discriminante lineal muestra que los puntajes de los armónicos de la X Región tienden a ser diferentes que aquellos de la XI Región y Sur de Argentina (Figura 10). La variación extrema del discriminante lineal indica importantes variaciones en el rostrum y antirostrum, así como la parte posterior del otolito (Fig. 11).

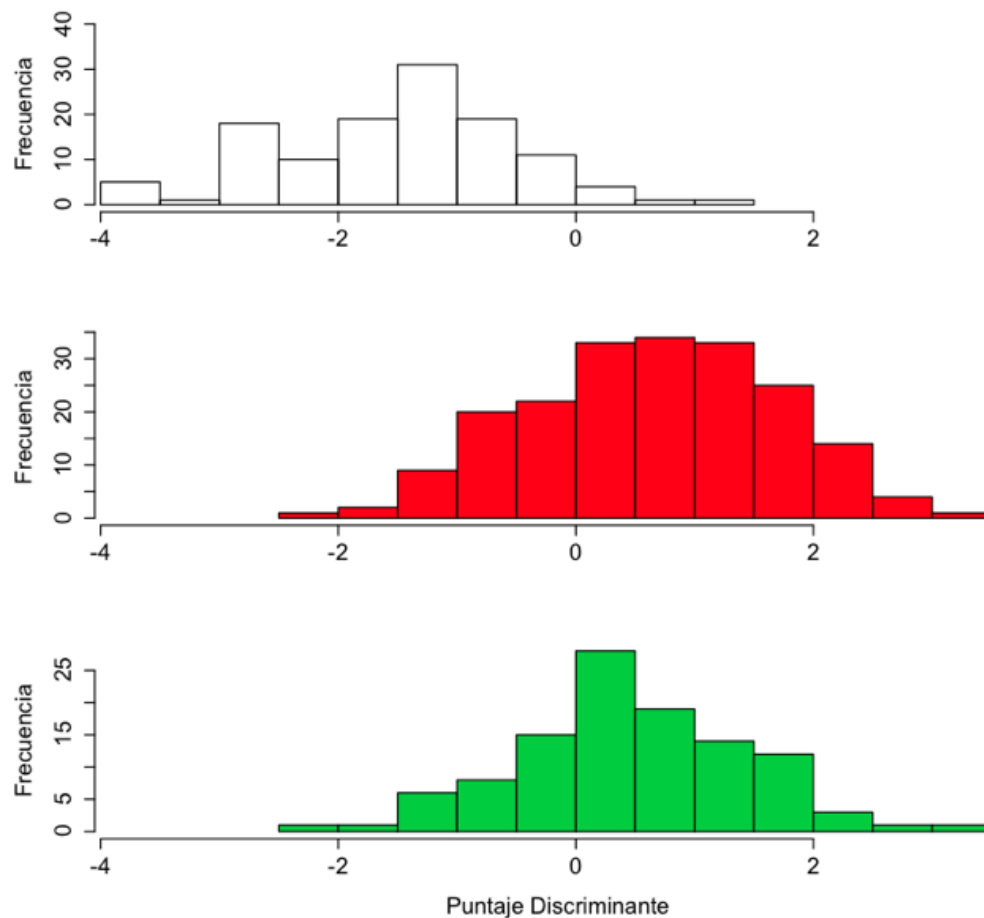


Figura 10. Histograma de frecuencia porcentual de los puntajes discriminantes para los armónicos normalizados del contorno del otolito sagita de sardina austral para la X (blanco) y XI (rojo) regiones de Chile, y Sur de Argentina (verde).

Variacion en LD1 x2

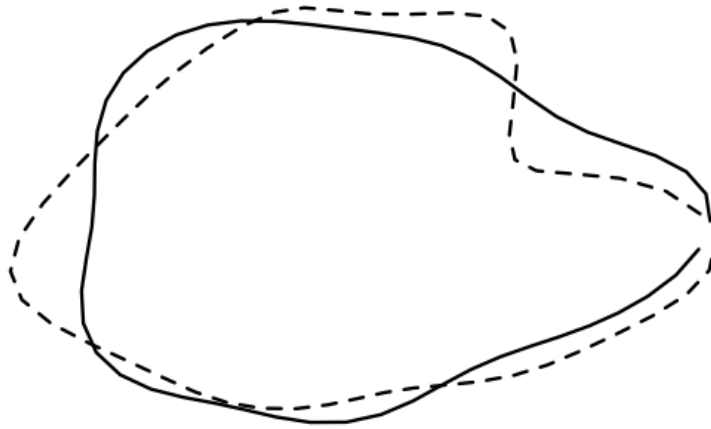


Figura 11. Variación extrema en la forma del otolito (amplificada x 2) descrita por el discriminante lineal.

El contorno promedio en cada una de las localidades muestra las diferencias existentes en la forma, y evidencia que los otolitos de sardina austral en la X Región se diferencian por el desarrollo del antirostrum y la región posterior. En cambio, los otolito de la XI Región y del Sur de Argentina son más similares (Figura 12).

Diferencia entre medias x2

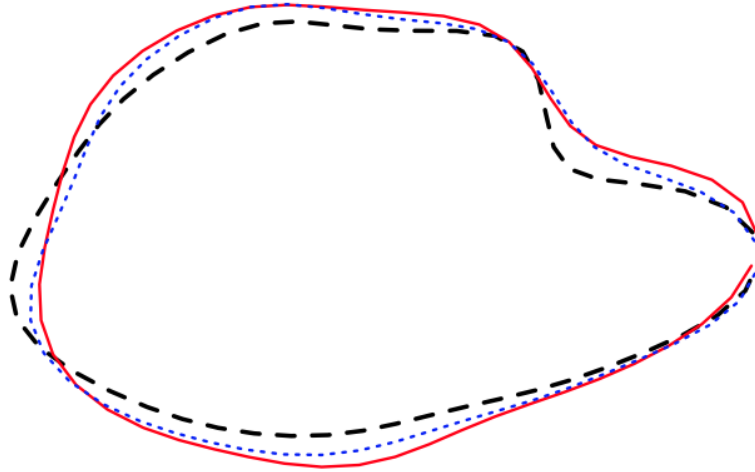


Figura 12. Contorno promedio del otolito de sardina austral en la X Región (línea segmentada negra), XI Región (línea continua roja), y Sur de Argentina (línea punteada azul). Las diferencias han sido amplificadas 2 veces.

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

El análisis de la morfometría tradicional como de contornos de los otolitos de sardina austral provenientes de la región de Los Lagos (X región) y región de Aysén (XI región) en Chile, y sur de Argentina, evidencia variabilidad intrapoblacional que permite identificar grupos con características morfométricas particulares, pero a su vez con un grado de mezcla entre zonas importante.

El otolito *sagitta* de la sardina austral de la región de Los Lagos presentó una forma elíptica, *rostrum* definido y *antirostrum* cóncavo. El otolito de la región de Aysén y del Sur de Argentina presentó un aspecto globoso en el borde dorsal y ventral, con partes muy poco definidas o ausentes como el *postrostrum* y *antirostrum*. El *rostrum* del otolito de la sardina austral de la Región de Los Lagos es muy definido y es una característica importante y diferenciadora. Los descriptores de la forma basados en el tamaño del otolito indican que los otolitos de sardina austral pierden la forma circular y rectangular, siendo la forma elíptica la que se estabiliza en peces mayor a 10 cm de longitud total. En este contexto, para evitar los efectos alométricos asociados con el tamaño de los individuos, las medidas fueron corregidas por el coeficiente alométrico y se seleccionó peces más grandes que 10 cm. En este contexto, desde el punto de vista de la morfometría tradicional, las diferencias morfométricas que podrían persistir están asociadas al tamaño y la forma de los otolitos. Según Kendall (1977), se entiende por forma a toda información geométrica que resulta de retirar los efectos de posición (traslación), rotación y escala de un objeto (y reflexión). El tamaño, en cambio, está relacionado con las dimensiones del objeto. Por esta razón, la morfometría tradicional, basada en mediciones lineales, entrega herramientas limitadas para discriminar la forma de los objetos. En este contexto, el análisis morfométrico geométrico, basado en un sistema de coordenadas podría haber guiado a interpretaciones diferentes. Sin embargo, tal y como se desprende del análisis de contorno realizado, se comprueba que existen diferencias en la forma de los otolitos *sagitta* de sardina austral, pero con un grado de mezcla importante.

Por otra parte, el análisis tradicional indica que la variabilidad en la morfología del otolito se debe a la zona. Tal variabilidad podría ser consecuencia directa de la alta heterogeneidad espacial que se observa a lo largo del área de distribución. Aunque existe un grado de mezcla importante en la población de sardina austral, lo que podría ser atribuido a la cercanía de las

regiones estudiadas (Región de Los Lagos y Región de Aysén), existen diferencias en la forma y tamaño del otolito entre estas regiones. Esto sugiere la posibilidad de que la diferenciación fenotípica en los otolitos sagitta de la sardina austral de cada zona sea suficiente para distinguir especímenes de sardina austral que podrían provenir de zonas de desove diferentes y que se mezclan para conformar una unidad de stock. El efecto del tamaño, sin embargo, debe ser aislado del análisis. Al respecto, los efectos potenciales que podrían estar generando confusión asociado al tamaño del otolito podrían estar asociados con diferencias o variabilidad debidas al sexo, edad, y/o clases anuales. El uso de la edad en morfometría tradicional es importante para aislar el efecto de tasas de crecimiento y cambios ontogenéticos, aunque generalmente se aplican cuando se consideran aspectos relacionados con la morfometría interna de los otolitos, tal como marcas hialinas u opacas características, ancho de macroanillos o radios (Begg et al. 2001). Aunque se reconoce la importancia de la edad en morfometría tradicional, en este estudio no se consideró principalmente por el bajo número de muestras, experiencia del equipo de trabajo en lectura de edad, y porque el análisis morfométrico tradicional se complementó con un análisis morfométrico basado en contornos que solamente considera la forma del otolitos en ejemplares adultos.

Uno de los propósitos de este estudio fue considerar muestras de la región de Magallanes, para lo cual se obtuvo una muestra durante marzo de 2012. Al ser individuos de talla inferior a la madurez, y al constatar diferencias morfológicas evidentes asociadas al desarrollo del otolito no fue necesario aplicar técnica estadística alguna. El otolito de la sardina austral en la región de Magallanes (XII) se diferenció claramente del otolito de la sardina austral de la región de Los Lagos y de Aysén. Las diferencias fueron debidas a que los otolitos de la Región de Magallanes no presentaron desarrollado el antirostrum, y la escisura se caracterizó más bien como una leve depresión. A su vez, el largo, área y factor forma del otolito señaló diferencias. Tal diferencia es probable se deba a que los individuos obtenidos en la XII Región eran de individuos inmaduros. Por lo tanto, es muy posible que las diferencias morfológicas detectadas se deban al crecimiento y desarrollo, situación que debería ser verificada con una muestra de ejemplares adultos desde esa localidad. Si la morfología sigue siendo consistente con la aquí descrita, entonces habría evidencia biológica de una grupo diferente en el extremo sur de Chile.

A diferencia de la morfometría tradicional, la morfometría basada en contornos está directamente relacionada con la forma más que con el tamaño. La selección de individuos con

más de 10 cm LT, que presentan un índice de elipticidad estable, permitió aislar los efectos del desarrollo. No se consideró la muestra de Magallanes, y sí se pudo incluir la muestra de Argentina. De esta manera, el análisis multivariado de los coeficientes normalizados de los armónicos mostró que existen dos grupos que se diferencian significativamente en la forma del contorno del otolito sagita de la sardina austral, aunque con un importante grado de mezcla. La forma del otolito de la sardina de Sur de Argentina y del la XI Región resultaron ser más similares entre sí que con la forma de los otolitos de la X Región de Chile. La descripción morfológica, a la forma del contorno, fue explicada por 12 armónicos y demuestra que el contorno de los otolitos es disímil entre localidades. Las diferencias extremas del contorno se deben principalmente al borde posterior, rostrum y antirostrum. A pesar de la existencia de variaciones morfológicas intraespecífica significativas en la forma del otolito sagita de sardina austral entre las zonas decima y decima primera región y sur de Argentina, el grado de mezcla entre ambas regiones es importante y no permite concluir que exista más de una subpoblación. En este contexto, la variabilidad fenotípica en la forma y tamaño de los otolitos de sardina austral es factible se deba a la heterogeneidad ambiental.

CONCLUSIONES

La forma del otolito sagita para la sardina austral presenta una serie de cambios en la ontogenia, perdiendo la forma circular y estabilizándose en una forma elíptica a partir de los 10 cm de longitud total. La forma elíptica indica que el crecimiento es proporcional en los ejes del otolito (largo-ancho). No obstante, se encontró variabilidad intraespecífica en la forma del contorno de los otolitos de sardina austral, siendo los ejemplares de la decima región aquellos que más se diferencian de los otolitos de la decima primera región y sur de Argentina.

A pesar de la existencia de variaciones morfológicas intraespecífica significativas en los otolitos sagitas de sardina austral entre las zonas decima y decima primera región y sur de Argentina, el grado de mezcla entre ambas regiones es importante y no permite concluir que exista más de una subpoblación. En este contexto, la variabilidad fenotípica en la forma y tamaño de los otolitos de sardina austral es factible se deba a la heterogeneidad ambiental. De esta manera, la

diferenciación entre zonas puede ser producto de que los individuos de sardina austral están expuestos a diferentes condiciones ambientales o geográficas en su distribución como los fiordos, o a que provengan de zonas de desove diferentes. En otras palabras, dada la importante mezcla, las diferencias fenotípicas en los otolitos podrían estar ocurriendo porque la residencia en las zonas extremas es mayor que el grado de mezcla que podría establecerse por migración reproductiva activa hacia una zona de desove común. Por lo tanto, es recomendable analizar si la variabilidad temporal es más o menos importante que las diferencias geográficas detectada en la forma del otolito sagita que fueron detectadas en este estudio.

Capítulo III: Aproximación basada en el uso de morfología corporal

Autores: Luis Cubillos¹, Claudio Castillo Jordán¹, Carolina Alarcón¹, Hernán Rebolledo¹,
Claudio Carrasco¹, Cristian Parra¹
Universidad de Concepción

En este capítulo se responde el objetivo 2.1 el cual es “Determinar si *Sprattus fuegensis* presente entre la X y XII regiones de Chile, constituye una o más unidades poblacionales o stocks pesqueros independientes”.

ANTECEDENTES

El análisis morfométrico del cuerpo ha sido uno de los métodos más utilizados para la diferenciación de unidades de stocks pesqueros (e.g. Taylor & McPhail 1985, Melvin et al. 1992, Cortés et al. 1996, Hurlbut & Clay 1998, Turan 2004). El estudio de los caracteres morfométricos, además de ser una de las primeras técnicas en ser usadas para este propósito, ha estado sujeta a numerosos mejoramientos en los años recientes, debido al desarrollo de nuevos métodos y herramientas para registrar, describir y analizar las formas en los peces (Rohlf & Bookstein 1990, Marcus et al. 1996, Cadrin & Friedland 1999).

La forma del cuerpo de un pez es definida a partir de la interacción entre factores ambientales y genéticos (Barlow 1961, Swain & Foote 1999), especialmente aquellos que ocurren ligados a estados tempranos de desarrollo. Por lo tanto, la forma corporal representa una expresión fenotípica, pero influenciada por variaciones ambientales. Las variaciones morfométricas con el crecimiento, pueden cambiar entre diferentes localidades, y éstas pueden ser utilizadas para la discriminación de unidades de stocks (Cadrin & Friedland 1999). De hecho, con este propósito, los caracteres fenotípicos pueden ser más utilizables que incluso aquellos puramente genéticos (Casselman et al. 1981, Lear & Wells 1984, Kinsey et al. 1994, Swain & Foote 1999). Esto, debido a que un flujo génico bajo o débil puede interferir en la detección de diferencias genéticas significativas. Si bien las diferencias morfométricas entre localidades pueden indicar una separación poblacional, o la existencia de diferentes unidades de stocks, estas diferencias pueden ser también causadas por la influencia del ambiente y de existir una alta mezcla de

individuos de diferentes localidades, las diferencias serían entonces indetectables (Murta et al. 2008).

La sardina austral (*Sprattus fuegensis*) es una especie pelágica, zooplanctófaga, que se distribuye en zonas costeras de la zona sur-austral de Chile y Argentina (Sabatini et al. 2001). De acuerdo con Cousseau y Perrotta (1998), los caracteres externos distintivos de *Sprattus fuegensis* del Atlántico sur occidental serían su cuerpo fusiforme comprimido, la altura comprendida unas cuatro veces y media en el largo total, cabeza relativamente pequeña, ojos de tamaño moderado, boca terminal protractil estando cerrada y con el extremo posterior llegando a la altura de la mitad del ojo. Mandíbula superior con una muesca amplia en la línea media anterior, ocupada por la mandíbula inferior cuando la boca está cerrada. Mandíbula superior sin dientes, inferior con dientes diminutos en la parte anterior y edéntula en la posterior. Una sola aleta dorsal, cuyo origen es ligeramente anterior a la vertical que pasa por la ventral; la máxima altura corresponde al cuarto o quinto radio. Whitehead (1985) señala que los géneros *Strangomera* y *Sprattus* pueden ser reconocidos por una diferencia osteológica a nivel del hueso pterótico, que está ubicado en la parte posterior del neurocráneo. En efecto, el género *Strangomera* presenta una cápsula o bulla timpánica, la cual se encuentra ausente en *Sprattus*.

Análisis morfométricos de sardina austral (*Sprattus fuegensis*), han sido realizados en Argentina por Cousseau (1982), la cual, analiza 484 especímenes colectados de tres distritos diferentes de Santa Cruz (Caleta Olivia, Puerto Deseado and Río Gallegos) y de la región costera del norte de las Islas Malvinas. En Chile, Aranís et al. (2007) identifica caracteres morfoictiológicos y demuestra la presencia de *S. fuegensis* en las capturas de peces de pequeño tamaño de la flota artesanal que opera en el mar interior de Chiloé.

Al considerar la alta heterogeneidad espacial que impone la geografía de canales y fiordos de la zona sur austral de Chile, donde la sardina austral se distribuye, y considerando la probabilidad de que esta especie esté estructurada en más de una subpoblación, se plantea que las diferencias basadas en la forma del cuerpo podrían determinar la existencia de más de una subpoblación de la especie.

METODOLOGÍA DE TRABAJO

Obtención de muestras

Se analizó un total de 551 individuos, los que fueron recolectados entre Diciembre de 2011 y Agosto de 2012 en la X ($n^{\circ}= 150$), XI ($n^{\circ}= 230$) y XII ($n^{\circ}= 40$) región de Chile y en la costa de Argentina ($n^{\circ}= 130$). Se utilizó ejemplares de tamaño superior a los 8 cm de longitud estándar (LE), talla a cual se asume que el crecimiento comienza a estabilizarse.

Para los análisis posteriores los ejemplares recolectados en la XII región no fueron considerados ya que no alcanzaron la talla mínima de 8 cm LE y no se encontraban en condiciones de conservación necesaria para realizar análisis de morfometría corporal.

Mediciones

Se utilizó el método tradicional para obtener las variables morfométricas sobre la base de la metodología utilizada por Kristoffersen & Magoulas (2008), la cual utiliza una red de siete medidas entrelazadas a través de marcas corporales. No obstante, en este estudio se consideró incluir nueve medidas adicionales, que corresponden a las líneas rectas entre puntos que se describen en la Figura 1 y Tabla 1.

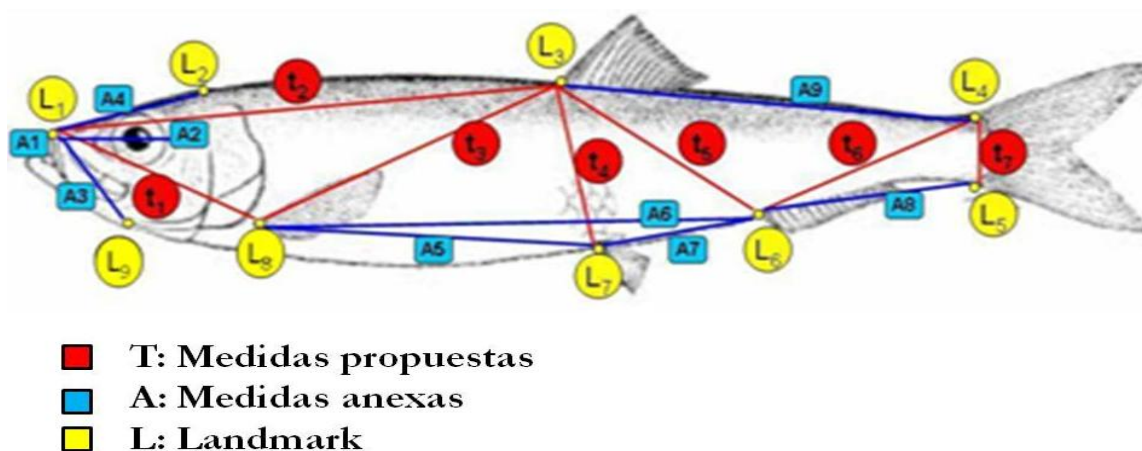


Figura 1. Distancias morfométricas propuestas (rojo), adicionales (azul) y landmark (amarillo) a ser utilizadas en el análisis morfométrico de sardina austral. Imagen obtenida de FAO (<http://www.fishbase.org>).

Tabla 1. Distancias propuestas según metodología utilizada por (Kristoffersen & Magoulas 2008) y medidas adicionales.

Medidas	Símbolo	Descripción
Propuestas	T1	Distancia del punto inicial del hocico superior al punto inicial de la aleta pectoral.
	T2	Distancia del punto inicial del hocico superior al punto inicial de la aleta dorsal.
	T3	Distancia de punto inicial de la aleta pélvica a punto inicial de la aleta dorsal.
	T4	Distancia del punto inicial de la aleta dorsal a punto inicial de la aleta anal.
	T5	Distancia del punto inicial de la aleta dorsal a punto inicial de la aleta pélvica.
	T6	Distancia del punto inicial de la aleta anal al inicio del pedúnculo caudal (superior).
	T7	Altura pedúnculo caudal
Adicionales	A1	Distancia preórbita
	A2	Distancia órbita
	A3	Distancia del punto inicial del hocico superior al punto de inflexión del pliegue inferior del preopérculo.
	A4	Longitud cabeza
	A5	Distancia del punto inicial de la aleta pectoral al inicio de la aleta pélvica.
	A6	Distancia del punto inicial de la aleta pectoral al inicio de la aleta anal.
	A7	Distancia del punto inicial de la aleta pélvica al inicio de la aleta anal
	A8	Distancia del punto inicial de la aleta anal al punto inicial dorsal de la aleta caudal.
	A9	Distancia del punto inicial de la aleta dorsal al punto inicial ventral de la aleta caudal.
Otras	LT	Longitud total
	LE	Longitud estándar

A su vez, se consideró incluir un análisis de morfometría geométrica mediante la metodología empleada por Bookstein (1991). La forma de cada individuo se obtuvo registrando de manera digital las coordenadas bidimensionales de 9 puntos morfométricos (landmarks) prominentes desde el punto de vista morfológico.

Posteriormente se aplicó un Análisis Procrustes General (APG) para eliminar cualquier variación morfológica derivada de la talla, posición u orientación de los ejemplares. Los Análisis de Componentes Principales (ACP) y Discriminante Múltiple (ADM) se realizaron mediante la utilización del software MorphoJ (Klingenberg 2010) programa multiplataforma de uso libre.

La determinación de las medidas corporales se realizó por medio de fotografías digitales de los peces colectados, previo establecimiento de marcas o hitos de referencia en una red de puntos a marcar. Para tal procedimiento se utilizó una cámara digital Canon SX210IS de 14 megapíxeles y un trípode con la finalidad de evitar cambios en la distancia entre la cámara y los individuos a fotografiar.

Cada individuo fue montado en una superficie de Poliestireno (PE) blanca, la cual fue previamente socavada para garantizar que el ejemplar se posicione adecuadamente sobre la superficie de forma horizontal. Para efectos de estandarizar el proceso de medición, cada ejemplar se ubico en la plantilla de PE descansando sobre su costado derecho y con orientación de su cabeza hacia la izquierda. Para cada fotografía se utilizó un pie de metro digital (± 0.01 mm) como reglilla de referencia para calibrar la fotografía y para la obtención de posteriores mediciones en ella (Figura 2). Además, junto al individuo a fotografiar se colocó una etiqueta con información particular y relevante para cada ejemplar; Año, Región, Zona y Lance al que pertenece, además de su GT (grupo de talla en longitud total a 0.5 cm) y su ID (número identificador correlativo para cada zona).

Las fotografías obtenidas en formato JPEG fueron analizadas con un software de post-procesamiento de imágenes, Image J (Abramoff et al. 2004), programa multiplataforma de uso libre, utilizando la modalidad de medición manual.

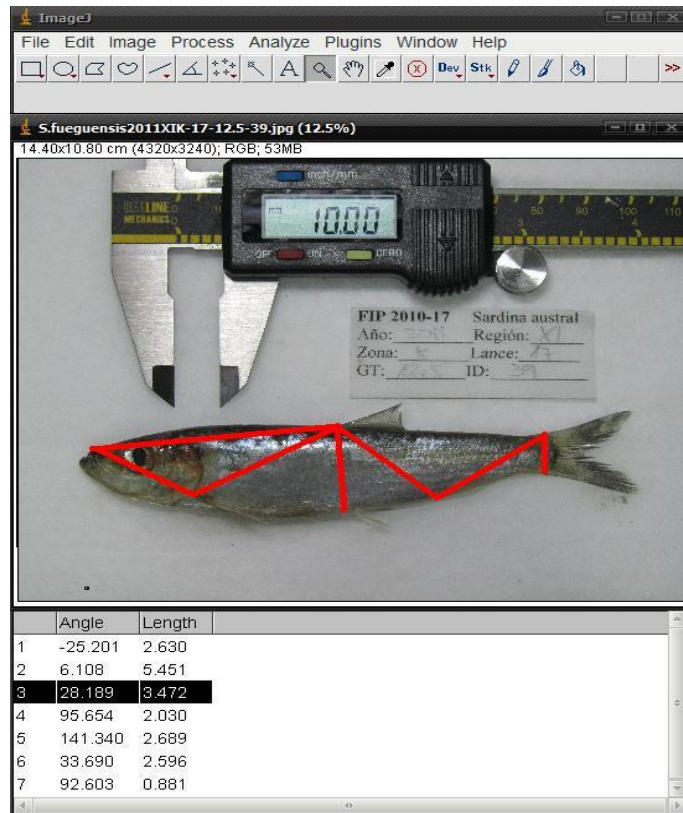


Figura 2. Imagen de sardina austral y ejemplo del uso de Image J para en obtener las distancias morfométricas.

Una vez obtenidas las distancias, y dado a que las medidas morfométricas constituyen datos continuos (Humphries et al. 1981, Strauss & Bookstein 1982, Winans 1987), los valores obtenidos fueron transformados a logaritmo para evitar las correlaciones existentes entre las varianzas y medias de las mediciones (Sokal & Rohlf 1979). Posteriormente, y con la finalidad de reducir el efecto de alometría causado por la diferencia de tamaños de los ejemplares (Crisci y López-Armengol, 1983), los datos obtenidos de la medición de distancias fueron normalizados a las de un individuo con una longitud estándar promedio, siguiendo el método de Thorpe (1975) y Lleonart et al. (2000). Este método normaliza todos los individuos y vuelve a calcular el tamaño de la forma esperada de cada uno, con lo que las comparaciones entre los grupos lo hace más eficaz. Para cada distancia histórica, la distancia estándar es:

$$Y_i^* = Y_i \left[\frac{X_0}{X_i} \right]^b$$

Donde Y_i es la distancia morfométrica del individuo i , X_0 es la longitud estándar promedio (del total de individuos), X_i es la longitud estándar del individuo i , y b es el coeficiente de alometría, proveniente de la ecuación alométrica potencial: $y = ax^b$. Por lo tanto, el coeficiente b se estimó para cada distancia por regresión lineal.

Posterior a la normalización de los datos se realizó un análisis exploratorio mediante un análisis de componentes principales (ACP) sobre una matriz de correlación, para establecer si existe un patrón de variación morfológica entre las zonas (X y XI regiones) e identificar las medidas que determinan la formación de estos grupos dentro del espacio multivariado (Crisci y López-Armengol, 1983). Se realizó, además un Análisis Discriminante Múltiple (ADM), utilizando las distintas regiones como fuente de variación, y las medidas obtenidas de las distancias como variables dependientes, y como análisis de varianzas se empleó análisis de varianza multivariado (MANOVA), que además de identificar si los cambios en las variables independientes tienen efectos significativos en las variables dependientes, la técnica también intenta identificar las interacciones entre las variables independientes y su grado de asociación con las dependientes. Para todos los análisis estadísticos realizados se utilizó el software R (R Development Core Team, 2010).

RESULTADOS

Morfometría tradicional

La transformación o corrección de los datos originales, para eliminar el efecto alométrico, demuestra su efectividad en la Figura 3 donde se ve graficada la variable T1 en función de la longitud estándar. Esto ocurre para cada una de las distancias corregidas, por lo que se puede asegurar que cualquier variación en estas no tiene una relación directa con variaciones en el tamaño del pez. Tal como se observa en la Figura 3, la variable dependiente puede tomar valores dentro de un rango amplio para cada valor de la variable independiente que en este caso corresponde a la LE. La Tabla 2 muestra los valores obtenidos del ajuste, los que fueron utilizados para la corrección alométrica de cada una de las 16 variables medidas.

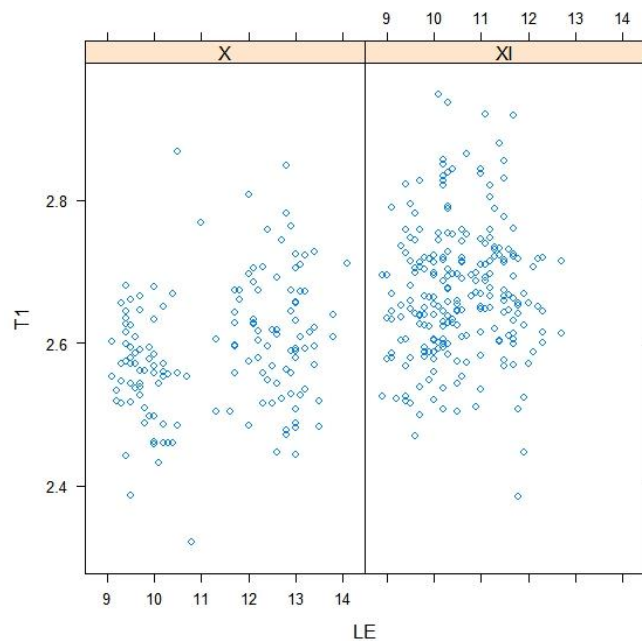


Figura 3. Relación entre T1 (distancia del punto inicial del hocico superior al punto inicial de la aleta pectoral) y LE (cm) de sardina austral para ambas regiones, en el cual no se observa correlación entre la variable independiente y dependiente.

Tabla 2. Coeficiente de alometría para cada medida morfométrica del otolito sagita de sardina austral de la X y XI Región de Chile.

Medida	Coef. Alometría	Err. Std.	Pr(> t)	F _{1,273}	r ²
T1	0.92	0.038	<0.01	2803	0.88
T2	1.04	0.030	<0.01	4725	0.93
T3	1.12	0.035	<0.01	3413	0.90
T4	1.01	0.046	<0.01	1834	0.83
T5	0.96	0.046	<0.01	1855	0.83
T6	0.90	0.061	<0.01	872.8	0.70
T7	0.91	0.053	<0.01	1291	0.77
A1	0.91	0.067	<0.01	668.1	0.64
A2	0.95	0.072	<0.01	519.4	0.58
A3	0.93	0.056	<0.01	1142	0.75
A4	0.93	0.061	<0.01	885.2	0.70
A5	1.10	0.037	<0.01	3031	0.89
A6	1.06	0.030	<0.01	4725	0.93
A7	1.02	0.063	<0.01	792.4	0.68
A8	0.76	0.072	<0.01	536.2	0.59
A9	0.92	0.045	<0.01	1938	0.84

Por otra parte la matriz de correlación generada para las 16 distancias muestra, salvo algunos casos, que no existe un alto grado de correlación entre las variables, esto debido, también, a la corrección de las distancias medidas. El grado de correlación entre variables y su respectiva distribución se aprecia claramente en la Figura 4. Donde se observa que los niveles de correlación más altos se dan entre A5-A6, A6-A7 y T2-T3, con coeficientes de correlación $r > 0,70$.

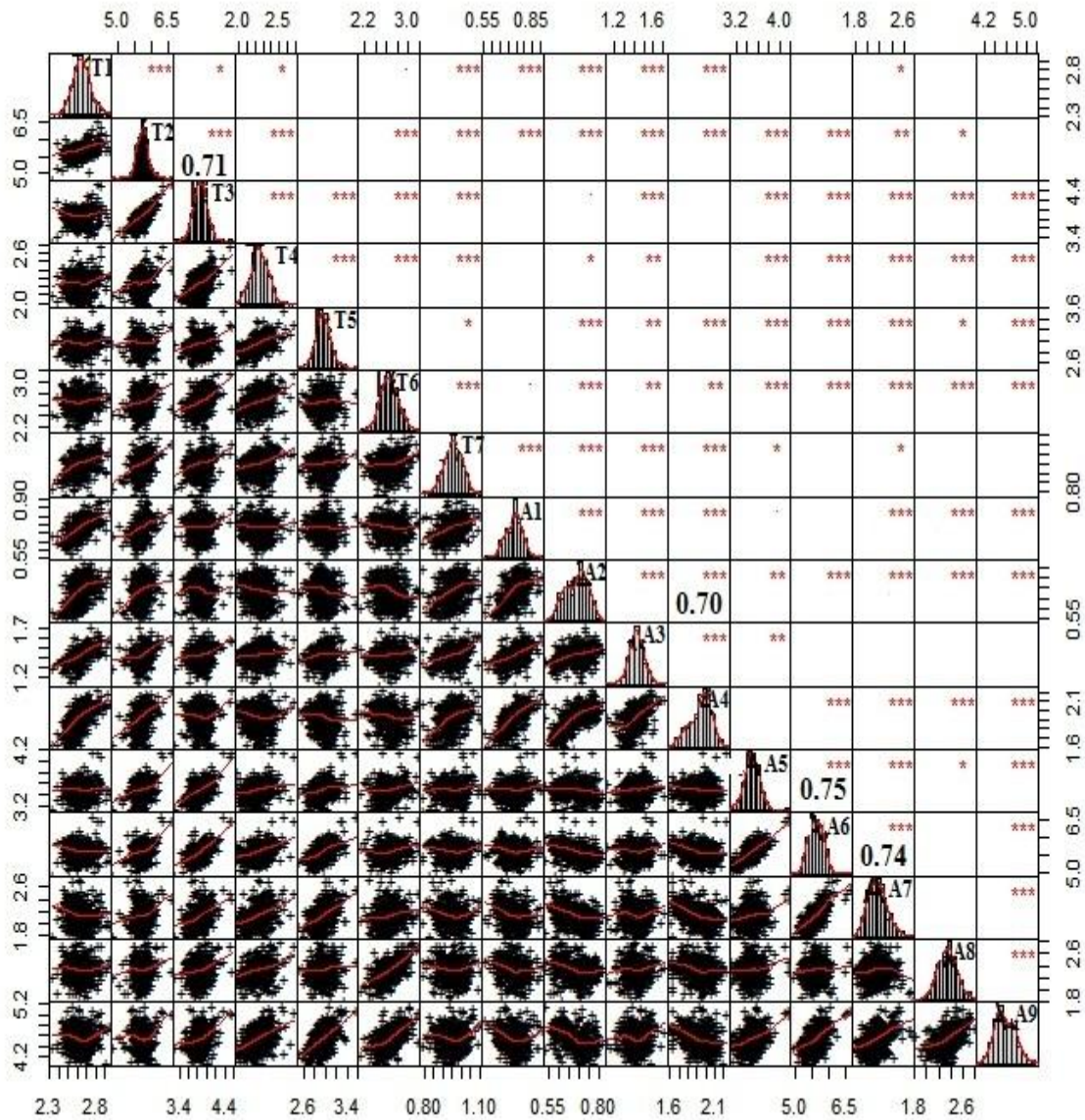


Figura 4. La matriz muestra el grado de correlación entre las variables luego de la normalización de las distancias corporales de sardina austral, X y XI regiones.

El análisis de componentes principales (ACP), mostró que la varianza explicada acumulada por el PC1 fue de 41.2%, el PC2 de 58%, y PC3 72.7%, y recién en PC7 se logra superar el 90% de proporción acumulada (Tabla 3). Se selección el PC1 y PC2 considerando que se trabajó sobre la base de mediciones corregidas por alometría y porque entre los dos componentes explican 58% de la varianza.

Tabla 3. Muestra el valor de desviación estándar, la proporción de la varianza y la proporción acumulada para los primeros diez CP.

	PC1	PC2	PC3	PC4	PC5	PC6	PC7	PC8	PC9	PC10
D. Estándar	0.377	0.241	0.225	0.150	0.139	0.114	0.100	0.089	0.073	0.065
Prop. Varianza	0.412	0.169	0.146	0.065	0.056	0.038	0.029	0.023	0.015	0.012
Prop. Acumulada	0.412	0.580	0.727	0.792	0.848	0.885	0.914	0.937	0.952	0.964

El CP1 está definido en su extremo positivo por A6 y en su extremo negativo por A4, mientras que el CP2 está definido en su extremo positivo por A9 y en su extremo negativo por T2 (Tabla 4).

Tabla 4. Análisis Componente Principal de las distancias morfométricas para los primeros 10 diez componentes principales.

Distancias	PC1	PC2	PC3	PC4	PC5	PC6	PC7	PC8	PC9	PC10
T1	0.015	-0.221	0.144	-0.335	0.069	-0.252	0.069	-0.115	0.001	-0.440
T2	0.211	-0.600	0.251	0.138	0.270	0.055	0.245	0.358	0.299	0.122
T3	0.316	-0.305	0.101	0.289	0.065	0.337	-0.181	0.101	-0.229	-0.260
T4	0.186	0.000	0.046	-0.191	0.192	0.431	-0.468	-0.113	-0.433	0.021
T5	0.237	0.090	-0.172	-0.509	0.059	0.431	-0.055	-0.090	0.612	0.124
T6	0.248	0.159	0.529	0.171	-0.020	-0.381	-0.546	-0.154	0.326	0.135
T7	0.015	-0.079	0.061	-0.107	0.010	0.016	-0.145	0.005	-0.021	0.156
A1	-0.013	-0.133	0.037	-0.154	-0.026	-0.101	0.024	-0.066	-0.049	0.030
A2	-0.058	-0.141	0.045	-0.154	0.021	-0.029	0.003	-0.028	-0.050	0.104
A3	0.034	-0.151	0.104	-0.277	-0.003	-0.116	0.011	-0.281	0.042	-0.588
A4	-0.086	-0.357	0.152	-0.404	-0.044	-0.192	0.029	-0.166	-0.323	0.529
A5	0.276	-0.167	-0.091	0.029	-0.704	0.009	-0.054	-0.013	-0.031	-0.036
A6	0.553	-0.117	-0.394	0.095	-0.189	-0.201	0.124	-0.226	-0.019	0.124
A7	0.324	0.100	-0.302	0.097	0.582	-0.284	0.073	-0.249	-0.104	0.045
A8	0.175	0.243	0.515	0.116	-0.050	0.305	0.554	-0.452	-0.092	0.081
A9	0.417	0.400	0.184	-0.358	-0.017	-0.170	0.168	0.612	-0.239	-0.052

A6 corresponde a la distancia del punto inicial de la aleta pectoral al inicio de la aleta anal y A4 corresponde a longitud de la cabeza, por otra parte, A9 es la distancia del punto inicial de la aleta dorsal al punto inicial ventral de la aleta caudal y T2 corresponde a la distancia del punto inicial del hocico superior al punto inicial de la aleta dorsal.

La definición de los extremos de los CP se visualiza de mejor manera en la Figura 5. Donde se grafica los vectores que representan a las distancias frente a los CP1 y CP2, se puede observar la magnitud y dirección de cada uno de ellos determinando así el grado de correlación que presentan con los CP1 y CP2.

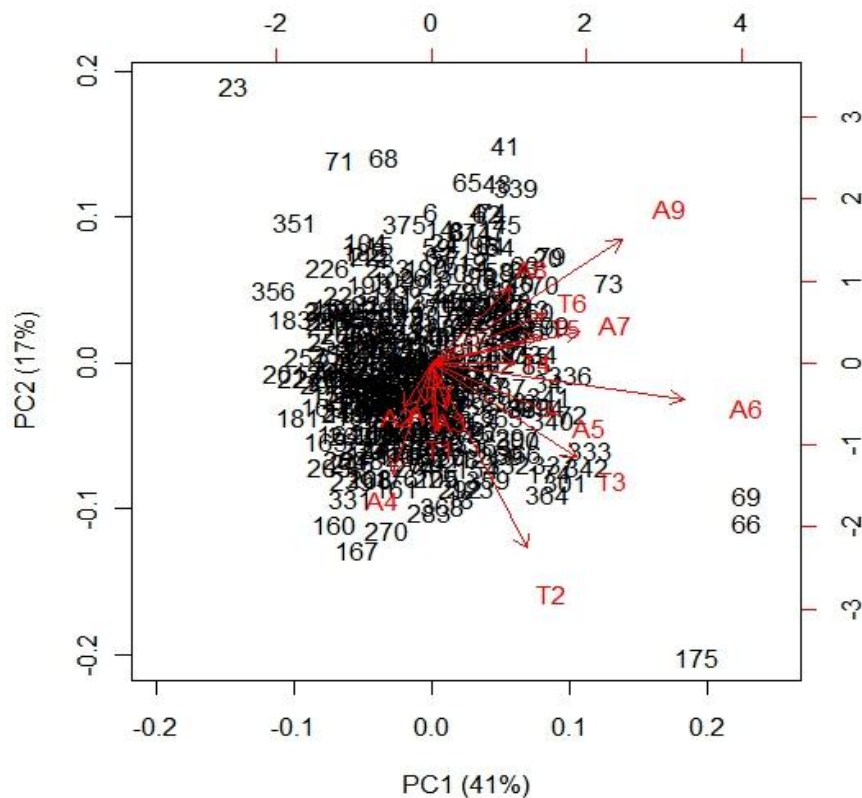


Figura 5. Representación grafica de dirección y magnitud de los vectores de las distancias, asociado al grado de correlación con el CP1 y CP2.

La distancia promedio y su desviación estándar de las variables morfométricas, indica que los valores más altos de A6 y A9 ocurren en la X región y que T2 y A4 son más altos en ejemplares de la XI región (Tabla 5).

Tabla 5. Resumen de valores en términos de media y desviación estándar para las cuatro medidas que definen a los CP 1 y 2, según región.

	T2		A4		A6		A9	
	X	XI	X	XI	X	XI	X	XI
Media	5.682	5.757	1.828	1.996	5.742	5.536	4.656	4.490
Dest.	0.192	0.177	0.115	0.084	0.215	0.209	0.191	0.189

Estas distancias al ser graficadas junto a los ejes de CP muestran la existencia de una diferenciación regional. Los individuos de la X región tienden hacia los extremos positivos de ambas componentes, definidos por A6 para el CP1 y A9 para el CP2, y que a su vez su media toma valores más altos dentro de esas distancias que la XI región, mientras que los individuos de la XI tienden hacia los valores negativos de ambas CP, correspondientes a A4 y T2 para los CP 1 y 2 respectivamente (Figura 6).

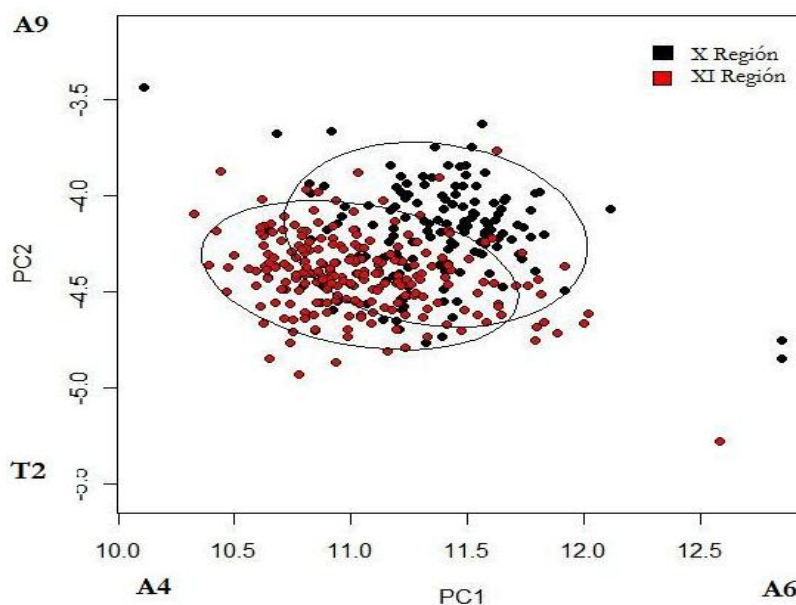


Figura 6. Análisis de componentes principales (CP1 v/s CP2) de las 16 distancias medidas para ejemplares de sardina austral, X y XI regiones.

Sin embargo la diferenciación entre regiones no es completa, existiendo un porcentaje de mezcla bastante importante entre ambas regiones atribuido a que el porcentaje de variabilidad explicada por ambas componentes representa solo un 58% del total de varianza de los datos.

El análisis de varianza multivariado, MANOVA, realizado para la caracterización de las diferencias entre los vectores de medias de las 16 distancias analizadas para ejemplares de sardina austral recolectados en la X y XI región muestra existencia de diferencias para las distancias entre las regiones (Tabla 6). Se destaca que las medidas corporales (distancias) tienden a distribuirse normal (Fig. 15), lo que da sustento al carácter multinormal requerido para el análisis de varianza multivariado.

Tabla 6. Análisis de varianza multivariado, MANOVA, para las 16 distancias corporales de sardina austral, X y XI región de Chile.

	Df	Hotelling-Lawley	approx F	num Df	den Df	Pr(>F)
REGIÓN	1	1.3642	30.951	16	363	$< 2.2 \times 10^{-16}$
Residuals	378					

Por otra parte el histograma de frecuencia de los puntajes discriminantes fluctúa entre -3 y 3 para las 16 distancias corporales analizadas, observándose dos modas que representan a cada región (Figura 7).

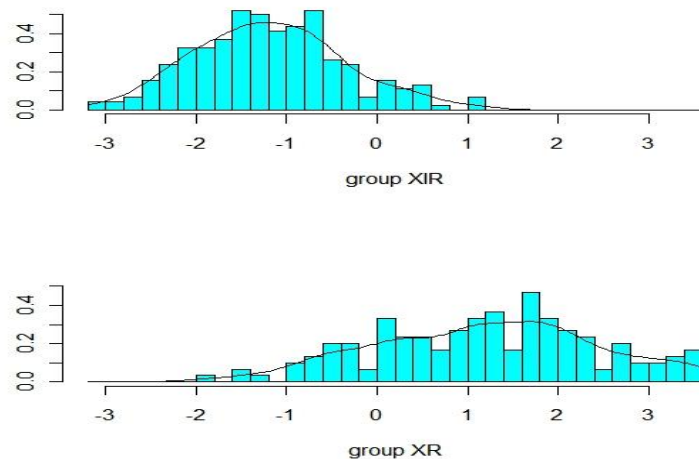


Figura 7. Histograma de distribución de frecuencia de los puntajes discriminantes para 16 distancias morfométricas de sardina austral, X y XI Región.

De esta manera la probabilidad *a priori* de pertenecer a una u otra región que se obtuvo del Análisis Discriminante Lineal fue de 0.395 para la X región y 0.605 para la XI región sobre la base de 380 ejemplares analizados, de los cuales 150 se colectaron en la X región y 230 en la XI región de Chile. A pesar de existir una mezcla entre ambas regiones, los máximos puntajes discriminantes difieren entre sí. La clasificación de 760 individuos, obtuvo 77.33% de clasificación correcta para la X región y 93.04% para la XI región. La asignación incorrecta fue de 6.9% y 22% para la X y XI región, respectivamente. El porcentaje obtener un individuo clasificado de manera correcta corresponde a un 85.2% mientras que el nivel de error obtenido alcanza un 14.8% (Tabla 7).

Tabla 7. Tabla de mezcla de distancias corporales de sardina austral, X y XI.

Original	Clasificación		Total
	XI Región	X Región	
XI Región	354	26	380
X Región	86	294	380
Total	440	320	760

Morfometría geométrica

La transformación o corrección de los datos originales, para eliminar el efecto alométrico, demuestra su efectividad en la Figura 8 donde se observa cada uno de los puntos bidimensionales en los 9 landmark seleccionados para cada uno de los 380 ejemplares.

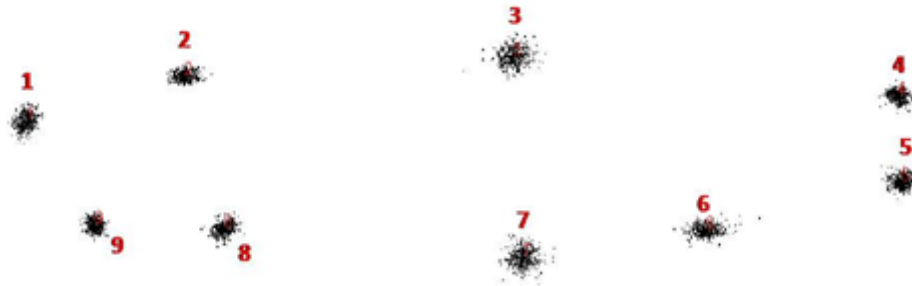


Figura 8. Corrección de las coordenadas bidimensionales de los landmark mediante Procrustes.

El análisis de Procrustes elimina cualquier variación de los datos generada por la talla, posición y/u orientación de los individuos

El ACP, mostró que la varianza acumulada explicada por el PC1 fue de 28.3%, el PC2 de 47.8%, y PC3 59.8%, y recién en PC8 se logra superar el 90% de proporción acumulada (Tabla 8). Se selección el PC1 y PC2 considerando que se trabajó sobre la base de mediciones corregidas por alometría y porque entre los dos componentes explican 47.8% de la varianza acumulada para los 9 landmark analizados.

Tabla 8. Porcentaje de varianza Y Porcentaje de Varianza acumulada según CP.

CP	Eigenvalues	% Variance	% Var. Acumulada
1	0,00021000	28,252	28,252
2	0,00014527	19,543	47,794
3	0,00008909	11,985	59,779
4	0,00007537	10,140	69,919
5	0,00005188	6,979	76,898
6	0,00003948	5,311	82,209
7	0,00003458	4,653	86,861
8	0,00002711	3,646	90,508
9	0,00002143	2,883	93,391
10	0,00001710	2,301	95,691
11	0,00001413	1,900	97,592
12	0,00000868	1,168	98,760
13	0,00000488	0,657	99,417
14	0,00000433	0,583	100,000

Al igual que lo que ocurre para morfometría tradicional, al analizar las componentes principales 1 y 2 se observa una diferenciación leve de los individuos según su forma entre las regiones, en donde los individuos de la XI región tiende hacia los extremos positivos de ambos componentes principales (Figura 9).

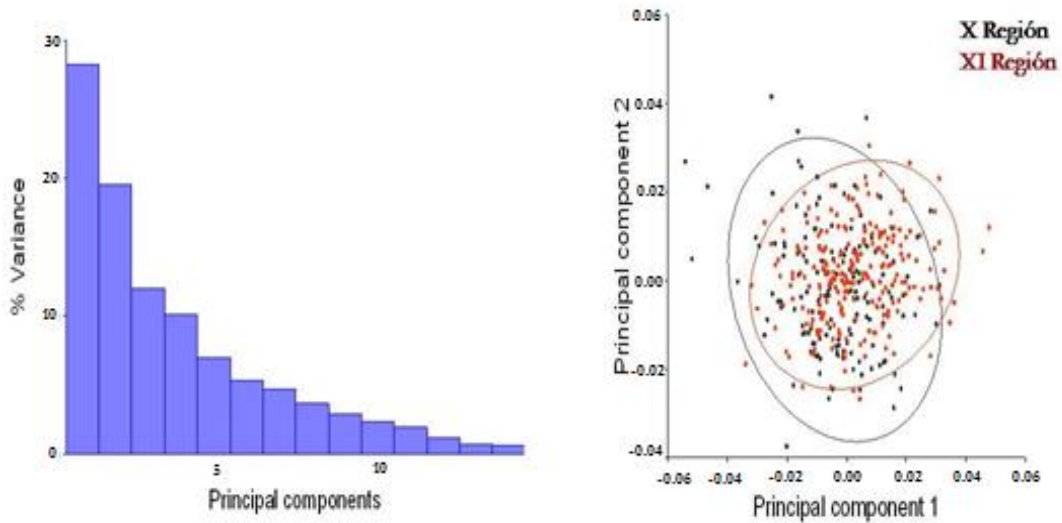


Figura 9. Análisis de Componentes Principales (ACP) para las variables utilizadas en la metodología de morfometría geométrica.

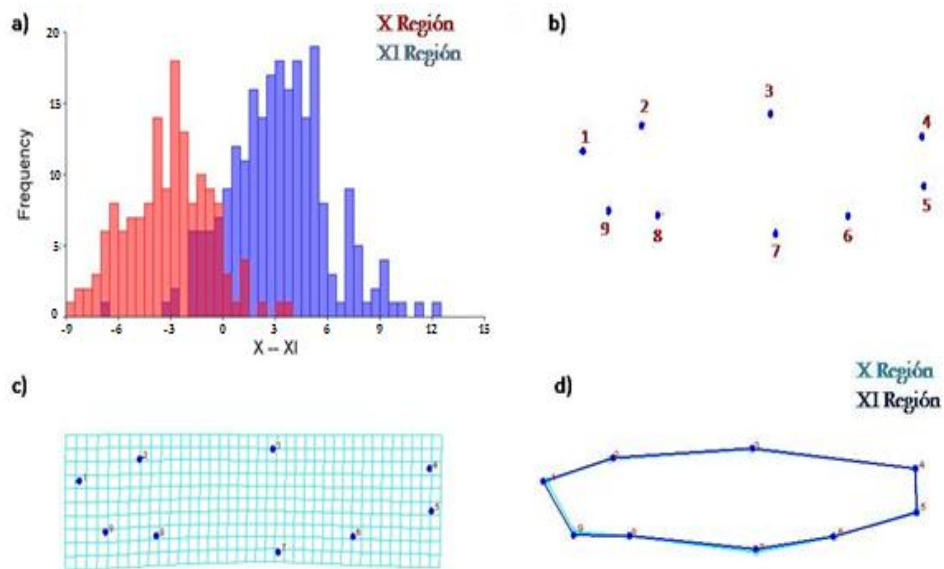


Figura 10. Análisis Discriminate Múltiple (ADM) por región para los 9 landmark seleccionados a) histograma de puntajes discriminantes, b) grafico vectores que indican diferencias en magnitud y dirección entre regiones, para cada landmark, c) deformación en grilla y d) superposición de formas reconstruidas para cada región.

El ADM indica que a pesar de que existe un alto grado de mezcla entre las X y XI región, el utilizar las regiones como factor de separación entre los individuos entrega resultados positivos como se puede observar en la grafica a) de la Figura 10, en b) c) y d) se observa la deformación de los individuos según la región en la que son clasificados, la cual, a pesar de existir es muy leve.

Comparación ejemplares Pacífico v/s Atlántico.

Morfometría tradicional

Se realizó la comparación morfométrica corporal de los ejemplares de la costa Chile correspondientes a la X y XI región y de 130 ejemplares colectados durante agosto del 2012 pertenecientes a la zona sur de la costa Argentina.

El análisis de componentes principales (ACP), mostró que la varianza explicada acumulada por el PC1 fue de 57.6%, el PC2 de 70.1%, y PC3 79%, y recién en PC7 se logra superar el 90% de proporción acumulada (Tabla 9). Se seleccionó el PC1 y PC2 considerando que se trabajó sobre la base de mediciones corregidas por alometría y porque entre los dos componentes explican 70% de la varianza.

El CP1 está definido en su extremo positivo por A6 y en su extremo negativo por T1, mientras que el CP2 está definido en su extremo positivo por T2 y en su extremo negativo por A4 (Tabla 10).

Tabla 9. Muestra el valor de desviación estándar, la proporción de la varianza y la proporción acumulada para los primeros diez CP.

	PC1	PC2	PC3	PC4	PC5	PC7	PC8	PC9	PC10
D. Estándar	0.595	0.277	0.235	0.169	0.166	0.120	0.094	0.083	0.072
Prop. Varianza	0.576	0.124	0.089	0.047	0.045	0.023	0.014	0.011	0.008
Prop. Acumulada	0.576	0.701	0.790	0.837	0.882	0.939	0.954	0.965	0.973

Tabla 10. Análisis Componente Principal de las distancias morfométricas para los primeros 10 diez componentes principales.

Distancias	PC1	PC2	PC3	PC4	PC5	PC6	PC7	PC8	PC9	PC10
T1	0.079	-0.121	0.096	-0.368	-0.186	-0.028	0.184	-0.147	0.399	-0.096
T2	0.472	-0.510	0.112	0.044	-0.244	0.217	-0.288	0.135	0.236	0.367
T3	0.319	-0.201	0.072	0.352	-0.290	-0.252	-0.037	0.287	-0.257	-0.339
T4	0.100	0.106	0.100	-0.100	-0.320	-0.555	0.123	0.141	-0.185	-0.183
T5	0.162	0.280	-0.105	-0.395	-0.095	-0.497	-0.229	-0.093	0.057	0.460
T6	0.127	0.185	0.539	0.150	-0.127	0.092	0.676	-0.046	0.059	0.299
T7	0.076	-0.096	0.054	-0.083	0.002	-0.129	0.043	-0.009	0.087	0.004
A1	0.048	-0.097	0.005	-0.163	0.027	0.034	0.058	-0.065	0.021	-0.079
A2	0.036	-0.150	0.008	-0.161	-0.010	-0.033	-0.004	-0.070	0.084	-0.041
A3	0.131	-0.162	0.050	-0.214	0.061	-0.055	0.083	-0.300	0.320	-0.575
A4	0.092	-0.246	0.033	-0.558	-0.020	0.264	0.151	-0.050	-0.704	0.017
A5	0.352	-0.092	-0.084	0.062	0.591	-0.243	0.239	0.035	-0.011	0.052
A6	0.557	0.165	-0.406	0.139	0.182	0.082	0.138	-0.228	-0.079	0.007
A7	0.176	0.342	-0.325	0.088	-0.520	0.268	0.049	-0.312	-0.023	-0.079
A8	0.135	0.118	0.561	0.159	0.131	-0.043	-0.443	-0.576	-0.214	-0.058
A9	0.313	0.516	0.251	-0.278	0.139	0.305	-0.217	0.514	0.109	-0.237

A6 corresponde a la distancia del punto inicial de la aleta pectoral al inicio de la aleta anal y T1 corresponde a la distancia del punto inicial de la aleta pectoral al inicio de la aleta anal, por otra

parte, T2 corresponde a la distancia del punto inicial del hocico superior al punto inicial de la aleta dorsal y A4 a la longitud de la cabeza.

La definición de los extremos de los CP se visualiza de mejor manera en la Figura 11. Donde se grafica los vectores que representan a las distancias frente a los CP1 y CP2, se puede observar la magnitud y dirección de cada uno de ellos determinando así el grado de correlación que presentan con los CP1 y CP2.

La distancia promedio y la desviación estándar de las variables morfométricas, indica que los ejemplares del Pacífico tienden hacia el extremo positivo del CP1 (A6) y hacia el extremo negativo de CP2 (A4) mientras que los ejemplares del Atlántico tienden hacia el extremo negativo de CP1 (T1) y positivo del CP2 (T2).

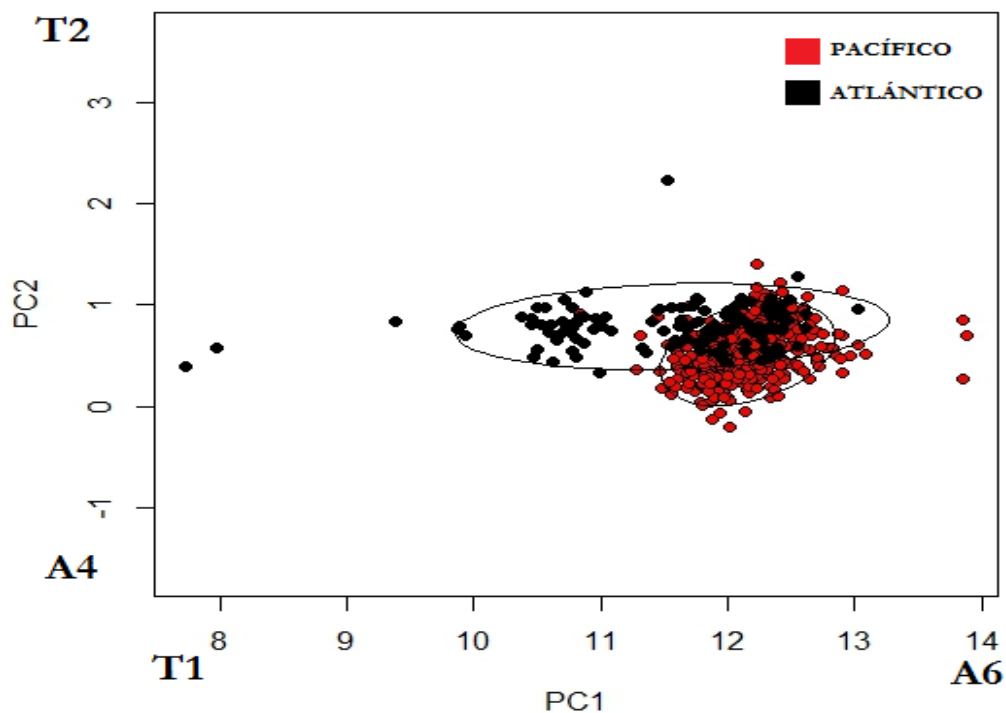


Figura 11. Análisis de componentes principales (CP1 v/s CP2) de las 16 distancias medidas para ejemplares de sardina austral, X y XI regiones.

Sin embargo la diferenciación entre zonas no es completa, existiendo un porcentaje de mezcla bastante importante entre ambas regiones atribuido a que el porcentaje de variabilidad explicada por ambas componentes representa solo un 70% del total de varianza de los datos.

El análisis de varianza multivariado, MANOVA, realizado para la caracterización de las diferencias entre los vectores de medias de las 16 distancias analizadas para ejemplares de sardina austral recolectados en la X y XI región muestra existencia de diferencias para las distancias entre las regiones (Tabla 11). Se destaca que las medidas corporales (distancias) tienden a distribuirse normal, lo que da sustento al carácter multinormal requerido para el análisis de varianza multivariado.

Tabla 11. Análisis de varianza multivariado, MANOVA, para las 16 distancias corporales de sardina austral, X y XI región de Chile.

	Df	Hotelling- Lawley	approx F	num DF	den DF	Pr(>F)
ZONA	1	2.0713	63.822	16	493	< 2.20E-16 ***
Residuals	508					

Por otra parte el histograma de frecuencia de los puntajes discriminantes fluctúa entre -4 y 4 para las 16 distancias corporales analizadas, observándose dos modas que representan a cada región (Figura 12)

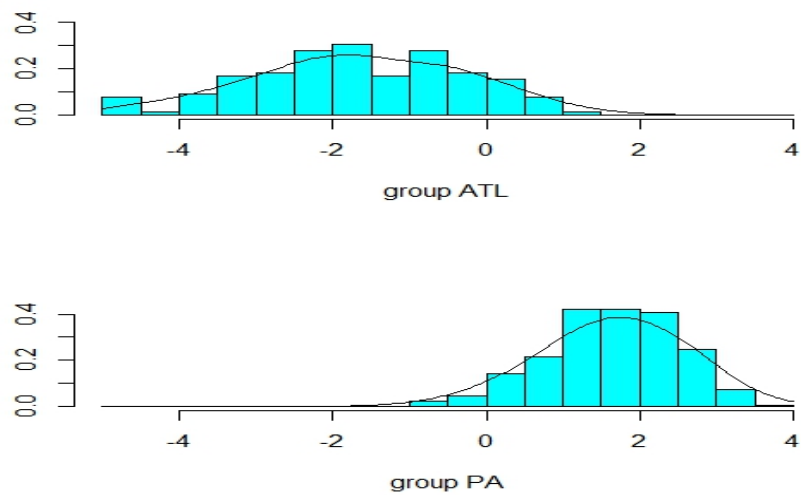


Figura 12. Histograma de distribución de frecuencia de los puntajes discriminantes para 16 distancias morfométricas de sardina austral, X y XI Región.

De esta manera la probabilidad *a priori* de pertenecer a una u otra zona que se obtuvo del Análisis Discriminante Lineal fue de 0.745 para el Pacífico y 0.255 para el Atlántico sobre la base de 510 ejemplares analizados, de los cuales 380 se colectaron en la X y XI región de Chile y 130 en la costa Argentina. A pesar de existir una mezcla entre ambas regiones, los máximos puntajes discriminantes difieren entre sí. De la reclasificación de 1020 individuos, se obtuvo un 98.68% de reclasificación correcta para ejemplares del Pacífico y un 80.77% para ejemplares del Atlántico, mientras que la probabilidad de obtener un ejemplar reclasificado correctamente corresponde a un 0.890.

Tabla 12. Tabla de mezcla de distancias corporales de sardina austral, X y XI.

Original	Clasificación		TOTAL
	ATLÁNTICO	PACÍFICO	
ATLÁNTICO	412	98	510
PACÍFICO	7	503	510
TOTAL	419	601	1020

Morfometría geométrica

La transformación o corrección de los datos originales, para eliminar el efecto alométrico, demuestra su efectividad en la Figura 13 donde se observa cada uno de los puntos bidimensionales en los 9 landmark seleccionados para cada uno de los 380 ejemplares.

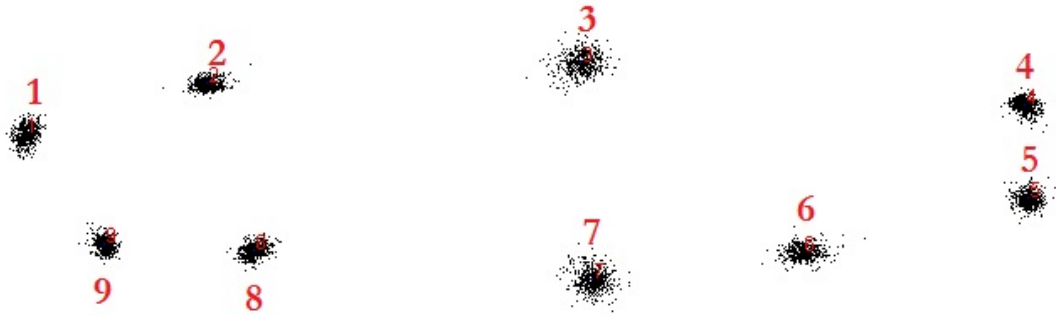


Figura 13. Corrección de las coordenadas bidimensionales de los landmark mediante Procrustes.

El análisis de Procrustes elimina cualquier variación de los datos generada por la talla, posición y/u orientación de los individuos

El ACP, mostró que la varianza acumulada explicada por el PC1 fue de 28.2%, el PC2 de 46.6%, y PC3 58.9%, y recién en PC8 se logra superar el 90% de proporción acumulada (Tabla 13). Se selección el PC1 y PC2 considerando que se trabajó sobre la base de mediciones corregidas por alometría y porque entre los dos componentes explican 46.6% de la varianza acumulada para los 9 landmark analizados.

Tabla 13. Porcentaje de varianza Y Porcentaje de Varianza acumulada según CP.

	Eigenvalues	% Variance	Cumulative %
1	0,00027588	28,236	28,236
2	0,00018025	18,449	46,685
3	0,00012016	12,298	58,983
4	0,00009788	10,018	69,001
5	0,00007906	8,092	77,093
6	0,00005390	5,516	82,609
7	0,00004378	4,481	87,090
8	0,00003230	3,306	90,396
9	0,00002486	2,545	92,941
10	0,00002367	2,422	95,364
11	0,00002038	2,086	97,450
12	0,00001260	1,290	98,739
13	0,00000649	0,664	99,403
14	0,00000583	0,597	100,000

Al igual que lo que ocurre para morfometría tradicional, al analizar las componentes principales 1 y 2 se observa una diferenciación leve de los individuos según su forma entre las zonas, en donde los individuos del Atlántico tienden hacia el extremo de mayor magnitud del CP 1 y al de menor magnitud del CP 2, mientras con los ejemplares del Pacífico tienden hacia el extremo de menor magnitud del eje que representa al CP1 y hacia el extremo de mayor magnitud del CP 2 (Figura 14).

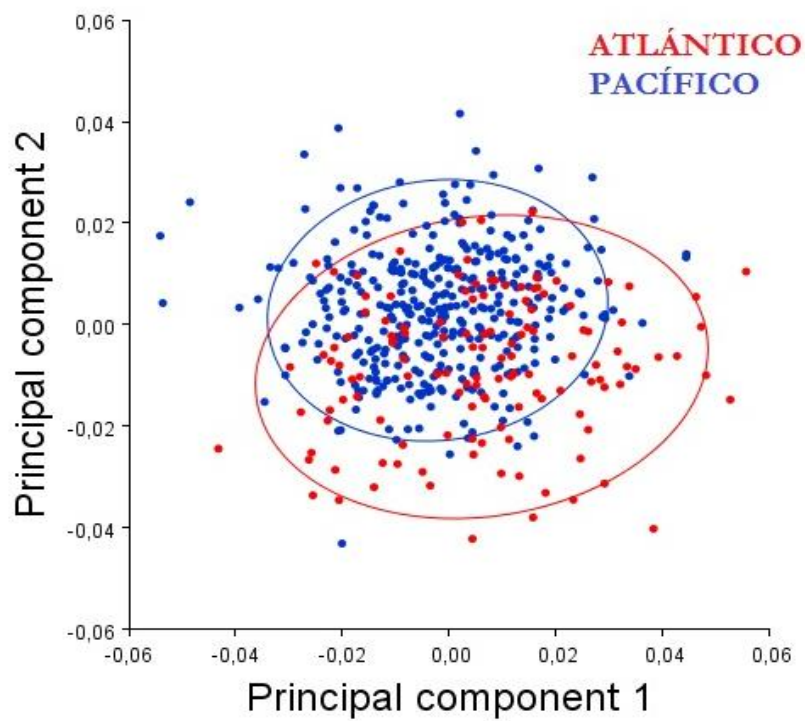
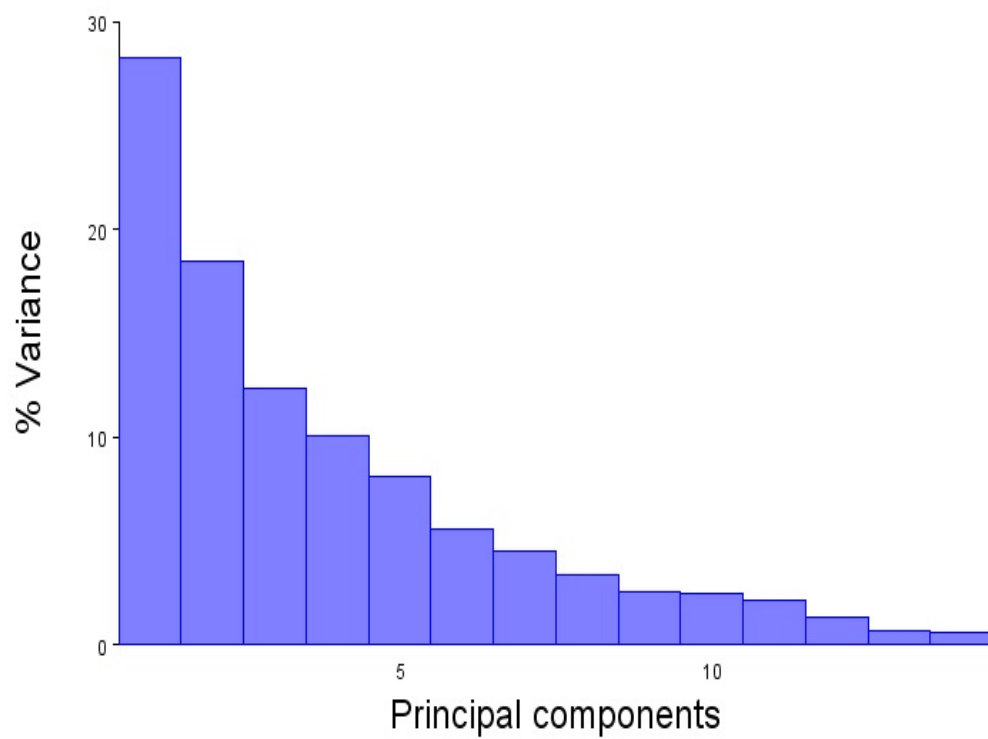


Figura 14. Análisis de Componentes Principales (ACP) para las variables utilizadas en la metodología de morfometría geométrica.

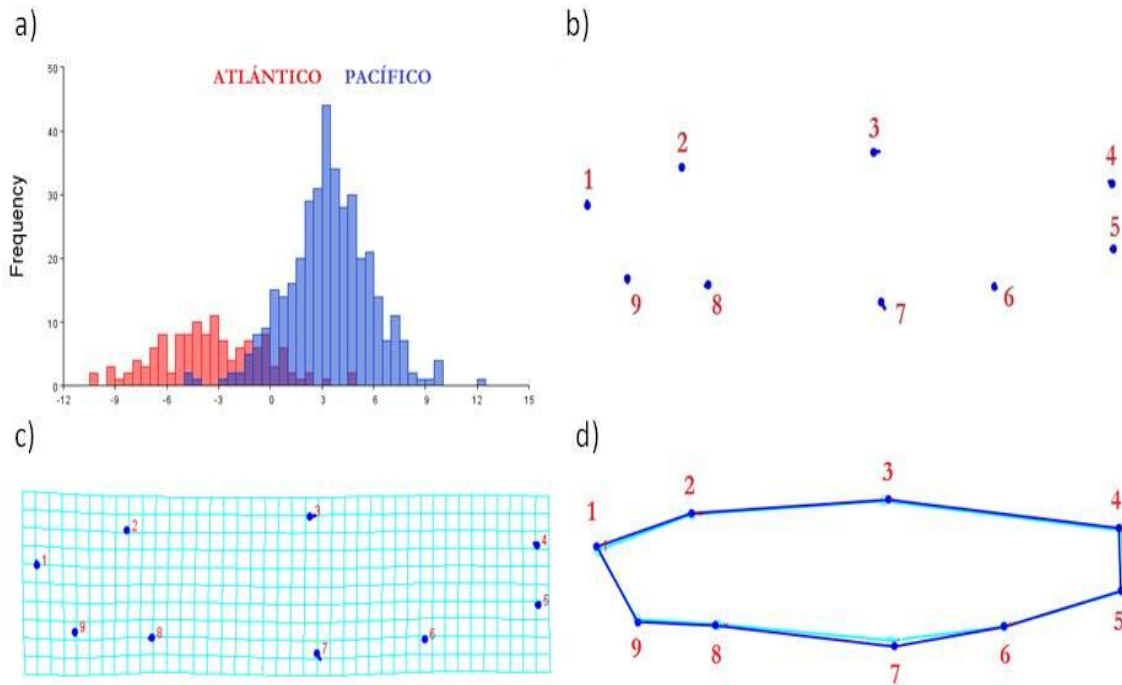


Figura 15. Análisis Discrimínate Múltiple (ADM) por región para los 9 landmark seleccionados a) histograma de puntajes discriminantes, b) grafico vectores que indican diferencias en magnitud y dirección entre regiones, para cada landmark, c) deformación en grilla y d) superposición de formas reconstruidas para cada región.

El ADM indica que a pesar de que existe un alto grado de mezcla entre los ejemplares del Atlántico y del Pacífico, el utilizar las zonas como factor de separación entre los individuos entrega resultados positivos como se puede observar en la grafica a) de la Figura 15, en b) c) y d) se observa la deformación de los individuos según la región en la que son clasificados, la cual, a pesar de existir es muy leve.

Tabla 14. Tabla de mezcla de distancias corporales de sardina austral, X y XI.

Original	Clasificación		TOTAL
	ATLÁNTICO	PACÍFICO	
ATLÁNTICO	114	16	130
PACÍFICO	30	350	380
TOTAL	144	366	510

De esta manera la probabilidad *a priori* de pertenecer a una u otra zona que se obtuvo del Análisis Discriminante Lineal fue de 0.745 para el Pacífico y 0.255 para el Atlántico sobre la base de 510 ejemplares analizados, de los cuales 380 se colectaron en la X y XI región de Chile y 130 en la costa Argentina. A pesar de existir una mezcla entre ambas regiones, los máximos puntajes discriminantes difieren entre sí. La clasificación de 510 individuos, obtuvo 92.3% de clasificación correcta para los ejemplares del Pacífico y 87.7% para los ejemplares del Atlántico. El porcentaje obtener un individuo clasificado de manera correcta corresponde a un 90.9% mientras que el nivel de error obtenido alcanza un 9.1% (Tabla 14).

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

De acuerdo al análisis morfométrico tradicional efectuado sobre la base de 16 variables (distancias entre puntos), corregidas para evitar el efecto del tamaño de los ejemplares, y a al análisis de morfometría geométrica sobre 9 marcas de coordenadas bidimensionales (landmark), se determinó que los ejemplares colectados en la región de Los Lagos (X región), y en la región de Aysén (XI región) presentaba diferencias morfométricas significativas.

Al aplicar un Análisis de Componentes Principales, se observó segregación de los ejemplares de cada región, que se explica por variaciones de la distancia de la aleta pectoral al inicio de la aleta anal y la longitud de la cabeza, principalmente. Por otra parte, el Análisis Discriminante Lineal permitió establecer la segregación de los grupos mientras que el Análisis de Varianza Multivariado demostró diferencias significativas en la morfología del cuerpo entre la sardina austral de la región de Los Lagos y la región de Aysén.

Al comparar entre ejemplares del Pacífico y del Atlántico; El ACP evidenció segregación de los ejemplares de cada zona, explicada por variaciones en la distancia del punto inicial de la aleta pectoral al inicio de la aleta anal y en la Distancia del punto inicial del hocico superior al punto inicial de la aleta pectoral, principalmente. El ADM permitió establecer la segregación de los grupos mientras que el MANOVA demostró diferencias significativas en la morfología del cuerpo entre ejemplares de *Sprattus fuengensis* del Pacífico y del Atlántico. Los porcentajes de certeza en la clasificación de los individuos y sus respectivas probabilidades de clasificación indicaron que existe una mayor diferencia al comparar entre zonas (Atlántico-Pacífico) que la encontrada al comparar ejemplares de las X y XI región de Chile.

Los resultados obtenidos mediante el análisis de morfometría geométrica valida lo obtenido por morfometría tradicional, estableciendo también segregación de los grupos explicada por diferencias morfológicas entre los ejemplares de ambas regiones.

Sin embargo, tanto en las técnicas tradicionales como en las geométricas el nivel de mezcla dentro de las regiones y zonas es alto. Respecto a la explicación del alto grado de mezcla entre las regiones, si bien la XI región se caracteriza por su alta heterogeneidad espacial, dada por la estructura de fiordos que la componen y las características propias de estos, la cercanía entre las dos regiones, los sistemas de corrientes, el que no existan grandes barreras físicas ni biológicas entre ambas y el tratarse de aguas interiores podría propiciar el alto grado de mezcla

entre los ejemplares de sardina austral de ambas regiones. Por otra parte, las diferencias ecológicas propias que se dan entre dos zonas con estructuras físicas y biológicas distintas como son la costa austral de Chile en el Pacífico y la costa Argentina en el Atlántico podría responder a la mayor diferencia morfológica corporal evidenciada entre ejemplares de *Sprattus fuengensis* del Atlántico y del Pacífico.

CONCLUSIONES

Sobre la base de 16 variables morfométricas, corregidas para evitar el efecto del tamaño de los ejemplares, se analizó si los ejemplares colectados en la región de Los Lagos y de la región de Aysén presentaban diferencias morfométricas significativas. Al aplicar un Análisis de Componentes Principales, se observó segregación de los ejemplares de cada región, que se explica por variaciones la distancia de la aleta pectoral al inicio de la aleta anal y la longitud de la cabeza. El Análisis Discriminante Lineal permitió establecer la segregación de los grupos, y el Análisis de Varianza Multivariado demostró diferencias significativas en la morfología del cuerpo entre la sardina austral de la región de Los Lagos y la región de Aysén. Por otra parte, se analizó si los ejemplares colectados en Chile (X-XI región) y en la costa Argentina presentaban diferencias morfométricas significativas. En este caso, se observó mayor segregación entre ejemplares respecto a lo encontrado entre regiones, la que se explica por variaciones de la distancia del punto inicial de la aleta pectoral al inicio de la aleta anal y en la Distancia del punto inicial del hocico superior al punto inicial de la aleta pectoral, principalmente

Capítulo IV: Aproximación basada en parámetros de historia de vida

Autores: Luis Cubillos¹, Milton J Pedraza¹, Carolina Alarcón¹

Universidad de Concepción

En este capítulo se responde el objetivo 2.1 el cual es “Determinar si *Sprattus fuegensis* presente entre la X y XII regiones de Chile, constituye una o más unidades poblacionales o stocks pesqueros independientes”.

ANTECEDENTES

El concepto de stock se ha utilizado en varios contextos, teniendo en cuenta componentes genéticos, ecológicos y/o de manejo pesquero propiamente tal (MacLean & Evans 1981), y en relación con esto se han planteado varias acepciones. Por ejemplo, Ihssen et al. (1981) definen stock como un grupo intraespecífico de individuos que pueden entrecruzarse en forma aleatoria y que mantienen una integridad espacial o temporal. Por otro lado, Spanakis et al. (1989) consideran criterios de "stock puro o discreto" y “stock dinámico o ecológico”; la idea de un "stock puro o discreto" está basada en poblaciones conespecíficas que han evolucionado independientemente y que pueden llegar a un cierto grado de diferenciación genética; en tanto, un “stock dinámico o ecológico” opera a una escala temporal mucho menor que la anterior e implica la persistencia de patrones espaciales y temporales de distribución de la abundancia a una escala ecológica, sin que necesariamente exista diferenciación genética entre las unidades.

De acuerdo con estas definiciones, un stock puede exhibir diferencias en unos o más parámetros de historia de la vida, comparado con otros stocks de la misma especie. En este sentido, parámetros de historia de vida de una población, tales como: crecimiento, supervivencia, reclutamiento, reproducción, distribución, y abundancia, son consecuencia directa del modo de historia de vida en que los stocks de peces han evolucionado (Begg et al 1999). Otros rasgos de la historia de vida como la estructura de tamaños, madurez y fecundidad expresan la interacción entre la base genética y la influencia ambiental, y provee de evidencia para la estructura de stock (Begg 2005). Por ende y debido a la facilidad relativa de determinar tanto parámetros de historia de la vida como diferencias en tasas vitales; estas han

sido utilizadas para identificar unidades de manejo separadas asumiendo que la variación fenotípica se debe a controles genotípicos y ambientales (Begg et al 1999).

METODOLÓGIA DE TRABAJO

Con el objeto de identificar posibles unidades poblacionales discretas de sardina austral al interior de su distribución geográfica principal, la cual comprende el Atlántico Sur Occidental desde los 40°S hasta tierra del Fuego (Incluida las islas Malvinas) hasta los canales interiores y fiordos de la plataforma continental chilena en el Pacífico Sur Oriental, desde el mar interior de la Isla de Chiloé (X región) hasta los canales Magallánicos (XII región); se recopiló y analizó un conjunto de información referente a sus parámetros de historia de vida. La información analizada dice relación con: i) La distribución de la abundancia/biomasa, ii) la estructura de tamaños, iii) la tasa de crecimiento iv) la tasa de mortalidad total, y v) la talla media de madurez que estén disponibles por localidades en el área de distribución del recurso.

La distribución espacial y temporal de la abundancia (biomasa total, biomasa desovante), así como la estructura de tamaños, pueden proveer evidencia de áreas de desove, y conectividad del ciclo de vida. Variabilidad en tasas de crecimiento, la tasa de mortalidad total y la talla media de madurez, pueden constituirse en evidencia de la presencia de sub-poblaciones dentro de aproximaciones holistas utilizadas para la identificación de la estructura poblacional.

Para obtener información de parámetros de historia de vida de esta especie, se realizó una búsqueda en diferentes fuentes y bases de datos (ASFA, GLOBEFISH, etc). Antecedentes, en forma de artículos publicados en revistas de corriente principal, fueron obtenidos a través del portal de la biblioteca de la Universidad de Concepción (<http://www.bib.udec.cl>). Otra fuente de información, correspondió a aquella solicitada a investigadores nacionales e internacionales y grupos de trabajo, involucrados en la generación de antecedentes sobre este recurso. En el caso los informes finales de proyectos orientados a la evaluación y prospección, se solicitó copia de los informes disponibles en el Fondo de Investigación Pesquera (<http://www.fip.cl>).

Patrones de Distribución de la Abundancia

Con el objeto de identificar patrones espacio-temporales en la abundancia de sardina austral, se utilizó la información independiente de la pesquería, proveniente de cruceros de evaluación directa realizados en el extremo Sur continental de Sur América (sector costero de la X y XI

regiones en Chile y sector costero de las provincias de Santa Cruz y Tierra del Fuego en Argentina); a saber: a) PROYECTO FIP 2007-05 “Identificación y Evaluación hidroacústica de pequeños pelágicos en aguas interiores de la X y XI Regiones, año 2007”; b) PROYECTO Subsecretaría de Pesca N° ID 4728-35-LP10 “Investigación Estimación de Abundancia, Biomasa y Distribución espacial de pequeños pelágicos en aguas interiores de la X y XI Regiones y su Relación con algunas variables ambientales, año 2010”; c) Informe de campaña “Crucero H-04/96”. Evaluación de sardina fueguina (*Sprattus fuegensis*). INIDEP.; y d) Informe de campaña “Crucero OB-13/96”. Evaluación de sardina fueguina (*Sprattus fuegensis*). INIDEP.

Adicionalmente, se utilizó información de índices de abundancia relativa determinados a partir de la actividad de pesca. Estos índices, dan conocer el nivel de la abundancia en relación con niveles históricos; en tal sentido, el nivel promedio, valor mínimo y máximo, en una ventana de tiempo definida puede ser identificados como patrones de referencia válidos. Esta información deriva: a) PROYECTO FIP 2004-39 “Monitoreo de la pesquería de pequeños pelágicos en aguas interiores de la X Región, año 2004”, y b) Serie de Informes Finales Proyectos de Pesca de Investigación entre 2005 a 2009 “Monitoreo de anchoveta y sardina en aguas interiores de la X Región de los lagos” ejecutado por el Instituto de Fomento Pesquero (IFOP).

Tasa de Crecimiento

La tasa de crecimiento mide el crecimiento somático de los individuos que componen la población. Su estimación se basa en los parámetros de crecimiento en longitud y peso del modelo de von Bertalanffy, como también en la relación longitud-peso (RLP). La tasa de crecimiento puede presentar variaciones estacionales e interanuales, las cuales impactan la producción y el rendimiento pesquero. Por otro lado, la estacionalidad del patrón de crecimiento es una consecuencia de la estrategia reproductiva de la especie para adaptarse a ecosistemas de canales donde esta habita.

En tal sentido, con respecto a los parámetros de crecimiento, se realizó una revisión en la literatura, incluyendo aspectos de edad y la relación longitud-peso en estudios realizados en Chile, Argentina y de otros *Sprattus* a nivel mundial. A partir de estos datos o parámetros

recolectados, se indagaron aspectos como el índice de desempeño del crecimiento y variación en tasas de crecimiento.

Índice de desempeño de crecimiento ϕ' (Φ), o índice de evaluación del crecimiento (Pauly y Munro, 1984), se estima para comparar los parámetros de crecimiento (L_∞ y K). La ecuación que define este índice, i.e.,

$$f' = 2 \text{Log} L_\infty + \text{Log} K$$

La ecuación propuesta permite evaluar la tasa de crecimiento entre dos longitudes, cuyos límites pueden representar tanto la tasa de crecimiento de juveniles entre la talla de reclutamiento y la talla de primera madurez sexual; como también la tasa de crecimiento de los adultos entre las tallas de primera madurez y la talla máxima (Roa y Tapia, 1998).

$$G(L) = K \left(L_\infty - \frac{L_{j+t}^2 - L_j^2}{2(L_{j+t} - L_j)} \right)$$

Donde G es el promedio de la tasa de crecimiento ($\text{cm} \times \text{yr}^{-1}$) para i -ésima cohorte (ó juveniles ó adultos); L_j y L_{j+t} son las tallas límites mínima y máxima, respectivamente, del crecimiento de la cohorte ó juveniles ó adultos; y K y L_∞ son los parámetros de crecimiento de von Bertalanffy obtenidos de literatura.

Tasa de Mortalidad Total

La tasa de mortalidad total (Z) fue estimada a partir de la estructura de tamaños, obtenida tanto de la flota comercial, como de cruceros de evaluación acústica. La metodología implementada fue la Curva de Captura longitud-transformada. Esta metodología se sustenta en que la el arte de pesca vulnera completamente los individuos de una población a partir de un cierto tamaño, mientras que ya sea por reclutamiento incompleto o por las características selectivas del arte, existe una fracción que no es completamente vulnerada. Al graficar el logaritmo de la captura a la talla, corregida por el crecimiento entre el límite inferior y superior de la clase de talla

$(\log(C)/\Delta t)$, en función de la longitud transformada a la edad, se puede identificar una línea recta con pendiente negativa cuyo valor es un estimador de la tasa de mortalidad total (Sparre et al. 1989).

En atención a que las curvas de captura pueden generar valores inconsistentes con estimados empíricos de mortalidad natural ($Z < M$), en este estudio se utilizó la aproximación de Hall et al. (2004). Estos autores proponen una aproximación Bayesiana que combina las distribuciones de probabilidad posterior de las estimaciones de mortalidad, y de aquí produce estimaciones integradas y consistentes de M y Z . Esta aproximación puede ser implementada a su vez con los modelos descritos por Taylor et al. (2005).

Talla media de madurez

La talla media de madurez sexual corresponde a la longitud a la cual el 50% de las hembras están maduras (L_m). El proceso de madurez de las hembras sigue un ensayo Bernoulli, en que el éxito se contabiliza como el estado madura y el fracaso como una hembra inmadura. De esta manera para n ensayos Bernoulli, el proceso poblacional sigue una distribución de probabilidad binomial en función del tamaño de las hembras. De esta manera, se utilizó regresión logística o GLM con familia binomial y enlace logit para estimar los parámetros de la ojiva de madurez sexual, *i.e.*

$$P(L) = 1 / (1 + \exp(a - b * L))$$

Donde $P(L)$ es la proporción de hembras maduras, a y b son parámetros a ser estimados, y L es la longitud. El estimador de la talla media de madurez sexual viene dado por $L_m = a/b$, que corresponde al criterio de 50%. Los datos de madurez sexual pueden ser macroscópicos en función de la talla, y serán obtenidos a partir del seguimiento biológico-específico en diferentes localidades.

RESULTADOS

En cuanto a la búsqueda de información, se identificaron los siguientes documentos técnicos y escritos científicos:

- PROYECTO FIP 2004-39 “Monitoreo de la pesquería de pequeños pelágicos en aguas interiores de la X Región, año 2004”
- PROYECTO FIP 2007-05 “Identificación y Evaluación hidroacústica de pequeños pelágicos en aguas interiores de la X y XI Regiones, año 2007”.
- PROYECTO Subsecretaría de Pesca N° ID 4728-35-LP10 “Investigación Estimación de Abundancia, Biomasa y Distribución espacial de pequeños pelágicos en aguas interiores de la X y XI Regiones y su Relación con algunas variables ambientales, año 2010”
- Serie de Informes Finales Proyectos de Pesca de Investigación entre 2005 a 2009 “Monitoreo de anchoveta y sardina en aguas interiores de la X Región de los lagos” ejecutado por el Instituto de Fomento Pesquero (IFOP).
- Leal, E. et al. 2011. Actividad reproductiva y longitud de madurez de sardina austral *Sprattus fuegensis* en el mar interior de Chiloé, Chile. Revista de Biología Marina y Oceanografía. Vol. 46; (1): 43-51.
- Aranís et al. 2007. *Sprattus fuegensis* en aguas interiores de Chiloé, Chile (Osteichthyes: Clupeiformes: Clupeidae). Gayana 71(1): 102-113.
- Shirokova, E. 1978a. Some biological features of Tierra del Fuego sprat. Soviet Journal of Marine Biology. (4): 697-702.

- Shirokova, E. 1978b. Contribution to the biology of Tierra del Fuego sprat *Sprattus fuegensis* (Jenyns, 1842). *Biologiya Mora*, 3: 78-84.
- Agnew D.J. 2002. Critical aspects of the Falkland Island pelagic ecosistema: distribución, spawning and migration of pelagic animals in relation to oil exploitation. *Aquatic Conserv: Mar. Freshw. Ecosyst.* 12: 39-50.
- Hansen. J. E. et al. 1992. Final Report on the scientific research Surrey carried out by the R/V "Dmitry Stefanov" in the economic zone of the Republic Argentina (March 21st - April 14th, 1992).
- Madirolas, A. 1996a. Campaña Crucero "H-04/96". Evaluación de sardina fueguina (*Sprattus fuegensis*). Informe de Campaña. Bibliot. INIDEP, Mar del Plata, Argentina, 25 pp., + Anexos.
- Madirolas, A. 1996b. Campaña Crucero "OB-13/96". Evaluación de sardina fueguina (*Sprattus fuegensis*). Informe de Campaña. Bibliot. INIDEP, Mar del Plata, Argentina, 26 pp., + Anexos.
- Sanchez, R. P et al. 1997. The reproductive biology of the patagonian sprat (*Sprattus fuegensis*): several Facuss and still some speculations. ICES, Pelagic Fish Committee (CM 1997/HH:22).
- Hansen, J. E. 1999. Estimación de parámetros poblacionales del efectivo de sardina fueguina (*Sprattus fuegensis*) de la costa continental argentina. INIDEP. Inf. Tec. 27. 30 pp.
- Gru. D. L & M. B. Coussea. 1982. Estudio de edad y crecimiento de la sardina fueguina (*Sprattus fuegensis*) de las costas de la provincia de Santa Cruz e Islas Malvinas. Rev. Invest. Des. Pesq., INIDEP, Mar del Plata. N°3 (51-58).

- Cousseau, M. B. 1982. Revisión taxonómica y análisis de los caracteres morfométricos y merísticos de la sardina fueguina, *Sprattus fuegensis* (Jenyns 1842) (Pisces, Clupeidae). Rev. Invest. Des. Pesq., INIDEP, Mar del Plata. N°3 (77-94).
- Brown D. & Sanchez R. P. 2010. Larval and juvenile growth of two patagonian small pelagic fishes: *Engraulis anchoita* and *Sprattus fuegensis*. Rev. Invest. Des. Pesq., INIDEP, Mar del Plata. N°20 (35-50).
- Madirolas, A. & J. E. Hansen. 2000. Sardina fueguina (*Sprattus fuegensis*). Pp.227-232. En: Síntesis del estado de las pesquerías marítimas argentinas y de la Cuenca del Plata, años 1997-1998, con una actualización de 1999 (S. Bezzi, R. Akselman y E. Boschi, Eds.). Rev. Invest. Des. Pesq., INIDEP, Mar del Plata. Argentina, 388 pp.

La sardina austral corresponde a un recurso cuya pesquería y seguimiento se inicia hace sólo 10 años (Aranis et al. 2007). Tanto la investigación como el seguimiento de la actividad comercial asociadas a esta pesquería se concentran, casi exclusivamente, en el mar interior de Chiloé, particularmente al norte de las Islas Desertores (X región). La actividad al sur de estas últimas, se limita a la captura para carnada y a una temporada eventual de pesca (a partir del año 2009), generada bajo el concepto de “pesca de investigación” con desarrollo en la zona norte del mar interior de Aysén (XI región). Se desconoce con precisión los sitios de desove, aunque la presencia de juveniles ha sido detectada en todas las áreas muestreadas sistemáticamente; esto es sobre el mar interior, entre Puerto Montt y la Península de Taitao. Una clara predominancia de juveniles ha sido reportada en fiordos y canales de la zona norte de la Región de Aysén, entre Puerto Aguirre y Estero Elefantes (Niklitschek et al. 2009), y un segundo registro de importancia en la zona norte del mar interior de Chiloé.

Este recurso comenzó a ser reportado oficialmente en la XI región, con 4 ton y 106 ton en los años 2003 y 2004 respectivamente. Posteriormente en el año 2005, se registran los primeros desembarques en la XII región, reportándose 19 ton. Los primeros desembarques registrados en la Región de Los Lagos (X región) datan del año 2006, en donde se declararon 39.146 ton; posteriormente se produce un incremento de 10 mil ton, llegando a registrar desembarques de 50.506 ton en la X región durante el año 2007. En el año 2008 se registra una leve baja en los

desembarques, reportándose 45.078 ton en la X región y 11 ton en la XI región, disminuyendo el desembarque en 5 mil ton. En el 2009 el total nacional registra un total de 52.602 ton, de las cuales en la X región se desembarcó 49.225 ton. El último registro oficial del desembarque de sardina austral es en el año 2010, con 20.123 ton en la X región y sólo 50 ton en la región de Aysén (Sernapesca, 2003 a 2010). De acuerdo a los desembarques oficiales realizados a la fecha (Tabla 1), la X región es la principal zona de descarga del recurso sardina austral.

Tabla 1. Desembarques (toneladas) de sardina austral en la Región de los Lagos (X Región) y la Región de Aysén (XI Región) (Fuente: Sernapesca).

Año	X Región	XI Región	Total
2003	0	4	4
2004	0	106	106
2005	0	210	229
2006	39 146	397	39 545
2007	50 506	199	50 705
2008	45 078	11	45 089
2009	49 225	3 377	52 602
2010	20 123	50	20 173

Nota: las diferencias entre la suma de ambas regiones y el total, se debe al desembarque de la XII región.

Patrones de Distribución de la Abundancia

Los proyectos de prospección acústica FIP 2007-05 y ID 4728-35-LP10 realizados por la Universidad Austral de Chile y la Universidad de Concepción, respectivamente. Entregan información importante sobre densidad/abundancia/biomasa del recurso sardina austral sobre la X y XI regiones. La información del proyecto FIP 2007-05, se obtuvo en las temporadas de otoño (cruce sobre la X región) y primavera (cruce sobre la XI región) del año 2008; mientras que la información de proyecto ID 4728-35-LP10, se obtuvo en la temporada de verano (año 2010-2011) cruces sobre las regiones X y XI en paralelo. La cobertura espacial de ambos proyectos comprendió a la zona contigua del mar interior de la región de los Lagos y

los canales de la región de Aysén, cuyos límites geográficos comprendieron desde el norte del Seno de Reloncaví, hasta el sur del canal Costa (Figura 1).

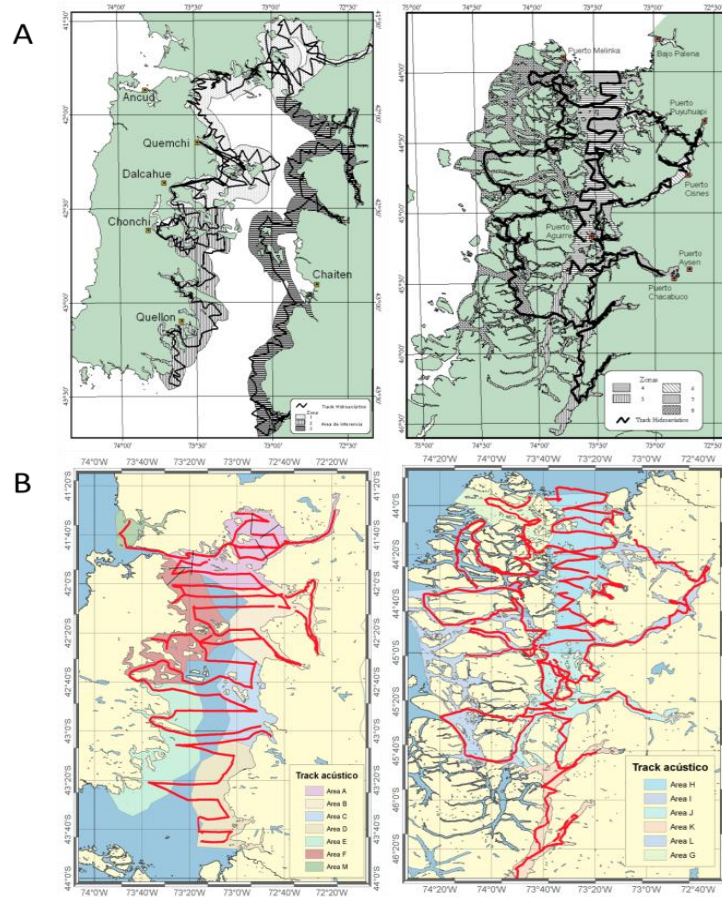


Figura 1. Cobertura espacial de estudios acústicos desarrollados sobre la X y XI regiones, tendientes a entregar información de densidad/abundancia/biomasa de sardina austral. A) FIP 2007-05 (Niklitschek et al. 2009) y B) ID 4728-35-LP10 (Cubillos et al. 2011).

Niklitschek et al. (2009) (FIP 2007-05), estimaron una abundancia de 6.836×10^6 ejemplares en la Región de Los Lagos y 29.204×10^6 ejemplares en la Región de Aysén. La biomasa estimada fue de 114.640 toneladas en la Región de Los Lagos y 150.685 toneladas para la Región de Aysén. Por otro lado, Cubillos et al. (2011), estimaron una abundancia de 3.734×10^6 ejemplares en la Región de Los Lagos y 5.489×10^6 ejemplares en la Región de Aysén. La biomasa estimada fue de 67.946 toneladas en la Región de Los Lagos y 47.848 toneladas para la Región de Aysén. En la Tabla 2, se presenta un resumen de la información reportada en estos estudios para densidad/abundancia/biomasa de sardina austral. En la Figura 2 se presenta

información de densidad (ton/m^2) de sardina austral presente en la X y XI regiones, según Cubillos et al. (2011); mientras que en la Figura 3 se presenta distribución de la abundancia ($\text{Ind} \times 10^6$) por región, según valor de abundancia total determinada por Niklitschek et al. (2009).

Tabla 2. Resumen de la información disponible de densidad/abundancia/biomasa para sardina austral, derivada del desarrollo de cruceros acústicos (Niklitschek et al. 2009; Cubillos et al. 2011).

Referencia	Región	Abundancia ($\text{ind} \times 10^6$)	Biomasa (ton)	Densidades	Metodologías
Niklitschek et al. (2009)	X	6.836	114.640	129 (ind/m^2)	Geoadística
	XI	29.204	150.685	45,63 (ind/m^2)	Geoadística
Cubillos et al. (2011)	X	--	53.953	5,415 (ton/km^2)	Geoadística
		3.734	67.946	4,9 (ton/km^2)	Bootstrap
		--	88.116	4,756 (ton/km^2)	Distribución de probabilidad
	XI	--	20.485	2,816 (ton/km^2)	Geoadística
		5.489	47.848	4,6 (ton/km^2)	Bootstrap
		--	34.219	4,09 (ton/km^2)	Distribución de probabilidad

Información registrada en Cubillos et al. (2011), indican una mayor abundancia/biomasa de ejemplares de mayor talla, entre los 12,5 y 13, 5 cm de longitud total, sobre la X región;

alcanzando en conjunto un 46,3% de la biomasa total. Mientras tanto, en la XI región, la mayor representatividad fueron los ejemplares entre 10,0 y 11,0 cm; alcanzando en conjunto un 42,9% de la biomasa total; con una importante representatividad en peso de ejemplares entre los 4,5 y 8,0 cm, ausentes en la X región. Resultados de abundancia (N° ind $\times 10^6$) por categoría de talla derivados de este estudio, son presentados en la Tabla 3.

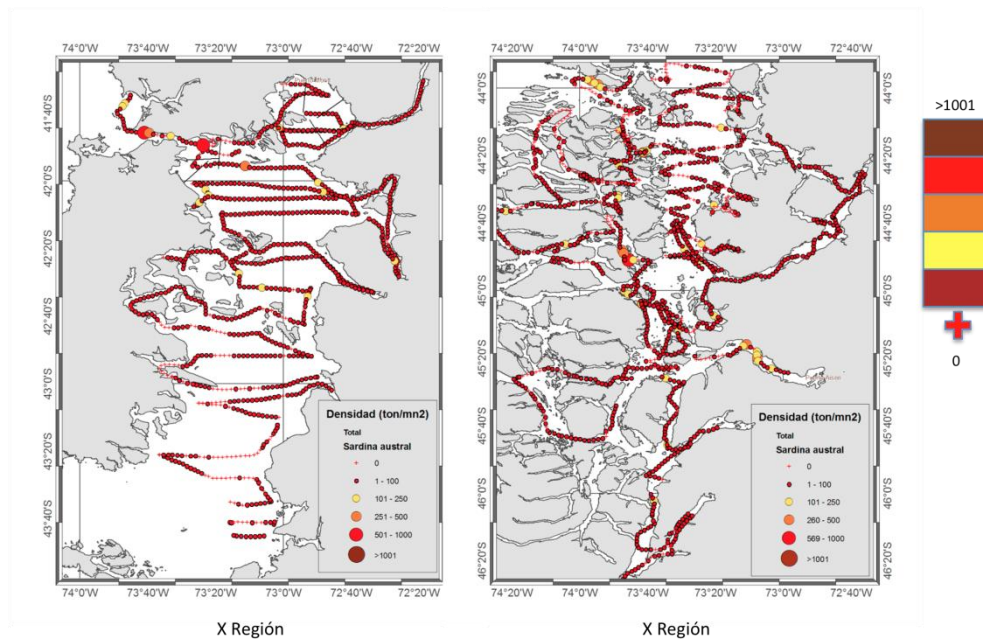


Figura 2. Información de densidad (ton/mn^2) de sardina austral presente en la X y XI regiones, según Cubillos et al. (2011). (Fuente: Cubillos et al. (2011))

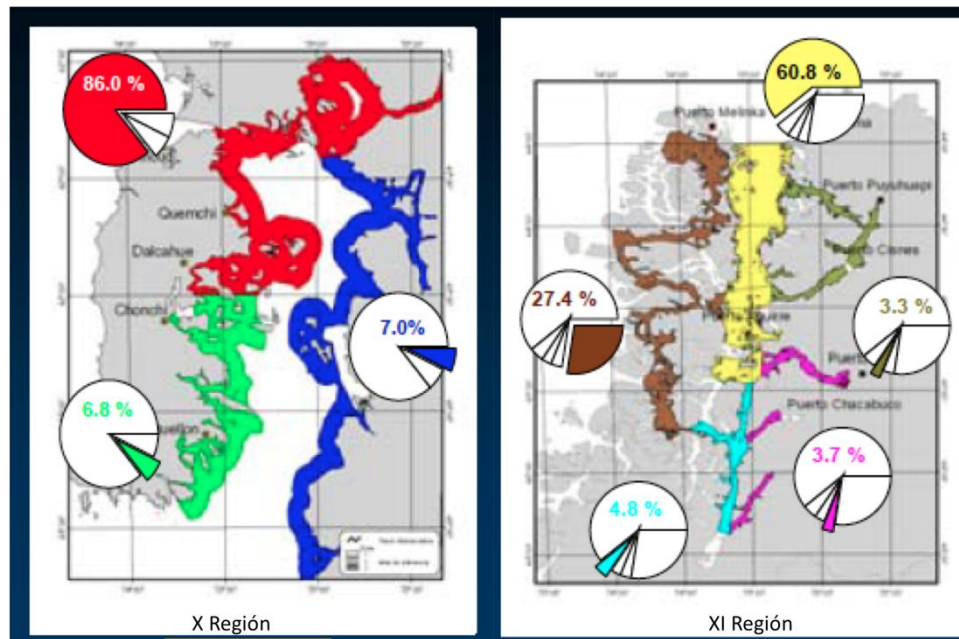


Figura 3. Distribución de la abundancia (Ind x 10⁶) por región, según valor de abundancia total determinada por Niklitschek et al. (2009). (Fuente: Niklitschek et al. (2009))

Tabla 3. Abundancia por categoría de talla registrada en Cubillos et al. (2011) para sardina común en la X y XI regiones.

Categoría de Talla (cm)	X Región	XI Región
	Sardina Austral (N° ind x10 ⁶)	Sardina Austral (N° ind x10 ⁶)
4,5		0,3
5,0		6,9
5,5		10,0
6,0		6,3
6,5		1,8
7,0		
7,5		0,3
8,0		12,5
8,5		55,4
9,0		55,4
9,5		120,5
10,0	13,0	319,1
10,5	24,2	331,3
11,0	75,0	255,4
11,5	162,5	130,5
12,0	389,5	100,1
12,5	505,5	93,8
13,0	473,1	93,2
13,5	406,4	101,3
14,0	334,8	94,2
14,5	251,6	71,1
15,0	201,0	36,3
15,5	108,4	13,2
16,0	45,8	3,9
16,5	7,7	2,6
17,5		
18,0		0,3
TOTAL	2998,7	1915,6

Información de este recurso en la costa Argentina, deriva de los cruceros de prospección acústica “EH-04/96” y “OB-13/96”, realizados sobre el litoral de las provincias de Santa Cruz y Tierra del Fuego, cuyos límites geográficos comprendieron desde los 50° LS al norte hasta los 55° LS, incluyendo el Estrecho de Le Maire y un Sector del Canal de Beagle (Figura 4). El análisis de la información en ambos cruceros sugieren la existencia de dos áreas discretas, según densidades del recurso prospectadas y características de los ejemplares colectados; al norte del Estrecho de Magallanes (50° - 53° LS) con presencia de individuos pequeños (post-larvas y juveniles) y al sur del estrecho (53° a 55°LS) con ejemplares grandes (juveniles grandes y adultos). A partir del crucero “EH-04/96”, se determinó una densidad media de juveniles de 18.09 ind/100 m²; la biomasa de post-larvas y pre-reclutas era estimada en 916,9 toneladas y una biomasa total estimada de 104.431 toneladas. A partir del crucero “OB-13/96”, se determinó una biomasa total del recurso de 323.400 toneladas. En la Tabla 4, se presenta un resumen de la información de densidad/abundancia/biomasa de sardina austral reportada a partir de estos cruceros.

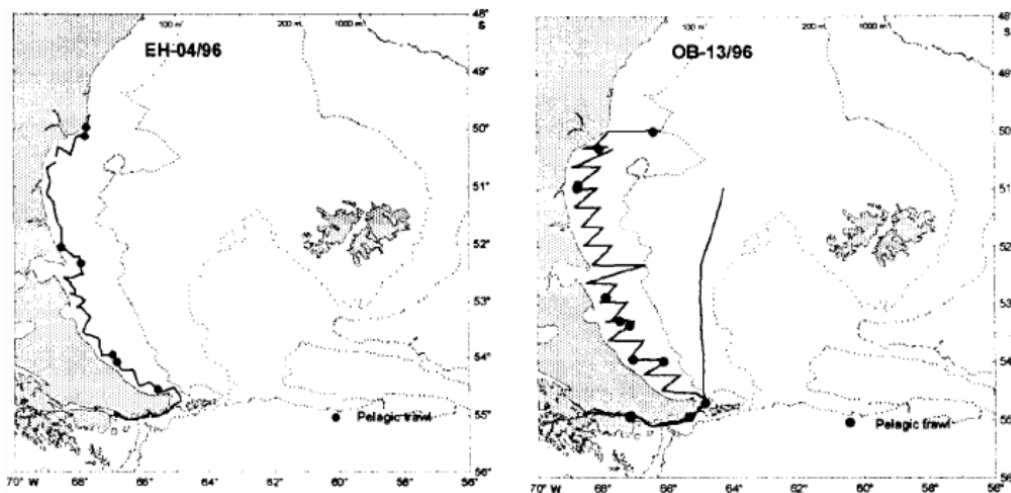


Figura 4. Cobertura espacial de cruceros acústicos desarrollados sobre la costa Argentina, tendientes a entregar información de biomasa de sardina austral. (Fuente: Madirolas 1996a,b)

Tabla 4. Resumen de la información disponible de densidad/abundancia/biomasa de sardina austral, derivada del desarrollo de cruceros acústicos (“EH-04/96” y “OB-13/96”); costa Argentina.

Referencia	Área	Biomasa (ton)	Densidades
Crucero “EH-04/96” (Mayo- Otoño)	Norte estrecho Magallanes (50°- 53°LS)	45.197	18.09 ind/100 m ² (juveniles)
	Sur estrecho Magallanes (53°- 55°LS)	59.234	
	Total	104.431	
Crucero “OB-13/96” (Noviembre- Primavera)	Norte estrecho Magallanes (50°- 53°LS)	155.207	--
	Sur estrecho Magallanes (53°- 55°LS)	168.193	--
	Total	323.400	--

Fuente: Sánchez et al (1997); Madirolas (1996a,b); Hansen (1999).

Estructura de Tallas

La información sobre talla promedio, rango de tallas y estructura de tallas para el recurso sardina austral es proveniente tanto de los estudios de seguimiento de la actividad pesquera, desarrollados por el Instituto de Fomento Pesquero (en Chile) como de la colecta de ejemplares y muestreo biológico realizado en cada crucero de evaluación acústica (regiones X y XI); se incluye antecedentes bibliográficos y muestreos puntuales dirigidos (XII región y Costa Argentina)

Información registrada en la costa chilena, sugiere mayor presencia de ejemplares “grandes” en la X región, con un rango de longitud entre los 10,0 y 16,5 cm; observándose una estructura de talla unimodal con moda en los 12,5 cm; el 65,0% de los registros presentaron una longitud total mayor a la moda mientras que solo el 3,6% registró una longitud total inferior a 11,0 cm. En la XI región registros de longitud total (cm), indican la presencia de ejemplares comprendidos en un rango entre los 4,5 y 17,5 cm; observándose una estructura de talla con características bimodal con longitud modal principal en los 10,5 cm; el 31,5% del total de los registros presentaron una longitud total menor a los 10,5 cm; mientras que solo el 27,4% registró una longitud superior a los 12,0 cm. Cubillos et al. (2011) reportan en la X región, una longitud promedio de ejemplares en 13,3 cm con un peso promedio de 18,6 g (un total de 1319 ejemplares colectados); mientras que en la XI región la longitud promedio reportada alcanzó los 11,0 cm con un peso promedio de 10,1 g (un total de 3743 ejemplares colectados); similar información es entregada en el estudio realizado por Niklitschek et al. (2009), una longitud promedio de 13,8 cm para ejemplares colectados en la X Región; una longitud promedio de 8,4 cm para ejemplares colectados en la XI Región. En ambos estudios acústicos reportan diferencias significativas en la longitud promedio entre zonas y una disminución de la talla media de ejemplares de Norte (Seno Reloncaví – X región) a Sur (fiordos y canales del sector sur de la XI región). En la Figura 5 se presenta la información de longitud total en cm, obtenida por región incluyendo las muestras procedentes de la XII región y la plataforma continental Argentina. Se observa una disminución de la talla de norte a sur, para muestras de la plataforma chilena, y un aumento de ella en muestras provenientes de la costa Atlántica.

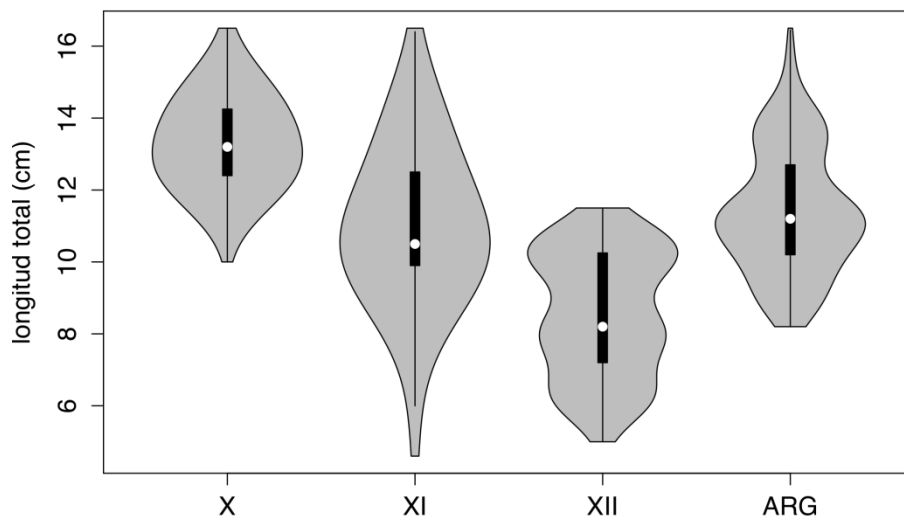


Figura 5. Grafico de Violín para el registro de longitud total en cada una de las regiones incluidas en el estudio. Punto blanco (mediana); Barra negra (cuantiles de 25 y 75%); Área gris (frecuencia de las observaciones)

Información de estructura de talla y longitud promedio de ejemplares en la costa Atlántica, provienen tanto de campañas de colecta de información realizadas en el año 1974 (febrero-mayo) y en el año 1978 (septiembre-octubre) (Gru. & Cousseau 1982), como de las campañas acústicas del año 1996. Campañas de muestreo sobre la costa de la provincia de Santa Cruz (año 1974), registran la presencia de ejemplares comprendidos en un rango de talla entre los 7,0 a 15,5 cm de longitud total, con una longitud total promedio de 11,03 cm. Información para esta misma zona pero obtenida en la campaña de muestreo del año 1978, indican la presencia de ejemplares entre los 5,0 y 14,8 cm de longitud total, con una longitud total promedio de 11,33 cm. Una campaña de muestreo en la zona Norte de Islas Mavinas (año 1978), indican la presencia de ejemplares de mayor tamaño los cuales fluctuaron entre los 11,5 y 19,0 cm de longitud total, con una longitud total promedio de 14,84 cm. En las campañas acústicas del año 1996, se indica la presencia de ejemplares de sardina austral con un amplio rango de longitud total, esto es, entre 3,6-15,6 cm en la campaña de otoño (“EH-04/96”) y entre 5,2-16,8 cm en la campaña de primavera (“OB-13/96”), denotaron un predominio de ejemplares de 10,0 cm de longitud total, con tendencia a aumentar la talla media desde el norte hacia el sur. Ejemplares sobre los 14,0 cm de longitud total se reportan escasos y con presencia casi exclusiva en los canales fueguinos y el Estrecho de Magallanes (Hansen et al. 1993;

Mandirola 1996a,b; Hansen 1999). En la Tabla 5, se presenta un resumen de la información disponible en relación a la talla promedio y rango de tallas registrado para sardina austral sobre su rango de distribución geográfica.

Tabla 5. Resumen de la información disponible de longitud total promedio y rango de talla de sardina austral para distintas áreas de distribución

Referencia	X Región	XI Región	Argentina/ continental	Islas Malvinas
Niklitscheck et al. (2009)	12,0 cm (año 2008) (Seno Reloncavi) (n=3.498) 15,7 cm (año 2008) (Chiloe insular Sur) (n=1.135)	8,0 cm (año 2008) (Canal Moraleda) (n=380) 7,6 cm (año 2008) (Canal Errázuriz, Costa y Estero Elefantes) (n=1.248) 8,2 cm (año 2008) (Fiordos y canales orientales de Aysén, Norte Isla Meninea) (n=480) 6,5 cm (año 2008) (Fiordos y canales orientales de Aysén, Sur Isla Meninea) (n=494) 11,5 cm (año 2008) (Canales Occidentales de Aysén)(n=888)		
Cubillos et al. (2011)	13,3 cm (año 2010) (n=1319)	11,0 cm (año 2010) (n=3743)		

Seguimiento de la Pesquería (IFOP). Aranis et al. 2005; 2007; 2009; 2011.	14.46 (año 2006) (n=19.910) 13.92 (año 2007) (n=28.767) 13.25 (año 2008) (n=21.891) 13.24 (año 2009) (n=21.103) 12.40 (año 2010) (n=20.304) 12.72 (año 2011) (n=15.896)			
Gru. & Coussea (1982)			11,03 cm (año 1974) (n=2820) rango talla 7,0 – 15,5 11,34 cm (año 1978) (n=509) rango talla 5,0-14,8	14,84 cm (año 1978) (n=305) rango talla 11,5-19,0cm
Crucero “EH-04/96”			8,54 cm (año 1996) (n=951) rango talla 3,6 – 15,6 moda=10,0 cm	
Crucero “OB-13/96”			9,7 cm (año 1996) (n=1454) rango talla 5,2 –16,8 moda= 10,0 cm	

Tasa de Crecimiento

La edad y crecimiento de sardina austral ha sido estudiada por varios autores (Tabla 6). En Chile, Cerna et al. (2007) estimaron los parámetros de crecimiento del modelo de von Bertalanffy, a saber la longitud asintótica ($L_{\infty} = 17,8$ cm), coeficiente de crecimiento ($K = 0,66$ por año), y la edad cuando la longitud es cero ($t_0 = -1,07$ años) y una edad máxima de 6 años, a partir de un total de 2.915 otolitos de sardina austral del mar interior de Chiloé, obtenidos entre septiembre de 2005 y diciembre de 2006. La estructura de tallas fluctuó entre 9.5 y 18.5 cm de longitud total. A su vez, Cardenas et al. (2009) estima los parámetros de crecimiento para la Región de Aysén, considerando dos subzonas; a saber: fiordos ($L_{\infty} = 12,2$ cm; $K=1,24$ por año; $t_0 = 0,05$ años) y canales centrales ($L_{\infty} = 13,2$ cm; $K = 1,22$ por año; $t_0 = 0,05$ años). En la Figura 6, se presenta la transformación logarítmica de los parámetros de crecimiento de L_{∞} y K , en el cual se observa la diferencia entre *S. fueguensis* y *S. sprattus*.

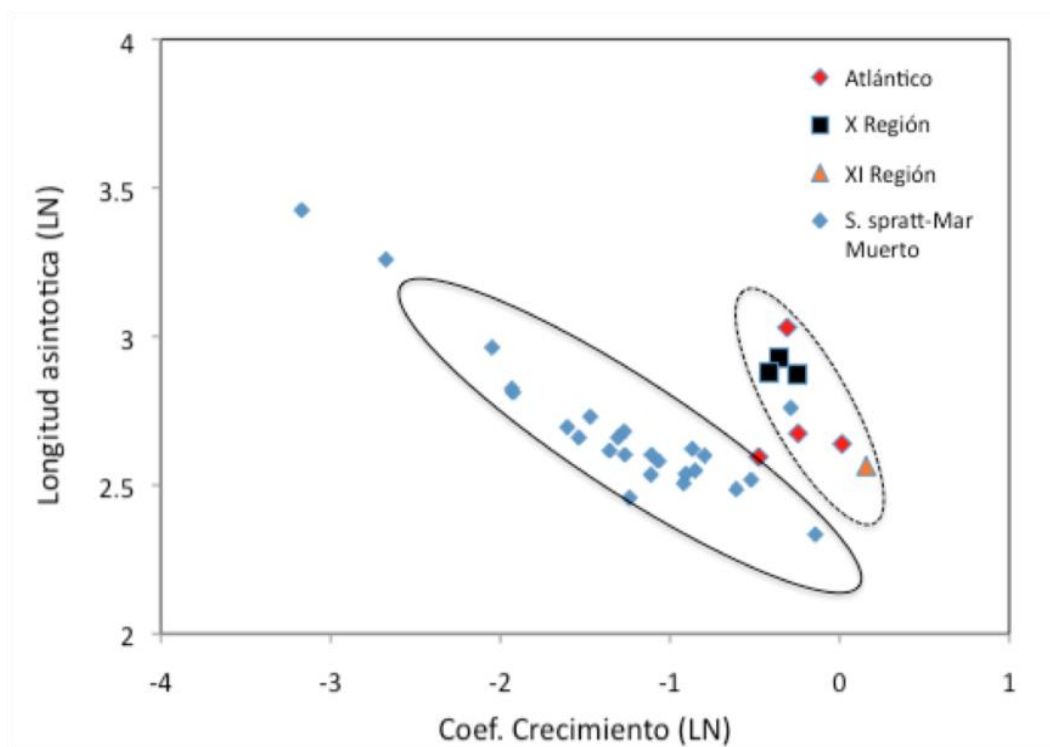


Figura 6. Transformación logarítmica de los parámetros de crecimiento de L_{∞} y K , en el cual se observa la diferencia entre *S. fueguensis* y *S. sprattus*.

El índice de desempeño de crecimiento (ϕ' (Φ)); considerado como un proxy de la disponibilidad de energía de un hábitat o nicho dado, está relacionado con el desempeño del crecimiento y de aquí al metabolismo y consumo de alimento. La estimación de valores de ϕ , se presentan en la Tabla 6, estos resultados indican que *Sprattus fueguensis*, tiene en general valores más altos que los registrados por *Sprattus sprattus* del Mar Negro. Por otro lado, comparando las estimaciones obtenidas para los registros en Sur América, se observa que *S. fueguensis* del Atlántico sur, presenta valores desde 2.22 a 2.50, con un máximo dado, por los altos valores de longitud asintótica de 20,7 y un K de 0.73 reportado por Gru & Cousseau (1982), para los especímenes registrados alrededor de las Islas Malvinas; por su parte *S. fueguensis* presente en la zona sur de Chile, registra como promedio un ϕ' 2.35. En términos de este índice, Pauly y Munro (1984) indican que especies más relacionadas, pertenecientes a una misma familia presentarían valores de ϕ muy similares, e igualmente, encontraron que, dentro de una familia, los valores de ϕ están normalmente distribuidos.

Respecto a la tasa de crecimiento entre juveniles y adultos (Tabla 6), resultados indican que la tasa de crecimiento más alta ocurre en la sardina austral de las Islas Malvinas, seguidas por aquellos ejemplares de sardina austral del mar interior de Chiloé. Respecto a la información de las provincias de Santa Cruz y Tierra del Fuego (Atlántico al sur de los 50°S) presentan las tasas de crecimiento más bajas, probablemente debido al bajo valor de la longitud asintótica, la cual se correlaciona con el coeficiente de crecimiento ($r = -0.734$). Por otro lado, comparación con la especie *S. Sprattus*, esta presenta valores menores de tasa de crecimiento que *S. fueguensis*, estos son menores a 1, sin embargo, en el Mar Adriático, de Croacia, reportado por Ticina (2000), presentan valores más altos, de aproximadamente de 4.16 para G_{juv} y 1.54 para G_{adul} .

Tabla 6. Parámetros de crecimiento en longitud, índice del desempeño del crecimiento (ϕ'), y tasa de crecimiento de juveniles (G_{juv}) y de adultos (G_{adul}) de *Sprattus fuegensis*, sardina austral en diferentes localidades y de *S.sprattus* de Mar negro.

Ssp	L_{∞} (cm)	K (años ⁻¹)	t_0 (años)	ϕ'	G_{juv}	G_{adul}	Localidad (año muestras) (metodología)	Autor	
<i>S.fuegensis</i>	14.5	0.783	0.096	2.22	3.33	0.59	Provincia Santa Cruz (1974) (Otolios)	Gru & Cousseau (1982)	
	20.7	0.734	0.345	2.50	7.67	5.10	Norte Islas Malvinas (1978) (Otolios)	Gru & Cousseau (1982)	
	13.4	0.621	-0.34	2.05	3.25	0.30	Provincia Santa Cruz (1992) (Otolios)	Hansen et al (1993)	
	14.0	1.015	0.14	2.30	3.81	0.25	Atlántico al sur 50° (1996) (Otolios)	Hansen (1999)	
	17.7	0.78	-0.48	2.39	5.81	3.08	X Región (2005) (Otolios)	Aranis et al. (2005)	
	18.7	0.70	-0.36	2.39	5.92	3.47	X Región (2005) (DFL- MIX)	Aranis et al. (2005)	
	17.8	0.66	-1.07	2.32	4.98	2.67	X Región (2005- 2006) (Otolios)	Cerna et al. 2007	
	13.0	1.17	0.05	2.30	3.22	0.88	- XI región (Aysén)	Cardenas et al. 2009	
	<i>S.sprattus</i>	14.3	0.215	-2.97	1.64	0.87	0.12	Mar Negro (Bulgaria)	Stoyanov (1965)

						Mar Negro	
14.6	0.281	-1.6	1.78	1.22	0.24	(Bulgaria)	Cautis (1971)
					-	Mar Negro	
13.46	0.451	-1.12	1.91	1.45	0.13	(Bulgaria)	Ivanov(1983)
					-	Mar Negro	Daskalov & Ratz
13.5	0.33	-0.56	1.78	1.07	0.08	(Bulgaria -2009)	(2011)
					-	Mar Negro	Daskalov & Ratz
13.68	0.258	-1.88	1.68	0.88	0.02	(Rumania-2009)	(2011)
					-	Mar Negro	Daskalov & Ratz
11.68	0.29	-1.5	1.60	0.41	0.60	(Ucrania-2009)	(2011)
					-	Mar Negro	Daskalov & Ratz
10.32	0.867	0.651	1.97	0.06	2.97	(Turkia-2009)	(2011)
						Mar Adriatico	
15.8	0.75	-0.73	2.27	4.16	1.54	(Croacia)	Ticina (2000)
					-	Mar Negro	Prodanov et al
12.62	0.329		1.72	0.78	0.37	(Bulgaria-1977)	(1997)
						Mar Negro	Prodanov et al
30.73	0.042		1.60	0.86	0.71	(Bulgaria-1978)	(1997)
						Mar Negro	Prodanov et al
14.3	0.271		1.74	1.10	0.15	(Bulgaria-1979)	(1997)
						Mar Negro	Prodanov et al
16.85	0.145		1.61	0.96	0.45	(Bulgaria-1980)	(1997)
					-	Mar Negro	Prodanov et al
12.41	0.594		1.96	1.28	0.80	(Bulgaria-1981)	(1997)
					-	Mar Negro	Prodanov et al
12.8	0.427		1.84	1.09	0.41	(Bulgaria-1982)	(1997)
					-	Mar Negro	Prodanov et al
13.21	0.344		1.78	1.02	0.19	(Bulgaria-1983)	(1997)
					-	Mar Negro	Prodanov et al
12.02	0.544		1.90	0.96	0.94	(Bulgaria-1984)	(1997)
					-	Mar Negro	Prodanov et al
13.5	0.282		1.71	0.92	0.07	(Bulgaria-1985)	(1997)

					-	Mar Negro (Bulgaria-1986)	Prodanov et al (1997)
	12.65	0.404		1.81	0.97	0.44	
	26.03	0.069		1.67	1.09	0.85	Mar Negro (Bulgaria-1987) Prodanov et al (1997)
	19.36	0.129		1.68	1.18	0.72	Mar Negro (Bulgaria-1988) Prodanov et al (1997)
	15.34	0.23		1.73	1.17	0.37	Mar Negro (Bulgaria-1989) Prodanov et al (1997)
	12.27	0.399		1.78	0.81	0.59	- Mar Negro (Bulgaria-1990) Prodanov et al (1997)
	14.81	0.201	-2.79	1.64	0.92	0.21	Mar Negro (Bulgaria-99a99) Prodanov et al (1997)
	16.64	0.146	-3.21	1.61	0.93	0.42	Mar Negro (Bulgaria- 1999) Prodanov et al (1997)
<i>S.sprattus</i> <i>phaelericus</i>	13.76	0.42	-1.09	1.90	1.47	0.00	Mar Negro (Turkia) Avsar (1995)

Análisis de la Relación Longitud/Peso

Se analizó base de datos (longitud total (cm) y peso total (g)), a través de Modelos Mixtos No-lineales, con el objetivo de determinar la existencia de diferencias significativas en los parámetros de la relación longitud-peso de sardina austral entre regiones (Lai & Helser 2004). Resultados de este análisis se presentan en la Tabla 7; los cuales indican la no existencia de diferencias significativas entre regiones. En la Figura 7 se presenta la relación longitud – peso para cada una de las regiones y los residuales desde los modelos.

Tabla 7. Resultados del análisis de la relación longitud-peso para sardina austral, a través de Modelos Mixtos No lineales (Lai & Helser 2004).

	Modelos Mixtos No lineales			
	Pendiente variable		Intersecto Variable	
Regiones	Intersecto	Pendiente	Intersecto	Pendiente
X	0.00197	3.09490	0.00582	3.08638
XI	0.02315	3.11608	0.00614	3.08671
XII	-0.016205	3.07672	0.00554	3.08610
Argentina	0.013813	3.10674	0.00605	3.08661
AIC	26445.4		26431.9	
Nivel Significancia	NS		NS	

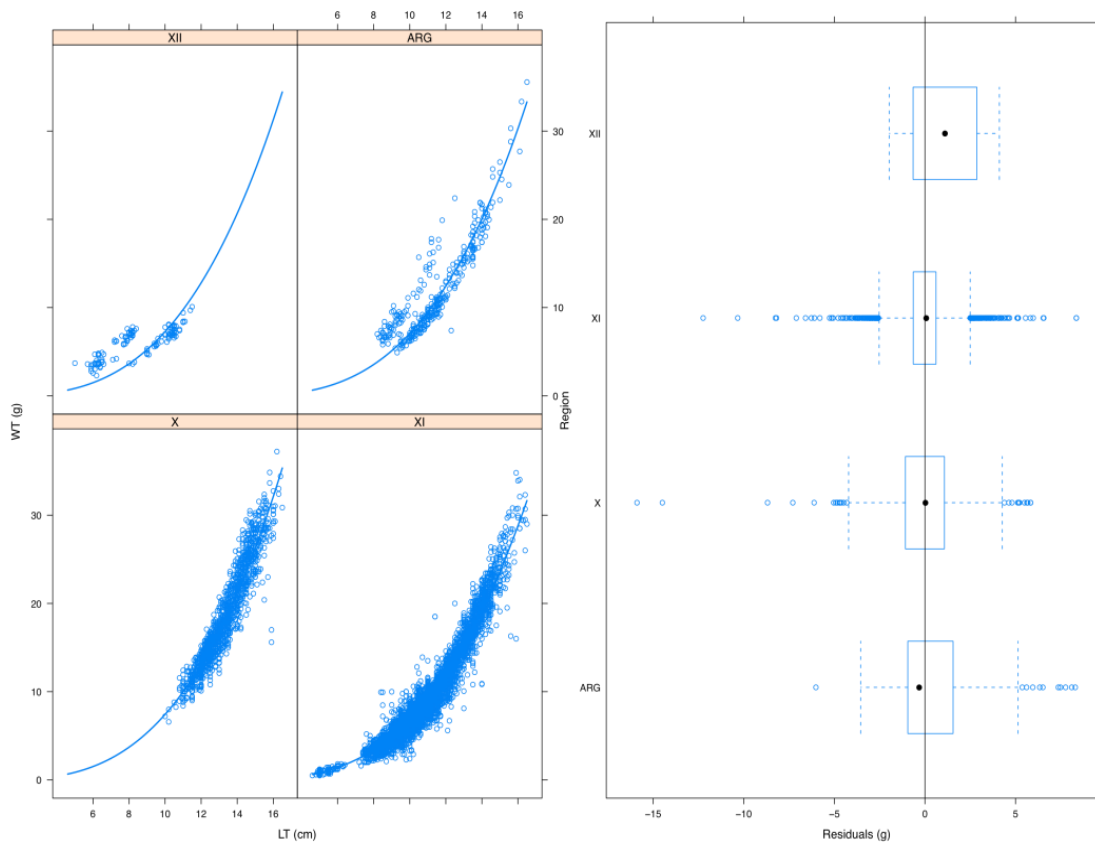


Figura 7. Ajustes de la relación longitud-peso de sardina austral para diferentes zonas de estudio (Izquierda). Residuales de la relación desde Modelos Mixtos No lineales (derecha).

Resultados de la revisión de antecedentes sobre la relación Longitud-Peso y parámetros reportados en diferentes zonas y periodos; se presentan en la Tabla 8; mientras que en la Figura 8 se presenta la tendencia de los parámetros de esta relación (Log a y Log b) para información registrada desde literatura.

Tabla 8. Parámetros de la relación longitud-peso de sardina austral, reportados a lo largo de su distribución geográfica.

a	b	n	ZONA	Fuente
				Cubillos et al.
0.007	3.038	1319	X Región	2011
			X Región	
0.009	2.893	2155	IFOP (2004)	FIP 2004-39
			X Región	Cárdenas et al
0.001	3.800	424	(Chiloe Insular)	2009
			X Región	
0.007	2.984	3514	IFOP (2007)	PINV 2009
			X Región	
0.003	3.261	10499	IFOP (2008)	PINV 2009
			X Región	
0.005	3.115	16130	IFOP (2009)	PINV 2009
			XI Región	Cárdenas et al
0.016	3.800	320	(Canales longitudinales)	2009
			XI Región	Cárdenas et al
0.003	3.300	588	(Canales longitudinales)	2009
			XI Región	
			(Fiordos y canales	Cárdenas et al
0.019	2.500	181	orientales)	2009
			XI Región	
			(Fiordos y canales	Cárdenas et al
0.004	3.000	301	orientales)	2009
			XI Región	Cárdenas et al
0.008	2.920	479	(Canales occidentales)	2009
				Cubillos et al.
0.006	3.038	3743	XI Región	2011
				Miranda et
0.006	3.015	1986	XI Región	al.2010

0.009	2.860	765	XI Región	Miranda et al.2010
0.007	2.981	510	XI Región	Miranda et al.2010
0.008	2.920		XI Región	Niklitschek et al, 2009
0.004	2.942	3064	Provincia Santa Cruz	Gru & Cousseau, 1982
0.002	3.257	133	Norte Islas Malvinas	Gru & Cousseau, 1982
0.001	3.313	227	Provincia Santa Cruz	Hansen et al. 1993
			Atlántico al sur 50°	
0.002	3.240	160	“EH 04/96”	Hansen, 1999
			Atlántico al sur 50°	
0.000	3.949	189	“OB 13/96”	Hansen, 1999

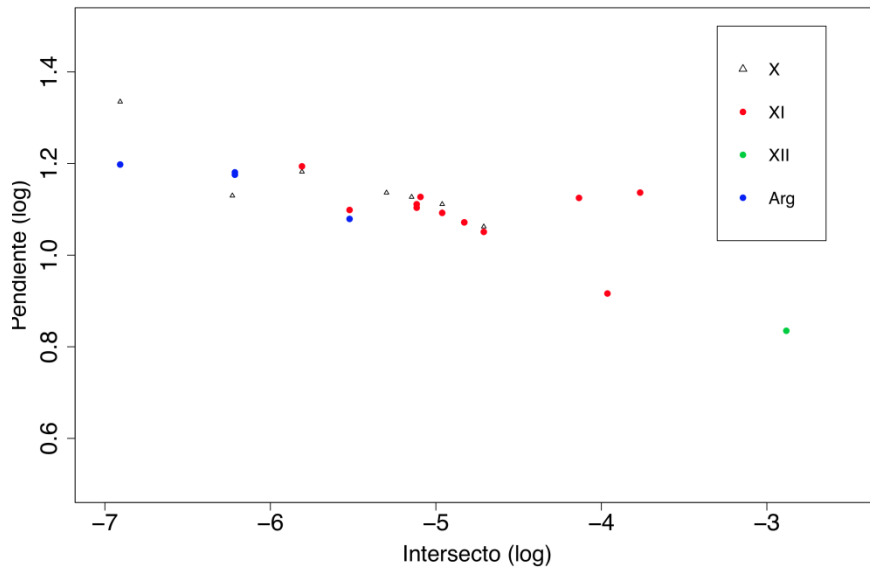


Figura 8. Diagrama xyPlot de los parámetros de la relación longitud-peso de sardina austral (pendiente e intersección), obtenidos desde la literatura y base de datos.

Tasa de Mortalidad Total

La revisión bibliográfica reveló escasos antecedentes sobre la determinación de mortalidad total en esta especie. Destacan antecedentes entregados por Hansen (1999) a partir de la información generada en los cruceros de prospección “EH-04/96” y “OB-13/96”, realizados sobre el litoral de las provincias de Santa Cruz y Tierra del Fuego; empleando diferentes metodologías tales como: linealización de la curva de captura y tres métodos de determinación indirecta (Pauly (1980); Rikhter y Efanov (1976); Hoenig (1983)). Este autor indica valores entre 1,40 (Crucero EH-04/96) y 1,51 (Crucero OB-13/96), la cual sería equivalente a la mortalidad natural, en este caso, debido a la ausencia de pesca comercial. Antecedente previo, entregado por Barabanov y Tshcherbich (1977) estiman por el mismo método un valor de $Z = 1,66$ para ejemplares en el área alrededor de las Islas Malvinas, los cuales alcanzan una mayor longitud total (>20 cm LT) que los registrados en la costa continental. Para la costa Chilena no se registra antecedentes sobre este parámetro, en tal sentido, utilizando la información disponible de captura en número a la talla; aportada por el proyecto de seguimiento de la

pesquería en la X región desarrollado por IFOP (años 2010 y 2011); y utilizando el método de linealización de la curva de captura, se indica un valor se $Z= 2.01$ para el año 2010 y $Z=0.85$ para el año 2011. Para la XI región se utilizó la información disponible de abundancia en número a la talla; aportada por Cubillos et al. 2011(año 2010), resultados indican un valor se $Z= 2.87$. En la Tabla 9, se presenta los antecedentes de mortalidad total disponibles en la literatura revisada y estimados.

Tabla 9. Antecedentes de mortalidad total obtenidos de literatura revisada y estimados desde información disponible para sardina austral (*Sprattus fuegensis*).

Referencia	Mortalidad Total	Zona/Localidad
Barabanov y Tshcherbich (1977)	1,66 (Curva de captura)	Islas Malvinas
Hansen (1999) Crucero “EH 04/96”	1,40 (Curva de captura) 0,85 (Hoenig (1983))	Atlántico al sur 50°
Hansen (1999) Crucero “OB 13/96”	1,51 (Curva de captura) 0,92 (Hoenig (1983))	Atlántico al sur 50°
Información derivada pesquería (seguimiento IFOP)	2,01 (año 2010) (Curva de captura) 0,85 (año 2011) (Curva de captura)	X Región/ Mar Interior Chiloe
Información derivada Acustica (Cubillos et al. 2011)	2,87 (año 2010) (Curva de captura)	XI Región

Talla media de madurez

La revisión bibliográfica reveló la existencia de diferentes antecedentes sobre la talla media de madurez de esta especie en relación a la zona de su determinación. En el Atlántico, Feodorov & Barabanov (1976) han definido a la sardina fueguina como un desovante parcial con no menos de tres pulsos reproductivos por estación, cuya longitud y edad de primera madurez serían de 11,0 a 12,0 cm y 2 años, respectivamente. Shirokova (1978), concuerda en su estudio, con la talla de madurez obtenida por Feodorov & Barabanov (1976), pero con una edad equivalente a 3 años. Hansen et al. (1993), estiman una talla media de madurez de 11,12 cm con una edad de 1,72 años, sin embargo, Hansen (1999) estima una talla media de madurez igual 11,99 cm de LT con una edad equivalente a 2,05 años. Para la costa chilena, información sobre este parámetro presenta diferentes antecedentes, incluso para una misma región. Aranís et al. (2006) comunica una longitud de madurez de 11,0 cm de LT, a partir de muestras colectadas en el año 2005 sobre la X región (seguimiento de la pesquería); este mismo autor, reporta longitudes de madurez de 12,4 cm y 13,2 cm para muestras obtenidas en los años 2007 y 2009, respectivamente (muestras en la X región). Leal et al. (2011), para una muestra de sardina austral en aguas interiores de Chiloé, la comunica una longitud promedio de hembras maduras en 13,5 cm, representando una longitud de madurez mayor que otras estimaciones disponible para la misma región. Cubillos et al. (2011), a partir de un análisis regional del estado de madurez sexual histológico de 389 muestras de gónadas colectadas en el periodo reproductivo de esta especie año 2010 expone situaciones diferentes, determinando una talla media de madurez sexual de 13,3 cm de LT para las muestras colectadas en la X región; mientras que el análisis de las muestras colectadas en la XI región indican una talla media de madurez sexual de 9,40 cm de LT. Para la XI región, Niklitscheck et al. (2009) estimó la talla media de madurez en 10,1 cm; mientras que Miranda et al. (2010), para esta misma región estima la TSM en 12,5 cm. En la Tabla 10, se presenta los antecedentes de longitud de madurez disponibles en la literatura revisada.

Tabla 10. Talla media de madurez y Parámetros de ojiva de madurez para sardina austral (*Sprattus fuegensis*)

Talla de Madurez ($L_{50\%}$)	Parámetros ojiva de Madurez		Zona/localidad	Referencia
	Alfa	Beta		
11,0 a 12,0 cm LT			Atlántico Sur Occidental	Feodorov & Barabanov (1976)
11,12 cm LT			Atlántico Sur Occidental/Provincia Santa Cruz	Hansen et al. (1993)
11,99 cm LT	35.74	-0.298	Atlántico Sur Occidental/Provincia Santa Cruz	Hansen (1999)
11,0 cm LT			X región/Mar interior Chiloe	Aranis et al. (2006)
12,4 cm LT			X región/Mar interior Chiloe	Aranis et al. (2007)
13,2 cm LT			X región/Mar interior Chiloe	Aranis et al. (2009)
13,5 cm LT	25.87	-1.91	X región/Mar interior Chiloe	Leal et al. (2011)
13,3 cm LT	33.17	-2.48	X región/Mar interior Chiloe	Cubillos et al. (2011)
9,4 cm LT	19.91	-2.01	XI región/canales-fiordos interiores	Cubillos et al. (2011)
10,1 cm LT			XI región/canales-fiordos interiores	Niklitscheck et al. (2009)
12,5 cm LT	18.74	-1.499	XI región/canales-fiordos interiores	Miranda et al. (2010)

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

El propósito del análisis comparativo de los patrones de historia de vida es establecer con mayor propiedad la estructura poblacional de sardina austral, utilizando indicadores de dinámica poblacional para el recurso que se distribuye desde Seno de Reloncaví (X región - Chile) hasta Norte de la Provincia de Santa Cruz (Argentina), en el Océano Atlántico, incluyendo las Islas Malvinas.

Sobre la base de la distribución de la abundancia y biomasa, la especie sardina austral estuvo distribuida en gran parte del mar interior de la X región; mientras que en la XI región, sardina austral fue detectada acústicamente en gran parte de los canales prospectados, siendo su densidad homogénea en el área de distribución. Patrones espacio-temporales de abundancia/biomasa, sugieren: a) mayor abundancia numérica de este recurso en aguas del mar interior de Chiloé (X región), la que está sustentada básicamente por ejemplares grandes (sobre 12,5 cm LT); y b) la abundancia que se distribuye al sur de la Isla de Chiloé (canales y fiordos de XI región) está sustentada en ejemplares pequeños (moda en los 11,0 cm LT). Este patrón también se verifica en la estructura de tamaños registrada tanto en el seguimiento de la pesquería que realiza IFOP (2005 a 2011) como de información independiente de la pesquería (cruceros acústicos/ años 2008 y 2010). Análisis de la longitud total sugieren diferencias significativas entre regiones, con una disminución en la longitud total promedio de norte a sur (X región a XII). Información sobre la costa Atlántica, indican focos de abundancia/biomasa de este recurso sobre la costa de las provincias de Santa Cruz y Tierra del Fuego; como también alrededor de las Islas Malvinas. La estructura de tamaños revela la presencia de ejemplares de mayor tamaño alrededor de las Islas Malvinas (14,8 cm LT promedio), en contraste con lo registrado en el sector continental de las provincias de Santa Cruz y Tierra del Fuego (Sur de 55° LS), donde se registra rangos de talla entre los 3,5 y 15,5 cm de LT, con una moda relevante de ejemplares con 10,0 cm de LT ó menos. Análisis de la longitud total sugieren diferencias significativas entre ejemplares de la zona continental y los registrados alrededor de las Islas Malvinas; en el sector continental se registra un aumento de la longitud total promedio de Norte a Sur, con los ejemplares de mayor tamaño (14,0 cm T) registrados exclusivamente al interior de los canales fueguinos y el Estrecho de Magallanes.

Los resultados a nivel de aspectos de crecimiento, tal como parámetros, tasas de crecimiento y relación longitud-peso, indican tendencias coincidentes para este recurso en las distintas regiones. Respecto al análisis de la longitud asintótica, el coeficiente de crecimiento y el índice de desempeño de crecimiento (ϕ' (Φ)); resultados presentan valores similares, lo que sugiere alta relación entre los ejemplares; presentándose como un grupo altamente diferente al realizar comparaciones con valores presentados por *Sprattus sprattus* del Mar Negro (ver Figura 6, Tabla 6). Por otro lado, análisis de la relación longitud-peso mediante modelos mixtos no lineales, con la región como factor, no indican diferencias entre los ejemplares de cada región (ver Tabla 7, Figura 7), siendo la tendencia de las pendientes e interceptos de esta relación similares (ver Figura 3). Por último, información sobre talla media de madurez sexual, sugiere diferencias entre ejemplares del sector Atlántico y ejemplares presentes en la costa chilena, e incluso se registra ciertas diferencias entre ejemplares de regiones en la costa chilena. En tal sentido, Aranís et al. (2009) y Leal et al. (2011) para muestras obtenidas en la X región registran una talla media de madurez de 13,2 y 13,5 cm de LT, respectivamente. Mientras que para muestras de la XI región, Niklitscheck et al. (2009) y Cubillos et al. (2011) registran una talla media de madurez sexual de 10,1 y 9,4 cm de LT, respectivamente. En tal sentido, se indica que muestras de la X región, son colectadas principalmente en la zona norte del mar interior de Chiloé desde el seno de Reloncaví (41°30'LS) hasta el sur de la península de Huequi (42°32'LS); mientras que en la XI región la colecta de las muestras se desarrolla preferentemente en la parte sur del Canal Moraleda y sobre el Fiordo Aysén. Esto indica una considerable separación latitudinal en la obtención de muestras. Referente al sector Atlántico de la distribución de este recurso, los ejemplares presentan una talla media de madurez entre los 11,0 y 12,0 cm LT incluyendo aquellos ejemplares de Islas Malvinas. En este contexto, el proceso de madurez a la talla parece estar marcado por diferencias regionales, lo cual podría atribuirse a una separación latitudinal del recurso, aun efecto diferenciado de la pesca o ambas hipótesis.

CONCLUSIONES

La comparación de patrones de historia de vida de sardina austral en diferentes estratos geográficos sugiere que el recurso se distribuye en zonas donde la abundancia queda expuesta a discontinuidades, que en el caso de la Región de Los Lagos y la Región de Aysén se separan básicamente por la Boca del Guafo. La abundancia tiende a ser mayor hacia el Seno de

Relocanví, al norte de las Islad Butacheuques; mientras que en la Región de Aysén la mayor abundancia tiende a estar distribuída hacia el sur. En esta región, sin embargo, la densidad es más homogénea que en la Región de Los Lagos. Aunque no se tienen registros de abundancia en la Región de Magallanes, es probable que ocurra alguna conexión entre los efectivos explotables de sardina austral del Atlántico y del Pacífico a través del Estrecho de Magallanes (Claudio Buratti, INIDEP, com.pers.). Básicamente, los parámetros de crecimiento y de la relación longitud-peso parecen ser similares en un amplio rango geográfico, encontrándose mayores diferencias en la talla media de madurez sexual. En este caso, es más probable que tales diferencias se deban a los criterios histológicos que permitan decidir sobre si la madurez es funcional o estructural.

En consecuencia, aunque se detectan patrones de distribución de la abundancia al interior de la amplia distribución del recurso, no existe evidencia en los parámetros de historia de vida que permitan concluir que la sardina austral esté estructurada en más de una unidad poblacional.

Capítulo V: Aproximación basada en microquímica de otolitos

Autores: Edwin J. Niklitschek^{1,2}, Pamela Toledo^{1,2}, Oriana Rojas¹, Claudia Barría²

¹Universidad de Los Lagos, Centro i~mar

²Universidad Austral de Chile, Centro Trapananda

En este capítulo se responde el objetivo 2.1 el cual es “Determinar si *Sprattus fuegensis* presente entre la X y XII regiones de Chile, constituye una o más unidades poblacionales o stocks pesqueros independientes”.

ANTECEDENTES

Sardina austral *Sprattus fuegensis* es un recurso cuya pesquería y seguimiento se inician en Chile hace sólo 10 años (Aranis et al., 2007). Tanto la investigación como el seguimiento de la actividad comercial asociadas a esta pesquería se concentran, casi exclusivamente, en el mar interior de Chiloé, particularmente al norte de las Islas Desertores. La pesquería al sur de Los Lagos y en las regiones de Aysén y Magallanes se limita a la capturas para carnada, con excepción de un par de temporadas de pesca de investigación realizadas desde 2009 a la fecha, en la zona norte de la Región de Aysén.

Se desconoce la estructura de poblaciones y sub-poblaciones, el número y ubicación de zonas de desove y los patrones migratorios y de conectividad de *S. fuegensis* a lo largo de la costa Pacífica. La presencia de individuos adultos con gónadas maduras ha sido detectada en todo el mar interior de Chiloé (Aranis et al., 2006; Niklitschek et al., 2007; Niklitschek et al., 2009b), donde la actividad reproductiva se concentra entre septiembre y diciembre de cada año (Leal et al., 2011). Importantes concentraciones de juveniles del año (edad 0+) han sido observadas, durante primavera, en fiordos y canales aledaños de la Región de Aysén, particularmente, entre Puerto Aguirre y Estero Elefantes (Niklitschek et al., 2009b). Sin perjuicio de ello, la presencia de juveniles del año ha sido también reportada en la zona norte del Mar Interior de Chiloé, durante muestreos efectuados en otoño (Cárdenas, 2009; Niklitschek et al., 2009b). En la Región de Magallanes, por su parte, se han detectado huevos de esta especie durante muestreos de primavera efectuados en aguas interiores al norte del Estrecho de Magallanes, tales como

Canal Concepción, Estero Las Montañas y Golfo Almirante Montt (Landaeta et al., 2011; Landaeta et al., 2012).

La existencia y características de los eventuales ciclos migratorios de esta especie en el Pacífico son completamente desconocidos. De acuerdo a referencias de patrones de pesca de la Región de Los Lagos, el recurso se desplazaría hacia el sur para iniciar su proceso de desove, mientras que los pescadores de la Región de Aysén sugieren la existencia de migraciones oeste-este durante primavera-verano. De este modo, existiendo evidencia tanto de reproducción en aguas interiores de las tres regiones más australes de Chile, como de posibles desplazamientos reproductivos de importancia, surgen interrogantes claras sobre la conectividad entre zonas de desove, crianza y alimentación.

Uno de los métodos utilizados para el estudio de la estructura y conectividad de subpoblaciones (stocks) de especies ícticas está basado en la información obtenida a partir de técnicas químicas en otolitos. Los otolitos son estructuras calcáreas compuestas principalmente de carbonato de calcio y una poco conspicua matriz proteica. Se encuentran situados en el interior del aparato vestibular de los peces teleósteos y su principal función fisiológica es mantener la orientación y/o equilibrio (Campana, 1999). Además de su utilización como marcadores cronológicos (Pannella, 1971; Campana & Thorrold, 2001), se ha demostrado que estas estructuras incorporan a su matriz de carbonato de calcio inclusiones sutiles de elementos químicos de manera diaria. En un número importante de casos esta incorporación no es al azar, sino que refleja la concentración de dichos elementos en el medioambiente y/o es afectada por variables ambientales tales como temperatura y salinidad (Campana & Thorrold, 2001; Elsdon & Gillanders, 2002; Campana, 2005; Elsdon et al., 2008). Todo esto los convierte en una herramienta valiosa para reconstruir la historia ambiental de un pez y sus patrones migratorios, elementos valiosos para la identificación de stocks (Thorrold et al., 1997; Secor, 1999; Begg et al., 2005; Campana, 2005; Niklitschek et al., 2010; Secor, 2010).

Los métodos actuales de identificación de stock a partir del análisis microquímico de otolitos se basan en la cuantificación de las concentraciones de elementos trazas como calcio, bario, estroncio magnesio y manganeso y de isótopos estables, principalmente de carbono ($\delta^{13}\text{C}$), oxígeno ($\delta^{18}\text{O}$) y estroncio ($\delta^{87}\text{Sr}$). La proporción de isótopos de oxígeno en el otolito se encontraría relacionada con la temperatura, mientras que la de isótopos de carbono estaría

relacionada con el metabolismo, actividad reproductiva y/o nivel trófico (Kalish, 1991a; Wurster et al., 1999; Rooker & Secor, 2004).

El uso de análisis de isótopos estables en otolitos se ha utilizado en estudios de ecología de poblaciones de atún (Rooker & Secor, 2004; Rooker et al., 2008), bacalao (Campana et al., 1994; Høie et al., 2004), distintas especies de salmónidos (Kalish, 1991b; Barnett-Johnson et al., 2008; Ciancio et al., 2008), bacalao de profundidad (Ashford & Jones, 2007) y merluza de tres aletas (Arkhipkin et al., 2009; Niklitschek et al., 2010) entre otros.

En el presente trabajo mediante el análisis de las secciones primordiales de otolitos de sardina austral se sometió a prueba distintas hipótesis acerca del número de zonas discretas de crianza representado en cada zona. Se evaluó las siguientes hipótesis, comparando pareadamente las muestras procedentes de las tres zonas en estudio:

H0: Stock único: ausencia de diferencias significativas en la composición isotópica de la sección central de otolitos de adultos y de otolitos de juveniles capturados en las distintas zonas de estudio.

H1: Stocks múltiples: existencia de diferencias significativas en la composición isotópica de la sección central de otolitos de adultos y de otolitos de juveniles capturados en las distintas zonas de estudio.

H2: Stock múltiples con fidelidad natal: existencia de diferencias significativas en la composición isotópica de la sección central de otolitos de adultos y de otolitos de juveniles capturados en las distintas zonas de estudio, pero ausencia de diferencias significativas entre núcleos de otolitos de adultos y otolitos de juveniles dentro de una misma zona de estudio.

METODOLOGÍA DE TRABAJO

Área de estudio

El área de estudio comprendió el Mar Interior de Chiloé y el Sistema de Fiordos Patagónicos, divididos de acuerdo a sus límites administrativos que, en este caso, segregan también las principales pesquerías operando sobre el recurso (Figura 1):

- Zona 1: Región de Los Lagos
- Zona 2: Región de Aysén
- Zona 3: Región de Magallanes

Muestreo de otolitos.

El enfoque microquímico se basó en la obtención y preparación de muestras para la determinación de isótopos estables de oxígeno ($\delta^{18}\text{O}$) y carbono ($\delta^{13}\text{C}$) en otolitos de ejemplares juveniles y secciones de otolitos adultos procedentes de cada una de las tres zonas de estudio. Se definió como juveniles a aquellos individuos de edades 0+ y 1+ que presentaron una talla (LT) inferior a 12,5 cm. Esto, considerando la talla mediana de primera madurez de 13,5 cm reportada por Leal et al (2011).

El diseño de muestreo correspondió a un sub-muestreo dirigido del total de muestras disponibles, donde se buscó representar ambos estados de desarrollo (juveniles y adultos) en cada una de las tres zonas, con un número mínimo de al menos 25 muestras por zona (Tabla 1). Este tamaño muestral fue arbitrario y excedió tanto el número ofrecido en la oferta técnica ($n=20$) como el recomendado por un análisis previo de potencia estadística de la misma técnica en *Micromesistius australis* (Niklitschek et al., 2009a).

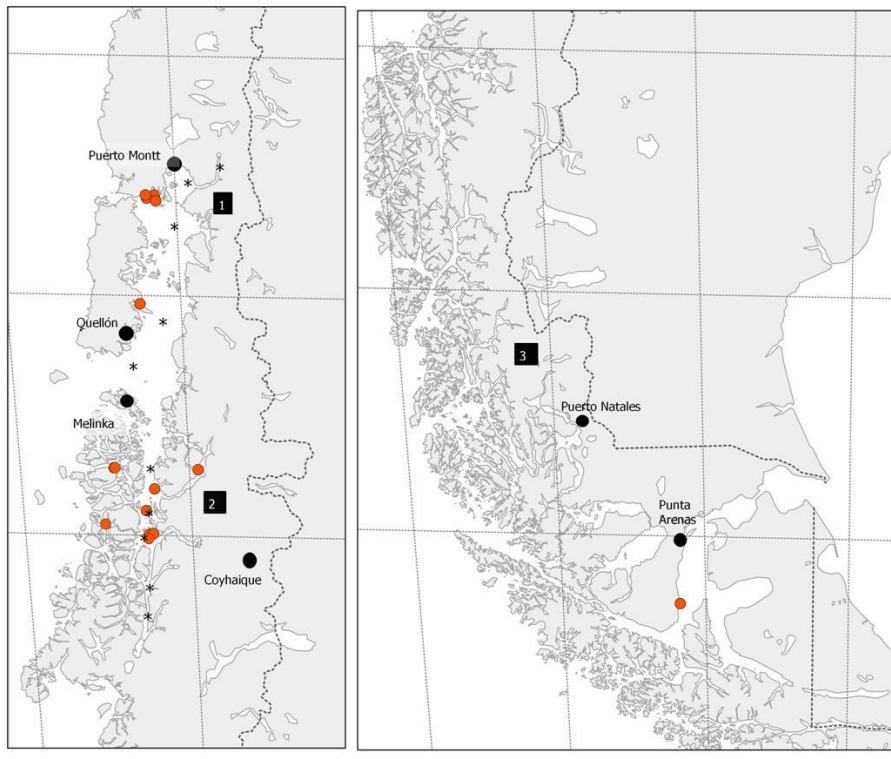


Figura 1: Lances para muestreo de otolitos (●) y muestreo de agua (*) realizado en las distintas zonas de estudio para análisis de isótopos estables de carbono y oxígeno.

Con el fin de obtener información sobre la variabilidad inter-anual, se procuró que las muestras de adultos pertenecieran a tres o más cohortes (año de nacimiento). De manera similar, se buscó recoger la variabilidad entre cardúmenes utilizando muestras procedentes de tres o más lances distintos por zona. Lo anterior permitió estimar y corregir los posibles efectos de la correlación (falta de independencia) esperable en otolitos nacidos el mismo año o capturados en el mismo lance. Para cumplir estos criterios se complementó las muestras del propio proyecto con otras obtenidas anteriormente por el equipo de trabajo.

Para alcanzar los tamaños muestrales previamente definidos, se comenzó con una sub-muestra inicial de 440 otolitos, los que fueron sonicados, limpiados y pesados. La edad de cada muestra se calculó a partir del número de anillos translúcidos presentes en el otolito saggita izquierdo, considerando los trabajos de Gru & Cousseau (1982) y de Aranís et al. (2006) que indican un anillo translúcido de crecimiento anual para esta especie. Para la lectura se utilizó un microscopio estereoscópico (Olympus SZ51) con aumentos de 20X a 40X y luz reflejada sobre

fondo negro. Antes de cada lectura, los otolitos fueron hidratados en agua destilada por unos minutos, lo que aumentó la definición de los anillos hialinos. Cada otolito fue leído por al menos dos lectores, aceptándose sólo aquellas muestras con lecturas coincidentes entre dos o más lecturas. Al final del proceso, se obtuvo un total de 178 otolitos de buena calidad (ambos otolitos presentes, no cristalizados y enteros) y de edad corroborada, los que permitieron satisfacer el diseño estratificado y superar todas las metas muestrales (Tabla 1), excepto en Magallanes, donde se contó con muestras de un único lance, dentro del cual todos los individuos fueron juveniles.

Tabla 1: Número de otolitos de *Sprattus fuegensis* analizados (contenido de $\delta^{18}\text{O}$ y $\delta^{13}\text{C}$ en secciones nucleares) por estado de desarrollo y zona.

Estado de desarrollo	Chiloé	Aysén	Magallanes	Total
Juveniles	33	54	25	112
Adultos	35	31	0	66
Total	68	85	25	178

Para el análisis microquímico, el otolito saggita izquierdo de cada muestra fue embebido en resina epóxica y luego seccionado para obtener la zona primordial formada durante las primeras semanas de vida. Para esto se utilizó una hoja diamantada montada en una sierra de corte lento (ISOMET, Buehler), ayudado mediante el desgaste de la zona no deseada con ayuda de un microtaladro (New-wave Research Inc). Los otolitos de edad 0+ fueron analizados enteros. Un análisis de varianza preliminar no mostró evidencia de diferencias significativas atribuibles al tratamiento previo de la muestra (enteros v/s secciones). La lectura de edad, preparación, sección transversal de las muestras y extracción de los prismas se realizó en el Centro i~mar de la Universidad de Los Lagos.

Análisis de laboratorio

Los fragmentos de otolitos fueron descontaminados de acuerdo a la técnica descrita por Rooker et al. (2001), cuyos principales pasos se resumen a continuación. Los fragmentos fueron sumergidos por 5 minutos en ácido nítrico al 1% para remover la contaminación de la superficie. Luego, se lavaron con agua deionizada (DDIH₂O) por 5 minutos, se secaron en una campana de flujo laminar y se almacenaron en viales plásticos limpios. La determinación de las proporciones de isótopos $\delta^{18}\text{O}$ y $\delta^{13}\text{C}$ se realizó en el Laboratorio Ambiental de Geoquímica de Isótopos de la Universidad de Arizona, para lo cual los fragmentos fueron pulverizados y se midieron con un dispositivo automatizado para preparaciones de carbonato (KIEL-III), acoplado a un espectrómetro de gases Finnigan MAT 252. De este modo, el sujeto de análisis corresponde al CO₂ generado por la digestión de las muestras con ácido fosfórico deshidratado en vacío, a 70°C (Kerr et al., 2007). Los resultados se expresaron en partes por mil relativas al estándar Vienna Pee Dee Belemnite, VPDB (estándares internacionales NBS-19 y NBS-18).

Muestras de agua

Con el fin de poder relacionar los resultados de isótopos estables de carbono y oxígeno obtenidos desde los otolitos con aquellos presentes en las áreas hipotéticas de crianza, se analizaron también muestras de agua procedentes de las mismas zonas en estudio tomando en cada estación muestras a las profundidades en que suele encontrarse el recurso (10 y 30 m) (Tabla 2). No fue posible obtener muestras de agua de la Región de Magallanes.

Tabla 2: Posición, salinidad y temperatura de las muestras de agua obtenidas en las regiones X y XI a profundidades de 10 y 30 m, año 2011 para análisis de isótopos de carbono y oxígeno.

Muestra	Profundidad (m)	Salinidad	Temperatura (°C)	Latitud (grados)	Longitud (grados)
1	30	32,34	10,8166	-41,702	-72,7765
2	10	30,8076	12,1238	-41,702	-72,7765
3	30	32,3429	11,3492	-42,152	-72,9927

4	10	32,1773	11,506	-42,152	-72,9927
5	30	33,4722	9,5278	-43,584	-73,6745
6	10	32,7783	10,8056	-43,584	-73,6745
7	10	28,4643	10,8134	-45,118	-73,5695
8	30	31,4167	10,06	-45,118	-73,5695
9	10	31,7437	11,3003	-43,1377	-73,2187
10	30	32,9002	10,371	-43,1377	-73,2187
11	10	27,8554	10,1115	-46,1917	-73,6688
12	30	24,4781	10,1066	-46,1917	-73,6688
13	30	32,3578	10,7689	-41,5557	-72,3225
14	10	29,2781	12,6521	-41,5557	-72,3225
15	10	28,0174	10,5341	-45,3698	-73,6588
16	30	30,504	10,2698	-45,3698	-73,6588
17	30	28,8113	10,1741	-45,8927	-73,6193
18	10	27,2629	10,2386	-45,8927	-73,6193
19	10	29,9161	11,2939	-44,6592	-73,5092
20	30	31,67	10,1123	44,6592	73,5092

Análisis estadístico e interpretación de resultados.

El análisis de las secciones primordiales de los adultos consideró una combinación de análisis univariados y multivariado orientada a someter a prueba las tres hipótesis ya indicadas acerca de la estructura de las sub-poblaciones (stocks) de *S. fuegensis*. El análisis univariado se basó en la evaluación de modelos lineales generalizados de tipo mixto, glmm (Searle, 1987; Zuur et al., 2007), implementados en el paquete R lmer4 (Bates et al., 2012). El análisis glmm se orientó a evaluar la existencia de diferencias entre zonas de procedencia y entre estados de desarrollo (adultos y juveniles) respecto de cada uno de los dos isótopos analizados, considerando los

posibles efectos aleatorios derivados de la correlación de las observaciones dentro de cohortes y dentro de lances. Los supuestos de normalidad y homocedasticidad requeridos por el análisis lineal fueron evaluados estadísticamente ($\alpha=0,01$), considerando las pruebas de Shapiro-Wilks y Levene, respectivamente (Zuur et al., 2010). El supuesto de linealidad fue evaluado contrastando la correlación entre errores y predicciones, mediante la prueba no paramétrica de Spearman.

Las pruebas multivariadas de hipótesis correspondieron a análisis de varianza (MANOVA) y análisis de modelos logísticos multinomiales. Estos últimos implementados en el paquete R “MASS” (Venables & Ripley, 2002). El supuesto de normalidad multivariada fue evaluado gráficamente mediante un plot cuantil-cuantil que contrastó la distribución observada de distancias de Mahalanobis con una distribución chi-cuadrado con dos grados de libertad. El supuesto de homocedasticidad de las matrices de varianza-covarianza fue evaluado mediante una prueba M de Box ($\alpha=0,01$).

A partir de la señal isotópica de las secciones nucleares de los otolitos extraídos de peces juveniles se construyó una función discriminante lineal, FDL (Fisher, 1936) y se analizó las tasas de errores de auto-asignación a través de un procedimiento de validación cruzada basado en la exclusión iterativa de cada una de las muestras empleadas para construir la FDL (Lachenbruch & Mickey, 1968). Luego, esta misma FDL fue aplicada a las secciones nucleares de otolitos extraídos de adultos capturados en las zonas de Chiloé y Aysén, con el fin de evaluar la fidelidad de los mismos respecto de sus propias zonas de crianza.

Las tasas de error del FDL pueden constituir una estimación inexacta de las tasas de mezcla, ya que confunden los efectos de mezcla e incertidumbre. Por ello, se utilizó un análisis de mezcla finita de distribuciones (Everitt & Hand, 1981), en adelante “análisis de mezcla”, para estimar la proporción de cada stock (hipotético) en cada área de muestreo. Para este fin se construyó un modelo de verosimilitud, siguiendo la formulación presentada por Niklitschek et al (2010), donde se estimó el vector de parámetros ψ que maximizaba la probabilidad conjunta de los datos observados en cada área de muestreo, dado el modelo de mezcla,

$$l(\psi|y_{i,j,m}) = \sum_{m=1}^2 \sum_{k=1}^K \sum_{j=1}^2 \sum_{i=1}^{n_m} \left[p_{k,m} \cdot \exp \left(\frac{\log(2\pi)}{2} + \frac{(y_{i,j,m} - \bar{y}_{j,k})^2}{2V[y_{j,k}]} + \log(V[y_{j,k}]) \right) \right]$$

donde,

$$p_k = \frac{1}{1+e^{-\beta_k}}; \text{proporción del stock } k \text{ en el área de captura } m \text{ (escala natural)}$$

- β_k = proporción del stock k en el área de captura m (escala logit)
 $\bar{y}_{i,j}$ = Media de la variable respuesta j estimada para el stock k
 $V[\bar{y}_{i,j}]$ = desviación estándar de la variable j estimada para el stock k
 $y_{i,j,m}$ = valor de la variable j observado en el espécimen i, colectado en el área

m.

Los parámetros del vector ψ pueden agruparse en dos categorías. La primera corresponde a las señales isotópicas (medias y desviaciones estándar) de ambos isótopos estables, en cada uno de los stocks hipotéticos. La segunda corresponde a las proporciones (escala logit) estimadas de cada stock en cada área de muestreo. En el caso de los juveniles, se estimó todos los elementos del vector ψ y se asumió un modelo de tres fuentes (una por cada zona de muestreo). En el caso de los adultos, las señales isotópicas de cada área de crianza fueron estimadas, de manera independiente, a partir de las muestras de juveniles. De esta manera, el análisis de mezcla de adultos se concentró en estimar las proporciones de cada stock k en cada área de muestreo m y el número de stocks o fuentes K que proporcionó el modelo más informativo, utilizando para esta selección el criterio de información de Akaike (1973).

RESULTADOS

Concentración de isótopos estables en el agua

El análisis univariado de las concentraciones medias de $\delta^{18}\text{O}$ en agua mostró diferencias significativas en la concentración de entre zonas (Chiloé y Aysén) y profundidades de muestreo (10 y 30 m), con mayores valores en Aysén y a 10 m, respectivamente (Figura 2). Sin embargo, al considerar las covariables salinidad y temperatura, fue posible concluir que estas diferencias estuvieron estrechamente relacionadas con diferencias en salinidad entre zonas y estratos de profundidad. En efecto, este último análisis evidenció una relación lineal positiva entre $\delta^{18}\text{O}$ y salinidad (Figura 3), seleccionó a esta última como la única variable explicativa significativa, descartando los efectos de zona, profundidad de muestreo y temperatura.

En el caso de $\delta^{13}\text{C}$, sólo fue posible encontrar diferencias significativas entre zonas ($p < 0.05$), con mayores concentraciones en el Mar Interior de Chiloé ($-1,43 \pm 0,125$), que en la zona de los Fiordos y Canales de Aysén ($-1,89 \pm 0,125$). Aunque existió una tendencia a observar mayores valores en superficie que en profundidad (Figura 2) y cierta colinealidad entre los valores de $\delta^{13}\text{C}$ y salinidad (Figura 3), ni estas variables explicativas ni la temperatura fueron significativas cuando se las consideró en conjunto con la zona.

El análisis multivariado (MANOVA) y multinomial de las concentraciones de $\delta^{18}\text{O}$ y $\delta^{13}\text{C}$ (Figura 4) falló en encontrar efectos significativos de la zona, profundidad y temperatura, confirmando efectos significativos de la salinidad sobre la distribución bivariada de estas dos variables. Estos resultados estuvieron claramente influenciados por la significativa correlación (Spearman, $p < 0,01$) encontrada entre la salinidad y la concentración de ambos isótopos (Figura 3). Se comparó por otra parte la verosimilitud de distintas hipótesis de segregación espacial de las muestras de agua:

H_0 : No segregación

H_1 : Segregación en dos zonas, definidas por el límite administrativo entre las regiones de Los Lagos y Aysén

H_2 : Segregación en tres zonas delimitadas por las constricciones de Desertores y Meninea

H₃: Segregación en cuatro zonas delimitadas por la combinación de límites administrativos y ambas constricciones.

H₄: Segregación en dos zonas, delimitadas por la constricción de Meninea.

De estas hipótesis alternativas sólo H1 y H4 mostraron ser significativamente superiores a la hipótesis nula ($p < 0,001$). De ellas, la hipótesis H4, que discriminó las muestras entre el norte y el sur de la Constricción de Meninea ($45^{\circ}16'S$, $73^{\circ}38'W$), presentó una verosimilitud significativamente superior a H1 (Figura 4).

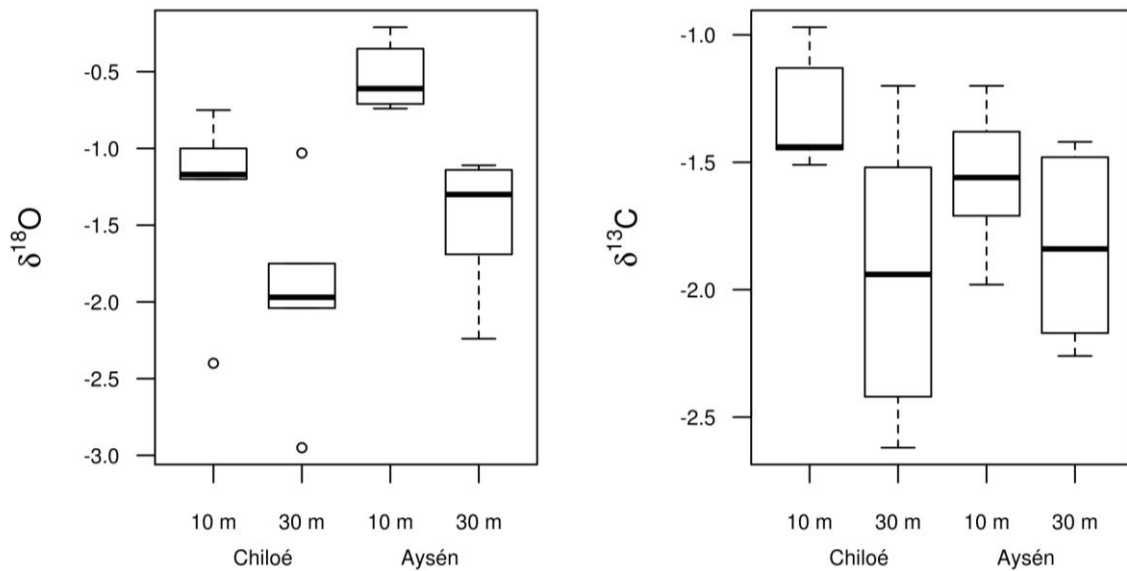


Figura 2: Concentración relativa de isótopos estables de oxígeno ($\delta^{18}O$) y carbono ($\delta^{13}C$) en las muestras de agua, colectadas a 10 y 30 m de profundidad en el Mar Interior de Chiloé y en la zona de Fiordos y Canales de Aysén.

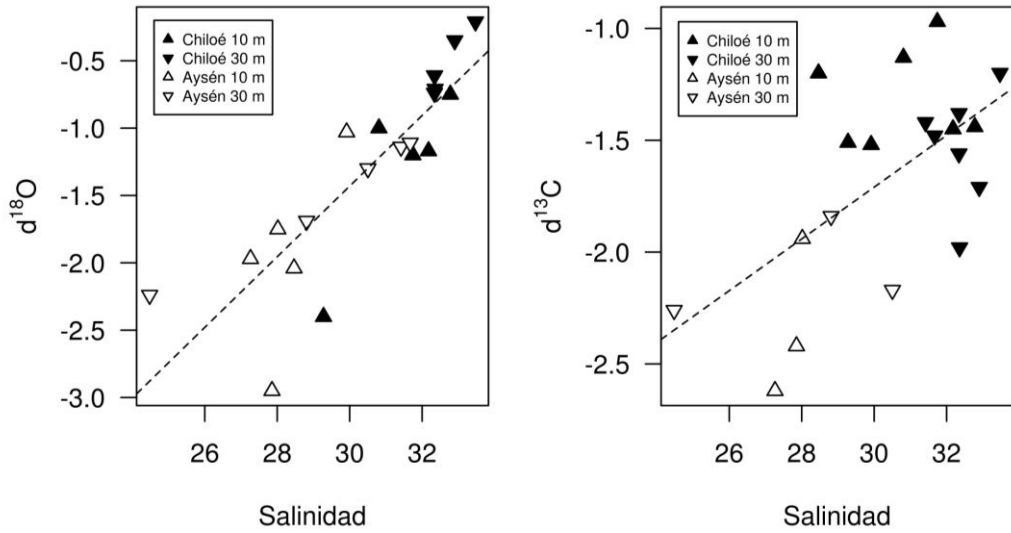


Figura 3: Relación entre $\delta^{18}\text{O}$ y salinidad (panel izquierdo) y entre $\delta^{13}\text{C}$ y salinidad (panel derecho), en muestras procedentes del Mar Interior de Chiloé y de la zona de Fiordos y Canales de Aysén, tomadas a 10 y 30 m de profundidad.

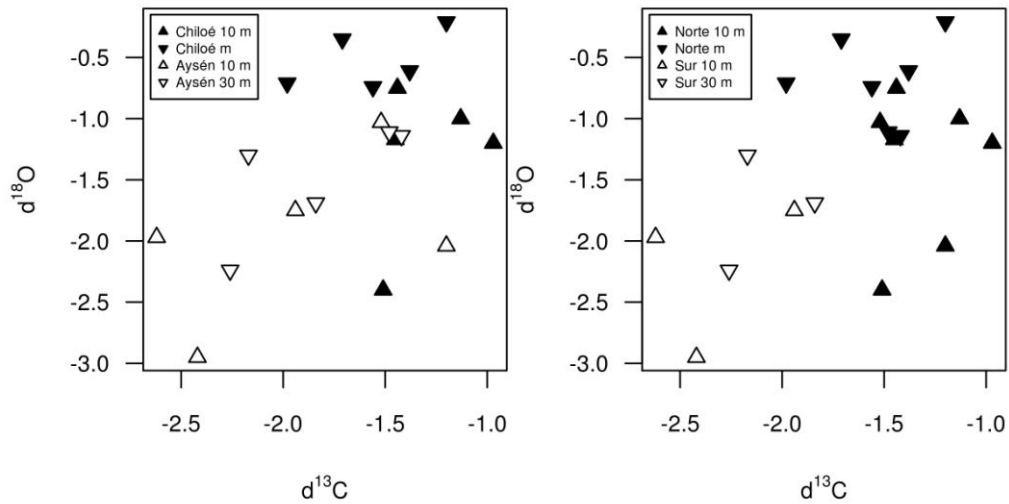


Figura 4: Diagrama bivariado de la concentración de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{18}\text{O}$ en muestras procedentes del Mar Interior de Chiloé y del Sistema de Fiordos y Canales de Aysén, tomadas a 10 y 30 m de profundidad. Panel izquierdo segrega muestras en función de las provincias administrativas de Chiloé y Aysén. Panel derecho lo hace en función de la Constricción de Meninea.

Concentración de isótopos estables en secciones nucleares de otolitos de *Sprattus fuegensis*.

Análisis univariado

El análisis univariado de la composición relativa de $\delta^{18}\text{O}$ en las secciones nucleares de otolitos de *S. fuegensis* (Tabla 3, Figura 5) mostró efectos significativos de la región ($p < 0,001$), pero no del estado de desarrollo ($p > 0,5$) de los peces muestreados. El análisis pareado de contrastes ortogonales en juveniles mostró diferencias significativas entre las regiones de Aysén y Chiloé ($p < 0,01$) y entre Aysén y Magallanes ($p < 0,01$), pero no entre Magallanes y Chiloé ($p > 0,5$). En el caso de los adultos, sin embargo, las diferencias entre Aysén y Chiloé no fueron altamente significativas ($0,05 < p < 0,1$). Ese resultado se asocia a un claro aumento en la dispersión de los valores de $\delta^{18}\text{O}$ medidos en la zona de Chiloé, las que pasan de una casi completa segregación respecto de las muestras de Aysén en las muestras de juveniles, a una casi completa sobreposición en la etapa adulta (Figura 6). Al comparar ambos estados de desarrollo, dentro de zonas, no se observó diferencias significativas entre adultos y juveniles.

El análisis de la concentración relativa de $\delta^{13}\text{C}$ arrojó resultados similares al $\delta^{18}\text{O}$, indicando diferencias significativas entre zonas ($p < 0,05$), pero no entre estados de desarrollo ($p > 0,3$). El análisis de contrastes ortogonales indicó diferencias significativas en la concentración relativa de $\delta^{13}\text{C}$ entre las zonas de Aysén y Chiloé, tanto para adultos ($p < 0,01$), como para juveniles ($p < 0,05$), pero no así entre Magallanes y cualquiera de las otras dos zonas analizadas (Tabla 3).

Tabla 3: Medias ajustadas (error estándar) de las concentraciones relativas de los isótopos estables ^{13}C y ^{18}O en secciones nucleares de otolitos de peces juveniles y adultos capturados en las distintas zonas del área de estudio. Ajuste corresponde a modelo lineal generalizado mixto (efectos aleatorios: cohorte y lance).

Zona	Estado de desarrollo	$\delta^{18}\text{O}$	$\delta^{13}\text{C}$
Chiloé	Juvenil	1,02 (0,217)a	-2,88 (0,128)a
Chiloé	Adulto	0,90 (0,215)a	-2,79 (0,125)a
Aysén	Juvenil	0,26 (0,143)b	-2,51 (0,085)b
Aysén	Adulto	0,15 (0,149)b	-2,42 (0,106)b
Magallanes	Juvenil	1,47 (0,502)a	-2,94 (0,254)ab

Análisis multivariado

Tanto el MANOVA como el análisis multinomial indicaron efectos significativos de la zona sobre la distribución bivariada de las concentraciones relativas de $\delta^{18}\text{O}$ y $\delta^{13}\text{C}$ en las secciones nucleares de los otolitos procesados, sin evidencia de diferencias significativas entre estados de desarrollo, ni de interacciones entre ellos y las zonas de procedencia de las muestras.

El modelo discriminante lineal construido con base en las señales isotópicas de los juveniles falló en clasificar correctamente sólo un 16% de las propias muestras de juveniles (Tabla 4), mientras que el error de clasificación aumentó a 36% cuando este mismo modelo fue aplicado a muestras de adultos (Tabla 5). Los mayores errores de auto-clasificación de juveniles correspondieron a la zona de Magallanes con un 28% de asignaciones equívocas, mientras que los errores de clasificación de las muestras de adultos fueron similares en Aysén y Chiloé.

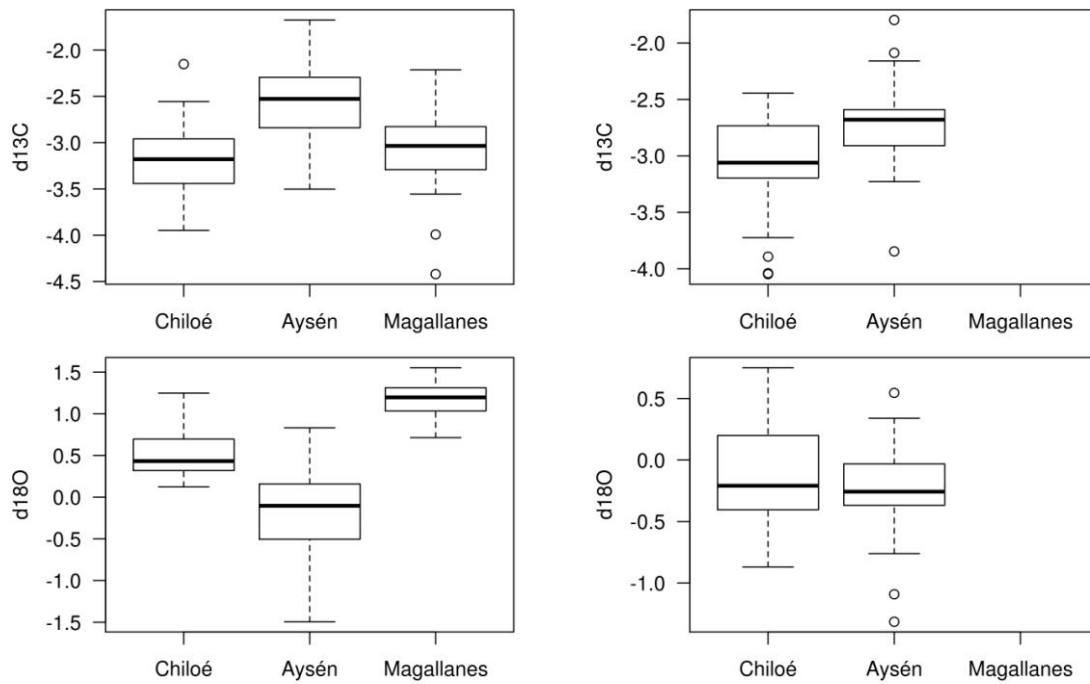


Figura 5: Concentraciones relativas de isótopos estables de carbono ($\delta^{13}\text{C}$) y oxígeno ($\delta^{18}\text{O}$) en secciones nucleares (cores) de otolitos de juveniles (panel izquierdo) y adultos (panel derecho) de *Sprattus fuegensis* según zona de captura.

Tabla 4: Matriz de auto-clasificación de juveniles (edades 0+ y 1+) de *Sprattus fuegensis*. Modelo discriminante lineal basado en la concentración de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{18}\text{O}$ en fragmentos nucleares de otolitos seccionados para representar el primer año de vida.

Procedencia	Asignación			
	Chiloé	Aysén	Magallanes	error
Chiloé	27	2	4	0,182
Aysén	5	49	0	0,093
Magallanes	7	0	18	0,280
Total	39	51	22	0,161

Tabla 5: Matriz de clasificación de adultos de *Sprattus fuegensis* (edades 2+ en adelante) según modelo discriminante lineal basado en la concentración de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{18}\text{O}$ en fragmentos nucleares de otolitos de juveniles (edades 0+ y 1+).

Procedencia	Asignación			
	Chiloé	Aysén	Magallanes	error
Chiloé	22	8	5	0,371
Aysén	11	20	0	0,354
Total	33	28	5	0,364

El análisis de mezcla de distribuciones finitas construido a partir del contenido de $\delta^{18}\text{O}$ y $\delta^{13}\text{C}$ en las secciones nucleares de otolitos de los juveniles seleccionó (menor AIC) un modelo de tres fuentes (zonas de crianza), las que fueron consistentes con las zonas de captura, asignando sólo un 2-13% de las muestras a otras procedencias (Tabla 6). El análisis de mezcla de los adultos (donde no se dispuso de muestras de Magallanes) basado en las concentraciones medias de $\delta^{18}\text{O}$ y $\delta^{13}\text{C}$ en juveniles, seleccionó un modelo de dos fuentes (Aysén y Chiloé), indicando una alta conectividad entre Aysén y Chiloé. De acuerdo a este modelo, un 26% de los adultos capturados en Chiloé provendría de la zona de crianza del stock “Aysén”, mientras

que un 32% de los adultos capturados en Aysén provendría de la zona de crianza del stock “Chiloé” (Tabla 7).

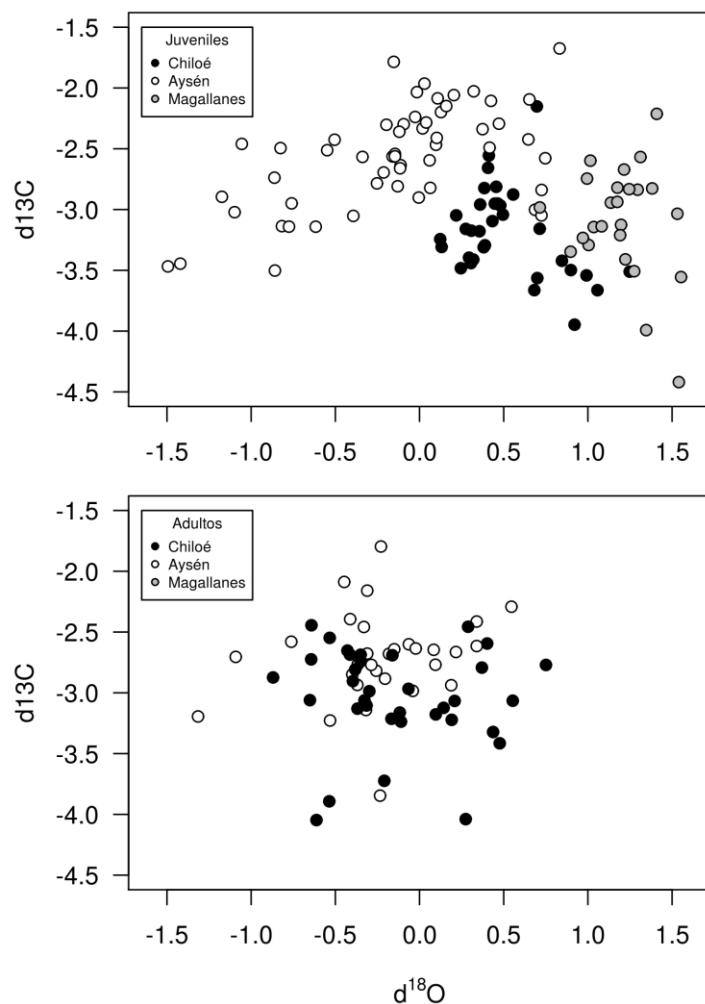


Figura 6: Diagrama bivariado de las concentraciones relativas de isótopos estables de carbono ($\delta^{13}C$) y oxígeno ($\delta^{18}O$) en secciones nucleares de otolitos representando los primeros meses de vida de juveniles (panel superior) y adultos (panel inferior) de *Sprattus fuegensis* según zona de captura.

Tabla 6: Matriz composicional estimada para juveniles (edades 0+ y 1+) de *Sprattus fuegensis* según área de captura. Estimaciones (y error estándar) basadas en modelo de mezcla de tres componentes, que maximiza la verosimilitud conjunta de las concentraciones de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{18}\text{O}$ medidas en secciones nucleares de otolitos de estos mismos juveniles.

Área de Captura	Componente o fuente		
	Chiloé	Aysén	Magallanes
Chiloé	0,87 (0,284)	0,07 (0,119)	0,06 (0,179)
Aysén	0,02 (0,032)	0,98 (0,032)	0,00 (n.a.)
Magallanes	0,05 (0,126)	0,00 (n.a.)	0,95 (0,126)

Tabla 7: Matriz composicional estimada para adultos (edades 2+ y superior) de *Sprattus fuegensis* según área de captura. Estimaciones (y error estándar) basadas en modelo de mezcla de dos componentes, que maximiza la verosimilitud conjunta de las concentraciones de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{18}\text{O}$ medidas en secciones nucleares de otolitos de estos mismos juveniles.

Área de Captura	Componente o fuente	
	Chiloé	Aysén
Chiloé	0,74 (0,262)	0,26 (0,262)
Aysén	0,32 (0,152)	0,68 (0,152)

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

El análisis y comparación univariada y multivariada de la composición isotópica de los otolitos de juveniles y adultos capturados no sustentaron la hipótesis nula de stock único y sugieren que una proporción significativa de los peces muestreados en Chiloé, Aysén y Magallanes desarrollaron su primer año de vida y permanecieron, luego, bajo condiciones ambientales distintas (hipótesis H1:múltiples stocks). Estos resultados indican zonas separadas de crianza (orígenes) para cada una de las tres áreas de muestreo, aunque no implican necesariamente la existencia de igual número de áreas de desove.

Los errores de auto-asignación en juveniles de la FDL (9-28%) y del análisis de mezcla de distribuciones finitas (2-13%) podrían ser el resultado de errores de precisión propios del análisis microquímico o de la variabilidad natural de las señales analizadas. Sin embargo, no es posible descartar completamente la existencia de algún nivel de mezcla en los primeros meses de vida, particularmente en las aguas interiores de Aysén y Chiloé. Llama la atención, sin embargo, que los mayores niveles de error en la auto-asignación de la FDL fueron observados entre Magallanes y Chiloé, donde la migración activa de los juveniles de edad 0+ entre Magallanes y Chiloé parece más improbable dada la gran distancia y el pequeño tamaño de los juveniles. Estos mayores errores de auto-asignación parecen estar relacionados primariamente con el menor número de muestras, lances y edades disponibles en Magallanes. Sin embargo, se debe reconocer cierta sobreposición entre Chiloé y Magallanes respecto en los valores de ^{13}C , lo que hace posible especular la existencia de similitudes ambientales entre uno o más de los factores ambientales que afectan la concentración relativa de ^{13}C en otolitos, a saber, temperatura, salinidad, concentración de $\delta^{18}\text{O}$ en el agua y posición trófica del stock (Campana, 1999). En este sentido, se debe considerar la condición más marina de las áreas de muestreo de juveniles de Chiloé y Magallanes (Golfo de Ancud y Estrecho de Magallanes, respectivamente), comparadas con la condición más estuarina de los fiordos y canales muestreados en Aysén.

La ausencia de diferencias univariadas y multivariadas en las señales isotópicas de juveniles y adultos, dentro de zonas, indica que una fracción significativa de los adultos permanece en áreas cercanas a sus áreas de crianza (hipótesis H2: múltiples stocks con fidelidad natal). Sin embargo, el análisis de modelos de mezcla proporcionó evidencia de niveles importantes (26-32%) de desplazamiento y mezcla entre los stocks de Aysén y de Chiloé. Esta situación no es consistente con la interpretación dada a resultados obtenidos en evaluaciones directas de esta especie (Niklitschek et al. 2009), donde las mayores concentraciones de juveniles en los fiordos

de Aysén fueron asociadas a un posible subsidio de esta zona al stock adulto explotado en Chiloé. Los presentes resultados sugieren, por el contrario, la existencia de fuentes (zonas de crianza) separadas para ambas zonas. Sin embargo, seguimos sin conocer la ubicación geográfica y las características específicas del hábitat que sustenta el desove y desarrollo temprano de *S. fuegensis*, en cada una de las tres zonas estudiadas. Para ilustrar lo anterior, es posible plantear que las áreas de crianza de estos stocks, siendo discretas, pudieran encontrarse fuera del área de estudio o en alguna de sus zonas contiguas. Generar este conocimiento es fundamental para poder entender cabalmente la dinámica espacial de la población y proteger sus hábitats esenciales.

CONCLUSIONES

Las diferencias significativas encontradas en la composición de isótopos estables de $\delta^{18}\text{O}$ y $\delta^{13}\text{C}$ en la sección nuclear de otolitos de juveniles y adultos capturados en distintas zonas del área de estudio permiten rechazar la hipótesis nula de stock único (H_0).

La ausencia de diferencias significativas en la composición de isótopos estables de $\delta^{18}\text{O}$ y $\delta^{13}\text{C}$ entre juveniles y adultos, dentro de zonas, proporciona evidencia de la existencia de múltiples unidades de stocks con niveles moderados de fidelidad natal (hipótesis H_2).

La evidencia obtenida del análisis de isótopos estables en otolitos sugiere la existencia de, al menos, tres orígenes discretos (áreas de crianza) de *S. fuegensis*, las que sustentarían los stocks de Chiloé, Aysén y Magallanes.

Se estimó una alta conectividad entre los stocks de Chiloé y Aysén, donde un 26-32% de los adultos analizados habría tenido un origen (zona de crianza) distinto al predominante en su respectiva zona de captura. No se encontró evidencia de adultos procedentes de Magallanes ni en Chiloé, ni en Aysén.

La evidencia obtenida sugiere la conveniencia de considerar y manejar cada una de las regiones analizadas como unidades discretas de stock pero tomando en consideración los altos niveles de conectividad encontrados en el presente estudio.

Recomendamos asimismo, focalizar nuevos estudios en la localización, caracterización y protección de los hábitats de desove y crianza de esta especie.

Capítulo VI: Aproximación basada en parásitos metazoos

Autores: Marcelo Oliva¹, María Teresa Gonzalez¹, Diego Cuello¹

Universidad de Antofagasta

En este capítulo se responde el objetivo 2.1 el cual es “Determinar si *Sprattus fuegensis* presente entre la X y XII regiones de Chile, constituye una o más unidades poblacionales o stocks pesqueros independientes”.

ANTECEDENTES

Desde el trabajo pionero de Herrington et al (1939), los parásitos han sido exitosamente utilizados como marcas biológicas en estudios poblacionales, no sólo de peces marinos sino también en moluscos, crustáceos e incluso cetáceos (ver referencias en Oliva y Sánchez, 2005). Bajo una perspectiva eminentemente pesquera, los parásitos han demostrado su utilidad como marcas biológicas que han permitido entender no solo movimientos migratorios y estructura poblacional, sino también discriminar el hábitat ocupado por peces (Oliva et al. 2004).

Como ha sido indicado por MacKenzie y Abaunza (2005), los principios básicos que gobiernan el uso de parásitos (tanto metazoos como protista) como marcas biológicas indican que un pez se infecta con una especie particular de parásito sólo cuando el pez (huésped) está en el área endémica de tal especie de parásito. La asociación huésped-parásito implica la existencia de dos tipos de parásitos, aquellos altamente específicos que a su vez representan un sistema que ha co-evolucionado y parásitos generalistas, los que están fuertemente asociados con procesos ecológicos más que evolutivos. En el primer caso tenemos una asociación en un escenario evolutivo que dará importantes pistas acerca de la estructura poblacional; en el segundo caso se obtendrá información referida a movimientos migratorios (Figura 1). Otra aproximación implica que si peces infectados se encuentran fuera del área endémica del parásito, podremos inferir que ese pez ha estado en algún momento de su historia de vida en tal área endémica (MacKenzie y Abaunza, 2005). Esta aproximación exige conocer la extensión exacta de la distribución geográfica de esa especie de parásito, un problema no fácil de resolver. En todo caso, dos postulados zoogeográficos refuerzan el uso de parásitos como marcas biológicas: las

primeras reglas biológicas de Von Ihering (1901) que indican que los animales acarrean a sus parásitos durante sus migraciones, y los postulados de Noble y Noble (1982) que indican que cuando una población se separa en dos o más grupos, entonces la fauna de parásitos de cada nuevo grupo tenderá a una divergencia.

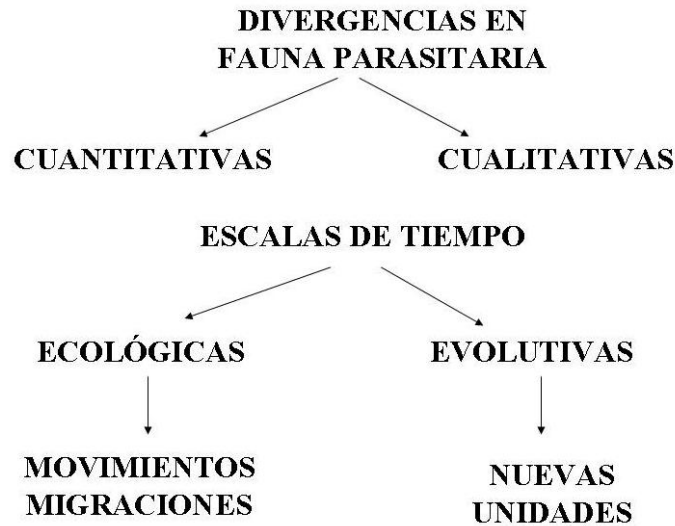


Figura 1. Modelo conceptual de la utilización de parásitos como herramienta en la identificación de movimientos migratorios y unidades de stock.

De cualquier modo, el uso de parásitos como marcas biológicas requiere que se cumplan ciertos criterios bien descritos por Mackenzie y Abaunza (2005) y que se pueden resumir en:

1. El parásito debe ser común en una población y raro o estar ausente en otra.
2. Debe tener, preferentemente, un ciclo de vida directo, infectando un solo huésped en su ciclo vital.
3. La infección debe ser de relativamente larga duración y cubrir al menos la escala de tiempo del estudio.
4. La incidencia (prevalencia) de infección debe permanecer relativamente constante.
5. Las condiciones ambientales a través de toda el área de estudio deben corresponder con los límites de tolerancia del parásito.

6. No se deben considerar ectoparásitos que sean fácilmente desprendible o que no dejen evidencias de su presencia, ya que pueden perderse en la captura o durante la manipulación.
7. El método de examen debe considerar un mínimo de disección y preferiblemente un alto nivel de especificidad por un hábitat definido.
8. El parásito debe ser fácilmente detectable e identificable.
9. El parásito no debe tener marcados efectos patológicos, ya que de lo contrario originará mortalidades selectivas o cambios conductuales en el huésped, afectando su valor como marcador.

Estos criterios son aceptados en su totalidad. Pero no es necesario que se cumplan simultáneamente.

Los parásitos han sido exitosamente utilizados en la identificación de la estructura poblacional en peces de importancia comercial de Chile, como la merluza *Merluccius gayi* (George - Nascimento 1996, Oliva y Ballon 2002), *Merluccius australis* (González y Carvajal, 1994), el cascajo o cabrilla española *Sebastes capensis* (Oliva y González, 2004), la anchoveta *Engraulis ringens* (Valdivia et al., 2007), la merluza de cola *Macruronus magellanicus* (Oliva, 2001) y el jurel *Trachurus murphyi* (George Nascimento 2000; Aldana et al., 1995; Oliva 1999), entre otros. El problema de la potencial fuente de variabilidad a escala local versus la variabilidad regional en la fauna de parásitos de la anchoveta fue clarificado por Chávez et al. (2007).

Las más actualizadas referencias sobre parásitos en organismos marinos en Chile (Muñoz y Olmos, 2007, 2008; Oliva 2010) muestran que *S. fuegensis* no ha sido estudiada desde un punto de vista parasitológico. Sin embargo, especies del género *Sprattus*, específicamente *S. sprattus* ha sido bien estudiada desde el punto de vista parasitológico, entre otros parásitos metazoos se ha identificado los nematodos *Hysterothylacium aduncum*, *Anisakis simplex* y *Cucullanus minutus* (Klimpel et al 2007; Grygiel, 1999; Avsar, 1997), el monogeneo *Pseudanthocotyloides heterocotyle* (Rahimian et al. 1999), los copépodos *Lernaeenicus sprattae* y *L. encrasicola* (Van den Broek, 2006; Schram, 1987) y los digeneos *Pseudobacciger harengulae* (Rahimian and Thulin, 2003; Dimitrov et al. 1999) y *Diplostomum sphaeaceum* (metacercarias) (Waluga et al. 1986). De los parásitos registrados en *S. sprattus*, el nematodo *A. simplex* y el monogeneo *P. heterocotyle* han sido

referidos como buenos indicadores del origen geográfico y de la existencia de unidades poblacionales de sus hospederos (Grygiel, 1999; Valdivia et al 2007)

METODOLOGIA DE TRABAJO

La toma de muestras incluyó la recolecta, en los puertos de desembarque, de 60 ejemplares de sardina austral por cada localidad considerada. En cada localidad se separaron las muestras según el siguiente protocolo:

a.- Identificación (numero correlativo para cada pez por cada localidad) medición (longitud a la horquilla, precisión no menor de 0.5 cm.).

b.- Lavado prolijo del cuerpo y cavidad bucal en un recipiente, filtrado del agua de lavado (filtro de 450 micras o menos) y fijación en alcohol (70°) del material filtrado el que será almacenado en frascos individuales por cada pez y enviado al laboratorio de Parasitología marina de la Facultad de Recursos del Mar- Universidad de Antofagasta.

c.- Disección de cada pez. Separación de branquias y lavado de las mismas según el procedimiento indicado en "b" para recuperar parásitos branquiales. Fijación y almacenamiento del material según indicado en "b". Retiro de órganos y tejidos: Corazón, tracto digestivo, gónadas, tejido renal y mesenterios de la cavidad celomática. Este material será adecuadamente fijado, preservado (alcohol 70°) y almacenado en frascos individuales, los que serán enviados al laboratorio de parasitología marina de la Facultad de Recursos del Mar- Universidad de Antofagasta.

d.- Identificación y cuantificación de parásitos metazoos recolectados.

e.- Análisis estadísticos

e.1.- Análisis univariado. El análisis preliminar de los datos, demostró que las talla de los peces no se distribuye normalmente (estadístico de la prueba de Kolmogorov-Smirnov = 0.069920 Lilliefors Probability (2-tail) < 0.0001). La misma prueba indicó que los valores de abundancia y abundancia transformada ($\log n+1$) tampoco resultaron ser normales (estadístico de la prueba de Kolmogorov-Smirnov = 0.289317 y 0.262279, respectivamente Lilliefors Probability (2-tail) para ambos casos < 0.0001)

Un análisis de varianza no paramétrico (test de Kruskal-Wallis) fue empleado para docimar la hipótesis de igualdad de medias de la talla de las sardinas entre zonas de pesca y entre regiones. El mismo análisis se realizó para evaluar si la abundancia media e intensidad media de

infección del nematodo parásito *Hysterothylacium* sp. difiere entre zonas de pesca y entre regiones.

Análisis de correlación (talla vs abundancia) para cada zona de pesca, así como para cada región y para el total de la muestra, fueron desarrollados para evaluar potenciales relaciones entre ambas variables.

A través de tablas de contingencia, (prueba de X^2) se evaluó si la prevalencia de infección difiere entre zonas de pesca y entre regiones.

e.2.- Análisis multivariado. En la propuesta se indicaron análisis multivariado de tipo exploratorio y discriminante, como herramientas para evaluar si la estructura de las comunidades de parásitos metazoos permite la identificación de stock. Ya que se encontraron sólo dos especies de parásito, una de ellas en baja prevalencia y abundancia y sólo en una localidad, este tipo de análisis no puede realizarse.

Los análisis estadísticos se realizaron usando el utilitario SYSTAT V.12 y siguen las recomendaciones de Zar (1996).

RESULTADOS

Talla de especímenes de *S. fuegensis* analizados.

La Tabla 1 indica las características de las muestras (tamaño muestral, talla media, rango de tallas y desviación estándar) obtenidas desde cada una de las cuatro regiones y que fueron analizadas parasitológicamente. La Tabla 2 indica las mismas características pero en función de las zonas de pesca. En total se analizaron 679 especímenes de la especie objetivo. En dos localidades (Zonas de pesca A y B) se revisaron sólo 59 ejemplares ya que un ejemplar de cada zona no estaba en condiciones de análisis y en otras dos se muestrearon 61 ejemplares (Zonas de pesca I y K), mientras que para la XII región se analizó un total de 63 ejemplares.

Tabla 1. Características de las muestras de *S. fuegensis* analizadas parasitológicamente, por región, n = tamaño muestral, ds = Desviación estándar

Región	n	Rango			sd
		talla media	mínimo	máximo	
X	238	12,0	9,7	15,1	1,20
XI	302	8,8	5,2	13,2	1,22
XII	63	7,09	5,0	8,4	0,91
ARG	76	9,58	8,2	12,5	1,03

Tabla 2. Características de las muestras de *S. fuegensis* analizadas parasitológicamente, por Zona de pesca. ZP = Zona de Pesca, n = tamaño muestral, ds = Desviación estándar

REGION	ZP	n	Rango			sd
			Talla media	Talla mínima	Talla máxima	
X	A	59	11,5	9,8	14,2	0,85
X	B	59	11,8	10,4	13,5	0,75
X	D	60	11,1	9,7	15	0,86
X	E	60	13,4	11,3	15,1	0,77
XI	H	60	8,8	7	11,2	1,01
XI	I	61	8,7	6,7	9,8	0,63
XI	J	60	9,5	6,9	13,2	1,34
XI	K	61	8,0	5,2	12	1,27
XI	L	60	9,2	7,1	12,5	1,22
XII	Unica	63	7,09	5	8,4	0,91
ARG	Unica	76	9,58	8,2	12,5	1,03

La prueba de Kruskal-Wallis indicó que la talla media de los peces, difiere significativamente entre regiones ($H = 461$, $GL = 3$, $P < 0.001$). Un análisis parcaado *a posteriori*, tipo Tukey, indica que la talla media de las tres localidades difiere significativamente ($P < 0.001$) para todas las comparaciones. Siendo los peces provenientes de la X región significativamente mayores que los provenientes de la XI Región y estos significativamente mayores que aquellos de la XII región. Del mismo modo, peces provenientes de Argentina difieren de la talla media que presentan los peces de la tres localidades analizadas en Chile (Figura 2).

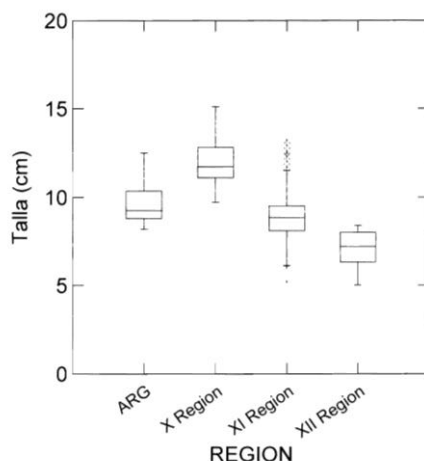


Figura 2. Talla media (cm) de especímenes de *S. fuegensis* por Regiones en Chile y Argentina (ARG).

Al analizar la talla media de los peces, por zona de pesca en cada región, estas diferencias se mantienen. (X Región H = 124, GL 3, P < 0.001; XI Región H = 49.4, GL = 4, P < 0.001). (Figura 3 y 4).

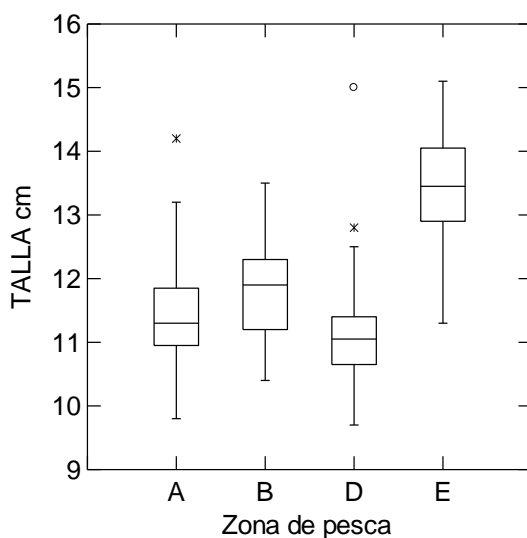


Figura 3. Talla media (cm) de especímenes de *S. fuegensis* de distintas zonas de pesca en la X Región.

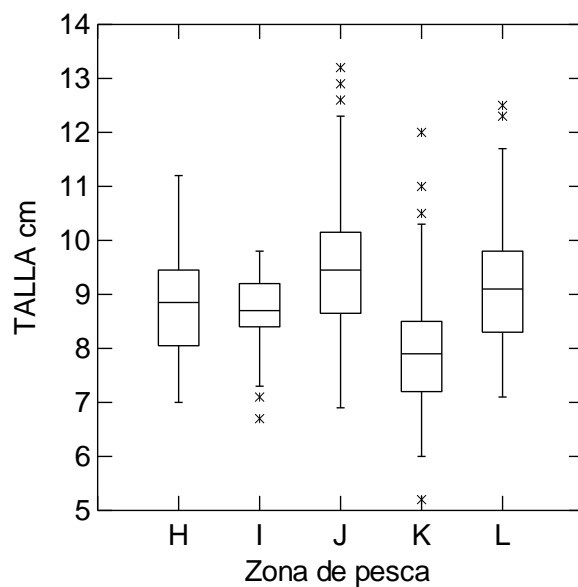


Figura 4. Talla media (cm) de especímenes de *S. fuegensis* de distintas zonas de pesca en la XI Región.

Un análisis pareado *a posteriori* tipo Tukey, indica que para la X Región, muestras provenientes de las zonas de pesca A y B, así como D y A, no difieren significativamente ($P > 0.05$), pero si los restantes pares de comparaciones.

El mismo análisis para muestras de la XI Región indica que no hay diferencia significativa en talla entre las zonas de pesca H, I y L, así como para el par L – J, las restantes comparaciones pareadas resultan diferir significativamente.

Análisis parasitológico

Los resultados del análisis parasitológico, de las muestras analizadas, indican una fauna de parásitos metazoos que en términos cualitativos es muy pobre y que incluye apenas tres especies de parásitos metazoos pero cuantitativamente es importante, particularmente por la presencia de una especie *Hysterothylacium* sp. De los 3.260 ejemplares de parásitos metazoos recolectados, 3.254 (99.8%) correspondieron a *Hysterothylacium* sp. La Tabla 3 indica la abundancia y prevalencia de infección para cada una de las tres regiones. Es notoria la presencia del nematodo *Hysterothylacium* sp., parásito común de peces planctofagos, que alcanza alta abundancia y prevalencia, en la mayoría de las localidades de la X región, pero no en la XI y XII región, según se muestra en la tabla 4. Un copépodo de la Familia Bomolochidae se encontró sólo en la localidad B (X Región), pero sólo 3 de 59 peces estaban infectados, con una intensidad media de 0,08, una abundancia media de 1,25 y una prevalencia de 6.7%. Por otra parte, se detectó la presencia de *Anisakis* sp. pero en un sólo pez de la XII región. Dada la baja presencia de estas especies, no son consideradas en los análisis.

Tabla 3. Prevalencia y abundancia de *Hysterothylacium* sp. en *S. fuegensis*, por Regiones en Chile y Argentina (ARG).

Region	Prevalencia	Abundancia			
		promedio	Minimo	Maximo	ds
X	96,2	12,8	0	59	11,98
XI	26,8	0,53	0	14	1,97
XII	33,3	0,46	0	3	0,59
ARG	17,1	0,26	0	3	0,77

La caracterización parasitológica (Prevalencia de infección, Abundancia media, e Intensidad media) para cada región y para cada zona de pesca por región, se indica en las tablas 4 a 6.

Tabla 4. Prevalencia y abundancia de *Hysterothylacium* sp. en *S. fuegensis*, por Zona de pesca (ZP).
Prev. = prevalencia de infección, ds = desviación estándar, ARG = Argentina.

REGION	ZP	Abundancia				
		prev	promedio	minimo	maximo	ds
X	A	100,0	8,9	2	41	6,66
X	B	100,0	12,1	0	55	8,94
X	D	86,7	3,5	0	13	3,09
X	E	100,0	26,6	8	59	12,10
XI	H	20,0	0,3	0	5	0,83
XI	I	16,4	0,2	0	1	0,37
XI	J	43,3	1,1	0	14	2,09
XI	K	16,4	0,3	0	6	0,96
XI	L	38,3	0,8	0	5	1,23
XII	Unica	33,3	0,46	0	3	0,59
ARG	Unica	17,1	0,26	0	3	0,66

Tabla 5. Intensidad media de *Hysterothylacium* sp. en *S. fuegensis*, por Regiones en Chile y Argentina (ARG) . ds = desviación estándar, ARG = Argentina.

Region	Intensidad			
	promedio	Mínimo	Maximo	ds
X	1,97	1	59	11,98
XI	1,33	1	14	1,27
XII	1,38	1	3	0,74
ARG	1,58	1	3	0,77

Tabla 6. Intensidad de infección de *Hysterothylacium* sp. en *S. fuegensis*, por Zona de pesca (ZP). N = número de peces parasitados, ds = desviación estándar, ARG = Argentina..

Región	ZP	n	Intensidad			
			promedio	mínimo	máximo	ds
X	A	59	9,0	2	41	6,66
X	B	58	12,3	1	55	8,87
X	D	52	4,0	1	13	2,98
X	E	60	26,6	8	56	12,10
XI	H	12	1,6	1	5	1,24
XI	I	10	1,0	1	1	0,00
XI	J	26	2,5	1	14	2,60
XI	K	10	2,1	1	6	1,45
XI	L	23	2,0	1	5	1,21
XII	Unica	21	1,38	1	3	0,74
ARG	Unica	13	1,58	1	3	0,77

Abundancia de infección

Un Análisis de varianza no paramétrico, sobre datos de abundancia, indica que la abundancia media de *Hysterothylacium* sp. difiere entre regiones ($H = 443.5$, $GL = 3 < 0.001$) (Figura 5). Un análisis *a posteriori* tipo Tukey indica que la abundancia media en la X región difiere significativamente de la observada en las regiones XI y XII ($P < =.001$) pero la abundancia media entre las regiones XI y XII y entre las regiones XI y Argentina no difieren significativamente ($P > 0.50$).

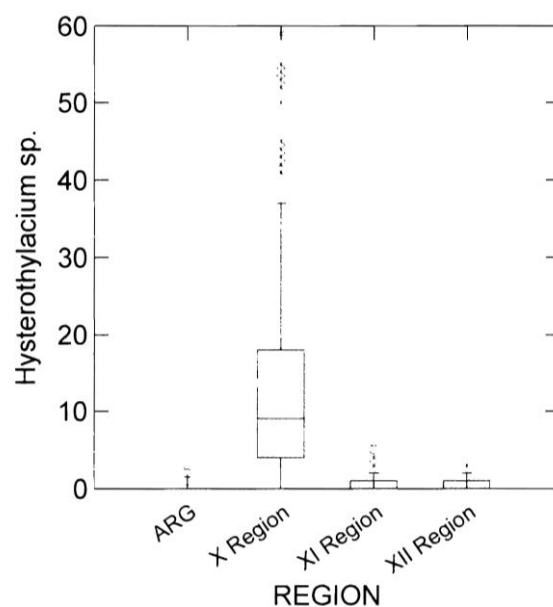


Figura 5. Abundancia media infección de *Hysterothyliacium* sp. en *S. fuegensis* por Regiones en Chile y Argentina (ARG).

Un análisis pareado *a posteriori* tipo Tukey, indica que para la X Región, la abundancia media de infección no difiere sólo para el par A-B ($P > 0.20$). El mismo análisis para muestras de la XI Región indica que hay diferencia significativa en la abundancia media sólo para el par I – J aunque la significancia es marginal ($Q_{\text{observado}} = 2.91$, $Q_{\text{critico}} = 2.8$). Los restantes pares de comparaciones pareadas no muestran significancia en la diferencia observada ($P > 0.05$ en todos los casos). (Figuras 6 y 7).

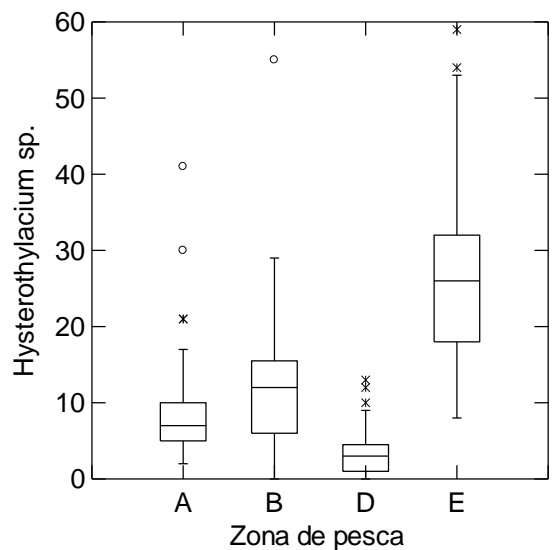


Figura 6. Abundancia media de infección de *Hysterothylacium* sp. en *S. fuegensis* por zona de pesca en la X región.

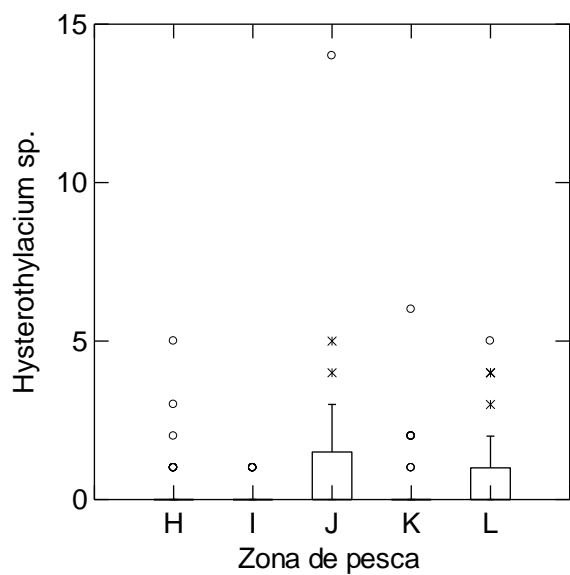


Figura 7. Abundancia media de infección de *Hysterothylacium* sp. en *S. fuegensis* por Zonas de pesca en la XI región.

Intensidad de infección

Un Análisis de varianza no paramétrico, sobre datos de intensidad de infección de *Hysterothylacium* sp. indica que esta difiere entre regiones ($H = 154$, $GL = 2$, $P < 0.001$) (Figura 8). La intensidad media de infección es significativamente mayor en la región X pero la Intensidad media de infección en las regiones XI y XII no difiere significativamente ($P > 0.50$).

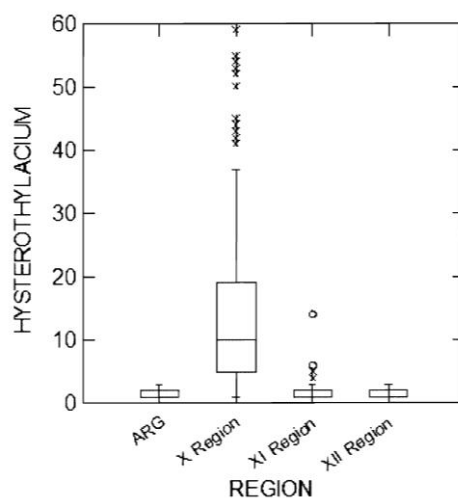


Figura 8. Intensidad de infección *Hysterothylacium* sp. en *S. fuegensis* por Regiones en Chile y Argentina (ARG).

Un análisis pareado *a posteriori* tipo Tukey, indica que para la X Región, la Intensidad media de infección no difiere sólo para el par A-B ($P > 0.20$). El mismo análisis para muestras de la XI Región indica que no hay diferencias significativas en la intensidad media entre todos los pares de Zona de pesca. (Figuras 9 y 10)

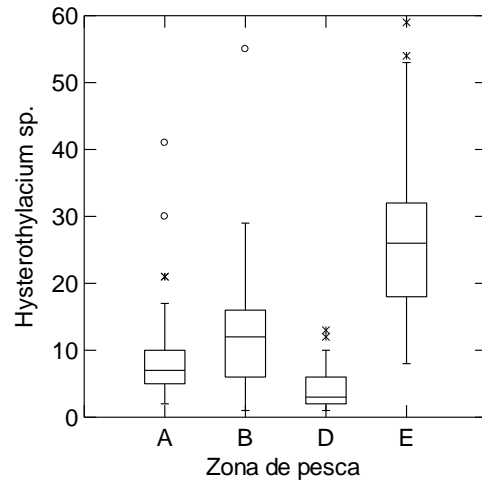


Figura 9. Intensidad media de infección de *Hysterothylacium* sp. en *S. fuegensis* por zonas de pesca de la X Región.

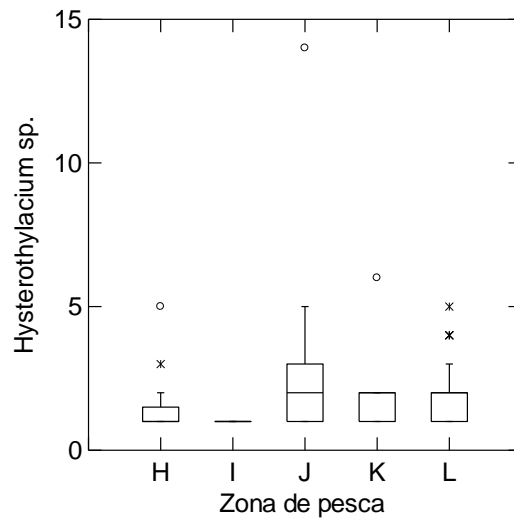


Figura 10. Intensidad media de infección de *Hysterothylacium* sp. en *S. fuegensis* por zonas de pesca de la XI Región.

Relacion entre la talla y abundancia de infeccion

Un análisis de correlación entre talla y abundancia de la abundancia indica un comportamiento errático según zonas de pesca, (Tabla 7, Figuras 11 a 20) con zonas en que las correlaciones son positivas y significativas y zonas donde la regresión no es significativa. Al integrar las zonas de pesca por región, el coeficiente de correlación para la X región (Figura 21) incrementa fuertemente. Por el contrario, para la XI Región (Figura 22), el coeficiente de correlación no aumenta al contrastarla con los valores para cada zona de pesca en particular. Distinta es la situación al analizar el valor de este coeficiente considerando el total de las muestras tanto para Chile (Figura 23) como incluyendo Argentina (Figura 24) , en ambos el valor incrementa fuertemente, indicando una alta y significativa correlación entre ambas variables (Tabla 7).

Tabla 7. Parámetros de la función de correlación entre Talla (cm) y abundancia parasitaria de *Hysterothylacium* sp. en *S. fueguensis*. r = coeficiente de correlación, P = probabilidad, n = tamaño de muestra. ARG = Argentina

Zona de Pesca	r	P	n
A	0,451	<0,001	59
B	0,404	<0,002	59
D	0,063	>0,5	60
E	0,447	<0,001	60
H	0,069	>0,10	60
I	0,246	>0,05	61
J	0,148	>0,02	60
K	0,216	>0,1	61
L	0,063	>0,5	60
X Región	0,696	<0,001	238
XI Región	0,192	<0,001	302
XII Región	0,137	> 0,20	63
ARG	0,237	>0,05	76
Global	0,681	<0,001	679

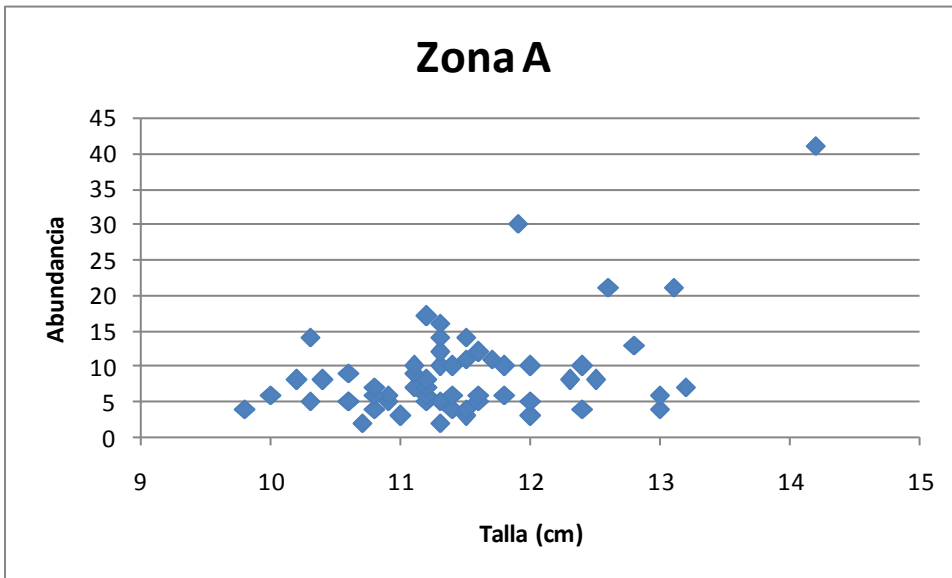


Figura 11. Relación entre talla de *S. fuegensis* y abundancia de *Hysterothylacium* sp. en la zona de pesca A.

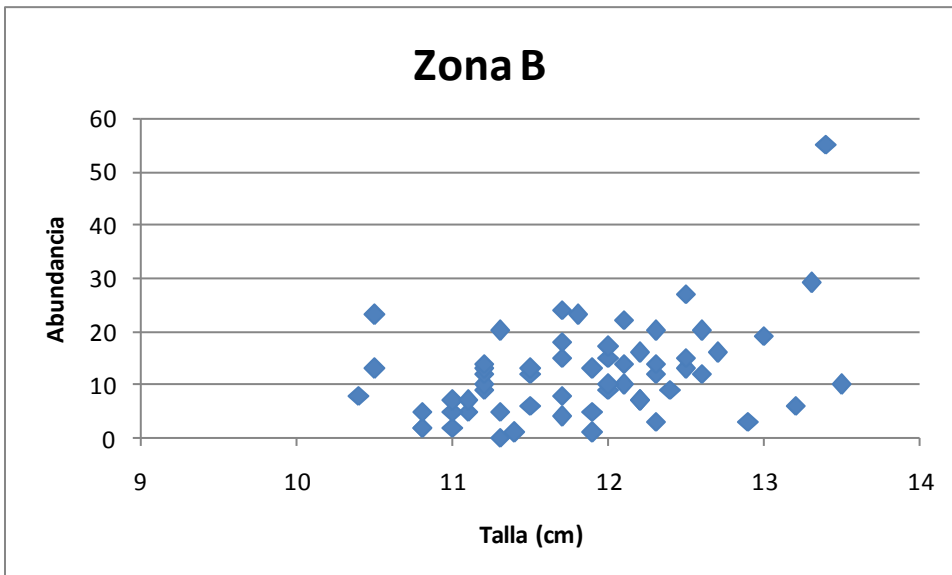


Figura 12. Relación entre talla de *S. fuegensis* y abundancia de *Hysterothylacium* sp. en la zona de pesca B.

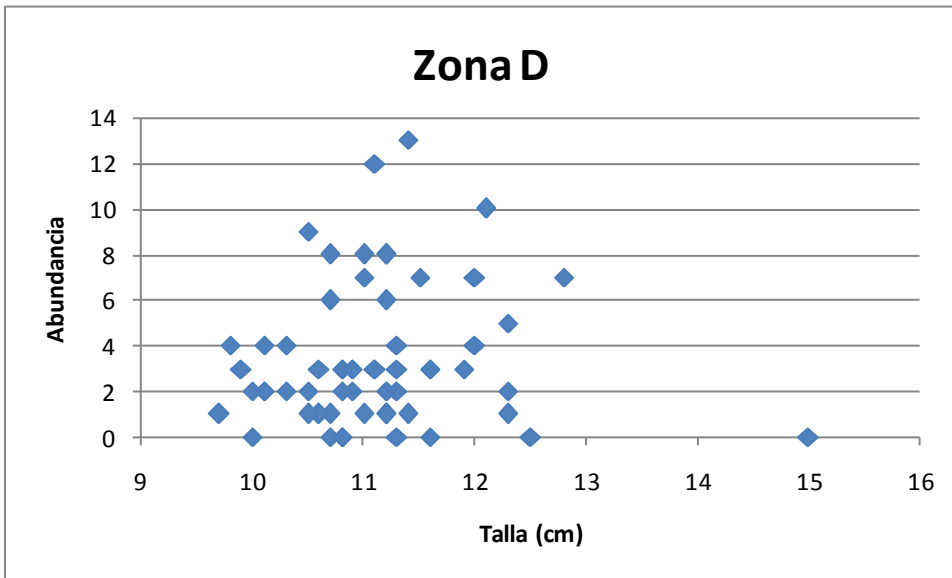


Figura 13. Relación entre talla de *S. fuegensis* y abundancia de *Hysterothylacium* sp. en la zona de pesca D.

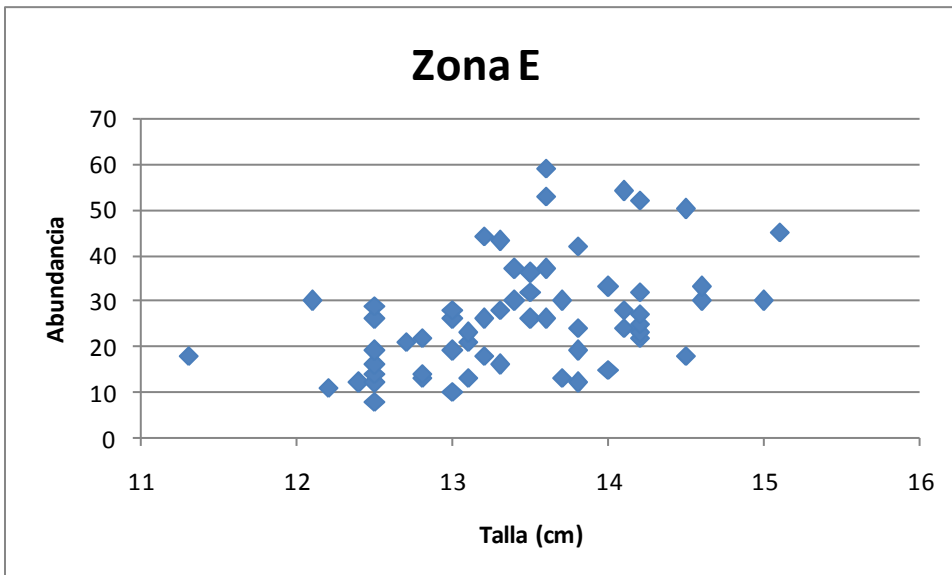


Figura 14. Relación entre talla de *S. fuegensis* y abundancia de *Hysterothylacium* sp. en la zona de pesca E.

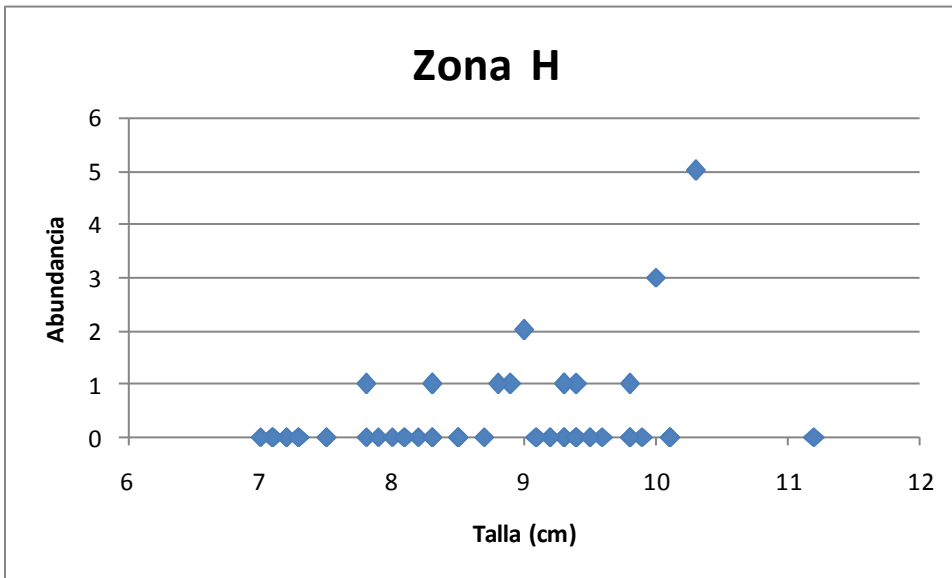


Figura 15. Relación entre talla de *S. fuegensis* y abundancia de *Hysterothylacium* sp. en la zona de pesca H.

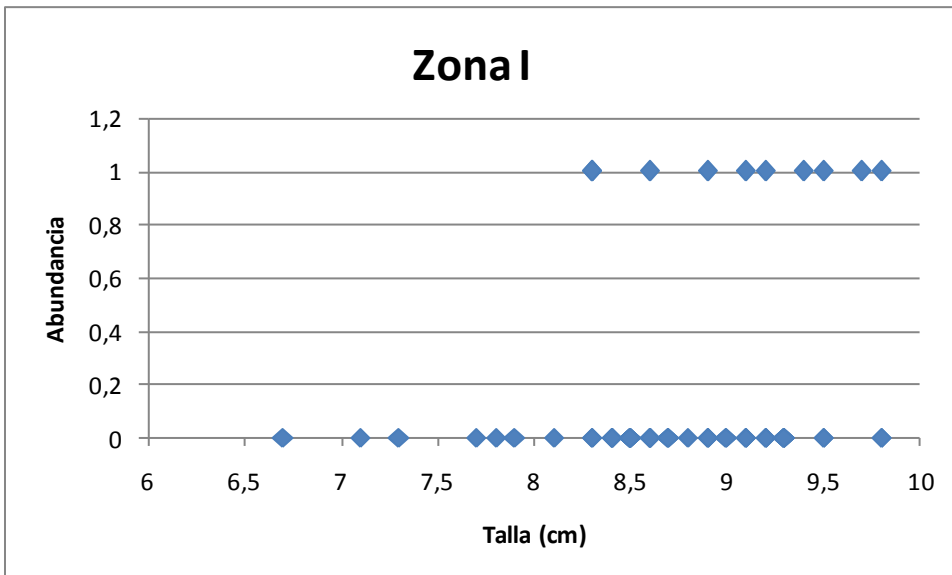


Figura 16. Relación entre talla de *S. fuegensis* y abundancia de *Hysterothylacium* sp. en la zona de pesca I.

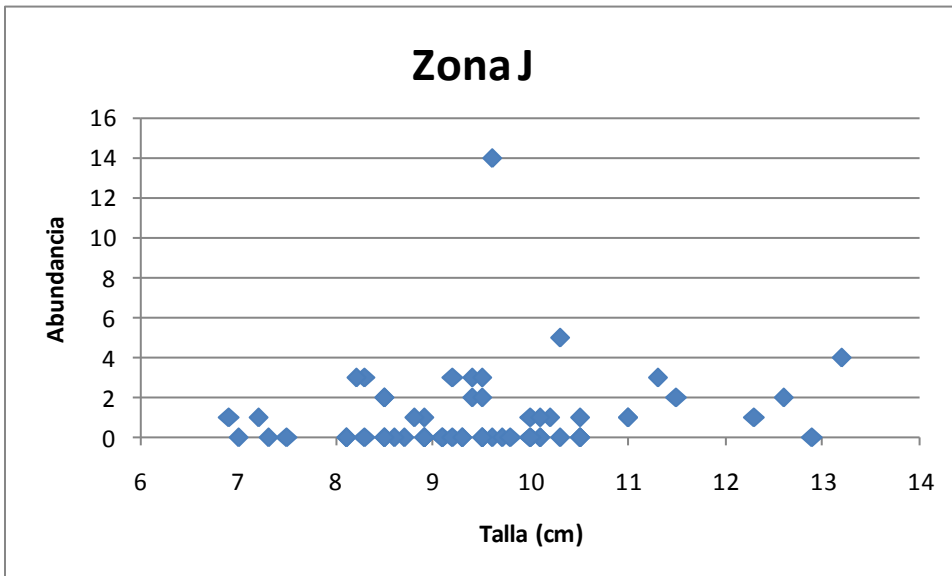


Figura 17. Relación entre talla de *S. fuegensis* y abundancia de *Hysterothylacium* sp. en la zona de pesca J.

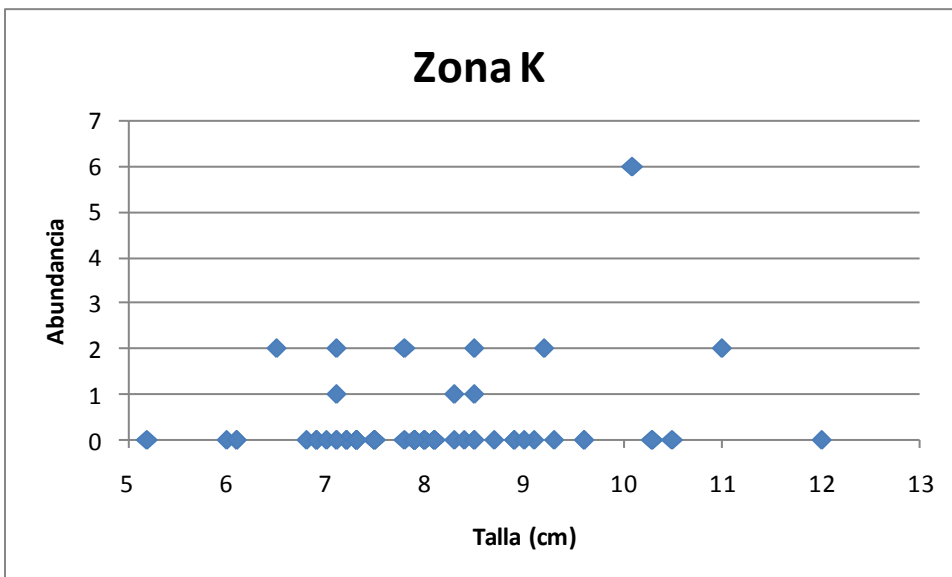


Figura 18. Relación entre talla de *S. fuegensis* y abundancia de *Hysterothylacium* sp. en la zona de pesca K.

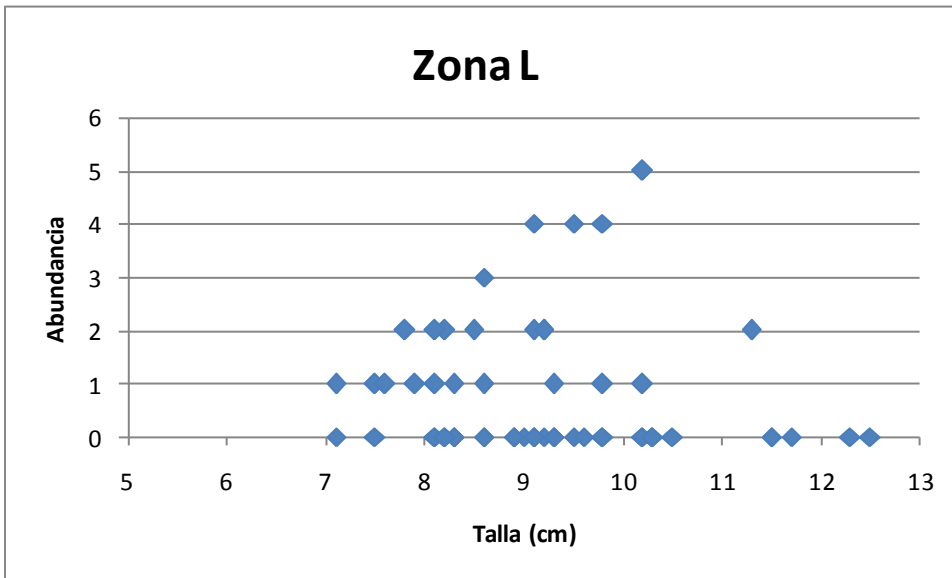


Figura 19. Relación entre talla de *S. fuegensis* y abundancia de *Hysterothylacium* sp. en la zona de pesca L.

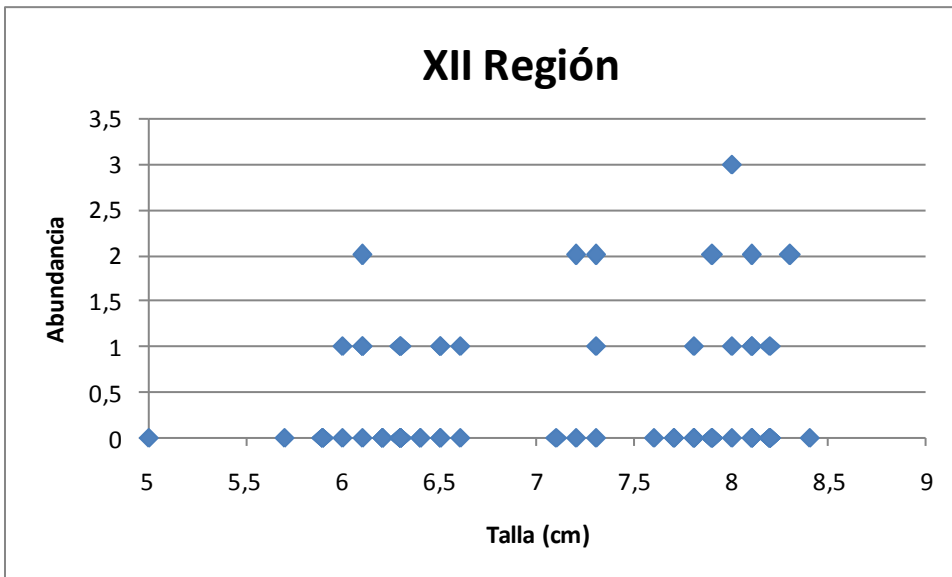


Figura 20. Relación entre talla de *S. fuegensis* y abundancia de *Hysterothylacium* sp. en la zona de pesca única de la XII Región (Zona única).

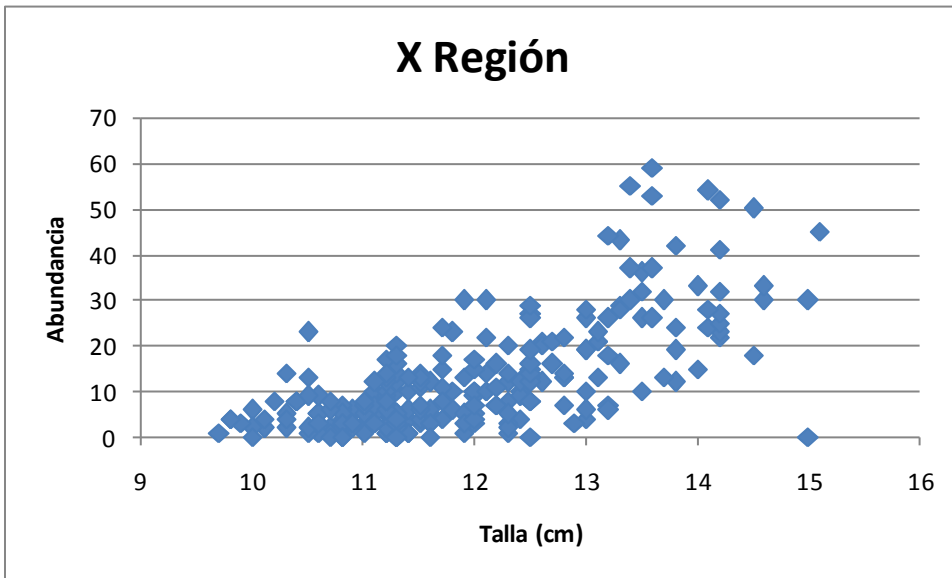


Figura 21. Relación entre talla de *S. fuegensis* y abundancia de *Hysterothyliacium* sp. en muestras integradas de la X Región.

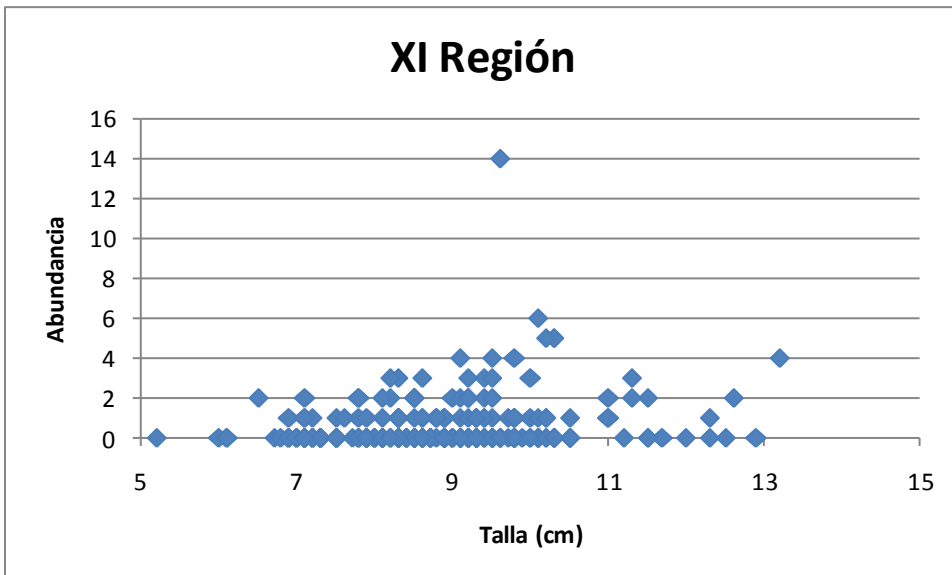


Figura 22. Relación entre talla de *S. fuegensis* y abundancia de *Hysterothyliacium* sp. en muestras integradas de la XI Región.

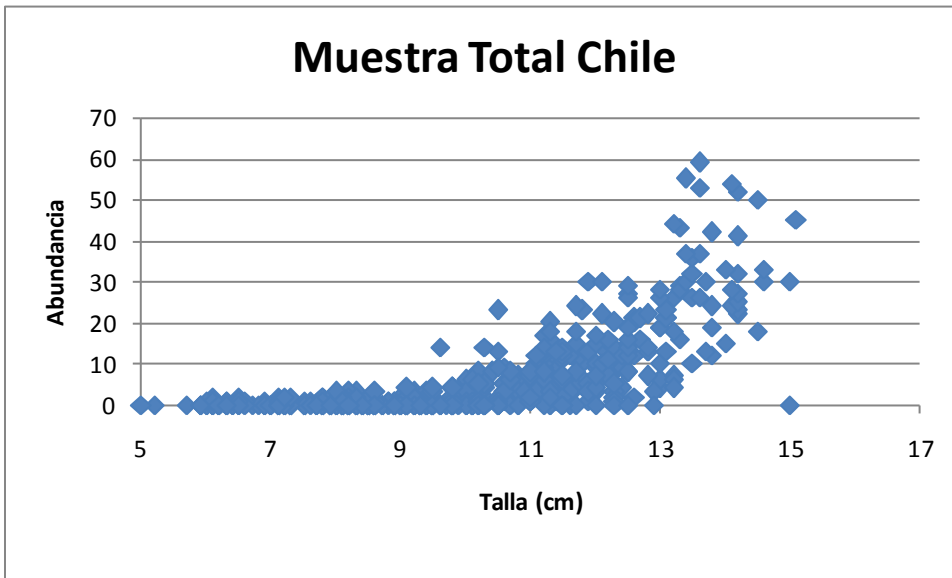


Figura 23. Relación entre talla de *S. fuegensis* y abundancia de *Hysterothyliacium* sp. en muestras integradas de la X, XI y XII Región.

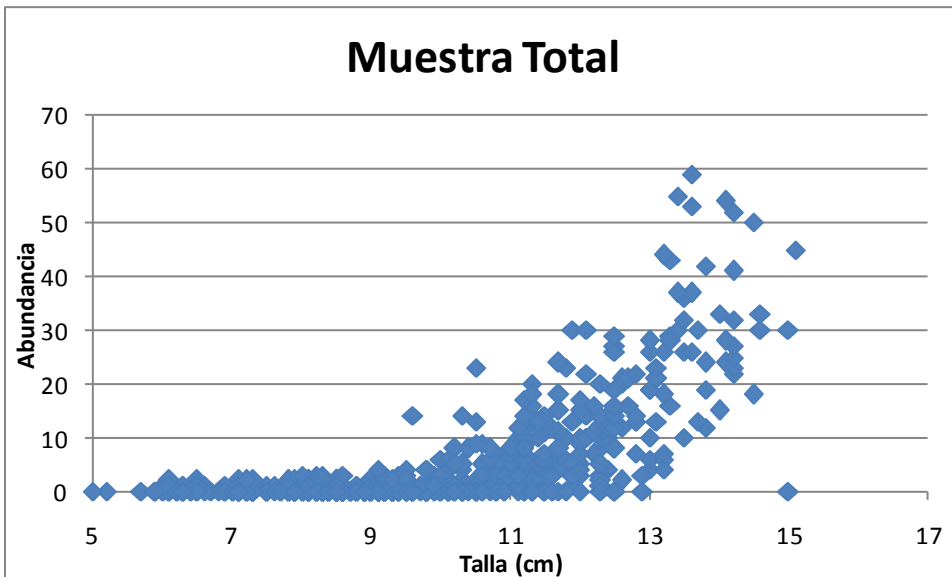


Figura 24. Relación entre talla de *S. fuegensis* y abundancia de *Hysterothyliacium* sp. en muestras integradas de Chile y Argentina.

Prevalencia de infección

La prevalencia de infección difiere significativamente entre las tres regiones consideradas para las costas de Chile ($\chi^2 = 308$, gl =2) y dentro de cada región en Chile (X región $\chi^2 = 24.6$, gl = 3, $p < 0.001$, XI Región $\chi^2 = 20.6$, gl = 4, $p < 0.001$). Al incorporar Argentina en el análisis (Tabla 3), estas diferencias persisten ($\chi^2 = 308$, gl 0 3, $p < 0.001$).

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

La fauna de parásitos de la sardina austral *Sprattus fuegensis* en las costas del sur de Chile (Regiones X, XI y XII) y Argentina, resultó ser muy pobre en términos cualitativos, con tan sólo tres especies de parásitos metazoos, un nematodo endoparásito del género *Hysterothylacium*, presente en todas las muestras, un copépodo de la Familia Bomolochidae presente en una sola zona de pesca y un nemátodo del género *Anisakis* presente sólo en un ejemplar de la XII región. Sin embargo, las características cuantitativas de la infección originada por *Hysterothylacium* sp. resultan ser importantes, con cargas parasitarias que llegan a un máximo de 59 parásitos en un pez. De modo similar, tallas mayores se acercan al 100% de infección.

La fauna parasitaria metazoa de este pez es la más pobre, en términos cualitativos, de las conocidas para peces marinos de Chile. Pelágicos pequeños, como la anchoveta *Engraulis ringens* presentan no menos de 6 especies de metazoos parásitos (Valdivia et al., 2007; Chávez et al., 2007) y la sardina *Strangomera benticki* 5 especies (Oliva datos no publicados). Una pobre fauna de parásitos metazoos, representados por una sola especie que se transmite vía relaciones tróficas, sugiere que *S. fuegensis* tiene una dieta centrada en organismos del zooplancton.

Una característica importante en el ciclo de vida del nematodo relacionado *Hysterothylacium aduncum*, es que en un mismo huésped vertebrado (pez) pueden encontrarse estadios larvales y estadios adultos (Klimpel & Rückert, 2005), situación similar a la observada en este estudio. Más aún y como lo indica Koie (1993) la viabilidad de los estadios infectivos dependerá del huésped intermedio utilizado por el nematodo, pudiéndose generar un ciclo ya sea con 2 huéspedes o un ciclo con 3 huéspedes, lo que finalmente dependerá del tamaño que alcance la fase infectiva para peces. Específicamente, la larva de estado III (aun en el huevo) no es infectiva para peces o huéspedes intermediarios no crustáceos, pero desarrolla exitosamente en el copépodo *Acartia tonsa*, en copépodos Harpacticoides, anfipodos, isopodos y misidáceos. Pero larvas provenientes de

copépodos harpacticoideos menores de 1 mm longitud y larvas menores de 1.5-2.0 mm provenientes de otros hospedadores no sobrevivirán en el tracto digestivo del pez, larvas entre 2 y 3 mm. permanecerán como larvas III en el pez y larvas con tallas mayores a 3 mm si sobrevivirán y mudarán a larva IV en el intestino del pez, continuando su desarrollo a adultos. Entonces un ciclo facultativo que depende de la talla de la fase infectante, condicionará finalmente la infección. Ctenoforos, quetognatos, poliquetos y ofiuridos pueden actuar como huéspedes de transporte o paratenicos. En nuestro caso, la presencia de estadios larvales y adultos indican que *Hysterothylacium* sp. en *S. fuegensis* muestra un comportamiento similar a *H. aduncum*.

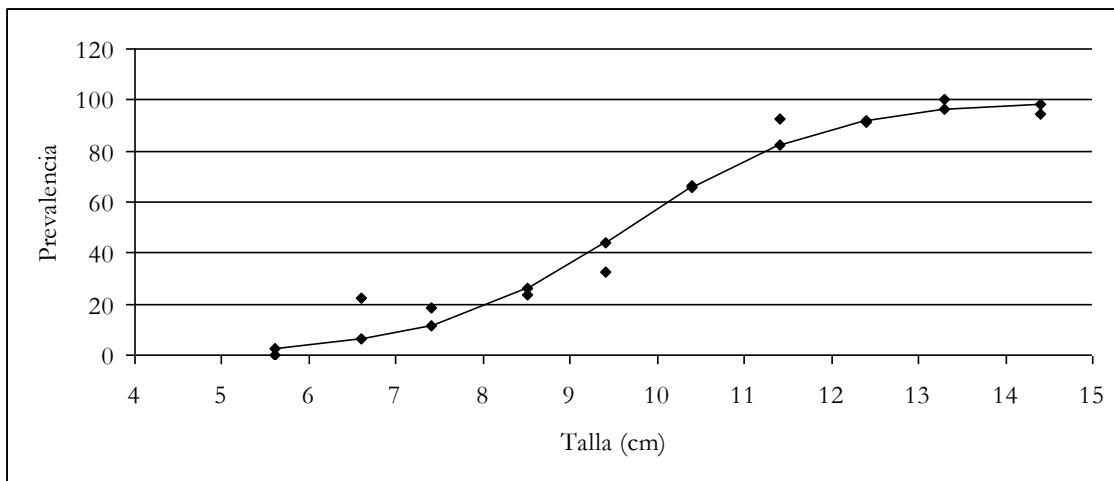
Por otro lado, si la tasa de colonización de parásitos es mayor que la tasa de mortalidad de los mismos, se generarán necesariamente infecciones acumulativas que llevarán a altos valores de abundancia, intensidad y prevalencia de infección en peces de tallas mayores, lo que resulta evidente del análisis de nuestros datos, los que demuestran que estos procesos están ocurriendo.

Nuestros datos demuestran que las tasas de infección, al contrastar regiones, muestran diferencias significativas, con los mayores valores en la X región, donde al mismo tiempo se encuentran los peces de mayor tamaño. Los análisis de correlación realizados por zonas de pesca, sugieren en algunos casos un incremento de los procesos infecciosos con la talla, aunque no para todas las zonas de pesca, pero al integrar la información resulta evidente que las diferencias observadas son atribuibles a la talla de los peces. Una situación similar fue indicada por Oliva (1999) para *Trachurus murphyi*, donde cambios en las tasas de infección, en un gradiente latitudinal, fueron asociados a la talla de los peces y a un movimiento migratorio, de modo que peces más grandes, encontrados en las zonas más al sur, resultaron a su vez con mayor carga de parásitos, sugiriendo que en ese caso, los parásitos más que indicar diferencias poblacionales, estaban indicando procesos migratorios desde el norte hacia el sur. En el caso de *S. fuegensis* parece darse un proceso similar., pero con una tendencia opuesta, peces de las localidades más australes (XI región) son más pequeños y tienen menos parásitos que peces de las zonas más al norte (X región) sugiriendo un proceso de migración desde el sur hacia el norte en el área de distribución analizada.

En todo caso, debe destacarse que análisis parasitológicos deben considerar la comunidad de parásitos presentes en una población de hospedadores, siendo la herramienta adecuada el análisis multivariado (Lester & MacKenzie, 2009), técnicas que no resultan aplicables en este

caso. Al respecto, la sardina austral presentó una comunidad de parásitos muy pobre y fuertemente dominada por una especie: *Hysterothylacium* sp. la que representa el 99.8% de la fauna parasitaria metazoa.

Es de destacar la similitud en las características de las funciones logísticas que relacionan talla y primera madurez con aquellas que relacionan la talla y la carga parasitaria. En ambos casos, la talla a que el 50% de las sardinias están maduras (9.48 cm.) y la talla en que el 50% de las sardinias están parasitadas (9.66 cm) es prácticamente la misma. (Figura 25)



Figuras 25. Función logística que relaciona talla con prevalencia de infección por rango de talla. Línea continua: función ajustada según los parámetros $a = 8.58$, $b = -0.887$.

CONCLUSIONES

En conclusión, la información aportada por parásitos, no está soportando la hipótesis de más de un stock de sardina austral en Chile, pero sugiere fuertemente procesos de segregación espacial en función de la talla y/o procesos de migración desde el sur hacia el norte, que se sustenta en las diferencias de talla y en la acumulación progresiva de parásitos en función de la talla. Por otro lado, la pobreza de la fauna de parásitos en las muestras del Atlántico, sugiere la presencia de un stock, en su acepción ecológica y no pesquera.

Capítulo VII: Aproximación integrativa para modelo conceptual

Autores: Ricardo Galleguillos¹, Sandra Ferrada¹, Cristian B. Canales-Aguirre¹, Cristián E. Hernández¹, Claudio Castillo Jordán¹, Sandra Curin Osorio¹, Milton Pedraza García¹, Marcelo E. Oliva², María Teresa González², Luis Cubillos¹, Edwin Niklitschek^{3,4} y Pamela Toledo^{3,4}

¹Universidad de Concepción; ²Universidad de Antofagasta; Universidad de Los Lagos;

⁴Universidad Austral de Chile

El análisis de los resultados generados de las diversas herramientas de discriminación de stock utilizadas en este estudio, nos permite establecer que a través de su distribución geográfica en Chile por el Océano Pacífico, y en Argentina por el Atlántico Sur, la especie *Sprattus fuegensis*, a nivel poblacional conforma un único stock genético con una importante cohesión reproductiva (Figura 1), compuesto por al menos tres stocks ecológicos (Figura 2), como evidencian los patrones de diversidad observados para los caracteres de historia de vida de esta especie. De estas unidades ecológicas, dos se ubicarían en aguas interiores del sur de Chile, la primera en aguas de la región de Los Lagos y la segunda en aguas de la región de Aysén. La tercera unidad ecológica se ubica en aguas del Atlántico sur. Destacamos que los caladeros ubicados en la región de Magallanes necesitan de mayores estudios para poder realizar mayores inferencias respecto a su rol dentro de la dinámica de este gran stock genético y sus respectivos stocks ecológicos.

Respecto a las migraciones entre las unidades ecológicas ubicadas en Chile, las aproximaciones de morfología de cuerpo y otolitos, microquímica de otolitos y fauna parasitaria establecen que pese a las diferencias establecidas, existiría un alto grado de mezcla, con porcentajes que varían entre 16 al 32 %, observándose un único stock genético. Esto último se concluye a la luz de estudios de genética pesquera, en donde se indica que tasas de migración mayores al 10%, como es el caso de *Sprattus fuegensis* según los resultados de este estudio, no generarían respuestas independientes de las poblaciones a las perturbaciones demográficas (Hastings 1993), y no sería posible detectar diferencias genéticas significativas por medio de molecular marcadores.

Con la evidencia de la gran magnitud del tamaño efectivo de *Sprattus fuegensis*, como también se ha detectado en otros peces marinos, se corrobora que las unidades ecológicamente relevantes son indetectables por medio de marcadores moleculares.

En el marco de la información generada en este proyecto, las unidades ecológicas aquí identificadas, segregarían espacialmente a lo largo de su vida, sugiriendo la existencia de al menos tres áreas de desove y de crianza como lo indica la microquímica de otolitos, estableciendo además que estas unidades ecológicas difieren en la forma y tamaño de los otolitos de sus ejemplares, su morfología corporal y en su fauna parasitaria.

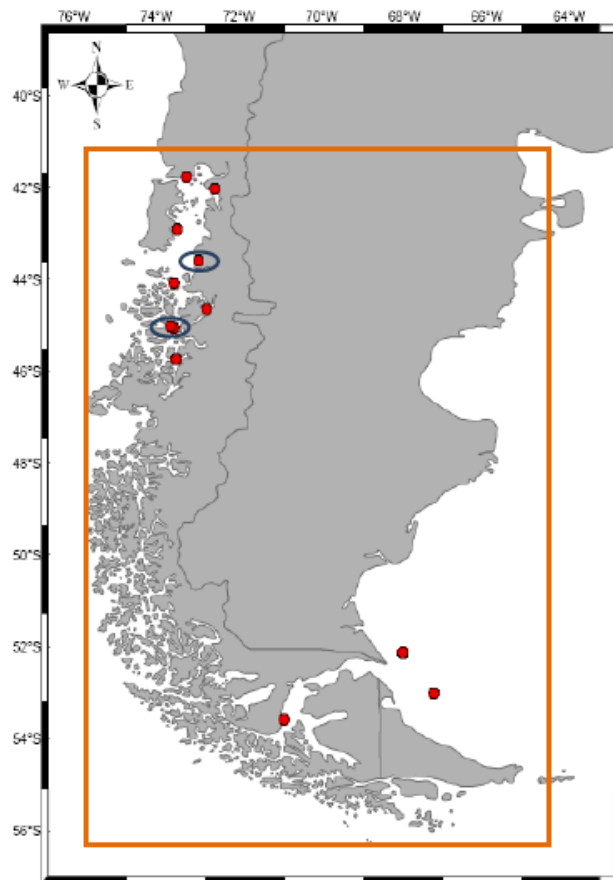


Figura 1. Modelo conceptual respecto a los procesos de conectividad en el área de distribución de *Sprattus fuegensis*. Proyecto FIP N° 2010-17. Los puntos rojos indican el sector donde fue tomada la muestra. El cuadrado enmarcado con naranja indica el grado de cohesión genética evidenciada a partir de marcadores moleculares. En círculos azules las zonas de muestreo que muestras características genéticas de interés particular.

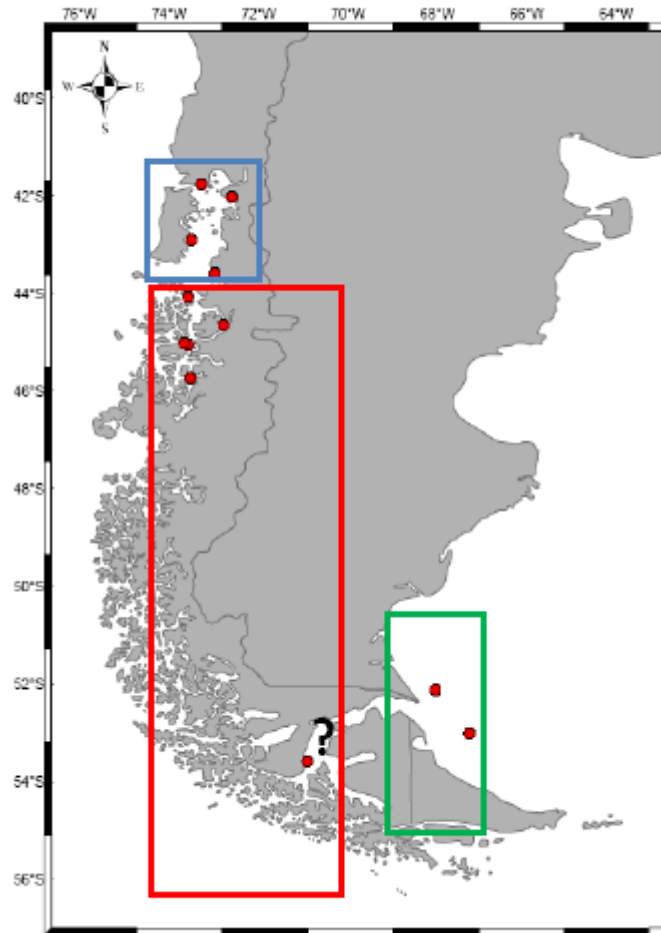


Figura 2. Modelo conceptual respecto a los procesos de conectividad en el área de distribución de *Sprattus fuegensis*. Proyecto FIP N° 2010-17. Los puntos rojos indican el sector donde fue tomada la muestra. El cuadrado enmarcado con azul indica la agrupación ecológica ubicada en la región de Los Lagos, el cuadrado enmarcado en rojo la unidad ecológica ubicada en la región de Aysén, recalcando que la zona de la región de Magallanes (?) necesita de mayores estudios. El cuadrado enmarcado en verde la unidad ecológica ubicada en el Atlántico sur frente a Argentina. Resultados obtenidos a partir de aproximaciones no genéticas.

En contexto microevolutivo Hauser y Carvalho (2008) establecen un mapa conceptual respecto a las relaciones que existirían entre los principales factores que afectan la diferenciación genética en poblaciones naturales y su efecto sobre los estimados de

estructuración F_{ST} (Figura 3). Es así que a partir de la evidencia en *Sprattus fuegensis* de bajos niveles de diferenciación genética a partir del estimado del F_{ST} , estaríamos frente a una dinámica microevolutiva de altas tasas de migración, sendos tamaños poblaciones y procesos de expansión de su rango de distribución.

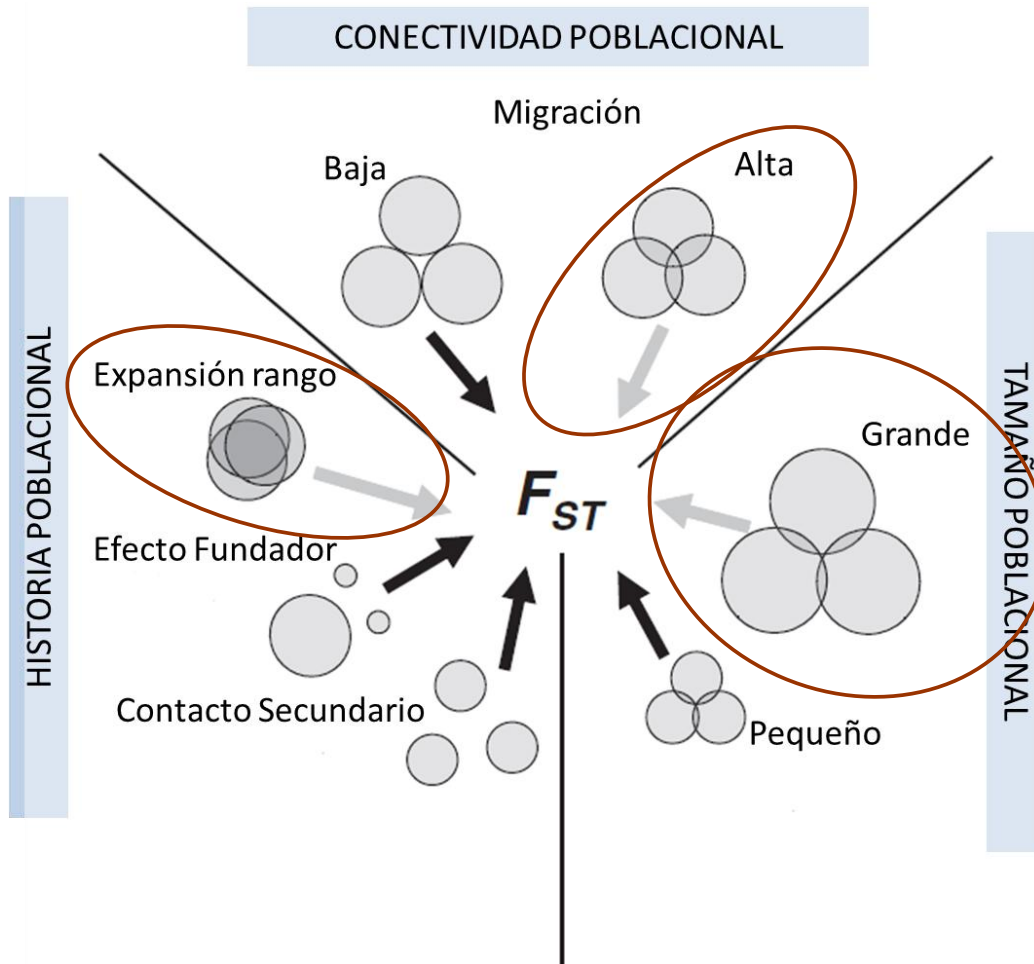


Figura 3. Diagrama conceptual que muestra la influencia de diversos factores microevolutivos (conectividad, la historia poblacional y tamaño) sobre los niveles de diferenciación genética estimados a partir de los índices F_{ST} . Las flechas grises muestran una relación negativa, es decir, el correspondiente factor reduce la diferenciación existente, mientras que las flechas negras designan las relaciones que tiendan a favorecer la diferenciación genética. Tenga en cuenta que cada uno de los diversos parámetros representa un continuo, mostrándose sólo los extremos de cada escenario. En café se indica el escenario predicho para *Sprattus fuegensis*.

Una importante consideración en la interpretación de los resultados aquí presentados, es la escala temporal de los factores que afectan la diferenciación genética, y los métodos de discriminación poblacional. Destacando que las unidades de gestión para la pesca y su gestión tradicionalmente se basan en la respuesta de las poblaciones a corto plazo frente a la explotación, respuesta determinada principalmente por el reclutamiento año a año y procesos de migración en tiempo generacional que se extrapolan a vastos sectores de las poblaciones. Mientras que la diferenciación genética población está relacionada con procesos de migración integrados durante extensos períodos de tiempo (de miles a millones de años), reflejando procesos que han el resultado de procesos históricos y contemporáneos. Es por esta razón se destaca que si bien las medidas de administración y de manejo generalmente se aplican sobre unidades ecológicamente importantes, estas medidas deben salvaguardar los procesos de cohesión reproductiva de las especies, asegurando de esta forma los recursos genéticos que conforman las unidades ecológicas, y que permiten la explotación de la especie como recurso pesquero hoy en día.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES FINALES

El siguiente proyecto tuvo como objetivo general evaluar y determinar las unidad(es) poblacional(es) o stock pesqueros de sardina austral (*Sprattus fuegensis*) presente entre la X y XII regiones de Chile. Para responder a este objetivo se utilizó diferentes aproximaciones (Genética a nivel microsatélite y mitocondrial, Morfología de otolito y del cuerpo, Microquímica de otolitos, Historias de vida y composición de fauna parasitaria) con la finalidad de tener una respuesta amplia y holística, de la dinámica poblacional en la sardina fueguina. Por otro lado, se desarrollo un modelo conceptual respecto a las migraciones ontogénicas de sus individuos y los posibles procesos de conectividad entre dichas unidades poblacionales.

Todas las metodologías dan cuenta de una gran mezcla entre las diferentes regiones administrativas analizadas, lo que da cuenta de las migraciones de sus individuos y los posibles procesos de conectividad entre dichas unidades poblacionales. A nivel microevolutivo, porcentajes de mezcla tan bajos como 1 % o 5 % podrían homogenizar el pool génico de la población analizada, en este caso, la distribución geográfica estudiada. Esto significa que a pesar de las diferencias encontradas en mediante las aproximaciones morfología corporal, morfometría geométrica y microquímica de otolitos, el alto grado de mezcla que se observe en estas aproximaciones dan cuenta de la homogeneidad genética observadas a nivel microsatélite y mitocondrial, concordando con los resultados y conclusiones de composición de fauna parasitaria, parámetros de historias de vida y morfología de otolitos.

Recordando lo expuesto en la introducción general, es que los caracteres no heredables, tales como la proporción de isótopos en los tejidos, carga parasitaria, o varias características fenotípicas, tales como el número de vértebras, que pueden ser producto de la plasticidad del desarrollo y al menos parcialmente indicadoras de exposiciones ambientales. Por otro lado, la característica heredable de las marcas genéticas (genes) pueden ser transferidos de generación en generación por lo que, si hubiesen diferencias estas estarían directamente relacionadas a la presencia de grupos poblacionales aislados unos de otros.

Finalmente se concluye que dado los antecedentes obtenidos por las diferentes aproximaciones el recurso sardina fueguina presenta una gran agrupación reproductiva, componiendo un stock

genético, producto de la mezcla observada por en las diferentes aproximaciones no genéticas, las cuales corroboran los resultados de los datos genéticos que muestran homogeneidad genética en toda su distribución en aguas interiores, fiordos y canales del sur de Chile así como en muestras provenientes del océano atlántico.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGNEW D.J. 2002. Critical aspects of the Falkland Island pelagic ecosistema: distribución, spawning and migration of pelagic animals in relation to oil exploitation. *Aquatic Conserv: Mar. Freshw. Ecosyst.* 12: 39-50.
- AKAIKE H. 1973. Information theory and an extension of the maximum likelihood principle. In: B.N. Petrov, F. Caski (eds.) *Second international symposium on information theory.* Budapest, pp. 267–281.
- ALDANA, M. OYARZUN J. AND M. GEORGE_NASCIMENTO. 1995. Isopodos parasitos como indicadores poblacionales del jurel *Trachurus symmetricus murphyi* (Nichols, 1920) (Pisces:Carangidae) frente a las costas de Chile. *Biología Pesquera (Chile)* 24:23-32
- ARANIS ET AL. 2009. Monitoreo de anchoveta y sardina en aguas interiores de la X Región de los lagos, 2009. Informe Final Pesca de Investigación. Instituto de Fomento Pesquero – IFOP. 163 pp.
- ARANIS, A., L. CABALLERO, F. CERNA, A. GÓMEZ, A. LÓPEZ & C. BERNAL. 2006. Monitoreo de la pesquería de pequeños pelágicos en aguas interiores de la X región, año 2004. Proyecto FIP 2004-39. Instituto de Fomento Pesquero, Valparaíso. 231 p.
- ARANIS, A., R. MELÉNDEZ, G. PEQUEÑO & F. CERNA. 2007. *Sprattus fuegensis* en aguas interiores de Chiloé, Chile (Osteichthyes: Clupeiformes: Clupeidae). *Gayana* 71: 102-113.
- ARKHIPKIN A.I., P.C. SCHUCHERT & L. DANYUSHEVSKY. 2009. Otolith chemistry reveals fine population structure and close affinity to the Pacific and Atlantic oceanic spawning grounds in the migratory southern blue whiting (*Micromesistius australis australis*). *Fish. Res.* 96: 188–194.
- ASHFORD J. & C. JONES. 2007. Oxygen and carbon stable isotopes in otoliths record spatial isolation of Patagonian toothfish (*Dissostichus eleginoides*). *Geochimica et cosmochimica acta* 71: 87–94.
- AVISE JC. 1994. *Molecular markers, natural history and evolution.* Chapman & Hall, New York.
- AVISE, J.C. (1998). *The Genetic Gods: Evolution and Belief in Human Affairs.* Harvard University Press, Cambridge, MA. (279 pp.).

- BAILEY, R. M. & SMITH, G.R. (1981). Origin and geography of the fish fauna of the Laurentian Great Lakesbasin. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 38, 1539-1561.
- BALDING, D. J., NICHOLS, R. A. 1995. A method for quantifying differentiation between populations at multi-allelic loci and its implications for investigating identity and paternity. *Genetica*, 96:3–12
- BARABANOV, A. V. & L. V. TSHCHERBICH. 1977. Metodología de la determinación de la edad y mortalidad natural de la sardina fueguina. *Tr. Atlant. Nii Ryb. Hoz-va I Okeanografii Kaliningrad*, 73: 70-76 (original en Ruso)
- BARNETT-JOHNSON R., T.E. PEARSON, F.C. RAMOS, C.B. GRIMES & R.B. MACFARLANE. 2008. Tracking natal origins of salmon using isotopes, otoliths, and landscape geology. *Limnology and Oceanography* 53: 1633–1642.
- BATES D., M. MAECHLER & B. BOLKER. 2012. lme4: Linear mixed-effects models using S4 classes. R package version 2.15.1.
- BEERLI P. 2006. Comparison of Bayesian and maximum likelihood inference of population genetic parameters. *Bioinformatics*. 22: 341-345.
- BEGG G & R BROWN (2000) Stock identification of haddock *Melanogrammus aeglefinus* on Georges Bank based on otolith shape analysis. *Trans. Am. Fish. Soc.* 129: 935-945.
- BEGG G., S. CAMPANA, A.J. FOWLER & I.M. SUTHERS. 2005. Otolith research and application: current directions in innovation and implementation. *Mar. Freshwater Res.* 56: 477–483.
- BEGG, G.A., OVERHOLTZ, W.J., MUNROE, N.J., 2001. The use of internal otolith morphometrics for identification of haddock (*Melanogrammus aeglefinus*) stocks on George Bank. *Fishery Bulletin* 99, 1-14.
- BERNATCHEZ, L., R. GUYOMARD, F. BONHOMME. 1992. DNA sequence variation of the mitochondrial control region among morphologically and geographically remote European brown trout *Salmo trutta* populations. *Molecular Ecology*. 1: 161-173.
- BIRD JL, DT EPPLER & DM CHECKLEY (1986) comparisons of herring otolith using fourier series shape analysis. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 43: 1228-1234.

- BJORNDAL, K & BOLTEN, A. (2008). Annual variation in source contributions to a mixed stock: implications for quantifying connectivity. *Molecular Ecology* 17, 2185 – 2193.
- BOLLES KL & GA BEGG (2000) Distinction between silver hake (*Merluccius bilinearis*) stocks in US waters of the northwest Atlantic based on whole otolith morphometrics. *Fish. Bull.*, 98: 451-462.
- CADENASSO, M., PICKETT, A. & GROVE, J. (2006). Dimensions of ecosystems complexity: heterogeneity, connectivity and history. *Ecological Complexity* 3, 1-12.
- CADRIN, S. (2000). Advances in morphometric identification of fishery stocks. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 10: 91–112.
- CAMPANA E. & S. THORROLD. 2001. Otoliths, increments, and elements: keys to a comprehensive understanding of fish populations? *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 58: 30–38.
- CAMPANA S & J CASSELMAN (1993) Stock discrimination using otolith shape analysis. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 50: 1062-1083.
- CAMPANA S. 2005. Otolith science entering the 21st century. *Marine and Freshwater Research* 56: 485–495.
- CAMPANA S.E. 1999. Chemistry and composition of fish otoliths: pathways, mechanisms and applications. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 188: 263–297.
- CAMPANA S.E., A.J. FOWLER & C.M. JONES. 1994. Otolith elemental fingerprinting for stock identification of Atlantic cod (*Gadus morhua*) using laser ablation ICPMS. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 51: 1942–1950.
- CANALES, T.M. 2007. Análisis de la pesquería de sardina austral en las aguas interiores del Mar de Chiloé y estimación de la captura total permisible 2007. Informe extraordinario IFOP/SUBPESCA. 15 pp.
- CANALES-AGUIRRE CB, FERRADA S., HERNÁNDEZ C.E. & R. GALLEGUILLOS. 2010a. Population structure and demographic history of *Genypterus blacodes* using microsatellite loci. *Fisheries Research*. 106: 102-106.
- CANALES-AGUIRRE CB, FERRADA S, GALLEGUILLOS R. 2010a. Isolation and characterization of microsatellite loci for the jack mackerel (*Trachurus murphyi* Nichols, 1920). *Conservation Genetics*. 11(3): 1235-1237.

- CANALES-AGUIRRE, C.B., FERRADA, S., HERNÁNDEZ, C.E. & R. GALLEGUILLOS. 2010b. Usefulness of heterologous microsatellites obtained from *Genypterus blacodes* (Schneider 1801) in species in *Genypterus* off the southeast Pacific. *Gayana* 74: 74 – 77.
- CÁRDENAS G. 2009. Análisis de la composición de tallas, indicadores nutricionales y parámetros de crecimiento *Strangomera bentincki* (sardina común) y *Sprattus fuegensis* (sardina austral) en el sur de Chile. Tesis para optar al grado de Biología Marina. Universidad Austral de Chile.
- CÁRDENAS L, SILVA AX, MAGOULAS A, CABEZAS J, POULIN E, OJEDA FP. 2009. Genetic population structure in the Chilean jack mackerel, *Trachurus murphyi* (Nichols) across the South-eastern Pacific Ocean. *Fisheries Research* 100: 109-115.
- CASTILLO, J. 2008. Evaluación hidroacústica pequeños pelágicos Mar Interior de Chiloé 2007. Informe Pesca de Investigación. Instituto de Fomento Pesquero, Valparaíso, Chile.
- CASTILLO, J., A. SAAVEDRA, P. GÁLVEZ, P. BARRÍA, M. ESPEJO, M. BARBIERI, S. NÚÑEZ, J. ORTIZ, P. TORRES, F. VEJAR, E. MOLINA, F. CERNA, A. LÓPEZ & L. BUSTOS. 2004. Evaluación hidroacústica del reclutamiento de anchoveta y sardina común entre la V y X Regiones, año 2003. Informe final proyecto FIP 2003-08. IFOP, Valparaiso. 178 p.
- CASTOE TA, POOLE AW, DE KONING APJ, JONES KL, TOMBACK DF, OYLER-MCCANCE SJ, FIKE JA, LANCE SL, STREICHER JW, SMITH EN, POLLACK DD. (In Press) Rapid microsatellite identification from Illumina paired-end genomic sequencing in two birds and a snake. *PLoS ONE*.
- CEBALLOS SG, LESSA EP, VICTORIO MF, FERNÁNDEZ DA (2011) Phylogeography of the sub-Antarctic notothenioid fish *Eleginops maclovinus*: evidence of population expansion. *Marine Biology*, 159, 499–505.
- CERNA F., J. QUIROZ, A. LÓPEZ, A. ARANÍS. 2007. Edad y Crecimiento de sardina fueguina (*Sprattus fuegensis*, Jenyns, 1842) en el mar interior de la Isla Chiloé, Pacífico sur-este frente a Chile. Presentación XXVII Congreso de Ciencias del Mar. Iquique 2007.
- CIANCIO J.E., M.A. PASCUAL, F. BOTTO, M. AMAYA-SANTI, S. O'NEAL, C.R. ROSSI, ET AL. 2008. Stable isotope profiles of partially migratory salmonid populations in Atlantic rivers of Patagonia. *Journal of Fish Biology* 72: 1708–1719.

- COUSSEAU, M.B. & R. PERROTA. 1998. Peces Marinos de Argentina, Biología, Distribución, Pesca. Instituto Nacional de Investigación y Desarrollo Pesquero (INIDEP).
- COUSSEAU, M.B. 1982. Revisión taxonómica y análisis de los caracteres morfométricos y merísticos de la sardina fueguina, *Sprattus fuegensis* (Jenyns,1842) (Pisces, Clupeidae). Instituto Nacional de Desarrollo Pesquero 3: 77-94.
- CROOKS, K.R. & SANJAYAN, M. (2006). Connectivity Conservation, Cambridge University Press, New York..
- CUBILLOS ET AL. 2011. Estimación de la abundancia, biomasa y distribución espacial de pequeños pelágicos en aguas interiores de la X y XI Regiones y su relación con algunas variables ambientales, año 2010. Informe Final, COPAS Sur Austral-UDEC, SUBPESCA.
- CHAVEZ R, VALDIVIA, I, Y M E. OLIVA 2007 Local variability in metazoan parasites of the pelagic fish species, *Engraulis ringens*: implications for fish stock assesment using parasites as biological tags. Journal of Helminthology 81: 113-116.
- CHIU, T.S., LEE, Y.J., HUANG, S.W. & YU, H.T. 2002. Polymorphic microsatellite markers for stock identification in Japanese anchovy (*Engraulis japonica*). *Molecular Ecology Note* 2, 44—50.
- CHRISTOPHER R & J WATERS (1974) Fourier series as a quantitative descriptor of miospore shape.- J. paleontol. 48: 697-709.
- DAILIANIS T, LIMBORG M, HANEL R, BEKKEVOLD D, LAGNEL J, MAGOULAS A, TSIGENOPOULOS CS (2008) Characterization of nine polymorphic microsatellite markers in sprat (*Sprattus sprattus* L.). *Mol Ecol Resour* 8:861–863
- DE BUEN, F. 1958. Peces de la superfamilia Clupoidae en aguas de Chile. *Revista de Biología Marina, Valparaíso*, 8 (1,2,3):83-110.
- DE LA PEÑA L.G. Y MARTÍN A. 1997. Fecundidad de la población malvinense de la Sardina Fueguina (*Sprattus fuegensis*). Instituto Nacional de Investigación y Desarrollo Pesquero Mar del Plata.
- DE WOODY AJ, SCHUPP J, KENEFIC L ET AL (2004) Universal method for producing ROX-labeled size standards suitable for automated genotyping. *BioTechniques* 37:348-350.

- DE WOODY J, AVISE J. 2000. Microsatellite variation in marine freshwater and anadromous fishes compared with other animals. *Journal of Fish Biology* 56, 461–473.
- DEBES PV, ZACHOS FE, HANEL R (2008) Mitochondrial phylogeography of the European sprat (*Sprattus sprattus* L., Clupeidae) reveals isolated climatically vulnerable populations in the Mediterranean Sea and range expansion in the northeast Atlantic. *Mol Ecol* 17:3873–3888.
- DELFIN, F.T. 1901. Catálogo de los peces de Chile. *Revista Chilena de Historia Natural*, Imprenta Gillet. Valparaíso, Chile 3-4 (años 1899-1900).
- DON RH, COX PT, WAINWRIGHT BJ, BAKER K, MATTICK JS (1991) ‘Touchdown’ PCR to circumvent spurious priming during gene amplification. *Nucleic Acids Res* 19:4008.
- DRUMMOND, A.J., RAMBAUT, A. 2007. BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees. *BMC Evolutionary Biology*, 7:214.
- ELSDON T.S. & B.M. GILLANDERS. 2002. Interactive effects of temperature and salinity on otolith chemistry: challenges for determining environmental histories of fish. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 59: 1796–1808.
- ELSDON T.S., B.K. WELLS, S.E. CAMPANA, B.M. GILLANDERS, C.M. JONES, K.E. LIMBURG, ET AL. 2008. Otolith chemistry to describe movements and life history parameters of fishes: hypotheses, Assumptions, limitations and inferences. *Oceanogr. Mar. Biol.* 46: 297–330.
- ESRI Inc. 2010. ArcGIS 9.3. Redlands, CA. EXCOFFIER L, LAVAL G, SCHNEIDER S, 2005. Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. *Evol Bioinform Online* 1:47–50.
- EVERITT B.S. & D.J. HAND. 1981. Finite mixture distributions. Chapman & Hall, London-New York.
- EXCOFFIER L, SMOUSE PE, QUATTRO JM (1992) Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to mitochondrial restriction data. *Genetics*, 131, 479–491.
- FEODOROV, S. S. & A. V. BARABANOV. 1976. Algunos datos nuevos acerca de la biología de la sardina fueguina. *Tr. Atlant. Nii Ryb. Hoz-va I Okeanografii Kaliningrad*, 65: 135-142 (original en Ruso)

- FERRADA S, HERNÁNDEZ K, MONTOYA R, GALLEGUILLOS R. 2002. Estudio poblacional del recurso anchoveta (*Engraulis ringens* Jenyns 1842) (Clupeiformes, Engraulidae), mediante análisis de ADN. *Gayana* 66 (2): 243-248.
- FISHER, R.A. (1936) The use of multiple measurements in taxonomic problems. *Ann. Eugen.* 7, 179–188.
- FOLL, M., & O.E. GAGGIOTTI. 2006. Identifying the environmental factors that determine the genetic structure of Populations. *Genetics*, 174: 875-891.
- FRIEDLAND K.D & D.G REDDIN (1994) The use of otolith morphology in stock discriminations of *Atlantic salmon* (*Salmon salar* L.). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science*, 51: 91-98.
- GACITÚA, S., C. OYARZÚN, R. VEAS. (2008). Análisis multivariado de la morfometría y métrica del robalo *Eleginops maclovinus* (Cuvier, 1830). *Revista de Biología Marina y Oceanografía* 43(3): 491-500.
- GAGGIOTTI OE, BEKKEVOLD D, J RGENSEN HBH, FOLL M, CARVALHO GR, ANDRE´ C ET AL. 2009. Disentangling the effects of evolutionary, demographic, and environmental factors influencing genetic structure of natural populations: Atlantic herring as a case study. *Evolution* 63: 2939–2951.
- GALLEGUILLOS ET AL. 2011. Determinación de unidades poblacionales de sardina austral entre la X y XII Regiones de Chile. Informe de Avance, Proyecto FIP 2010-17. Universidad de Concepción.
- GALLEGUILLOS R, CANALES-AGUIRRE CB, FERRADA S. 2012. Genetic variability in jack mackerel (*Trachurus murphyi*): new SSRs loci and application. *Gayana*. 76(1):58-62.
- GALLEGUILLOS R, TORRES A. 1988. Identificación de unidades poblacionales pelágicas. Tercera etapa. Informe Final. SUBPESCA. 67 p.
- GALLEGUILLOS R, TRONCOSO L, MONSALVES J, OYARZÚN C. 1997. Diferenciación poblacional en la sardina chilena *Strangomera bentincki* (Pisces: Clupeidae) análisis genético de variabilidad proteínica. *Revista Chilena de Historia Natural* 70: 351-361.
- GELMAN, A., CARLIN, J.B., STERN, H.S. & RUBIN, D.B. 1995. Bayesian data analysis. Chapman and Hall, London.

- GEORGE -NASCIMENTO, M. 1996. Populations and assemblages of metazoan parasites in the hake *Merluccius gayi* (Guichenot) (Gadiformes: Merlucciidae) from the southeastern Pacific Ocean: Stock implications. *Journal of Fish Biology* 48:557-568
- GEORGE-NASCIMENTO, M. 2000. Geographical variations in the jack mackerel *Trachurus symmetricus murphyi* populations in the southeastern Pacific Ocean as evidenced from the associated parasite communities. *J. Parasitol.* 86:929-932.
- GIARDINA C.R. & F.P. KUHL (1977) Accuracy of curve approximation by harmonically related vectors with elliptical loci. *Computer graphics and Image processings*, 6: 238-258.
- GONZALEZ L & J. CARVAJAL, 1994. Estudio parasitologico de *Merluccius australis* (Hutton, 1872) del mar interior de Aysén. *Invest. PEsq. (Chile)* 38:75-85
- GONZÁLEZ, A., E. DÍAZ, M. SORIA & R. RODILES. (2005). Análisis morfométrico de los peces del grupo labialis, género *Profundulus* (Cyprinodontiformes: Profundulidae), en Chiapas, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad* vol. 76: 55- 61.
- GORBACHEV VV, SOLOVENCHUK LL, CHERNOIVANOVA LA. 2011. Intraspecies structure of the pacific herring *Clupea pallasii* valenciennes, 1847 (Clupeidae: Clupeiformes) in the Sea of Japan and the southern Sea of Okhotsk inferred from the variability of mitochondrial DNA control. *Russian Journal of Marine Biology.* 37(6): 489-493
- GRANT, W. & WAPLES, R. (2000). Spatial and Temporal Scales of genetic variability in marine and anadromous species: En: Parsons, T., Harrison, P., Editores. *Implications for fisheries oceanography.* pp 93.
- GRANT, W. & WAPLES, R. 2000. Spatial and Temporal Scales of genetic variability in marine and anadromous species: En: Parsons, T., Harrison, P., Editores. *Implications for fisheries oceanography.* pp 93.
- GRU, D.L. & M.B. COUSSEAU. 1982. Estudio de edad y crecimiento de la sardina fueguina (*Sprattus fuegensis*) de las costas de la provincia de Santa Cruz e Islas Malvinas. *Rev. Invest. Des. Pesq., INIDEP* 3: 51-58.
- GUILLOT G. & M. FOLL. 2009. Accounting for the ascertainment bias in Markov Chain Monte Carlo inferences of population structure. *Bioinformatics*, 25(4): 552-554.

- GUILLOT G., A. ESTOUP, F. MORTIER, & J.F. COSSON. 2005a. A spatial statistical model for landscape genetics. *Genetics*, 170(3): 1261-1280.
- GUILLOT G., F. MORTIER, & A. ESTOUP. 2005b. Geneland: A computer package for landscape genetics. *Molecular Ecology Notes*, 5(3): 708-711.
- GUILLOT G., F. SANTOS, & A. ESTOUP. 2008. Analysing georeferenced population genetics data with Geneland: a new algorithm to deal with null alleles and a friendly graphical user interface. *Bioinformatics*, 24(11): 1406-1407.
- GUILLOT G., R. LEBLOIS, A. COULON, & A. FRANTZ. 2009. Statistical methods in spatial genetics. *Molecular Ecology*, 18: 4734-4756.
- GUILLOT, G. 2008. Inference of structure in subdivided populations at low levels of genetic differentiation: The correlated allele frequencies model revisited. *Bioinformatics*, 24:2222-2228.
- HANSEN, J. E. 1999. Estimación de parámetros poblacionales del efectivo de sardina fueguina (*Sprattus fuegensis*) de la costa continental argentina. Instituto Nacional de Desarrollo Pesquero. INIDEP. Informe Técnico 27, Mar del Plata. Argentina. 28 p.
- HANSEN, J. E. ET AL. 1992. Final Report on the scientific research survey carried out by the R/V "Dmitry Stefanov" in the economic zone of the Republic Argentina (March 21st - April 14th, 1992).
- HARKONEN T (1986) Guide to the Otoliths of the Bony Fishes of the Northeast Atlantic. *Hellerup Danbiu ApS*. 67:256
- HASEGAWA, M., Y. IIDA, T. YANO, F. TAKAIWA, AND M. IWABUCHI. 1985a. Phylogenetic relationships among eukaryotic kingdoms as inferred from ribosomal RNA sequences. *Journal of Molecular Evolution* 22: 32-38.
- HASTINGS, A. 1993. Complex Interactions Between Dispersal and Dynamics: Lessons From Coupled Logistic Equations. *Ecology* 74:1362-1372
- HAUSER L, CARVALHO G. 2008. Paradigm shifts in marine fisheries genetics: ugly hypotheses slain by beautiful facts. HAUSER L, CARVALHO G. 2008. Paradigm shifts in marine fisheries genetics: ugly hypotheses slain by beautiful facts. HECHT T & S APPELBAUM (1982) Morphology and taxonomic significance of the otoliths of

- some bathypelagic *Anguilloidei* and *Saccopharyngoidei* from the Sargasso Sea. Helgol. Meeresunters., 35: 301-308.
- HECHT T (1987) A guide to the otoliths of Southern Ocean Fishes. S. Afr. J. Zool 17 (1): 1-87.
- HEDGECOCK D., BARBER P. & S. EDMANDS. 2007. Genetics approaches to measuring connectivity. Oceanography 20(3): 70-79.
- HERRINGTON W.C, BEARSE, H.M. AND FIRTH E.E. 1939. Observations on the life history, occurrence and distribution of the redfish parasite *Sphyrion lumpi*. United States Bureau of Fisheries, Special Report 5:1-18
- HEY J, NIELSEN R. 2007. Integration within the Felsenstein equation for improved Markov chain Monte Carlo methods in population genetics. Proceedings of the National Academy of Sciences. 104: 785–2790.
- HØIE H., E. OTTERLEI & A. FOLKVORD. 2004. Temperature-dependent fractionation of stable oxygen isotopes in otoliths of juvenile cod (*Gadus morhua* L.). Journal of Marine Science 61: 243–251.
- HURLBUT T & D CLAY, (1998) Morphometric and meristic differences between shallow and deep water populations of St Lawrence. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 55:2274-2282
- HUTCHINGS, J., SWAIN, D., ROWE, S., EDDINGTON, J., PUVANENDRAN, V. & BROWN, J. (2007). Genetic variation in life-history reaction norms in a marine fish. Proceedings of The Royal Society B 27, 1693-1699.
- IHSSEN P. E, D.O EVANS, W.J CHRISTIE, J.A RECKAHN & R. L DESJARDINE (1981b) Life history, morphology, and electrophoretic characteristics of five allopatric stocks of late whitefish (*Coregonus clupeaformis*) in the Great Lakes region. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 38: 1790-1807.
- IWATA H & UKAI Y (2002) SHAPE: a computer program package for quantitative evaluation of biological shapes based on elliptic Fourier descriptors. Journal of heredity 93: 384-385.

- JARNE, P. & LAGODA, P.J.L. (1996) Microsatellites, from molecules to populations and back. *Tree* 11, 424-429.
- KALISH J.M. 1991a. ^{13}C and ^{18}O isotopic disequilibria in fish otoliths: metabolic and kinetic effects. *Mar. Ecol.-Prog. Ser.* 75: 191–203.
- KALISH J.M. 1991b. Oxygen and carbon stable isotopes in the otoliths of wild and laboratory-reared Australian salmon (*Arripis trutta*). *Mar. Biol.* 110: 37–47.
- KENDALL, D.G. 1977. The difusión of shape. *Adv. Appl. Prob.* 9, 428-430.
- KERR L.A., D.H. SECOR & R.T. KRAUS. 2007. Stable isotope ($\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{18}\text{O}$) and Sr/Ca composition of otoliths as proxies for environmental salinity experienced by an estuarine fish. *Mar. Ecol.-Prog. Ser.* 349: 245–253.
- KIMURA, M. 1983. *The Neutral Theory of Molecular Evolution*. Cambridge University Press, Cambridge.
- KLIMPEL S. & RÜCKERT S. 2005. Life cycle strategy of *Hysterothylacium aduncum* to become the most abundant anisakid fish nematode in the North Sea. *Parasitol Res.* 97:141-149.
- KØIE, M. 1993 Aspects of the life cycle and morphology of *Hysterothylacium aduncum* (Rudolphi, 1802) (Nematoda, Ascaridoidea, Anisakidae). *Canadian Journal of Zoology*, 71: 1289-1296
- KORNFELD I, PARKER A .1997. Molecular systematics of a rapidly evolving species flock: The mbuna of Lake Malawi and the search for phylogenetic signal. In: Kocher TD, Stepien CA (eds) *Molecular systematics of fishes*. Academic Press, New York
- KUHL F.P. & C.R. GIARDINA (1982) Elliptic Fourier features of a closed contour. *Computer graphics and image processings*, 18: 236-258.
- LACHENBRUCH P.A. & M.A. MICKEY. 1968. Estimation of error rates in discriminant analysis. *Technometrics* 10: 1–10.
- LANDAETA M.F., C.A. BUSTOS, P. PALACIOS-FUENTES, P. ROJAS & F. BALBONTÍN. 2011. Distribución del ictioplancton en la Patagonia austral de Chile: potenciales efectos del deshielo de Campos de Hielo Sur. *Latin american journal of aquatic research* 39: 236–249.

- LANDAETA M.F., G. LÓPEZ, N. SUÁREZ-DONOSO, C.A. BUSTOS & F. BALBONTÍN. 2012. Larval fish distribution, growth and feeding in Patagonian fjords: potential effects of freshwater discharge. *Environmental Biology of Fishes*: 1–15.
- LANDI, M., GAROIA, F., PICCINETTI, C. & TINTI, F. (2005) Isolation of polymorphic microsatellite loci from the European anchovy, *Engraulis encrasicolus*. *Molecular Ecology* **5**, 266–268.
- LARSSON LC, LAIKRE L, ANDRE´ C, DAHLGREN TG, RYMAN N (2010). Temporally stable genetic structure of heavily exploited Atlantic herring (*Clupea harengus*) in Swedish waters. *Heredity* 104: 40–51.
- LARSSON LC, LAIKRE L, PALM S, ANDRE´ C, CARVALHO GR, RYMAN N. 2007. Concordance of allozyme and microsatellite differentiation in a marine fish, but evidence of selection at a microsatellite locus. *Mol Ecol* 16: 1135–1147.
- LEAL E., T.M. CANALES, A. ARANIS Y M. GONZALEZ. 2011. Actividad reproductiva y longitud de madurez de sardina austral *Sprattus fuegensis* en el mar interior de Chiloé, Chile. *Revista de Biología Marina y Oceanografía*. Vol. 46, N°1: 43-51
- LENORMAND, T. (2002). Gene flow and the limits to natural selection. *Trends in Ecology & Evolution* **17**, 183-189.
- LESTER, R.J.G. & MACKENZIE, K. 2009 The use and abuse of parasites as stock markers for fish. *Fish. Res.* 97: 1-2
- LIBRADO P, ROZAS J. 2009. DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics* 25: 1451-1452
- LIMBORG MT, PEDERSEN JS, HEMMER-HANSEN J. TOMKIEWICZ J, BEKKEVOLD D. 2009. Genetic population structure of European sprat (*Sprattus sprattus* L.): differentiation across a steep environmental gradient in a small pelagic fish. *Marine Ecology Progress Series*. 379: 213–224
- LIU J-X, TATARENKOV A, BEACHAM TD, ET AL. 2011. Effects of Pleistocene climatic fluctuations on the phylogeographic and demographic histories of Pacific herring (*Clupea pallasii*). *Molecular ecology*, 20, 3879–93.
- LOMBARTE A & A. CASTELLÓN (1991) Inter-specific and intra-specific otolith variability in the genus *Merluccius* as determined by image analysis. *Can. J. Zool.*, 69: 2442-2449.

- LLORIS, D. & J. RUCABADO. 1991. Ictiofauna del canal Beagle (Tierra del Fuego), aspectos ecológicos y análisis biogeográfico. Publicaciones Especiales Instituto Español de Oceanografía, 8:1-182.
- MACKENZIE K. AND P. ABAUNZA (2005) Parasites as biological tags in (Cadrin, Friedland & Waldman eds) Stock identification methods: applications in fisheries science. 211-226
- MADIROLAS, A. & J. E. HANSEN. 2000. Sardina fueguina (*Sprattus fuegensis*). Pp.227-232. En: Síntesis del estado de las pesquerías marítimas argentinas y de la Cuenca del Plata, años 1997-1998, con una actualización de 1999 (S. Bezzi, R. Akselman y E. Boschi, Eds.). Instituto Nacional de Investigación y Desarrollo Pesquero, Mar del Plata, Argentina, 388 pp.
- MADIROLAS, A. 1996A. Campaña Crucero “H-04/96”. Evaluación de sardina fueguina (*Sprattus fuegensis*). Informe de Campaña. Bibliot. INIDEP, Mar del Plata, Argentina, 25 pp., + Anexos.
- MADIROLAS, A. 1996B. Campaña Crucero “OB-13/96”. Evaluación de sardina fueguina (*Sprattus fuegensis*). Informe de Campaña. Bibliot. INIDEP, Mar del Plata, Argentina, 26 pp., + Anexos.
- MARTÍNEZ V & G. MONASTERIO DE GONZO (1991) Clave de determinación de otolitos de algunos peces siluriformes de la provincia de Salta . Revista de la Asociación de Cs. Naturales del Litoral **22**, (2): 95 – 118.
- McPHERSON, A. A., O'REILLY, P. T., McPARLAND, T. L., JONES, M. W. & BENTZEN, P. 2001. Isolation of nine novel tetranucleotide microsatellites in Atlantic herring (*Clupea harengus*). Molecular Ecology Notes **1**, 31-32.
- MILLER, K. M., LABEREE, K., SCHULZE, A.D. & KAUKINEN, K.H. 2001. Development of microsatellite loci in Pacific herring (*Clupea pallasii*). Molecular Ecology Notes **1**, 131-132.
- MIRANDA L, ORTIZ R., GUZMÁN D. Y TORRES C. 2011. Presencia y abundancia de pequeños peces pelágicos en aguas interiores de la región de Aysén. XXXI Congreso de Ciencias del Mar, Viña del Mar, Chile
- MORITZ, C. (1994). Defining ‘evolutionarily significant units’ for conservation. Trends in Ecology & Evolution **9**, 373–375.

- NAKAMURA I. 1986. Important fishes trawled off Patagonia. JAMARC. Tokyo, Japan. 369 pp.
- NAKAMURA, I. (1986). Important fishes trawled off Patagonia. JAMARC. Tokyo, Japan. 369 pp.
- NEILSON J, G. GEEN & B. CHAN (1985) Variability in dimensions of salmonid otolith nuclei: implications for stock identification and microstructure interpretation. *Fishery Bulletin* 83: 81-89.
- NIKLITSCHKEK E., J. CORNEJO, E. HERNÁNDEZ, P. TOLEDO, R. MERINO, A. LAFON, ET AL. 2007. Evaluación hidroacústica de *Sprattus fuegensis* en los canales interiores de la X región. Universidad Austral de Chile - Centro Trapananda, Coyhaique.
- NIKLITSCHKEK E.J., C. CANALES-AGUIRRE, S. FERRADA, R. GALLEGUILLOS, M. GEORGE-NACIMENTO, E. HERNÁNDEZ, ET AL. 2009a. Unidades poblacionales de merluza de tres aletas (*Micromesistius australis*). Informe final FIP 2006-15. Universidad Austral de Chile (Centro Trapanada), Coyhaique.
- NIKLITSCHKEK E.J., D.H. SECOR, P. TOLEDO, A. LAFON & M. GEORGE-NASCIMENTO. 2010. Segregation of SE Pacific and SW Atlantic blue whiting stocks: evidence from complementary otolith microchemistry and parasite assemblages. *Env. Biol. Fish.* 89: 399–413.
- NIKLITSCHKEK E.J., P. TOLEDO, E. HERNÁNDEZ, J. NELSON, M. SOULE, C. HERRANZ, ET AL. 2009b. Identificación y evaluación hidroacústica de pequeños pelágicos en aguas interiores de la X y XI regiones, año 2007. Informe Final FIP 2007-05. Universidad Austral de Chile, Centro Trapananda, Coyhaique, Chile.
- NOBLE E. & NOBLE G. 1982. Parasitology “ The Biology of Animal Parasites”. Lea & Febiger. 5ta Edición. Filadelfia. 522 pp.
- O’CONNELL, M., DILLON, M. & WRIGHT, J. 1998. Development of primers for polymorphic microsatellite loci in the Pacific herring (*Clupea harengus payáís*). *Molecular Ecology* 7, 358–259.
- OLIVA M & BALLÓN I. 2002 Parasites of the Chilean hake *Merluccius gayi* as a tool for stocks discrimination . *Fisheries Research* 56: 313-320.

- OLIVA M. 1999 Metazoan Parasites of the jack mackerel *Trachurus murphyi* Nichols, 1920 (Teleostei, Carangidae) in a latitudinal gradient from South America (Chile and Perú). Parasites 6 (3): 223-230.
- OLIVA M., GONZALEZ M.T & E. Acuña.2004 Metazoan Parasite Fauna as Biological Tag for the Habitat of the Flounder *Hippoglossina macrops* from Northern Chile, in a Depth Gradient. Journal of Parasitology 90:1374-1377
- OLIVA M.E & M. SÁNCHEZ 2005 Metazoan parasites and commensals of the northern Chilean scallop *Argopecten purpuratus* (Lamarck, 1819) as tools for stock identification Fisheries Research 71: 71-77
- OLIVA M.E. 2001 Metazoan parasites of *Macruronus magellanicus* from southern Chile as Biological tags. Journal Fish Biology. 58: 1617-1622.
- PAMILO P, VARVIO-AHO S. 1984. Testing genotype frequencies and heterozygosities. Marine Biology. 79:99-100
- PANNELLA G. 1971. Fish otoliths: daily growth layers and periodical patterns. Science. 173: 1124–1127.
- PAULY D. 1980. On the interrelationships between natural mortality, growth parameters and mean environmental temperature in 175 fish stocks. J. Cons. CIEM, 39 (2): 175-192.
- PEAKALL R, SMOUSE PE .2006. GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. Molec Ecol Notes 6:288-295.
- PEMBERTON, J.M., SLATE, J., BANCROFT, D.R. & BARRETT, J.A. 1995. Nonamplifying alleles at microsatellite loci: a caution for parent- age and population studies. Molecular Ecology 4, 249-252.
- PEQUEÑO, G. 1989. Peces de Chile. Lista sistemática revisada y comentada. Rev. Biol. Mar., Valparaíso, 24 (2): 1-132.
- PEREYRA, R. T., SAILLANT, E., PRUETT, C. L., REXROAD, C. E., ROCHA-OLIVARES, A . & GOLD, J. R. (2004). Characterization of polymorphic microsatellites in the Pacific sardine *Sardinops sagax sagax* (Clupeidae). Molecular Ecology Notes 4, 739–741.
- POTHIN K, GONZALEZ-SALAS C, CHABANET P & LECOMTE-FINIGER R (2006) Distinction between *Mulloidichthys flavolineatus* juveniles from Reunion Island and

- Mauritius Island (south-west Indian Ocean) based on otolith morphometrics. *Journal of Fish Biology* 69:38–53.
- RAFTERY A., 1996. Approximate Bayes factor and accounting for model uncertainty in generalized linear models. *Biometrika*, 83: 251-266.
- RICO, C., I. RICO & G. HEWITT. 1996. 470 million years of conservation of microsatellite loci among fish species. *Proceedings of the Royal Society London Series B* 263: 549 – 557.
- RIFFO, R. (1990). Primer registro parasitológico en *Strangomera bentincki* (Norman, 1963) y *Engraulis ringens* Jenyns, 1842 (Pisces: Clupeiformes) para la costa de Chile. *Medio Ambiente (Chile)* 11, 59–64.
- RIKHTER, V. A. & V. N. EFANOV. 1976. On one of the approaches to estimation of natural mortality of fish populations. *ICNAF Res. Doc.*, 76/VI/8, 12pp.
- ROOKER J. & D.H. SECOR. 2004. Stock structure and mixing of Atlantic bluefin tuna: evidence from stable d13C and d18O isotopes in otoliths. *Collective Volume of Scientific Papers ICCAT* 56: 1115–1120.
- ROOKER J.R., D.H. SECOR, G. DEMETRIO, A.J. KAUFMAN, A.B. RIOS & V. TICINA. 2008. Evidence of trans-Atlantic movement and natal homing of bluefin tuna from stable isotopes in otoliths. *Marine Ecology-Progress Series* 368: 231–239.
- ROOKER J.R., V.S. ZDANOWICZ & D.H. SECOR. 2001. Chemistry of tuna otoliths: assessment of base composition and postmortem handling effects. *Mar. Biol.* 139: 35–43.
- ROUSSET F. 2008. GENEPOP'007: a complete re-implementation of the GENEPOP software for Windows and Linux. *Mol Ecol Res* 8:103–106.
- RUZZANTE, 2009 Disentangling the effects of evolutionary, demographic and environmental factors influencing the genetic structure of natural populations: Atlantic herring as a case study. *Evolution*, 63 :2939-2951.
- RUZZANTE, DE, CT TAGGART, D COOK. 1998. A nuclear DNA basis for shelf- and bank-scale population structure in NW Atlantic cod (*Gadus morhua*): Labrador to Georges Bank. *Molecular Ecology*, 7: 1663-1680

- SABATINI, M., J. GIMÉNEZ & V. ROCCO. 2001. Características del zooplancton del área costera de la plataforma patagónica austral (Argentina). *Biol. Inst. Esp. Oceanogr.* 17: 245-254
- SANCHEZ, R. P ET AL. 1997. The reproductive biology of the patagonian sprat (*Sprattus fuegensis*): several Facuss and still some speculations. ICES, Pelagic Fish Committee (CM 1997/HH:22).
- SCHLÖTTERER, C., B. AMOS & D. TAUTZ. 1991. Conservation of polymorphic simple sequence loci in cetacean species. *Nature* 354: 63 – 65.
- SEARLE S.R. 1987. Linear models for unbalanced data. Wiley, New York (USA).
- SECOR D.H. 1999. Specifying divergent migrations in the concept of stock: the contingent hypothesis. *Fish. Res.* 43: 13–34.
- SECOR D.H. 2010. Is otolith science transformative? New views on fish migration. *Env. Biol. Fish.* 89: 209–220.
- SERNAPESCA. 2009. Anuario estadístico de pesca. Servicio Nacional de Pesca, Ministerio de Economía Fomento y Reconstrucción Santiago, Chile. 114 p.
- SHIRAKOVA, E. N. 1978. Some biological features of Tierra del Fuego sprat. *Soviet Journal of Marine Biology*, 4: 697-702.
- SHIRAKOVA, E. N. 1978B. Contribution to the biology of Tierra del Fuego sprat *Sprattus fuegensis* (Jenyns, 1842). *Biologiya Mora*, 3: 78-84.
- SILVA, A. (2003). Morphometric variation among sardine (*Sardina pilchardus*) populations from the northeastern Atlantic and the western Mediterranean. *ICES Journal of Marine Science*, 60: 1352-1360.
- SIMONEAU M, J CASSELMAN & R FORTIN (2000) Determining the effect of negative allometry (length/height relationship) on variation in otolith shape in lake trout (*Salvelinus namaycush*), using Fourier-series analysis. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 78:1597–1603.
- SMALE M, J WATSON & T HECHT (1995) Otolith atlas of southern African Marine fishes. *Ichthyological Monographs of the J.L.B. Smith Institute of Ichthyology* 1: 1–232.
- SMITH M.K (1992) Regional differences in otolith morphology of the deep slope red snapper *Etelis carbunculus*. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 49: 795-804.

- SMITH, P.J.; ROBERTSON, D.A. (1981). Genetic evidence for two species of sprat (*Sprattus*) in New Zealand waters. *Marine Biology* 62(4): 227–233.
- SPANAKIS, E., TSIMENIDES, N., ZOURES, E. 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.
- THORROLD S., C. JONES & S. CAMPANA. 1997. Response of otolith microchemistry to environmental variations experienced by larval and juvenile Atlantic croaker (*Micropogonias undulatus*). *Limnol. Oceanogr.* 42: 102–111.
- TURAN C (2000) Otolith shape and meristic analysis of herring (*Clupea harengus*) in the North-East Atlantic. *Archive of Fishery and Marine Research* 48: 213–225.
- TURAN C (2006) Phylogenetic relationships of Mediterranean Mullidae species (Perciformes) inferred from genetic and morphologic data. *Scientia Marina*, 70(2): 311-318.
- TUSET V.M, J.A GONZÁLEZ, M.M GARCÍA-DÍAZ & J. I SANTANA (1996) Feeding habits of *Serranus cabrilla* (Serranidae) in the Canary Islands. *Cybiurn* 20 (2): 161-167.
- TYBERGHEIN L., VERBRUGGEN H., PAULY K., TROUPIN C., MINEUR F., DE CLERCK O. 2011. Bio-ORACLE: a global environmental dataset for marine species distribution modeling. *Global Ecology and Biogeography*, 21(2): 272-281
- TYLER, A.V. (1988). Biological bases for management of groundfish resources of the west coast of Canada. In: *Fishery Science and Management*. WS Wooster (ed.), Springer-Verlag, 216-234.
- VALDIVIA, I, CHAVEZ R AND M E. OLIVA 2007 Metazoan Parasites of *Engraulis ringens* as tools for stock discrimination along the Chilean coast. *Journal Fish Biology* 70: 1504-1511.
- VANDEHEY, J., SLOSS, B., PEETERS, P. & SUTTON, T. (2009). Genetic structure of lake whitefish *Coregonus clupeaformis* in Lake Michigan. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 66, 382-393.
- VENABLES W.N. & B.D. RIPLEY. 2002. *Modern applied statistics with S* 4th ed. Springer, New York. 495 pp.
- WAHLUND, S. 1928. Zusammensetzung von Population und Korrelationserscheinung vom Standpunkt der Vererbungslehre aus betrachtet. *Hereditas*, 11: 65-106.

- WAPLES, R. D. (1998). Separating the wheat from the chaff: patterns of genetic differentiation in high gene flow species. *The Journal of Heredity* **98**, 438–450.
- WAPLES, R. S. & GAGGIOTTI, O. E. (2006). What is a population? An empirical evaluation of some genetic methods for identifying the number of gene pools and their degree of connectivity. *Molecular Ecology* **15**, 1419-1439.
- WARD RD, WOODWARK M, SKIBINSKI DOF .1994. A comparison of genetic diversity levels in marine, freshwater, and anadromous fishes. *Journal of Fish Biology*, 44: 213–232.
- WATTS P, O'LEARY D, CROSS M, COUGHLAN J, DILLANE E, KAY S, WYLDE S, STET R, NASH R, HATFIELD E, CROSS T (2008). Contrasting levels of genetic differentiation among putative neutral microsatellite loci in Atlantic herring *Clupea arengus* populations and the implications for assessing stock structure. *Hydrobiologia*, 606:27–33.
- WEBER, J. L., AND C. WONG, 1993 Mutation of human short tandem susceptibility locus on chromosome 2. *Nature Genet.* 13: 161–166.
- WHITEHEAD PJP., SMITH PJ., ROBERTSON DA. 1985. The two species of sprat in New Zealand waters (*Sprattus antipodum* and *S. muelleri*). *N.Z. Journal of Marine and Freshwater Research* 19(2): 261 – 271.
- WHITEHEAD, PJP. 1985. Clupeoid fishes of the world. An annotated and illustrated catalogue of the herrings, sardines, pilchards, sprats, anchovies and wolfherrings. Part 1. Chirocentridae, Clupeidae and Pristigasteridae. *FAO Fisheries Synopsis*, 125 (7), part 1: I – x + 1-303.
- WHITEHEAD, P.J.P., NELSON, G.J. & WONGRATANA, T. 1988. *FAO species catalogue. Vol.7. Clupeoid fishes of the world Suborder Clupeoidei. An annotated and illustrated catalogue of the herrings, sardines, pilchards, sprats, anchovies and wolf-herrings. Part 2. Engraulididae. FAO Fish. Synop., 125 Vol. 7, Pt.2:305-579.*
- WILLIAMS R & A MCELDFOWNEY (1990) A guide to the fish otoliths from waters off Australian Antarctic, Herad and Macquarie Islands. *An. Res. Noter*, 75: 1-173
- WRIGHT S .1951. The genetical structure of populations. *Ann.Eugen.*, 15: 323–353.
- WRIGHT S. 1931. Evolution in Mendelian populations. *Genetics*, 16: 97–159.

- WURSTER C., W. PATTERSON & M. CHEATHAM. 1999. Advances in micromilling techniques: a new apparatus for acquiring high-resolution oxygen and carbon stable isotope values and major/minor elemental ratios from accretionary carbonate. *Computers & Geosciences* 25: 1159–1166.
- YOUNKER J. L & R. EHRLICH (1977) Fourier biometrics: Harmonic amplitudes as multivariate shape descriptors. *Syst. Zool.*, 26:336-342.
- ZAR J.H. 1996. *Biostatistical analysis*. 3rd ed. New Jersey: Prentice Hall
- ZUUR A.F., E.N. IENO & C.S. ELPHICK. 2010. A protocol for data exploration to avoid common statistical problems. *Methods in Ecology and Evolution* 1: 3–14.
- ZUUR A.F., E.N. IENO & G.M. SMITH. 2007. *Analyzing ecological data*. Springer Science+Business Media, New York (USA). 672 pp.

Taller de Discusión y Difusión

El taller de discusión y difusión, organizado por la Universidad de Concepción, se realizó el día 31 de agosto de 2012 en la ciudad de Puerto Montt, en el Auditorio del Centro i~mar, Universidad de Los Lagos. Contó con la presencia de un representante del Fondo de Investigación Pesquera, la Subsecretaría de Pesca, consultoras, organizaciones de pescadores artesanales, estudiantes, y los principales Investigadores de este proyecto (Lista de Asistencia Tabla 1). Se realizaron cinco presentaciones en las que se mostró los resultados del proyecto como se observa en el programa adjunto.

Tabla 1: Listado de asistentes al taller de discusión y difusión realizado en Puerto Montt.



**DETERMINACIÓN DE UNIDADES POBLACIONALES DE
SARDINA AUSTRAL
ENTRE LA X Y XII REGIONES DE CHILE
Proyecto FIP 2010-17
Taller de Discusión y Difusión
Auditorio del Centro i-mar, Universidad de Los Lagos**

Listado de asistentes

Nombre	Institución
H. G. 10/17/16/10	95201111
RICARDO FERNANDEZ	SIPESRAYEV
Ximena Ortiz Audinade	HOSPITAL - aganmar x mar@gmail.com
IVÁN VAHARA BONER	A GARINAR (65)460106
Sandra Vidal Parga	U. Lagos
Juan Rodríguez Maulen	I-mar
Michelle Rossack	Universidad de Los Lagos
Valencia González G.	i-mar
Yessica Robles Meneses	I~mar
MAJÍ ZAVANZO	FIP
VICTOR Espino Briones	SSP
CARLOS TORO ORBINA	CONSULTORES PESQUEROS MARACTIVA LTDA
MANUEL O'DRIS	U. ALTOPIQUENA
Romulo Salazar	UDEC
Claudio Angel U.	Sempesca. (Cibuco) cepel@sempesca.cl
Miguel PEDRAZA	UDEC
ANDRÉS FRANCO	CEPES



Programa Taller Proyecto FIP 2010-17

DETERMINACIÓN DE UNIDADES POBLACIONALES DE SARDINA AUSTRAL ENTRE LA X Y XII REGIONES DE CHILE

Proyecto FIP 2010-17

Taller de Discusión y Difusión

Auditorio del Centro i-mar, Universidad de Los Lagos

Camino a Chinquihue km 6, Puerto Montt

Viernes 31 de Agosto de 2012

- ✓ 09:30 – 10:00 Bienvenida, Descripción del proyecto y objetivos. Ricardo Galleguillos, Universidad de Concepción.
- ✓ 10:00 - 12:00 Objetivo 1 y 2. Determinar si *Sprattus fuegensis* presente entre la X y XII regiones de Chile, constituye una o más unidades poblacionales o stocks pesqueros independientes. Estimar flujos genéticos entre unidades poblacionales o stocks.
- ✓ 10:00 – 10:30 Parámetros de Historia de Vida, Morfología de Cuerpo y Otolitos. Milton Pedraza, Universidad de Concepción
- ✓ 10:30 – 11:00 Fauna parasitaria. Marcelo Oliva, Universidad de Antofagasta
- ✓ 11:00 – 11:30 Microquímica de Otolitos. Edwin J. Niklitschek, Universidad de Los Lagos
- ✓ 11:30 – 12:00 Marcadores Moleculares Microsatélites y secuencias de ADN mitocondrial. Sandra Ferrada. Universidad de Concepción.

Coffee Break

- ✓ 12:00 – 12:30 Objetivo 3. Desarrollar un modelo conceptual respecto de las migraciones ontogénicas de sus individuos y los posibles procesos de conectividad entre dichas unidades poblacionales. Cristián E. Hernández, Universidad de Concepción.

- ✓ 12:30 – 13:00 Discusión y Conclusiones.

Fono consulta 56+65+322423 / 56+65+322425

Del Taller de Discusión y Difusión se generan las siguientes conclusiones y recomendaciones

Conclusiones

- ✓ Utilizando e incorporando en el análisis las aproximaciones genéticas utilizadas, no se encontró diferencias genéticas significativas, considerándose que *Sprattus fuegensis* a través de su distribución en Chile, se comporta poblacionalmente como una gran agrupación reproductiva, y como una unidad de stock genético.
- ✓ Las aproximaciones no genéticas dan cuenta del gran grado de mezcla reproductiva que existe en el espacio en que habita *Sprattus fuegensis*, dejando las diferencias observadas a caracteres de historia de vida como producto de la plasticidad fenotípica de caracteres no heredables, a diferencia de lo que ocurre a nivel de las moléculas de ADN.
- ✓ La existencia de un único stock genético de la especie *S. fuegensis* a través de su distribución en Chile, no indica en ningún caso que la especie debe ser tratada como un único stock pesquero.
- ✓ Queda establecido que ante la presencia de una única agrupación reproductiva, y ante el potencial manejo de la especies en varias agrupaciones administrativas, los efectos de la administración y de la actividad pesquera se verían reflejados a través de toda la distribución de la especie en Chile.
- ✓ Las decisiones de manejo y administración del recurso quedan a cargo de las autoridades de gobierno competentes para tales fines, y no son parte de las funciones de los investigadores.

Recomendaciones

- ✓ Mejorar el conocimiento de la especie en la XII región de Magallanes para mapeo de huevos, larvas, juveniles y adultos, entre otros tópicos.
- ✓ Verificar en estudios futuros la estabilidad temporal de los patrones de variabilidad genética y no genética descritos en este estudio.

- ✓ Monitorear espacial y temporalmente los patrones genéticos descritos aquí para la especie, en particular aquellas zonas que se encuentran en aguas interiores, como la zona D, frente al Golfo Corcovado, y la zona L de la región de Aysén.
- ✓ Formular y Coordinar investigaciones relacionadas con la conectividad de la especie entre el Pacífico y el Atlántico, en particular las agregaciones de *Sprattus fuegensis* que se ubican alrededor de las Islas Malvinas.
- ✓ Desarrollar estudios que generen modelos de distribución espacial de *Sprattus fuegensis*.
- ✓ Monitorear parámetros de historia de vida como la talla de madurez sexual en el tiempo y espacio.
- ✓ Realizar estudios de línea base para la especie, donde se incluya el muestreo intensivo en zonas más oceánicas.
- ✓ Realizar estudios en zonas no se haya identificado actividad pesquera, con la finalidad de tener información base pre-explotación del recurso, y que esta información quede disponible para la toma de decisiones.
- ✓ Formular y desarrollar modelos de nicho para la especie.

ANEXO II

DISEÑO MUESTRAL PARA LAS APROXIMACIONES NO-GENÉTICAS PARA CAPITULOS II, III y IV

El diseño muestral es una estrategia de selección de unidades muestrales desde una población, mediante un proceso de aleatorización que se define antes de obtener la muestra (plan de muestreo). El muestreo consiste entonces seleccionar una fracción de una colección finita de unidades muestrales, tal que permita hacer inferencia respecto de la colección completa y sobre la base de la parte de la población que ha sido observada. Los tres elementos básicos de la estrategia de muestreo son:

- i) Unidad muestral, que es el objeto que permitirá medir los atributos y, por tanto, entrega la medida de la variable que se está investigando;

- ii) Proceso de aleatorización, que asegura una adecuada representatividad y que la selección de las unidades muestrales se realizará sin sesgos; y,

- iii) Tamaño muestral, que garantiza un cierto nivel de confianza (al 95%) y un nivel de precisión deseable en la estimación de los estimadores de los parámetros de interés.

En los estudios de morfometría, sea tradicional o geométrica, la unidad muestral está representada por las características de los individuos de la población, ya que es el individuo el que contiene los atributos que serán medidos. En morfometría tradicional, los atributos representan distancias entre puntos de referencia, y en morfometría geométrica las coordenadas de los puntos de referencia (landmarks). Por lo tanto, para los fines de este estudio la unidad muestral queda definido por el individuo, por lo tanto para lograr un cierto

nivel de confianza y precisión de los atributos a medir es necesario contar con una cantidad mínima de individuos que será necesario obtener de la población.

El proceso de aleatorización, es decir la selección de los individuos de la población (unidad muestral), estará representado por el muestreo aleatorio simple (MAS) de una zona dada. La zona representa el ámbito geográfico donde es probable encontrar individuos de la población conteniendo individuos con características más similares entre sí que con los individuos que se distribuyen en un ámbito geográfico distinto.

El análisis tradicional de la morfometría del cuerpo y de otolitos se basa en el análisis multivariado de distancias entre puntos de referencia que describen una estructura, por ejemplo el alto, largo, ancho del cuerpo. Estas distancias, se estandarizan con el objeto que sean independientes del tamaño del ejemplar, así como de la traslación, el escalamiento, y la reflexión. Separar tamaño y forma son los objetivos del análisis morfométrico. En consecuencia, para indagar en un tamaño mínimo de muestra, se debe considerar una distancia y elegir aquella más variable con el objeto de establecer un compromiso entre el tamaño mínimo de muestra y el error relativo de la media, es decir el error porcentual aceptable entre la media poblacional y la media muestral. Por lo general, y por experiencia previa en este tipo de estudios, las distancias entre puntos de referencia presentan un coeficiente de variación (CV) que puede fluctuar entre 10 y 15%, al considerar $CV=0.15$, se puede aplicar la siguiente expresión del término de error relativo de la media, según Lockwood y Hayes (2000):

$$L = \bar{x} \cdot d$$

donde d mide la precisión, como una fracción de la media. Al reemplazar esta expresión en el intervalo de confianza para la media poblacional, se tiene la siguiente expresión para el cálculo del tamaño mínimo de muestra:

$$n = \left(\frac{t_{\alpha, \infty} S}{\bar{x} \cdot d} \right)^2 = \left(\frac{t_{\alpha, \infty} CV}{d} \right)^2$$

De esta manera, para $CV=0.15$, una precisión $d = 5\%$, y con 95% de confianza, se tiene un tamaño de muestra de aproximadamente 35 individuos a obtener para realizar las mediciones de los atributos morfométricos (ya sean distancias corporales, o de alguna estructura como el otolito *sagitta*).

En el caso de los parámetros de historia de vida, el tamaño mínimo de muestra está orientado a la estructura de tallas. De acuerdo con la metodología propuesta por Gerritsen y McGrath (2007), la precisión del número de observaciones en cada clase de longitud de una muestra al azar puede estimarse asumiendo una distribución multinomial (Smith y Maguire, 1983). Si la precisión en cada clase de longitud puede ser expresada en términos del coeficiente de variación (CV), una medida de precisión total puede ser obtenida ponderado cada CV por el número de individuos en cada clase de longitud. El CV ponderado promedio ($MWCV$) provee una descripción de la precisión sobre el rango entero de clases de tallas en una distribución de frecuencia de longitudes. Bajo el supuesto de una distribución multinomial, la desviación estándar (σ_i) del número de individuos en una clase de longitud i puede ser estimado por:

$$\sigma_i = \sqrt{np_i(1-p_i)}$$

donde n = el número total de ejemplares en la muestra; y p_i = la proporción de la longitud i en la muestra.

El coeficiente de variación (CV) del número de ejemplares a la longitud i , esta dado por:

$$CV_i = \frac{\sigma_i}{np_i}$$

y el *Coficiente de Variación promedio ponderado* ($MWCV$) está dado por:

$$MWCV = \sum p_i CV_i = \frac{\sum \sigma_i}{n}$$

El valor más alto de $MWCV$ resulta de una distribución de frecuencia de longitudes que se distribuye uniformemente sobre un gran número de clases de tallas. El número de individuos de cada clase de longitud es entonces sigue una distribución Poisson con una desviación estándar que es igual a la raíz cuadrada del número de longitudes (Zar, 1999). El máximo teórico $MWCV$ es por lo tanto dado por:

$$MWCV = (n/c)^{-0.5}$$

donde c = es el número de clases de talla, y n es el número de individuos total.

El mínimo $MWCV$ es cero y resultaría de una distribución adonde todas las observaciones bajan dentro de una sola categoría de longitud. Por lo tanto, las estimaciones de $MWCV$ siempre caen entre cero y la curva que describe el $MWCV$, i.e. la razón entre el número de ejemplares y el número de clases de longitud.

Según datos de distribución de frecuencia de tallas disponibles en la pesca de investigación de IFOP, es factible encontrar ejemplares entre 5 y 18 cm de longitud total, los que distribuidos en clases cada 0,5 cm de longitud total, se tendría $c = 26$. Al dejar fijo el número de clases de tallas probables, y al aceptar un $MWCV$ de 25%, se tiene un tamaño de muestra de aproximadamente 414 ejemplares para definir una estructura de tallas de una zona.

El plan de muestreo considera un muestreo aleatorio simple de cada ámbito geográfico. Sin embargo, al considerar que se trata de peces pelágicos que forman agregaciones, y que estas agregaciones o cardúmenes tienden a contener individuos con características similares, el plan de muestreo consideró obtener muestras de diferentes lugares dentro del ámbito geográfico o zona de interés. En este contexto, los tamaños de muestras que se analizan superan los tamaños mínimos necesarios para cumplir con el proceso de inferencia estadística.

REFERENCIAS

COCHRAN, W.G. 1977. Sampling techniques, 3er ed. John Wiley and Sons. NY, 428 p.

GERRITSEN, H.D., MCGRATH, D., 2007. Precision estimates and suggested samples sizes for length-frequency data. *Fishery Bulletin* 106:116-120.

LOCKWOOD, R.N., HAYES, D.B., 2000. Sample size for biological Studies. In: Schneider, J.C. (ed.) *Manual of fisheries Survey methods II: with periodic update*. Michigan Department of Natural Resources, Fisheries Special Report 25, Ann Arbor.

SMITH, S.J., MAGUIRE, J.J., 1983. Estimating the variance of length composition samples. In: Doubleday, W.G., Rivard, D. (eds.) *Sampling commercial catches of marine fish and invertebrates*. *Can. Spec. Pub. Fish. Aquat. Sci.* 66, 165-170.

ZAR, J.H., 1999. *Biostatistical analysis*. Prentice-Hall Inc., Englewood cliffs, NJ., 663 p.