



Universidad Austral de Chile
Conocimiento y Naturaleza



**THE UNIVERSITY
OF QUEENSLAND**
AUSTRALIA

INFORME FINAL [FIP 2013-29]

**Unidades poblacionales de raya volantín (*Zearaja chilensis*) y raya espinosa
(*Dipturus trachyderma*) entre la V y XII Regiones**

PROYECTO DEL FONDO DE INVESTIGACIÓN PESQUERA Y ACUICULTURA

Valdivia, Mayo de 2016

TITULO DEL PROYECTO:

Unidades poblacionales de raya volantín (*Zearaja chilensis*) y raya espinosa (*Dipturus trachyderma*) entre la V y XII Regiones

UNIDAD EJECUTORA:

Instituto de Ciencias Marinas y Limnológicas, Universidad Austral de Chile.

Investigador responsable: Dr Julio Lamilla Gómez

Fono: +56 (632) 221647

Email: jlamilla@uach.cl

Investigador alterno: MsC Claudio Barría Oyarzo

Email: barria@icm.csic.es

UNIDAD SUBCONTRATADA

Escuela de Ciencias Biomédicas, Universidad de Queensland

Investigador responsable: Dr Jennifer Ovenden

Fono: +61 (07) 3346 0806

Email: j.ovenden@uq.edu.au

Hitos relevantes del proyecto

31/12/2013	Adjudicación para ejecución, Decreto Exento No 1473.
08/01/2014	Establecimiento de plazos de ejecución Carta FIP No. 4
02/07/2014	Inicio formal del proyecto (pago de la primera cuota para la ejecución)
14/07/2014	Solicitud de pesca de investigación por parte de la UACH
21/08/2014	Recalendarización debido a atrasos administrativos del FIP, Carta FIP No. 372
30/10/2014	Otorgamiento de la solicitud de pesca de investigación, R. Ex. No. 2878
30/10/2014	Entrega del informe de avance.
29/12/2014	Aprobación del informe de avance, Carta FIP No. 836
15/01/2015	Modificación de plazos de ejecución, Carta FIP No. 23
14/11/2015	Entrega Preinforme Final
10/12/2015	Correcciones al Preinforme Final, Carta FIP No. 955
21/01/2016	Entrega Preinforme Final corregido.
13/04/2016	Aprobación del Preinforme Final corregido, Carta FIP No. 143
02/05/2016	Aprobación modificación plazos de ejecución, Carta FIP No. 196
12/05/2016	Entrega Informe Final

Resumen ejecutivo

El presente informe da cuenta de los resultados del proyecto FIP 2013-29 “Unidades poblacionales de raya volantín (*Zearaja chilensis*) y raya espinosa (*Dipturus trachyderma*) entre la V y XII Regiones. El presente informe contempló la obtención de una línea base del conocimiento (objetivo 1), el diseño e implementación del plan general de muestreo (objetivo 2) y la identificación de unidades poblacionales de las especies en estudio a través de metodologías genéticas (objetivo 3) y demográficas (objetivo 4). De igual forma, se establecen herramientas de análisis para la integración de diferentes fuentes de información y su aplicación en el manejo pesquero (objetivo 5).

Realizar una revisión bibliográfica del estado del arte referente a la identificación de unidades evolutivas y demográficas en peces cartilagosos – Se entrega un compendio sobre los avances científicos recientes en relación a la determinación genotípica y fenotípica en peces cartilagosos. De igual forma se incluye una revisión bibliográfica extensiva que da cuenta sobre el estado del conocimiento sobre las dos especies en estudio, *Zearaja chilensis* y *Dipturus trachyderma*, en términos de anatomía y morfología (tamaño corporal, coloración, dentículos dérmicos, dentición, componentes esqueléticos, huevos); listados e inventarios biológicos (rangos de distribución); hábitat y hábitos alimentarios; patrones de historia de vida (reproducción, edad, crecimiento y longevidad); pesca (sureste del Pacífico, Atlántico sudoccidental); genética y parásitos.

Diseñar, aplicar y evaluar un plan de muestreo, temporal y geográficamente adecuado para alcanzar los restantes objetivos del proyecto – Durante los meses de noviembre y diciembre 2014, se capturaron 581 rayas en cinco localidades a lo largo de Chile. Un total de 3 toneladas fueron capturadas en San Antonio, Valdivia, Puerto Montt, Aysén y Punta

Arenas, lo que representa 581 individuos. Del total de especímenes, 69,8% corresponden a raya volantín (*Z. chilensis*) y 30,2% a raya espinosa (*D. trachyderma*). El total de rayas capturadas, sirve de información base para los restantes objetivos del proyecto, a saber: colección de tejido para la determinación genética, toma de fotografías para la caracterización morfométrica, colección de estómagos (y su contenido) para estudios de parásitos y dieta, y registro de información biológica para el análisis de su historia de vida.

Identificar y caracterizar genéticamente la(s) principal(es) unidad(es) evolutiva(s) de raya volantín y raya espinosa en la costa chilena – Se presenta la comparación de cuatro regiones del ADN mitocondrial, tradicionalmente utilizadas para identificar especies. Se analizaron secuencias parciales de los genes 16S, *cox1*, *nadh2* y la región control, los que fueron comparadas a partir de individuos chilenos y desde bases de datos internacionales. Ninguna región, con la excepción de la región control, provee suficiente información para separar a nivel específico las rayas en estudio, pero si entregan información robusta que permite inferir el género y potencialmente, determinación de origen. En el marco del presente proyecto, se logró por primera vez la obtención y definición de regiones dentro del ADN mitocondrial, con características diagnósticas para la identificación de especies. De forma complementaria, se incluye la descripción en extenso del genoma mitocondrial completo de *Zearaja chilensis* y *Dipturus trachyderma*. Estos dos mitogenomas, representan un avance científico y tecnológico en la ciencia latinoamericana, y son pioneros en la metodología y descripción de mtADN a nivel mundial.

Los análisis genéticos revelaron similitudes y diferencias entre las dos especies de rayas estudiadas a partir del análisis de los marcadores mitocondriales y nucleares. A pesar de que se observa una evidente falta de estructura poblacional, la variación en el genoma

mitocondrial nos entrega más información que los microsatélites. Para ambas especies, la diversidad haplotípica fue relativamente baja pero suficiente para determinar la presencia de al menos tres stocks o unidades de manejo para *Z. chilensis*, y dos stocks para *D. trachyderma*. Por otra parte, la información proveniente del análisis de información de microsatélites no fue concluyente a la hora de definir la estructura poblacional de ambas especies. Sin embargo, nuestros resultados se encuentran fuertemente influenciados por la fracción de la población que captura la pesquería artesanal, es decir, una población compuesta casi en su totalidad por individuos juveniles de ambos sexos y a la ausencia de hembras maduras.

Identificar y caracterizar la(s) principal(es) unidad(es) demográfica(s) de raya volantín y raya espinosa presentes en la costa chilena – Se analizaron fotografías de 581 ejemplares, 404 *Zearaja chilensis* y 117 *Dipturus trachyderma* provenientes de cuatro localidades de muestreo. Para cada individuo, se registraron 43 medidas morfométricas y 3 caracteres merísticos para analizar la potencial variación de la forma de cada especie a lo largo de la costa de Chile. A nivel poblacional, no se pueden evidenciar diferencias morfológicas en las dos especies en estudio. En general, las variaciones morfológicas en peces cartilagosos pueden estar asociados a cambios en la condición reproductiva y en ninguno de los casos, se observan diferencias morfológicas considerando el lugar de origen de los individuos, y las únicas diferencias identificadas obedecen al dimorfismo sexual de *Z. chilensis*. A pesar de que no se observaron diferencias significativas en la morfometría de *D. trachyderma*, esto puede asociarse a la ausencia de individuos maduros en ambos sexos. Algunas mediciones morfométricas, como la comparación del largo total y el largo del disco, usualmente utilizadas en los registros de observadores, no son adecuadas para la

separación de especies. Para estas mediciones en particular, existe una gran variabilidad intra-específica más relacionada a diferencias sexuales y condición reproductiva, y no a las características específicas en rayas. Una vez alcanzada la madurez sexual, el abdomen de las hembras incrementa proporcionalmente más que en los machos debido a la presencia de ovocitos maduros y cápsulas de huevos. Sin embargo, la proporción del largo y ancho del disco, junto con el número de aguijones de la línea media, se presenta como una combinación de caracteres que permite la separación de especies.

La dieta de *Z. chilensis* y *D. trachyderma* se describió a partir de 48 individuos provenientes de 4 localidades. La alimentación de ambas rayas se especializó en crustáceos y peces óseos, siendo *Sebastes oculatus*, *Heterocarpus reedi*, y *Merluccius gayi*, los que presentaron los mayores porcentajes de importancia relativa. Ambas especies coincidieron en varias presas como alimento indicando una sobre posición dietaria entre ellas. *Zearaja chilensis* presentó una preferencia dietaria de crustáceos (San Antonio y Valdivia) y peces (Puerto Montt y Punta Arenas). También se observó un cambio ontogénico, incrementando la cantidad de presas (peces óseos) o tamaño de ellas, en rayas más grandes. En *Dipturus trachyderma* en general su dieta se basó preferentemente en peces óseos, no se evidenció una variación significativa entre localidades, y tampoco se observó una variación ontogénica. Si bien ambas especies son depredadores específicos, varían entre consumidores secundarios y terciarios. El presente estudio amplió el nivel de conocimiento de la alimentación de *Z. chilensis* y *D. trachyderma* a lo largo del país, lo que ayuda a generar nuevos datos y confirmar características de estas especies.

Se analizaron los principales patrones de historia de vida (crecimiento, madurez sexual y proporción sexual) de *Z. chilensis* y *D. trachyderma* capturadas en San Antonio,

Valdivia, Puerto Montt y Punta Arenas. La estructura de tallas para sexos agrupados de *Zearaja chilensis* en San Antonio varió entre 76,4 a 113,4 cm L_T ($92,49 \pm 8,11$ cm); en la localidad de Valdivia las tallas variaron entre 25,0 y 114,1 cm L_T ($88,98 \pm 5,32$ cm). Por su parte en Puerto Montt las tallas variaron entre 82,1 y 119,8 cm L_T ($100,44 \pm 9,69$ cm), y en Punta Arenas el rango de tallas varió entre 87,2 y 183,0 cm L_T ($112,46 \pm 15,01$ cm). La talla de madurez L_{50} , sólo se pudo determinar en machos, ya que en las hembras no se hizo disección. En cada una de las cuatro localidades, el 100% de los individuos de *Dipturus trachyderma* se encontraron inmaduros. Se determinó proporción de sexos para ambas especies en cada localidad, resultando en *Zearaja chilensis* un sesgo significativo hacia las hembras en Valdivia, Puerto Montt y Punta Arenas. En cambio, en *Dipturus Trachyderma* sólo se observaron diferencias en San Antonio.

Como síntesis, al integrar la información obtenida durante la ejecución del presente proyecto, se evidencia que la información proveniente de marcadores mitocondriales es la herramienta a utilizar a la hora de asignar un individuo a una población de origen, en especial para localidades con la mayor diversidad haplotípica o si se busca diferenciar entre poblaciones. En este caso, se logra diferenciar con altos niveles de confianza la pertenencia de un individuo al conjunto de localidades en aguas exteriores o interiores (mar interior de Chiloé). Desafortunadamente, al no existir evidentes diferencias en la estructura poblacional utilizando microsatélites, no se puede asignar una zona de origen a un individuo solo usando la información del genoma nuclear. Sin embargo, se destaca la alta confianza de los microsatélites en la identificación de individuos entre estas dos especies. Ambas especies tienen una firma nuclear específica, por lo que estos resultados son extremadamente útiles si se complementan con aquellos mitocondriales que

determinan una zona geográfica. Las probabilidades de determinar si una muestra de tejido pertenece a *Z. chilensis* o a *D. trachyderma*, así como también si esta muestra proviene desde el océano Pacífico o del Atlántico son altamente confiables.

Al integrar la información biológica de *Z. chilensis* y *D. trachyderma* a nuestros resultados, se evidencia que las hembras maduras habitarían zonas diferentes a las zonas de pesca artesanal, y que buscarían ambientes costeros para depositar sus huevos como estrategias para maximizar la probabilidad de eclosión y posterior supervivencia de juveniles.

ÍNDICE GENERAL

<i>Resumen ejecutivo</i>	<i>ii</i>
1. Objetivos del proyecto	1
2. Antecedentes	2
3. Introducción	7
3.1. Realizar una revisión bibliográfica del estado del arte referente a la identificación de unidades evolutivas y demográficas en peces cartilaginosos	9
3.2. Diseñar, aplicar y evaluar un plan de muestreo, temporal y geográficamente adecuado para alcanzar los restantes objetivos del proyecto	10
3.3. Identificar y caracterizar genéticamente la(s) principal(es) unidad(es) evolutiva(s) de raya volántín y raya espinosa en la costa chilena	11
3.4. Identificar y caracterizar la(s) principal(es) unidad(es) demográfica(s) de raya volántín y raya espinosa presentes en la costa chilena	24
3.5. Estimar el número de orígenes (zonas de desove y/o crianza) y su contribución relativa a cada unidad demográfica identificada y zona principal de captura	33
4. Metodología de trabajo	40
4.1. Realizar una revisión bibliográfica del estado del arte referente a la identificación de unidades evolutivas y demográficas en peces cartilaginosos	40
4.2. Diseñar, aplicar y evaluar un plan de muestreo, temporal y geográficamente adecuado para alcanzar los restantes objetivos del proyecto	41
4.3. Identificar y caracterizar genéticamente la(s) principal(es) unidad(es) evolutiva(s) de raya volántín y raya espinosa en la costa chilena	41
4.3.1. Una revisión sobre la biología, pesquería y conservación de las rayas <i>Zearaja chilensis</i> y <i>Dipturus trachyderma</i>	42
4.3.2. Uso de marcadores moleculares mitocondriales para la identificación de raya volántín <i>Zearaja chilensis</i> y raya espinosa <i>Dipturus trachyderma</i>	44
4.3.3. Identificación de unidades poblacionales de la raya volántín <i>Zearaja chilensis</i> y raya espinosa <i>Dipturus trachyderma</i> en aguas chilenas, a través de microsatélites y ADN mitocondrial	48

4.4. Identificar y caracterizar la(s) principal(es) unidad(es) demográfica(s) de raya volantín y raya espinosa presentes en la costa chilena	59
4.4.1. Caracterización y variación morfométrica en la raya volantín <i>Zearaja chilensis</i> y raya espinosa <i>Dipturus trachyderma</i> , en aguas chilenas	59
4.4.2. Caracterización y variación de la dieta y nivel trófico de <i>Zearaja chilensis</i> y <i>Dipturus trachyderma</i> en aguas chilenas	67
4.4.3. Caracterización y variación de la carga parasitaria de <i>Zearaja chilensis</i> y <i>Dipturus trachyderma</i> en aguas chilenas	72
4.4.4. Caracterización y variación de la historia de vida de <i>Zearaja chilensis</i> y <i>Dipturus trachyderma</i> en aguas chilenas	74
4.5. Estimar el número de orígenes (zonas de desove y/o crianza) y su contribución relativa a cada unidad demográfica identificada y zona principal de captura	76
- <i>Identificación de poblaciones natales</i>	76
5. Resultados	77
5.1. Realizar una revisión bibliográfica del estado del arte referente a la identificación de unidades evolutivas y demográficas en peces cartilaginosos	77
5.1.1. Avances científicos y tecnológicos en la determinación genotípica de peces cartilaginosos	77
5.1.2. Avances científicos y tecnológicos en la determinación demográfica de peces cartilaginosos	120
5.2. Diseñar, aplicar y evaluar un plan de muestreo, temporal y geográficamente adecuado para alcanzar los restantes objetivos del proyecto	142
5.3. Identificar y caracterizar genéticamente la(s) principal(es) unidad(es) evolutiva(s) de raya volantín y raya espinosa en la costa chilena	150
5.3.1. Una revisión sobre la biología, pesquería y conservación de las rayas <i>Zearaja chilensis</i> y <i>Dipturus trachyderma</i>	150
5.3.2. Uso de marcadores moleculares mitocondriales para la identificación de raya volantín <i>Zearaja chilensis</i> y raya espinosa <i>Dipturus trachyderma</i>	208
5.3.3. Identificación de unidades poblacionales de la raya volantín <i>Zearaja chilensis</i> y raya espinosa <i>Dipturus trachyderma</i> en aguas chilenas, a través de microsatélites y ADN mitocondrial	216
5.4. Identificar y caracterizar la(s) principal(es) unidad(es) demográfica(s) de raya volantín y	244

raya espinosa presentes en la costa chilena	
5.4.1. Caracterización y variación morfométrica en la raya volantín <i>Zearaja chilensis</i> y raya espinosa <i>Dipturus trachyderma</i> , en aguas chilenas	237
5.4.2. Caracterización y variación de la dieta y nivel trófico de <i>Zearaja chilensis</i> y <i>Dipturus trachyderma</i> en aguas chilenas	250
5.4.3. Caracterización y variación de la carga parasitaria de <i>Zearaja chilensis</i> y <i>Dipturus trachyderma</i> en aguas chilenas	275
5.4.4. Caracterización y variación de la historia de vida de <i>Zearaja chilensis</i> y <i>Dipturus trachyderma</i> en aguas chilenas	279
5.5. Estimar el número de orígenes (zonas de desove y/o crianza) y su contribución relativa a cada unidad demográfica identificada y zona principal de captura	290
- <i>Identificación de poblaciones natales</i>	290
- <i>Contribución relativa a la pesquería</i>	294
6. Discusión	297
6.1. Realizar una revisión bibliográfica del estado del arte referente a la identificación de unidades evolutivas y demográficas en peces cartilagosos	297
6.1.1. Avances científicos y tecnológicos en la determinación genotípica de peces cartilagosos	297
6.1.2. Avances científicos y tecnológicos en la determinación demográfica de peces cartilagosos	298
6.2. Diseñar, aplicar y evaluar un plan de muestreo, temporal y geográficamente adecuado para alcanzar los restantes objetivos del proyecto	301
6.3. Identificar y caracterizar genéticamente la(s) principal(es) unidad(es) evolutiva(s) de raya volantín y raya espinosa en la costa chilena	304
6.3.1. Una revisión sobre la biología, pesquería y conservación de las rayas <i>Zearaja chilensis</i> y <i>Dipturus trachyderma</i>	304
6.3.2. Uso de marcadores moleculares mitocondriales para la identificación de raya volantín <i>Zearaja chilensis</i> y raya espinosa <i>Dipturus trachyderma</i>	305
6.3.3. Identificación de unidades poblacionales de la raya volantín <i>Zearaja chilensis</i> y raya espinosa <i>Dipturus trachyderma</i> en aguas chilenas, a través de microsatélites y ADN mitocondrial	307
6.4. Identificar y caracterizar la(s) principal(es) unidad(es) demográfica(s) de raya volantín y	312

raya espinosa presentes en la costa chilena	
6.4.1. Caracterización y variación morfométrica en la raya volantín <i>Zearaja chilensis</i> y raya espinosa <i>Dipturus trachyderma</i> , en aguas chilenas	312
6.4.2. Caracterización y variación de la dieta y nivel trófico de <i>Zearaja chilensis</i> y <i>Dipturus trachyderma</i> en aguas chilenas	316
6.4.3. Caracterización y variación de la carga parasitaria de <i>Zearaja chilensis</i> y <i>Dipturus trachyderma</i> en aguas chilenas	320
6.4.4. Caracterización y variación de la historia de vida de <i>Zearaja chilensis</i> y <i>Dipturus trachyderma</i> en aguas chilenas	322
6.5. Estimar el número de orígenes (zonas de desove y/o crianza) y su contribución relativa a cada unidad demográfica identificada y zona principal de captura	325
- <i>Identificación de poblaciones natales</i>	325
- <i>Contribución relativa a la pesquería</i>	329
7. Conclusiones	334
8. Referencias Bibliográficas	340
9. Anexos	394

Índice de Tablas

1. Listado de primers utilizados para amplificación y secuenciación, usados para la identificación de las especies en estudio	46
2. Localidades de toma de muestra, indicando el número total de individuos por especie, y el tipo de marcador molecular analizado	49
3. Cantidad del stock de primers por locus microsatélite, añadida a la mezcla de primers para la genotipificación por multiplexación PCR de <i>Z. chilensis</i> y <i>D. trachyderma</i>	57
4. Número de ejemplares (<i>n</i>) y rango de tallas (longitud total, LT, expresada en cm), en los ejemplares muestreados, separados por sexo, especie y localidad	63
5. Mediciones morfométricas y merísticas utilizadas en este estudio, con su correspondiente abreviación	63
6. Número de individuos obtenidos por localidad y separados por sexo	67
7. Escala de madurez sexual para machos basada sobre la observación de la calcificación y	75

rigidez de los clasper	
8. Conjunto de variables (y respuesta esperada) a evaluar durante la ejecución de la presente propuesta de investigación	148
9. Variación en el número de dentículos dérmicos en la raya volantín <i>Zearaja chilensis</i> y la raya espinosa <i>Dipturus trachyderma</i>	175
10. Resumen de los estudios de edad y crecimiento para <i>Zearaja chilensis</i> y <i>Dipturus trachyderma</i>	198
11. Parásitos reportados que infectan a la raya espinosa <i>Dipturus trachyderma</i>	206
12. Parásitos reportados que infectan a la raya volantín <i>Zearaja chilensis</i>	207
13. Simulaciones de potencia para detectar diferencias entre un rango de valores de F_{ST}	220
14. Haplotipos, posición del nucleótidos y sitios polimórficos de la región de control del mtADN en <i>Zearaja chilensis</i>	222
15. Frecuencia de los 11 haplotipos de la región control del mtADN para <i>Zearaja chilensis</i> para cinco localidades en Chile	223
16. Diversidad genética de la región de control del mtADN para <i>Zearaja chilensis</i>	224
17. Valores pairísticos de Φ_{ST} y P para <i>Zearaja chilensis</i> entre localidades	225
18. Haplotipos, posición del nucleótidos y sitios polimórficos de la región de control del mtADN en <i>Dipturus trachyderma</i>	227
19. Frecuencia de cuatro haplotipos de la región control del mtADN para <i>Dipturus trachyderma</i> , para cinco localidades en Chile	228
20. Diversidad genética de la región de control del mtADN para <i>Dipturus trachyderma</i>	229
21. Valores pairísticos de Φ_{ST} y P para <i>Dipturus trachyderma</i> entre localidades	230
22. Caracterización de los nueve loci polimórficos de microsatélites utilizados en <i>Zearaja chilensis</i>	232
23. Valores significativos ($P \leq 0.05$) para el test exacto de equilibrio Hardy- Weinberg en <i>Zearaja chilensis</i>	233
24. Diversidad genética de los nueve loci de microsatélites por localidad para <i>Zearaja chilensis</i>	235
25. Valores pairísticos de F_{ST} y P para <i>Zearaja chilensis</i> entre localidades	237
26. Caracterización de los siete loci polimórficos de microsatélites utilizados en <i>Dipturus trachyderma</i>	239
27. Valores significativos ($P \leq 0.05$) para el test exacto de equilibrio Hardy- Weinberg en <i>Dipturus trachyderma</i>	240
28. Diversidad genética de los siete loci de microsatélites por localidad para <i>Dipturus</i>	241

<i>trachyderma</i>	
29. Valores pairísticos de <i>Fst</i> y <i>P</i> para <i>Dipturus trachyderma</i> entre localidades	243
30. Caracterización morfométrica de machos y hembras de <i>Zearaja chilensis</i> y <i>Dipturus trachyderma</i>	246
31. Medidas morfométricas que contribuyen a la diferenciación entre los grupos de especies	249
32. Índices numéricos de alimentación para la especie <i>Zearaja chilensis</i>	253
33. Índices numéricos de alimentación para la especie <i>Dipturus trachyderma</i>	254
34. Índices numéricos de <i>Z. chilensis</i> en la localidad de San Antonio	256
35. Índices numéricos de hembras de <i>Z. chilensis</i> en la localidad de San Antonio	257
36. Índices numéricos de machos de <i>Z. chilensis</i> en la localidad de San Antonio	257
37. Índices numéricos de <i>D. trachyderma</i> en la localidad de San Antonio	258
38. Índices numéricos de hembras de <i>D. trachyderma</i> en San Antonio	259
39. Índices numéricos de machos de <i>D. trachyderma</i> en la localidad de San Antonio	259
40. Índices numéricos de <i>Z. chilensis</i> en la localidad de Valdivia	261
41. Índices numéricos de <i>Dipturus trachyderma</i> en la localidad de Valdivia	262
42. Índices numéricos de <i>Z. chilensis</i> en la localidad de Puerto Montt	263
43. Índices numéricos de <i>Dipturus trachyderma</i> en la localidad de Puerto Montt	264
44. Índices numéricos de <i>Z. chilensis</i> en la localidad de Punta Arenas	265
45. Índices numéricos de <i>Dipturus trachyderma</i> en la localidad de Punta Arenas	266
46. Índices numéricos de <i>Z. chilensis</i> con tallas menores a 100 cm LT	268
47. Índices numéricos de <i>Z. chilensis</i> con tallas mayores a 100 cm LT	269
48. Índices numéricos de <i>D. trachyderma</i> con tallas menores a 160 cm LT	270
49. Índices numéricos de <i>D. trachyderma</i> con tallas mayores a 160 cm LT	271
50. Diversidad y amplitud de nicho, en general, por sexos y estados de desarrollo de la raya <i>Zearaja chilensis</i>	272
51. Diversidad y amplitud de nicho, en general, por sexos y estados de desarrollo de la raya <i>Dipturus trachyderma</i>	272
52. Diversidad y amplitud de nicho, en general, por sexos y estados de desarrollo de la raya <i>Zearaja chilensis</i> para cada localidad muestreada	273
53. Diversidad y amplitud de nicho, en general, por sexos y estados de desarrollo de la raya <i>Dipturus trachyderma</i> para cada localidad muestreada	273
54. Índice de sobre posición de la dieta, entre especies, hembras- machos y tamaños por especie	275

55. Cantidad de parásitos por localidad, especie y sitio de ubicación	276
56. Parámetros ecológicos en parasitología total y por especie de parásito	279

Índice de Figuras

1. Ejemplo de fotografías utilizadas en el presente estudio: <i>Zearaja chilensis</i> , dorso (A, C) y vientre (B, D); <i>Dipturus trachyderma</i> dorso (E, G) y vientre (F, H)	62
2. Diagrama de las mediciones morfométricas en cuerpo (A, B), cabeza (C, D) y cola (E) en Batoideos	66
3. Proceso de identificación de presas casi completas, posibles de identificar con características externas a simple vista	69
4. Proceso de identificación de presas en estados más digeridos, imposibles de identificar a simple vista, necesario guías de identificación de mandíbulas, otolitos, crustáceos, etc.	69
5. Principales localidades pesqueras donde se realizan actividad pesqueras sobre raya volantín y raya espinosa, a lo largo de las tres zonas de estudio	144
6. Esquema general del plan general de muestreo para la determinación de unidades poblacionales de raya volantín y raya espinosa en Chile, indicando sus respectivas unidades funcionales	146
7. Número acumulativo de publicaciones científicas, libros y reportes técnicos separados en siete categorías en relación con (a) <i>Zearaja chilensis</i> y (b) <i>Dipturus trachyderma</i>	152
8. Número de estudios publicados para <i>Zearaja chilensis</i> (1848 – 2014) y <i>Dipturus trachyderma</i> (1975 – 2014) por categoría de investigación (ordenada por frecuencia)	153
9. Número total de estudios publicados (no –acumulativos) en relación a (a) <i>Zearaja chilensis</i> y (b) <i>Dipturus trachyderma</i> entre 1975 y 2014	154
10. Morfotipos descritos para <i>Zearaja chilensis</i>	161
11. Morfotipos descritos para <i>Dipturus trachyderma</i>	165
12. Distribución de la raya volantín <i>Zearaja chilensis</i> en Sur América	186
13. Distribución de la raya espinosa <i>Dipturus trachyderma</i> en Sur América	188
14. Distribución espacial de la pesquería de <i>Zearaja chilensis</i> y <i>Dipturus trachyderma</i> en Chile	199
15. Desembarque total de rayas hocicudas (<i>Zearaja chilensis</i> y <i>Dipturus trachyderma</i>) entre 1979 y 2012 separados por pesquería y por especie	200
16. Desembarque total de <i>Dipturus trachyderma</i> entre los años 2004 y 2012 separados por la pesquería artesanal e industrial	201
17. Gel de agarosa (1%) en buffer TBE, indicando la amplificación de los fragmentos 16S, <i>cox1</i>	209

	y <i>nadh2</i> del ADN mitocondrial de <i>Zearaja chilensis</i>	
18.	Árbol de consenso (colapsado) de la región 16S del ADN mitocondrial de 12 especies de Rajiformes (Familia Rajidae), incluyendo secuencias originales de <i>Zearaja chilensis</i> y <i>Dipturus trachyderma</i>	210
19.	Árbol de consenso (colapsado) de la región <i>cox1</i> del ADN mitocondrial de 12 especies de Rajiformes (Familia Rajidae), incluyendo secuencias originales de <i>Zearaja chilensis</i> y <i>Dipturus trachyderma</i>	212
20.	Árbol de consenso (colapsado) de la región <i>nadh2</i> del ADN mitocondrial de 12 especies de Rajiformes (Familia Rajidae), incluyendo secuencias originales de <i>Zearaja chilensis</i> y <i>Dipturus trachyderma</i>	213
21.	Árbol de consenso (colapsado) de la región control del ADN mitocondrial de 12 especies de Rajiformes (Familia Rajidae), incluyendo secuencias originales de <i>Zearaja chilensis</i> y <i>Dipturus trachyderma</i>	215
22.	Genoma mitocondrial completo de la raya volantín <i>Zearaja chilensis</i> (GenBank: KJ913073, eFish BioVoucher: 2014-ZCH-1004)	217
23.	Genoma mitocondrial completo de la raya espinosa <i>Dipturus trachyderma</i> , GenBank: KR152643, eFish BioVoucher: 2015-DTR-004)	219
24.	Red de haplotipos de la región control del <i>mtADN</i> para <i>Zearaja chilensis</i> . Los círculos representan haplotipos individuales y su tamaño es proporcional a la frecuencia observada	226
25.	Red de haplotipos de la región control del <i>mtADN</i> para <i>Dipturus trachyderma</i>	231
26.	Correlación basada en los valores de <i>Fst</i> de microsatélites, entre la distancia genética y geográfica <i>Zearaja chilensis</i> en las localidades estudiadas	237
27.	Correlación basada en los valores de <i>Fst</i> de microsatélites, entre la distancia genética y geográfica <i>Dipturus trachyderma</i> en las localidades estudiadas	243
28.	Escalamiento no-métrico multidimensional de las diferencias morfométricas entre machos y hembras de (A) <i>Zearaja chilensis</i> y (B) <i>Dipturus trachyderma</i>	245
29.	Escalamiento no-métrico multidimensional de las diferencias morfométricas entre <i>Zearaja chilensis</i> y <i>Dipturus trachyderma</i>	248
30.	Ítems-presa encontrados en estómagos de <i>Z. chilensis</i> y <i>D. trachyderma</i>	252
31.	Ítems presa de raya volantín <i>Zearaja chilensis</i> en San Antonio	255
32.	Ítems presa de raya espinosa <i>Dipturus trachyderma</i> en San Antonio	258
33.	Ítems presa de raya volantín <i>Zearaja chilensis</i> en Valdivia	260

34. Ítems presa de raya espinosa <i>Dipturus trachyderma</i> en Valdivia	261
35. Ítems presa de raya volantín <i>Zearaja chilensis</i> en Puerto Montt	262
36. Ítems presa de raya espinosa <i>Dipturus trachyderma</i> en Puerto Montt	263
37. Ítems presa de raya volantín <i>Zearaja chilensis</i> en Punta Arenas	265
38. Ítems presa de raya espinosa <i>Dipturus trachyderma</i> en Punta Arenas	266
39. Frecuencia de tallas de <i>Zearaja chilensis</i> para la localidad de San Antonio	280
40. Frecuencia de tallas de <i>Dipturus trachyderma</i> para la localidad de San Antonio	280
41. Frecuencia de tallas de <i>Zearaja chilensis</i> para la localidad de Valdivia	281
42. Frecuencia de tallas de <i>Dipturus trachyderma</i> para la localidad de Valdivia	282
43. Frecuencia de tallas de <i>Zearaja chilensis</i> para la localidad de Puerto Montt	283
44. Frecuencia de tallas de <i>Dipturus trachyderma</i> para la localidad de Puerto Montt	283
45. Frecuencia de tallas de <i>Zearaja chilensis</i> para la localidad de Punta Arenas	284
46. Frecuencia de tallas de <i>Dipturus trachyderma</i> para la localidad de Punta Arenas	285
47. Proporción de machos maduros de <i>Zearaja chilensis</i> con respecto a la longitud total correspondientes a San Antonio	286
48. Proporción de machos maduros de <i>Zearaja chilensis</i> con respecto a la longitud total correspondientes a Valdivia	287
49. Proporción de machos maduros de <i>Zearaja chilensis</i> con respecto a la longitud total correspondientes a Puerto Montt	288
50. Proporción de machos maduros de <i>Zearaja chilensis</i> con respecto a la longitud total correspondientes a Punta Arenas	289
51. Representación gráfica de la variación de la variación de ΔK y $L'(K)$ en <i>Zearaja chilensis</i> para valores entre 2 y 10	291
52. Gráfico de barras en líneas individuales desde STRUCTURE para un ensayo (aleatorio entre 20 réplicas) de hasta cinco grupos arbitrarios ($K = 5$) para <i>Zearaja chilensis</i>	291
53. Gráfico de DAPC a partir de nueve genotipos de microsatélites para <i>Zearaja chilensis</i>	292
54. Representación gráfica de la variación de la variación de ΔK y $L'(K)$ en <i>Dipturus trachyderma</i> , para valores entre 2 y 10	293
55. Gráfico de barras en líneas individuales desde STRUCTURE para un ensayo (aleatorio entre 20 réplicas) de hasta tres grupos arbitrarios ($K = 3$) para <i>Dipturus trachyderma</i>	293
56. Gráfico de DAPC a partir de siete genotipos de microsatélites para <i>Dipturus trachyderma</i>	294
57. Morfología de especímenes (A) macho y (B) hembra, sexualmente maduros de raya	315

volantín *Zearaja chilensis*

58. Gráfico de barras en líneas individuales desde STRUCTURE para un ensayo (aleatorio entre 20 réplicas) sobre la identidad de 249 individuos en dos grupos arbitrarios ($K = 2$) 327
59. Gráfico de DAPC a partir de seis genotipos de microsatélites para 249 individuos de *Zearaja chilensis* y *Dipturus trachyderma* 328

1. OBJETIVOS DEL PROYECTO

OBJETIVO GENERAL

Identificar unidades evolutivas y demográficas de raya volantín (*Zearaja chilensis*) y raya espinosa (*Dipturus trachyderma*) entre las regiones de Valparaíso y Magallanes.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Realizar una revisión bibliográfica del estado del arte referente a la identificación de unidades evolutivas y demográficas en peces cartilagosos.
2. Diseñar, aplicar y evaluar un plan de muestreo, temporal y geográficamente adecuado para alcanzar los restantes objetivos del proyecto.
3. Identificar y caracterizar genéticamente la(s) principal(es) unidad(es) evolutiva(s) de raya volantín y raya espinosa en la costa chilena.
4. Identificar y caracterizar la(s) principal(es) unidad(es) demográfica(s) de raya volantín y raya espinosa presentes en la costa chilena.
5. Estimar el número de orígenes (zonas de desove y/o crianza) y su contribución relativa a cada unidad demográfica identificada y zona principal de captura.

2. ANTECEDENTES

Las rayas son peces cartilaginosos bentónicos que ocupan el mismo nicho espacial que algunos peces óseos demersales, como lenguados, merluzas y anguilas (Walker & Hislop, 1998). A diferencia de la mayoría de los peces óseos, las rayas tienen patrones intrínsecos de historia de vida que las hacen muy vulnerables a la sobre-explotación comercial (Dulvy *et al.*, 2000; Dulvy & Reynolds, 2002; Frisk, 2010). De esta forma, las rayas presentan desafíos únicos para el manejo pesquero (Stevens *et al.*, 2000) y para su conservación (Roberts & Hawkins, 1999; Dulvy & Reynolds, 2002) debido principalmente, a su baja fecundidad, su tardía edad de madurez sexual y su relativa alta longevidad (Holden, 1977; Frisk *et al.*, 2001). Durante la última década, la evaluación del estado de conservación de las rayas en varias zonas geográficas ha demostrado que especies explotadas comercialmente podrían verse seriamente amenazadas (Dulvy & Reynolds, 2002) o incluso extirpadas por efecto de la pesca (Dulvy *et al.*, 2003) en una determinada zona. Por ejemplo, las grandes disminuciones en las poblaciones y extinciones locales de las rayas *Dipturus batis* (L. 1758), *Dipturus laevis* (Mitchill 1818), *Rostroraja alba* (Lacepede 1803) y *Raja clavata* L. 1758 en el Océano Atlántico del Norte, resultado de las actividades de pesca comercial (Dulvy & Forrest, 2010).

La capacidad de recuperarse, o resiliencia, a la presión pesquera varía entre las diferentes especies de rayas, sin embargo algunas poblaciones han disminuido drásticamente (Brander, 1981; Iglesias *et al.*, 2009) mientras que otras han aumentado sus números debido a una reorganización de sus nichos

ecológicos (Walker & Hislop, 1998; Dulvy *et al.*, 2000; Dulvy & Forrest, 2010). La vulnerabilidad de las poblaciones de batoideos se evalúa principalmente mediante el examen de las tendencias pesqueras (Dulvy *et al.*, 2000), en muchos países de América del Sur, incluyendo Argentina (Massa & Hozbor, 2003), Brasil (Oddone *et al.*, 2005) y Chile (Lamilla *et al.*, 2005); las rayas por lo general son registradas bajo una sola categoría la cual no incorpora caracteres taxonómicos que permitan la diferenciación de especies en los anuarios oficiales de desembarques (por ejemplo, la categoría “raya” incluye al menos tres especies de rayas y otras especies similares). Desde el año 2003, sin embargo, los desembarques de raya volantín *Zearaja chilensis* (Guichenot 1848), raya espinosa *Dipturus trachyderma* (Kreffft & Stehmann 1975) y al menos otras seis especies de rayas capturadas incidentalmente, son registradas de forma separada y en categorías únicas.

Zearaja chilensis y *Dipturus trachyderma* son las rayas de mayor valor comercial que habitan en el talud continental del sur de América del Sur, desde Uruguay (Océano Atlántico sudoccidental) hasta el centro de Chile (sur-este del Océano Pacífico) (Menni & López, 1984) y al este de las Islas Malvinas (Agnew *et al.*, 2000). Los primeros desembarques registrados en Chile de raya volantín, se realizaron en la década de 1970 (Bahamonde *et al.*, 1996); y desde entonces, el esfuerzo de captura de ambas especies se ha intensificado gradualmente especialmente en la flota costera artesanal situada entre Valdivia (40° S) y Aysén (45° S) (Licandeo *et al.*, 2006). Además de ser especies objetivo en esta pesquería, ambas especies, la raya volantín y la raya espinosa son capturadas como pesca incidental en la pesca arrastrera industrial de merluzas: en la pesquería de *Merluccius australis*

(Hutton 1872), que opera al sur de 41° 28.6 'S (Quiroz *et al.*, 2009) y en la pesquería de *Merluccius gayi* (Guichenot 1848) que opera entre los 34°28'S y 41° 28.6' S (Gálvez *et al.*, 1998). Ambas zonas de pesca, artesanal e industrial, no se solapan debido a las medidas de gestión locales que restringen la captura objetivo para los buques industriales a sur de 41° 28.6' S y a más de 5 millas náuticas en aguas chilenas. Según los registros oficiales, el desembarque anual nacional (de las flotas artesanales e industriales) de raya volantín y raya espinosa han aumentado de aproximadamente 1.500 toneladas en 1990 a 3.400 toneladas en 2007, con un desembarque promedio de 2.800 toneladas para este período (SERNAP, 2010). Después de la veda biológica impuesta a la pesca artesanal en el año 2008, los desembarques de las flotas industriales han presentado un promedio de 1.727 toneladas entre 2008 y 2009 (SERNAP, 2010). A pesar de este cierre, se han otorgado cuotas de captura marginales entre 2009 y 2013.

Las rayas de gran tamaño corporal, como lo son la raya volantín y la raya espinosa, parecen ser más longevos y aunque tienen un crecimiento más lento, tienen un éxito reproductivo menor entre peces cartilaginosos lo que los hace muy vulnerables a la sobre-explotación (Dulvy *et al.*, 2000). Además, se ha documentado que una unidad de pesquería puede cambiar la abundancia y distribución de una especie de raya ya que está sesgada a explotar una fracción de la población (Jennings *et al.*, 1999; Frisk, 2010). De hecho, existe una correlación negativa entre el tamaño corporal y una disminución poblacional (Walker & Hislop, 1998; Dulvy *et al.*, 2000); y la raya volantín y raya espinosa no son una excepción a esta tendencia. Según Bustamante *et al.* (2012), el principal componente de la pesquería artesanal de rayas

en Chile, son individuos inmaduros. Por ejemplo para la raya volantín, hembras de 106 cm de longitud total (LT) que equivaldría a 14 años de edad; y machos de 86 cm LT, con 11 años, representan el 85% de la captura total. Condiciones similares han sido reportadas por Licandeo *et al.* (2007) para la raya espinosa en el sur de Chile, a pesar de ser considerablemente más grande, menos del 37% de la captura total son rayas maduras, con una talla media de captura de 165 y 175 cm LT en machos y hembras, respectivamente.

El análisis de la estructura de talla de captura reportado por Bustamante *et al.* (2012), evidencia una pesquería altamente sesgada hacia los rayas de tamaño medio, lo que podría comprometer la integridad del stock artesanal. Por ejemplo, la estructura de tallas de la captura de raya volantín en Valdivia (39.4° S a 40.5° S) varía considerablemente en comparación con la captura notificada de las zonas de pesca australes, como lo son la Isla de Chiloé (41.5° S a 43.5° S), Canal Moraleda (43.8° S a 45.9° S) y el canal de Castro-Magallanes (51.0° S a 54.0° S) (Quiroz *et al.*, 2009). En el caso de las hembras, los ejemplares maduros representan solo el 8 al 10% de las capturas totales en el norte de la distribución (Valdivia, Isla de Chiloé y el Canal Moraleda), pero cerca del 50% en las zonas más al sur. Este patrón se repite para los machos, con cerca del 75% de individuos maduros en la captura total, en la zona de Canal Castro-Magallanes en comparación con aprox. el 14% en la zona de Valdivia. La razón de estas diferencias en la estructura de talla de captura puede ser debido a una variación latitudinal del esfuerzo de pesca, ya que las zonas de captura más australes se han desarrollado hace menos tiempo en comparación con la zona de Valdivia (Quiroz *et al.*, 2011). Si la composición de la captura en las zonas de pesca australes

representa una situación relativamente natural, entonces la estructura de tallas de las capturas en las zonas de pesca en la zona de Valdivia podría correr el riesgo de un colapso pesquero si se mantienen los niveles de explotación.

3. INTRODUCCIÓN

La genética, como ciencia, ha ayudado a la ordenación de las pesquerías y a la conservación de especies marinas durante más de 50 años (Ryman & Utter, 1987). Durante este tiempo, los enfoques de la ordenación pesquera y el análisis genético han cambiado significativamente. La amplitud de los temas considerados por los administradores pesqueros ha aumentado considerablemente, por lo que ahora, además de los problemas de gestión convencionales, problemas como los efectos ambientales de la pesca y el monitoreo de la pesca ilegal deben ser considerados. Del mismo modo, la genética ha experimentado una revolución en las últimas dos décadas debido principalmente a los avances en la industria biomédica. También ha habido avances teóricos significativos en el análisis de los datos genéticos. Estos cambios se reflejan en el reciente y rápido crecimiento de las publicaciones científicas sobre genética pesquera.

Los administradores pesqueros, investigadores, representantes de la industria pesquera y genetistas, deben ser mutuamente conscientes de los problemas, necesidades y capacidades para sacar el máximo provecho de las nuevas tecnologías genéticas en el sector del manejo y explotación de recursos marinos.

En Chile, así como en el resto del mundo, los administradores y legisladores de recursos pesqueros buscan maneras de explotar sosteniblemente las especies de interés comercial, utilizando el conocimiento de las partes interesadas, así como de las ciencias biológicas, físicas y sociales. Los modelos matemáticos basados en las estimaciones de la biomasa, la productividad y la mortalidad a menudo se utilizan

para predecir el efecto de las estrategias de explotación. La biomasa se infiere de la captura por unidad de esfuerzo u otros métodos. La productividad se mide en términos del número de nuevos individuos producidos por cada generación de la población reproductiva (reclutamiento), y por el aumento en el tamaño de todos los individuos a través del tiempo (crecimiento). La mortalidad es la velocidad a la que los animales mueren naturalmente o como resultado de la explotación (King, 2007). Los modelos se aplican a una población pesquera, la que se define como un grupo demográficamente cohesivo de individuos que tienen nacimiento edad-específico, crecimiento y tasas de mortalidad similares. El movimiento y el entrecruzamiento de los individuos dentro de la extensión espacial de una población es el pegamento que une a una unidad cohesiva.

De este modo, la conectividad entre las poblaciones reúne una sola especie y equilibra las fuerzas de la diversificación de deriva genética, mutación y selección, que de otro modo se combinan para dar lugar a la evolución en aislamiento y eventual especiación (Mayr, 1970). La distribución y abundancia de los genes se utilizan comúnmente para probar el libre intercambio de individuos, que es la síntesis de la conectividad entre las poblaciones.

El presente proyecto da cuenta de los avances para estudiar las poblaciones de dos rayas de interés comercial en Chile, se centra en el uso de la genética para identificar estructura poblacional, y la forma en que esta información podría ser utilizada para investigar la extensión del movimiento y entrecruzamiento entre poblaciones. Nuevas formas de estimar la conectividad emplean el libre movimiento y el entrecruzamiento, a través de diferentes tipos de especies marinas y modelos

pesqueros, los que afinan y promueven la colaboración y el entendimiento mutuo entre los genetistas y demás científicos que trabajan en el ámbito pesquero. Esta forma de sinergia es temporalmente adecuada, dado el aumento del nivel de interés en el uso de la genética en el manejo pesquero (Dichmont *et al.*, 2012) y a las mejoras tecnológicas y teóricas que se han producido en los últimos 5 años en el campo de la genética de poblaciones (Allendorf *et al.*, 2010; Helyar *et al.*, 2011; Dudgeon *et al.*, 2012; Hoban *et al.*, 2012).

3.1. Realizar una revisión bibliográfica del estado del arte referente a la identificación de unidades evolutivas y demográficas en peces cartilagosos

La identificación de stock es un campo interdisciplinario que involucra el reconocimiento de los componentes auto-sustentables dentro de las poblaciones naturales y es un tema central en la ciencia pesquera y en el manejo (Cadrin *et al.*, 2005). En el marco del presente proyecto, cuando nos referimos a interdisciplinaridad, nos referimos a la conjunción ideal de expertos en biología de peces cartilagosos con conocimientos de que sus historias de vida son altamente diferentes a los peces óseos; y expertos en genética poblacional/molecular con conocimientos sobre el manejo sostenible de la pesca comercial de peces cartilagosos. Los resultados de la presente revisión dan cuenta sobre el estado del arte para la determinación unidades evolutivas, demográficas y del origen natal de poblaciones marinas. Esta revisión se basa en avances más recientes de la literatura

de peces cartilagosos abarcando los últimos 5 años sobre marcadores naturales (Hussey *et al.*, 2012; Mackenzie & Abaunza, 2013), determinación genotípica (Dudgeon *et al.*, 2012) y determinación fenotípica (Ovenden, 2013; Ovenden *et al.*, 2013).

3.2. Diseñar, aplicar y evaluar un plan de muestreo, temporal y geográficamente adecuado para alcanzar los restantes objetivos del proyecto

Una revisión reciente sobre el estado de la población de raya volantín que es capturada por la pesquería artesanal publicada por Bustamante *et al.* (2012), evidenció señales demográficas de colapso pesquero. Estas señales, i.e., cambio en la talla de madurez sexual (L_{50}), cambio en la estructura de tamaños en la captura; también fueron reportados por Lamilla *et al.* (2010) y Licandeo *et al.* (2006), para el stock de raya volantín y raya espinosa en el sur de Chile. Estas señales de colapso han sido documentadas en otras especies de raya de interés comercial como *Leucoraja ocellata* en Canadá (Kelly & Hanson, 2013), *Dipturus batis*, *Dipturus oxyrinchus*, *Rostroraja alba*, (Dulvy *et al.*, 2000) y *Raja undulata* (Ellis *et al.*, 2012) en aguas europeas. Desde la implementación de la veda biológica en Chile durante 2009, menos de 10% de la cuota histórica de desembarque anual (aproximadamente 10 a 25 toneladas) se ha extraído para ambas especies con fines de investigación en la unidad de pesquería artesanal entre las regiones del Bio-Bío y Los Lagos. Si bien, este porcentaje representa un porcentaje marginal de captura, se ha mantenido entre los

años 2010 y 2012. Los resultados y recomendaciones provenientes desde pescas de investigación (Lamilla *et al.*, 2010), han demostraron que la probabilidad de un colapso pesquero se ha mantenido sin cambios durante 2010 y 2011, a pesar del "descanso" en las pesquerías que le ha permitido la veda biológica.

3.3. *Identificar y caracterizar genéticamente la(s) principal(es) unidad(es) evolutiva(s) de raya volantín y raya espinosa en la costa chilena*

El análisis de ADN es una herramienta rápida y universal, de alta precisión para la asignación especie-específica de una muestra, siempre que la especie haya sido descrita taxonómicamente y se hayan caracterizado sus regiones del ADN. Este tipo de análisis es particularmente útil si la muestra carece de los caracteres morfológicos para la identificación taxonómica (e.g., identificar un filete de pescado), si los caracteres morfológicos no están bien definidos (e.g., recuentos vertebrales precaudales en tiburones de la Familia Carcharhinidae), si no se conocen los caracteres morfológicos de diagnóstico (e.g., especies crípticas), o si el estado de conservación impide el análisis morfológico invasivo. A pesar de que se utiliza el término "identificación de especies" para efecto de la presente propuesta, nos apoyaremos en el uso del ADN únicamente para la descripción taxonómica. Como se destacó inicialmente en la introducción, la información extraída del análisis del ADN son parte de un conjunto de herramientas taxonómicas auxiliares en la identificación de especies (Moritz & Cicerón, 2004; Naylor *et al.*, 2012.).

Las ventajas operativas de utilizar el ADN como una fuente de datos en la identificación de especies se han difundido mediante técnicas de "ADN Barcoding" (e.g., Hebert *et al.*, 2003). Como se ha explicado en secciones previas, el "ADN Barcoding" es el uso de una región específica del ADN mitocondrial (mtADN), la región del gen citocromo oxidasa subunidad 1 (*cox1*), para reconocer las especies animales por comparación y validación de secuencias de referencia. Sin embargo, cualquier región del gen (mtADN o ADN nuclear) se puede utilizar siempre que sea diagnóstico para la especie en cuestión y se encuentren disponibles sus secuencias de referencia. En general, un usuario obtiene la secuencia de ADN de la muestra y la compara con una base de datos de secuencias de referencia. Si se hace una coincidencia cercana, la identidad de la muestra se puede inferir. Si hay ninguna coincidencia, y la precisión de la secuencia de la muestra y la referencia son exitosas, la muestra podría pertenecer a una especie que esté incluida en dicha base de datos o que no haya sido descrita taxonómicamente. Hay dos bases de datos de referencia comunes para las secuencias genéticas: FISH-BOL (www.fishbol.org) y GenBank (www.ncbi.nlm.nih.gov/GenBank). FISH-BOL es parte del Consorcio Internacional del Código de Barras de la Vida (www.ibol.org), y su base de datos se compone de varios genes reconocidos como "ADN barcoding" con una alta calidad en su trabajo, mientras que GenBank es una biblioteca para todas las secuencias de ADN disponibles, aunque a menudo de baja calidad en sus resultados.

Mientras que los "ADN Barcoding" convencionales emplean sofisticados equipos de laboratorio para generar secuencias de ADN legibles para la comparación entre una muestra y sus referencias, existe una variedad de enfoques más racionales y

portátiles (e.g., Berry & Sarre, 2006, Chow *et al.*, 2006, Fox *et al.*, 2005, Morgan *et al.*, 2011). Estos nuevos métodos se basan en la detección de diferencias de secuencia de ADN entre las especies, pero no implican la visualización directa de secuencias de ADN. Ellos permiten un análisis más rápido, menos costoso, y se prestan bien para despliegue en terreno donde se pueden obtener resultados en tiempo casi real.

La precisión de los “ADN Barcoding” se basa en gran medida, de la validez de las secuencias de referencia. Existen procesos bien establecidos de control de calidad para asegurar la exactitud de los datos de referencia, como la vinculación de las secuencias de ADN de muestras en especímenes de museo, y la documentación de los datos biológicos y de colecta asociados a cada espécimen (Ratnasingham & Hebert, 2007). Un meta-análisis de la exactitud de los “ADN Barcoding” para numerosos taxones han demostrado que generalmente es mayor del 90% (e.g., April *et al.*, 2011). Sin embargo, en una minoría de casos, la precisión de la identificación de especies basado en el ADN puede ser inferior a lo que se requiere por una serie de razones, incluyendo la hibridación (Morgan *et al.*, 2012) y pseudo-genes (Morgan *et al.*, 2013; Moulton *et al.*, 2010). El principal desafío para el mayor uso de “ADN barcoding” en la administración pesquera, sin embargo, es el carácter incompleto de las bases de datos de referencia especialmente para los taxones de invertebrados. Aproximadamente el 30% de las especies de peces a nivel mundial, por ejemplo, han sido referenciados usando el gen *cox1* (<http://www.fishbol.org>).

El concepto de un stock biológico como unidad básica poblacional en especies explotadas comercialmente, es fundamental para el manejo de pesquerías a nivel mundial. En la mayoría de los casos, los límites del stock abarcan grupos de individuos

dentro de una sola especie que tienen características demográficas o genéticas similares, y por lo tanto responden individualmente y de forma independiente a la actividad pesquera. Estos límites por lo general, se definen espacialmente pero pueden tener un componente temporal, por ejemplo, los cambios de distribución de una especie durante periodos de alimentación, reproducción u otras etapas de su vida. Es ideal que medidas de manejo pesquero, tales como la evaluación de poblaciones, la asignación de cuotas o el control de acceso, puedan realizarse en la escala del stock biológico.

Los stocks pesqueros pueden tener muchas definiciones, pero en la administración pesquera por lo general representan grupos de individuos de una especie demográficamente cohesionados (Carvalho & Hauser, 1994). Es decir, los cambios en la abundancia del stock son en gran medida en función de las tasas locales de natalidad y mortalidad, no de la inmigración y la emigración. Los stocks definidos de esta forma representan las unidades naturales de administración porque puede establecerse directamente una relación entre la productividad y las tasas de captura.

Los stocks son tradicionalmente definidos o identificados en términos genéticos. En primer lugar, puede ser deseable manejar la variación genética para asegurar que una especie conserve sus características específicas de adaptación o suficiente variación genética para adaptarse a los cambios ambientales (Kenchington *et al.*, 2003, Carvalho & Hauser, 1994). En segundo lugar, el análisis genético se utiliza como una forma de identificar poblaciones diferentes demográficamente (Hauser & Ward, 1998). Parte del atractivo del enfoque genético, es la dificultad de la observación directa del movimientos transfronterizo de organismos en ambientes

marinos (Pineda, 2007). En contraste, hay una relación teórica simple entre el número de migrantes intercambiados entre poblaciones y el nivel de diferencia genética ("estructura genética") entre las poblaciones (Waples, 1989). La estructura genética se mide fácilmente con marcadores genéticos (e.g., microsatélites del ADN) y en general, la detección de la diferencia genética entre muestras espacial o temporalmente separadas implica la existencia de un cierto nivel de independencia demográfica y la presencia separada de poblaciones (Waples, 1989, Waples & Gaggiotti, 2006,). Una ventaja importante del enfoque genético es que mide a largo plazo (i.e., multi-generacional), los niveles medios de conectividad de la población.

Mientras que las metodologías genéticas proporcionan una manera rápida y rentable para definir poblaciones biológicas, existen algunas limitaciones importantes (Waples & Gaggiotti, 2006). La primera de ellas es que hay diferentes umbrales para la conectividad genética y demográfica entre poblaciones (Lowe & Allendorf, 2010). Esta complejidad se debe a que la conectividad genética depende del *número absoluto* de migrantes entre las poblaciones, mientras que la conectividad demográfica depende de la *contribución relativa* al crecimiento de la población de la migración versus el reclutamiento local (Lowe & Allendorf, 2010, Mills & Allendorf, 1996). Esto significa que un número de inmigrantes, pequeño pero significativo demográficamente, que se entrecruce con éxito con la población beneficiaria puede homogenizar la estructura genética, sobre todo en grandes poblaciones. El análisis genético, por lo tanto, tiene un sesgo hacia la detección de poblaciones demográficamente independientes y el sesgo puede ser mayor en grandes poblaciones. Estos aspectos son especialmente graves

para muchos organismos marinos explotados comercialmente ya que sus poblaciones tienden a ser grandes y con altos índices de dispersión (Hauser & Ward, 1998).

3.3.1. Una revisión sobre la biología, pesquería y conservación de las rayas *Zearaja chilensis* y *Dipturus trachyderma*

Las amenazas globales hacia los peces elasmobranquios y en especial a las rayas, han ido en aumento debido a los efectos directos e indirectos de pesca (Pauly *et al.*, 2002; Worm *et al.*, 2006; Dulvy *et al.*, 2014). Recientemente se han documentado disminuciones importantes a nivel poblacional en especies explotadas comercialmente, y en particular, en especies más grandes y menos resilientes (Stevens *et al.*, 2000; Baum *et al.*, 2003; Myers *et al.*, 2007; Dulvy *et al.*, 2008; Ferretti *et al.*, 2008; Dulvy *et al.*, 2014).

Las rayas hocicudas (Familia Rajidae) son el grupo más diverso de batoideos, con cerca de 27 géneros y 245 especies distribuidas en todo el mundo (McEachran & Miyake, 1990; Ebert & Compagno, 2007) y representan alrededor del 25% de todos los condriictios existentes (Compagno, 2005a, b). La mayoría de las rayas habitan ambientes marinos de la zona sublitoral hasta 3.000 m de profundidad y presentan una alta diversidad de especies en las latitudes altas y aguas profundas (McEachran & Miyake, 1990; Ebert & Compagno, 2007).

En general, las rayas hocicudas presentan desafíos únicos para la administración pesquera (Stevens *et al.*, 2000) y para su conservación (Robert &

Hawkins, 1999; Dulvy & Reynolds, 2002), debido a su gran tamaño corporal, baja fecundidad, tardía edad de madurez sexual y alta longevidad (Du Buit, 1968; Holden, 1977; Frisk *et al.*, 2001; Dulvy & Reynolds, 2002; Myers & Worm, 2005; Dulvy *et al.*, 2014). La biología y la ecología de las rayas hocicudas es poco conocida y requiere más investigación a nivel morfológico, taxonómico y molecular, a pesar de ser uno de los más grandes grupos taxonómicos dentro de los peces cartilagosos (Compagno, 1999; Ebert & Compagno, 2007; Séret & Last, 2008) y ser objeto de una intensa explotación comercial (Baum *et al.*, 2003; Dulvy *et al.* 2008; Myers & Worm, 2005; Myers *et al.*, 2007; Ferretti *et al.*, 2008; Dulvy *et al.*, 2014). Gran parte de las pesquerías locales con desembarques no controlados son a menudo acompañadas por la falta de información biológica necesaria para mantener un stock pesquero sano (Ferretti *et al.*, 2008, 2010). Agnew *et al.* (2000) sugirieron que las rayas hocicudas son generalmente vulnerables a colapso de stock, incluso cuando se someten a bajos niveles de presión pesquera. Las grandes disminuciones poblacionales y extinciones locales en estas rayas, han sido documentadas en los últimos 10 años. La raya común *Dipturus batis* (L. 1758), la raya grande *Dipturus laevis* (Mitchill 1818), la raya blanca *Rostroraja alba* (Lacepède 1803), la raya de clavos *Raja clavata* L. 1758, la raya suave *Dipturus innominatus* (Garrick & Paul 1974) y la raya de hocico grande *Dipturus oxyrinchus* (L. 1758), son los ejemplos mejor documentados de extinciones locales de peces cartilagosos, como resultado de intensa actividad pesquera (Casey & Myer, 1998; Dulvy *et al.*, 2008; Francis *et al.*, 2001, Dulvy & Forrest, 2010).

En el Océano Pacífico Sureste, solamente un par de peces elasmobranquios se desembarcan como objetivo de pesca, y la raya volantín *Zearaja chilensis* (Guichenot

1848) y la raya espinosa *Dipturus trachyderma* (Krefft & Stehmann 1975), son los peces cartilagosos más valiosos en aguas chilenas (Lamilla *et al.*, 2010, SERNAP, 2012). Claves de identificación y guías de campo han sido producidas considerando aspectos generales (básicos) de la morfología de las rayas hocicudas en el sureste del Pacífico, pero la identificación de especies y la falta de registros de desembarques específicos, son un gran problema para la gestión pesquera y la asignación de cuotas, lo que menoscaba cualquier medida de conservación y administración. En particular, estas dos especies de importancia comercial, *D. trachyderma* y *Z. chilensis*, tienen una vulnerabilidad adicional ya que ambos son endémicas de las aguas templadas-frías del sur de América del Sur (De Buen, 1959; Pequeño & Lamilla, 1985; Leible & Stehmann, 1987; Leible *et al.*, 1990; Agnew *et al.*, 2000; Menni & Stehmann, 2000; Gomes & Picado, 2001; García de la Rosa *et al.*, 2004; Bustamante *et al.* 2014b).

Desde el punto de vista taxonómico, el género *Zearaja* fue descrito en 1939 a partir de una especie monotípica, *Zearaja nasuta* (Müller & Henle 1841), que se trasladó desde el género *Raja* aunque no se proporcionó un diagnóstico útil. Más tarde, Stehmann (1990) colocó este taxón como sinonimia dentro del género *Dipturus*. Last & Yearsley (2002) resucitan a *Zearaja* como subgénero al reubicar dos especies y sugieren que los zearajidos son más propensos a ser genéricamente distintos de los dipturidos debido a la morfología del esqueleto, por ejemplo, cláster, neurocranium, las cinturas pélvica y pectorales. Last & Gledhill (2007) sugieren la actualización de *Zearaja* como un género basado en las características clave de la anatomía externa e interna, es decir, la relación del ancho/largo del disco (dándole su forma subromboidal característica), la presencia de un fuerte cartílago rostral, patrones de

espina orbitales y de la línea media; además de todas la característica del esqueleto mencionadas anteriormente. En la actualidad, el género *Zearaja* incluye al menos tres especies válidas, *Z. nasuta* (Müller & Henle 1841) de Nueva Zelanda, *Z. chilensis* (Guichenot 1848) de Chile y Argentina y una nueva especie, *Zearaja maugeana* Last & Gledhill 2007, descrita de aguas en Tasmania (Australia). Sin embargo, estos cambios en el género *Zearaja*, así como otros cambios recientes en la taxonomía de los peces cartilaginosos no han abordado todos los problemas taxonómicos y sistemáticos entre géneros de la familia Rajidae (Eschmeyer & Fong, 2011).

Las rayas hocicudas del género *Dipturus* tienen una distribución en todo el mundo incluyendo el Caribe (Compagno, 1999; Gomes & Picado, 2001), el noroeste del Océano Atlántico (McEachran & Carvalho, 2002; Gedamke *et al.* 2005; Schwartz, 2012), América del Sur (Gomes & Picado, 2001; Soto & Mincarone, 2001; Lamilla & Bustamante, 2005; Díaz de Astarloa *et al.*, 2008; Bustamante *et al.*, 2014b), Australasia (Last *et al.*, 2008a, Last & Alava, 2013) y el este de Europa y África (Ellis *et al.*, 2005a, b; Ebert & Compagno, 2007, Cannas *et al.*, 2010). El género *Dipturus* Rafinesque 1810 fue descrito utilizando *Raja batis* (Linnaeus 1758) como especie tipo considerada inicialmente como un subgénero de *Raja* (Stehmann, 1973; Ishihara & Ishiyama, 1986; Ishihara, 1987; Pequeño, 1989; Séret, 1989; Pequeño & Lamilla, 1993; Jacob & McEachran, 1994; López *et al.*, 1996; Bizikov *et al.*, 2004) y ha sido resucitado a nivel genérico por McEachran & Dunn (1998). El género *Dipturus* incluye actualmente 45 especies válidas y varias no descritas (Séret, 1989; McEachran & Dunn, 1998; Ebert & Compagno, 2007; Last, 2008; Last *et al.*, 2008a, Séret & Last, 2008, Last & Álava, 2013; Ebert *et al.*, 2013). Ocho especies del género están presentes en las aguas de América

del Sur, incluyendo *Dipturus ecuadoriensis* (Beebe & Tee-Van 1941) en el Océano Pacífico, *Dipturus argentinensis* Díaz de Astarloa, Mabragaña, Hanner & Figueroa 2008, *D. bullisi* (Bigelow & Schroeder 1962), *D. diehli* Soto & Mincarone 2001, *D. leptocauda* (Kreddt & Stehmann 1975), *D. mennii* Gomes & Parago 2001 y *D. teevani* (Bigelow & Schroeder 1951) en el Océano Atlántico, y *Dipturus trachyderma* (Kreffft & Stehmann 1975) en ambos Pacífico y Atlántico. Todas las rayas hocicudas de América del Sur han sido reportadas en la plataforma y talud continental entre 100 y 450 m de profundidad y son intensamente capturados en todo su rango de distribución (Leible & Stehmann, 1987; Lloris & Rucabado, 1991; Gomes & Picado, 2001; Soto & Mincarone, 2001; Díaz de Astarloa *et al.*, 2008).

3.3.2. Uso de marcadores moleculares mitocondriales para la identificación de raya volantín *Zearaja chilensis* y raya espinosa *Dipturus trachyderma*

En base a las tasas de disminución del tamaño poblacional, restricción del hábitat o probabilidad de extinción, en 2007 la Lista Roja de Especies Amenazadas hecha por la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (IUCN), evaluó y clasificó a *Dipturus trachyderma* y *Zearaja chilensis* como especies vulnerables, con una probabilidad de extinción del 10% (Kyne *et al.*, 2007; Lamilla & Massa, 2007), y establecieron además una base para proceder con su gestión futura. En consecuencia, el Gobierno Chileno emitió cuotas de captura restringidas para regular la pesquería directa de rayas como medida de conservación, pero desde entonces todos los estudios biológico-pesqueros efectuados en ambas especies, han evidenciado una

disminución de los volúmenes de desembarque y síntomas de colapso pesquero (Bustamante *et al.*, 2012). La necesidad de una nueva evaluación biológica se hace necesaria considerando que no toda la información específica de ambas especies estaba disponible en el momento de su evaluación (en el 2005), que el estatus taxonómico de estas dos especies siempre ha sido incierto (ambas especies pertenecían al género *Dipturus*) y que en casi 10 años, el esfuerzo pesquero se ha mantenido estable.

Muchas de las medidas actuales de conservación y manejo de fauna fracasan en su objetivo final, ya que las autoridades confunden el concepto de conservación como, por ejemplo, solo modificar cuotas de pesca (Jordan, 1995). La conservación es el acto de preservar, custodiar o proteger la biodiversidad, el ambiente y los recursos naturales incluyendo la protección y la administración (Dobson & Lovejoy, 1996), pero la definición de una entidad taxonómica es el primer paso para su conservación (Mace, 2004). La identificación taxonómica de una especie juega un papel importante en la conservación, al determinar el alcance y evaluación adecuada del esfuerzo; por lo que la clasificación errónea de varias especies distintas en una sola entidad taxonómica podría denegar una adecuada gestión de conservación, a una especie en particular (Mace, 2004).

Recientemente, el rol de la taxonomía en peces cartilagosos ha sido fundamental para encontrar resolución taxonómica de un número de especies amenazadas, especialmente en relación con su manejo y conservación (White & Last, 2012), pero cuando la diferenciación taxonómica no es clara, a menudo se puede resolver utilizando marcadores moleculares (Dudgeon *et al.*, 2012). El reciente

desarrollo de herramientas moleculares para asistir en la identificación de especies también ha centrado su atención hacia complejos de especies o especies crípticas, lo que ha resuelto taxones sin describir permitiendo su identificación (White & Last, 2012; Cerutti-Pereyra *et al.*, 2012; Tillett *et al.*, 2012). La genética también ha permitido a investigadores obtener una mayor comprensión sobre la dinámica de especies, y ha intentado responder preguntas que previamente no habían sido posible de responder a través de técnicas tradicionales (Schwartz *et al.*, 2007; Ovenden, 2013).

La comprensión de la diversidad genética, la conectividad de poblaciones y las tendencias de abundancia, es crucial para el desarrollo de medidas de conservación de especies vulnerables (Reed & Frankham, 2003). Estudios poblaciones en elasmobranquios han permitido inferir procesos históricos y contemporáneos responsables de los patrones observados de diferenciación genética espacial, y han logrado identificar las unidades de administración pesquera y de conservación (Beheregaray, 2008; Ovenden *et al.*, 2011).

El ADN mitocondrial (mtADN) ha sido ampliamente utilizado en estudios filogenéticos de los animales, ya que evoluciona más rápidamente que el ADN nuclear, lo que resulta en una acumulación de diferencias entre especies estrechamente relacionadas (Brown *et al.*, 1979; Moore, 1995; Mindell *et al.*, 1997). Aunque la mayoría de los estudios genéticos recientes sobre elasmobranquios se ha centrado en la reconstrucción de las relaciones filogenéticas entre especies (ver por ejemplo la revisión de Naylor *et al.*, 2012), ninguno se ha enfocado en la genética poblacional de rayas, principalmente por problemas de identificación taxonómica.

3.3.3. Identificación de unidades poblacionales de la raya volantín *Zearaja chilensis* y raya espinosa *Dipturus trachyderma* en aguas chilenas, a través de microsatélites y ADN mitocondrial

La raya volantín *Zearaja chilensis* es una especie demersal que habita aguas templadas-frías en la costa sur de América del Sur (Bustamante *et al.*, 2012). El gran tamaño y valor comercial hacen a esta especie susceptible a la sobreexplotación a lo largo toda su área de distribución. No existen inferencias moleculares publicados sobre la estructura de la población de esta especie aunque la 'Lista Roja de Especies Amenazadas' de IUCN la define como una especie 'vulnerable' debido a la declinación de su talla de captura y al aumento de su desembarque/esfuerzo pesquero en Argentina, Islas Malvinas y Chile (Kyne *et al.*, 2007). A pesar de esto, altos niveles de variación genética dentro del genoma mitocondrial han sido reportados (Vargas-Caro *et al.*, 2014). Un gran número de marcadores de microsatélites polimórficos han sido identificados para otras especies de rayas dentro de la Familia Rajidae (Chevolot *et al.*, 2015; El Nagar *et al.* 2010; Kang *et al.*, 2012), aunque ninguno ha sido desarrollado en especies dentro del género *Zearaja*.

El desarrollo de marcadores especie-específicos para *Z. chilensis* significa una innovación científica que contribuye a futuros proyectos que utilicen herramientas moleculares para la discriminación de flujo de genes entre las regiones, incluyendo posibles migraciones hacia el Océano Atlántico. Como tal, el desarrollo de microsatélites es una prioridad para el manejo y conservación de esta especie.

3.4. *Identificar y caracterizar la(s) principal(es) unidad(es) demográfica(s) de raya volantín y raya espinosa presentes en la costa chilena*

Muchos aspectos del manejo pesquero se basan en la identificación precisa de los organismos involucrados y de aquellos que no son objeto de la actividad pero que pueden verse afectados indirectamente por esta operación. Estos individuos deben ser identificados para mantener registros pesqueros precisos (así como para proyectos de investigación) y para ayudar en el proceso de administración y gestión. La definición biológica de stock, la elaboración de mapas cartográficos de la distribución de las especies, el descubrimiento de especies crípticas, la identificación de etapas larvales (o juveniles en el caso de los peces cartilagosos), la detección de floraciones de algas nocivas, la identificación de la captura incidental y la construcción de modelos tróficos; asumen que especies pueden ser y son identificadas con precisión. Las especies crípticas son particularmente difíciles para la administración pesquera, pero una vez que reconocen el uso de herramientas genéticas pueden ser identificados los caracteres morfológicos diagnósticos confiables requeridos para individualizar la especie (e.g., Smith *et al.*, 2011).

Tal como se mencionó anteriormente, el desarrollo exitoso de los análisis filogenéticos será un hito fundamental para este proyecto. El presente objetivo será una consecuencia de las conclusiones del objetivo anterior, donde se deberán definir las 'unidades evolutivas' para ambas especies. Los criterios de éxito en la sección anterior incluyen la extrapolación de caracteres morfométricos y basados en el ADN que sitúen a las rayas muestreadas a lo largo de la costa chilena, desde diversos

hábitats y pesquerías según lo predicho por la taxonomía; una filogenia basada en el ADN de las especies objetivo que se corresponda con la actual taxonomía de la familia; y la no existencia de hibridación inter- especies sobre la base de una comparación de muestra por muestra mediante la identificación basada en el ADN y caracteres morfológicos externos.

Existen numerosas técnicas que se pueden utilizar en la identificación biológica de un stock. Estas técnicas pueden incluir métodos simples y cualitativos de carácter más técnico, como análisis de los datos de captura, experimentos de marcaje y recaptura, métodos moleculares (Ovenden *et al.*, 2004), presencia de parásitos (Mackenzie & Abaunza, 2013; Zischke *et al.*, 2009), y características de historia de vida (Begg, 2005), así como la forma, microestructura y composición macroquímica de escamas y otolitos en peces (Cadrin & Friedland, 2005, Campana, 2005). Cada una de estas técnicas genera información sobre los stocks de peces a diferentes escalas espaciales y temporales. Los análisis genéticos normalmente ponen a prueba la hipótesis nula de un flujo de genes espacialmente homogéneos (suponiendo la ausencia de deriva genética, selección natural y mutación), mediante el estudio de la herencia de marcadores genéticos seleccionados en una población en un tiempo generacional. En contraste, las técnicas no-genéticas reflejan la residencia y los movimientos de los peces a través de diferentes entornos durante su vida pero están influenciadas por diferentes factores, y pueden ser utilizados para separar aparentes poblaciones genéticamente homogéneas en unidades discretas de peces adultos que son más apropiadas para el manejo pesquero (Buckworth *et al.*, 2007). Debido a que cada método de evaluación de la estructura del stock aborda diferentes aspectos de la

población, la elección del método es muy importante y depende de las necesidades específicas de administración e investigación (Begg & Waldman, 1999).

3.4.1. Caracterización y variación morfométrica en la raya volantín *Zearaja chilensis* y raya espinosa *Dipturus trachyderma*, en aguas chilenas

La morfometría geométrica es el análisis de la forma (del Griego *morfos*, 'forma') basado en coordenadas de puntos fijos o 'landmarks' a través de procedimientos de estadística multivariadas (Klingenberg, 2009), y cómo estos pueden ser puestos en práctica a través de cualquier disciplina biológica en la que el fenotipo (la forma) y su variación, sean las principales fuentes de información (Bookstein, 1996; Zelditch *et al.*, 2004). La correcta identificación de especies, entrega información crítica basal para el apoyo de cualquier investigación biológica (Last, 2007). Las rayas, en general han sido objeto de numerosas revisiones taxonómicas lo que conlleva a un alto nivel de incerteza al momento de realizar la identificación de especies desde capturas comerciales (Ebert & Compagno, 2007); lo que usualmente ha sido solucionado mediante la agrupación de especies en niveles taxonómicos superiores, p.e., a nivel de familia; o categorías genéricas sin valor taxonómico, p.e., 'raya' (Lamilla *et al.*, 2010).

Los patrones de variación morfométrica en rayas, y peces en general, pueden indicar diferencias en las tasas de crecimiento y madurez sexual porque la forma del cuerpo es un producto de la ontogenia de todos los seres vivos (Faccenda & Lunelli, 2011). De esta forma, el análisis morfométrico proporciona un poderoso

complemento de los enfoques de identificación genético y ambiental, que es uno de los principales objetivos de la propuesta de investigación actual.

La morfometría geométrica se presenta como un análisis práctico de la variación morfológica natural y nos permite abordar claves biológicas desde un mosaico de formas, como su transformación (variación) y su interacción (covariación) con el medio físico (Cadrin & Friedland, 2005; Klingenberg & Monteiro, 2005; Francis, 2006). En particular, la morfometría geométrica se presenta como una herramienta para evaluar las posibles variaciones de las proporciones corporales en la raya volantín y raya espinosa, y su adaptación local en la zona de estudio.

3.4.2. Caracterización y variación de la dieta y nivel trófico de *Zearaja chilensis* y *Dipturus trachyderma* en aguas chilenas

Los tiburones y rayas son usualmente caracterizados como depredadores tope o cercanos al tope en las redes tróficas, que estructuran comunidades marinas a través de la depredación y que contribuyen sustancialmente a la estabilidad de las mismas (Cortés, 1999; Stevens et al., 2000). Uno de los aspectos importantes de la biología de una especie está relacionado con la dinámica trófica a través del análisis de los contenidos estomacales, los cuales permiten conocer la dieta y los hábitos alimentarios de las especies (Hyslop, 1980; Cortes, 1997). El análisis de contenidos estomacales es fundamental en el desarrollo de modelos predictivos del impacto de la pesca sobre las relaciones predador-presa (Schindler *et al.*, 2002), modelos de control top-Down y construcción y análisis de redes tróficas (Pimm, 2002).

Información disponible sobre el potencial impacto de la pesca en los niveles tróficos, sugiere que los elasmobranquios son consumidores secundarios con un amplio espectro trófico, que va desde plancton hasta mamíferos marinos (Wetherbee & Cortés, 2004). Las rayas de hábitos bénticos, costeros y demersales de las familias Dasyatidae, Rhinobatidae, Urotrygonidae, Rajidae, entre otras, se alimentan en gran parte de crustáceos y/o moluscos.

La conducta alimentaria es una característica que se determina durante la evolución de la especie, adaptándose para capturar una presa en particular. Órganos sensoriales están adaptados para ubicarlas, la cavidad bucal para capturarlas y el aparato digestivo para digerirlas (Nikolsky, 1936). Relacionado con los hábitos alimentarios en elasmobranquios, está el cambio ontogénico en las preferencias dietarias. Con el pasar del tiempo muchas de las especies de elasmobranquios cambian su tamaño considerablemente por lo que también modifican sus hábitos, velocidad de desplazamiento y tamaño de las mandíbulas, lo que se traduce en un cambio sustancial de su alimentación. (Pedersen, 1995; Orlov, 1998).

Una de las especies a evaluar es la raya volantín (*Z. chilensis*), esta se caracteriza básicamente por presentar una baja tasa de crecimiento, un limitado desplazamiento, acompañado de una tardía madurez sexual, una limitada fecundidad, un largo ciclo de vida y alta sobrevivencia de los individuos después de alcanzar el estado de juvenil, todas condiciones que convierten a este grupo especialmente sensible a la explotación pesquera (Walker *et al.*, 1997, Dulvy *et al.*, 2000; Dulvy y Reynolds, 2002). Considerando la condición biológica y el aumento en las capturas de este grupo, es de suma importancia para la conservación y ordenamiento, mejorar la

información respecto del estado actual de su conocimiento (e.g., parámetros biológico-pesqueros y reproductivos, entre otros) y sus prácticas de extracción (Lamilla *et al.*, 2012). En el Atlántico esta especie es descrita como un depredador terciario con una dieta basada en teleósteos *Patagonotothen ramsayi*, el cefalópodo *Illex argentinus*, y de menor forma sobre merluza y crustáceos (Lucifora *et al.*, 2000). En la misma zona también se describió como un depredador generalista, centrando su dieta en peces y crustáceos, donde se observan cambios importantes en su dieta según el tamaño (Koen Alonso *et al.*, 2001).

En Chile, los estudios basados en contenido estomacal de raya volantín se registraron por primera vez en el año 1950, donde Bahamonde describe a la especie como depredador específico de crustáceos; más adelante (Fuentealba, 1989) la describe como carnívoro secundario, con variación ontogénica en la dieta. Los últimos estudios realizados en la región de Los Ríos, integra al análisis de contenido estomacal a la raya espinosa (*Dipturus trachyderma*). En Queule y Niebla ambas especies presentan preferencia por peces óseos en especial la merluza de cola, y en Bahía Mansa la dieta se basó en el estomatópodo *P.armata*, secundados por peces. Para raya volantín los peses fueron el ítem más importante, con más del 85% de las presas (Lamilla, 2002). Algo similar se observó en el año 2012 donde peces óseos en raya espinosa fue el ítem de mayor importancia y *P.armata* en raya volantín similar a bahía Mansa (Peric, 2012).

Sólo se han realizado estudios en el sector centro—sur de Chile, por lo tanto el presente estudio, mostrará si hay variaciones o similitudes entre las distintas regiones

donde fueron muestreadas las especies de raya volantín y espinosa para este proyecto, abarcando así un rango mucho más amplio de comparación.

3.4.3. Caracterización y variación de la carga parasitaria de *Zearaja chilensis* y *Dipturus trachyderma* en aguas chilenas

Los estudios sobre la dinámica de una población explotada, debe comenzar con la determinación de su identidad biológica, en relación a las poblaciones vecinas de la misma especie (MacKenzie y Abaunza, 1998). El estudio de parásitos es una herramienta efectiva al develar problemas biológicos y zoogeográficos (Ihering, 1891). Parásitos se usan normalmente como marcadores biológicas, en el caso de peces teleósteos está bien documentada, pero no ocurre lo mismo con condriictios, donde la literatura sobre este tema es insuficiente (Moore, 2001).

En los peces elasmobranquios, hay una rica diversidad de parásitos metazoos (ectoparásitos y endoparásitos). Los endoparásitos marinos, viven en el cuerpo del hospedador, ya sea en su musculatura, tracto digestivo y órganos en general, y presentan una riqueza mayor a la de los ectoparásitos (George-Nascimento & Arancibia 1994, Oliva *et al.* 1996, González *et al.* 2001). En general, los parásitos helmintos del intestino de peces dependen del material alimenticio presente en el lumen de la válvula espiral, además de la disponibilidad de cierta clase de nutrientes, por lo cual sus diferentes sitios de digestión y absorción, en los que la configuración de la mucosa intestinal es fundamental, jugará un rol importante en la distribución de los parásitos en el intestino (Williams *et al.*, 1970).

Las complejas historias de vida de muchos grupos de parásitos, así como también su gran especificidad por el huésped, los dota con el potencial de ser altamente informativos como indicadores de aspectos biogeográficos y taxonómicos de sus huéspedes elasmobranquios (Williams, 1972; Caira, 1990). Básicamente un pez puede llegar a ser infectado con un parásito sólo cuando están dentro de la zona endémica de influencia de este parásito. Mientras más parásitos con diferentes áreas endémicas se puedan usar, mejor es la información que se obtiene sobre los últimos movimientos de las poblaciones de peces, por lo tanto sobre la estructura del stock (Mackenzie & Abaunza, 2013). Estudios de cargas parasitarias tiene un valor particular en aguas profundas, donde los marcajes y métodos de recaptura pueden ser dificultosos (Mosquera *et al.*, 2013).

En el caso de *Zearaja chilensis* y *Dipturus trachyderma*, se han registrado algunos tipos de endoparásitos específicos como huéspedes en el sistema digestivo. Según la revisión bibliográfica de endoparásitos de sistemas acuáticos de Chile, (Muñoz & Olmos, 2008), y los estudios de Villalba & Fernández (1985) y Knoff *et al.* (2001, 2002, 2004), se distinguen aproximadamente 20 parásitos a nivel genérico o de especie a partir de muestras de *Zearaja chilensis* (n = 12) y *Dipturus trachyderma* (n = 8). Los sitios de infección son en su mayoría el estómago y la válvula espiral, pero la boca y branquias también han sido documentados (Villalba & Fernández, 1985).

3.4.4. Caracterización y variación de la historia de vida de *Zearaja chilensis* y *Dipturus trachyderma* en aguas chilenas

Los elasmobranquios han ido evolucionando independientemente en los últimos 450 millones de años, por el período Carbonífero, ellos parecen haber desarrollado un patrón de historia de vida similar a lo visto hoy (Hoening & Gruber, 1990).

Cualquier característica que afecta la supervivencia y reproducción de un animal es, por definición, una parte del patrón de historia de vida de la especie. (Hoening & Gruber, 1990)

La historia de vida de una especie o de un stock puede ser definido como el conjunto de características, respuestas y episodios biológicos que ocurren durante la vida de los individuos en la población. Estos episodios según Hoenig & Gruber (1990), incluyen el donde y cuando nacen los animales, cuánto tiempo ellos permanecen en el lugar de nacimiento, cuán rápido crecen, su alimentación y relaciones sociales y sexuales así como sus movimientos y migraciones.

Una de las teorías que explican las estrategias de historia de vida es la Teoría r-K (Stearns, 1992). Esta teoría es el esquema más simple en que es determinista y asume estabilidad medioambiental y es el paradigma más común usado en los estudios de historia de vida en elasmobranquios.

La mayoría de las especies de tiburones, rayas y quimeras son depredadores tope de las cadenas alimenticias y se caracterizan por presentar una madurez sexual tardía, una alta longevidad, bajo crecimiento y baja fecundidad y productividad, por presentar períodos largos de gestación, una alta mortalidad natural y baja abundancia

(estrategas “K” en su historia de vida) respecto a peces óseos de niveles superiores, p.e. atunes, albacoras y peces espada (Fowler et al., 2005)

Ciertamente la vulnerabilidad de tiburones a la presión pesquera es casi invariablemente atribuido a sus estrategias de vida K. (Stearns, 1992).

Aún nuestro conocimiento de los rasgos de historia de vida de muchas especies es limitado y nosotros estamos apenas comenzando a ganar agudeza en los patrones de historia de vida compartidos por algunas especies y las relaciones entre los rasgos de historia de vida (Compagno, 1990; Cortés, 2000; Frisk et al., 2001).

3.5. Estimar el número de orígenes (zonas de desove y/o crianza) y su contribución relativa a cada unidad demográfica identificada y zona principal de captura

Un concepto integrador comúnmente utilizado en el manejo de especies amenazadas, es la Unidad Taxonómica Operacional (OTU, por sus siglas en Ingles); aunque este concepto no está muy extendido en poblaciones marinas, es una herramienta básica para la definición de una especie (Allendorf & Luikart, 2007). El concepto de "especie" puede tener diferentes significados según el campo de trabajo o el alcance de la investigación. El concepto biológico (BSC) define una especie como grupo de poblaciones que pueden reproducirse (o potencialmente reproducirse) y que están reproductivamente aislados de otros grupos (Mayr, 2000). El concepto morfológico (MSC) se basa en individuos que comparten un conjunto de caracteres

morfológicos y por lo tanto son capaces de distinguirse sobre la base de estas discontinuidades en las características fenotípicas (Keogh, 1999). El concepto genético de especies (GSC) se define como un grupo de poblaciones naturales genéticamente compatibles que se aísla genéticamente de otros grupos (Baker & Bradley, 2006); mientras que el concepto evolutivo de especie (ESC), define una especie como un "linaje (una secuencia ancestral descendiente de la población) en evolución separada de los demás y con sus propias tendencias y un rol evolutivo unitario" (Simpson, 1961). Consciente de las lagunas y las críticas sobre el uso de estos conceptos por sí solos, y para los fines de este estudio, se definirá como "especie" a nuestra OTU, vinculando de esta forma a cada concepto individual de especies previamente presentado.

Las OTU (o especies) requieren ser manejadas como unidades separadas. Sin embargo, las poblaciones dentro de una especie pueden estar en el camino a especiación. Si muestran diferenciación adaptativa significativa a diferentes hábitats, o diferenciación genética significativa, entonces se puede justificar su manejo como linajes evolutivos independientes para fines de conservación (Frankham *et al.*, 2004). Esta suposición de que las poblaciones pueden estar en trayectorias evolutivas independientes ha modificado los esfuerzos de conservación hacia una especie como unidad taxonómica esencial, y en su lugar ha dado paso hacia datos genéticos poblacionales los que puede contribuir en gran medida a la determinación de si las poblaciones pueden ser consideradas independientes y por lo tanto, como unidades de manejo independientes, tales como una unidad evolutivamente significativa (ESU

por sus iniciales en inglés) (Moritz, 1994, 1995; Paetkau, 1999; Crandall *et al.*, 2000; Fraser & Bernatchez, 2001; Hey *et al.*, 2003).

El concepto ESU ha sido desarrollado para proporcionar un enfoque objetivo al dar prioridad a las unidades de protección por debajo de los niveles taxonómicos (Ryder, 1986), dado que la taxonomía existente podría no reflejar ampliamente la diversidad genética subyacente o limitaciones intrínsecas del recurso (Avice, 1989). Una unidad significativa evolutiva (ESU) puede definirse en términos generales como una subespecie, población o grupo de poblaciones que merecen un manejo por separado o prioritario para su conservación debido a su alto grado de distinción (tanto genética y ecológicamente) (Allendorf & Luikart, 2007). Moritz (1994) propuso que los marcadores genéticos pueden ser utilizados para definir unidades de manejo dentro de una especie. Si los genotipos del mtADN no muestran solapamiento entre poblaciones, y loci nucleares muestran desviaciones importantes de las frecuencias de los alelos, entonces deberían ser definidos como ESU separados y por lo tanto ser manejados por separado (Dimmick *et al.*, 1999; Karl & Bowen, 1999; Moritz, 1999; Paetkau, 1999; Crandall *et al.*, 2000; Goldstein *et al.*, 2000).

Varios autores han señalado que las ESU se pueden dividir en varias unidades de manejo (MU) (Taberlet *et al.*, 1995; Waits *et al.*, 2000; Palsbøll *et al.*, 2007). Estas unidades de gestión por lo general se definen como poblaciones, stocks o grupos de poblaciones que son demográficamente independientes. La identificación de estas unidades es útil para la gestión a corto plazo - tal como la delimitación de las zonas de pesca, el establecimiento de cuotas de extracción, y el seguimiento de hábitat y estado de la población (Allendorf & Luikart, 2007). Las MU a diferencia de las ESU, por lo

general no muestran evolución independiente a largo plazo o diferenciación adaptativa marcada. La conservación de múltiples poblaciones, no sólo una o dos, es fundamental para asegurar la persistencia a largo plazo de las especies (Hughes *et al.*, 1997; Hobbs & Mooney, 1998).

El desarrollo exitoso de los análisis filogenéticos es un hito fundamental para este proyecto. El presente objetivo es una consecuencia de las conclusiones de los objetivos anteriores, donde se definen las 'unidades evolutivas' para ambas especies. Los criterios de éxito en la sección anterior incluyen la extrapolación de caracteres morfométricos y basados en el ADN que sitúen a las rayas muestreadas a lo largo de la costa chilena, desde diversos hábitats y pesquerías según lo predicho por la taxonomía; una filogenia basada en el ADN de las especies objetivo que se corresponda con la actual taxonomía de la familia; y la no existencia de hibridación inter-especies sobre la base de una comparación de muestra por muestra mediante la identificación basada en el ADN y caracteres morfológicos externos.

Identificación de poblaciones natales

El análisis genético de la estructura del stock, puede revelar la escala más adecuada de administración sobre una base especie-específica. Por ejemplo, esto se ilustra con una serie de investigaciones genéticas sobre especies capturadas en el norte de Australia y en aguas de Indonesia. Los taxones estudiados incluye tiburones (Familia Sphyrnidae y Carcharhinidae), caballa (Familia Scombridae) y pargos (Familia Lutjanidae) y las herramientas moleculares utilizadas incluyen alozimas, microsatélites de ADN y secuenciación del mtADN. Una gran variedad de estructuras

poblacionales pueden existir entre especies en una región geográfica en particular incluidos dentro de cada uno de los grupos de taxones, de tal manera que, la historia de vida, la batimetría y la hidrodinámica han sido los predictores más eficaces de la estructura genética de la población. Por ejemplo, dos especies de tiburones (*Prionace glauca* y *Sphyrna lewini*) no mostraron evidencia de estructura poblacional, mientras que se evidencian diferencias pronunciadas en otro tiburón (*Carcharhinus sorrah*) a través del Mar de Timor (Ovenden *et al.*, 2009). En los lutjánidos, dos especies co-distribuidos mostraron una fuerte correspondencia en su estructura de la población (Salini *et al.*, 2006) en el mar de Timor, el que actúa como una barrera al movimiento, como ocurre en una especie bentónica *Pristipomoides multidens* (Ovenden *et al.*, 2004). Por el contrario, otro lutjánidos en la misma zona, *Lutjanus argentimaculatus* no presento una estructura en esta región (Ovenden & Street, 2003). Estos modelos de subdivisión genética permiten entender que las poblaciones de algunas especies han limitado su capacidad de actuar como donantes a otras poblaciones sobre-explotadas (Blaber *et al.*, 2005). Estudios similares multi-específicos se han llevado a cabo en el suroeste de Australia (Watts & Johnson, 2004, Ayvazian *et al.*, 1994) y en otros lugares (Waples 1987, Pelc *et al.*, 2009).

Contribución relativa a la pesquería

La administración pesquera puede complicarse cuando los stocks se sobreponen. Una pesquería de stocks mixtos contiene individuos de dos o más stocks (o componentes) distintos de una misma especie. Cuando se capturan stocks mixtos, los componentes del stocks serán impactados de acuerdo a las proporciones

representadas dentro del stock mixto. Por ejemplo, sub-adultos del salmón del Pacífico en el océano Pacífico Norte, forman una población mixta ya que representan la descendencia de varias poblaciones reproductoras de agua dulce. Un análisis de stock mixto, es el proceso de cuantificación de los aportes de cada stock componente a una pesquería mixta y comúnmente se utilizan herramientas genéticas para esto.

La composición de pesquerías de stocks mixtos puede ser resuelta por comparación con valores de referencia (o basales) de las frecuencias génicas de los componentes del stock. Comúnmente se utilizan marcadores genéticos altamente variables, tales como loci de microsatélites y SNP. La recopilación de datos de referencia es a menudo una consecuencia de la descripción de la estructura del stock genético de una especie. Los datos de referencia se deben recoger durante varios años para comprobar la estabilidad temporal. Simulaciones computacionales son utilizadas para determinar si hay suficiente diferenciación genética entre las acciones componentes para caracterizar una muestra mixta, y si es así, los especímenes tomados de la pesquería mixta serán genotipificados y se estimara su proporción relativa de cada stock componente.

Para realizar un análisis de stocks mixtos, es necesario que haya evidencia de que la especie tiene poblaciones discretas, pero se captura en un estado agregado. En muchas partes del mundo la pesca se produce en las especies cuya biología no ha sido bien caracterizada, y para estas especies, los stocks mixtos pueden o no presentarse. La tecnología genética es irrelevante hasta que se establezca la necesidad para el análisis. Además, debe haber alguna diferenciación genética entre los stock componentes. Por ejemplo, en el Atlántico nororiental para *Clupea harengus*,

Bekkevold *et al.* (2011) demostró que el análisis de stocks mixtos es posible en poblaciones con poca diferenciación (e.g., $F_{ST} < 0,02$). Sin embargo, si la composición de los stocks mixtos esta significativamente sesgada hacia uno o más stock componentes, el rendimiento del método será pobre (Griffiths *et al.*, 2010). Análisis de stocks mixtos, en contraste con los métodos de asignación, permiten determinar las proporciones relativas de dos o más stock en una muestra mixta en lugar de asignar los individuos a los stocks. El análisis de stocks mixtos será el método a emplear cuando la diferenciación entre las poblaciones sea baja.

La contribución relativa de cada unidad poblacional a las unidades de manejo pesquero, solo se podrá realizar si se logra identificar más de una unidad poblacional, y si estas unidades difieren significativamente una de otra basados en los genotipos de microsatélites. Las unidades necesitan diferir en F_{ST} de alrededor de 0.05 o más, para un análisis de stocks mixtas. Si las unidades poblacionales difieren en menos de esta cantidad, un análisis de stocks mixtos no podrá ser realizado y en consecuencia las contribuciones relativas de cada unidad poblacional a las unidades de manejo no podrán ser estimadas.

4. METODOLOGÍA DE TRABAJO

Según lo establecido por los términos técnicos de referencia, cada objetivo específico se desarrolla por separado y de forma consecutiva, como parte de la progresión lógica en la secuencia de la investigación, i.e., revisión de la literatura, planteamiento de hipótesis de trabajo, toma de muestras, análisis genético y demográfico, y por último, determinación de orígenes natales.

4.1. Realizar una revisión bibliográfica del estado del arte referente a la identificación de unidades evolutivas y demográficas en peces cartilagosos

La presente revisión se estructura considerando por separado información sobre a los avances científicos y tecnológicos en la determinación genotípica y demográfica de peces cartilagosos. De esta forma, se discuten temas relativos a la identificación de especies a través de marcadores genéticos, la filogeografía y estructura de poblaciones en elasmobranquios, la filopatría reproductiva en tiburones y rayas, conceptos sobre el tamaño poblacional genéticamente efectivo y el uso de tecnologías recientes, tendencias e implicaciones para la determinación genotípica.

De igual forma, se discuten los avances demográficos en la determinación de poblaciones incluyendo una revisión sobre la definición de stock, el uso de parásitos como marcadores biológicos en estudios de identificación de stocks y sobre el estudio de los rasgos del ciclo vital en la identificación de stocks.

4.2. Diseñar, aplicar y evaluar un plan de muestreo, temporal y geográficamente adecuado para alcanzar los restantes objetivos del proyecto

Para efectos del presente proyecto era necesario actuar en concordancia con la condición de la "salud" del stock de rayas en Chile. Para esto, la toma de muestras biológicas se limitó a un "número discreto de individuos" como unidad de esfuerzo, en alternativa a la estimación de captura en masa. Este n fue evaluado en el muestreo piloto realizado previamente (Lamilla *et al.*, 2012), lo que permitió ajustar los tamaños muestrales sin afectar la precisión específica requerida por el proyecto.

De acuerdo a lo indicado en la propuesta técnica y considerando la situación administrativa de la pesquería de rayas en Chile, se solicitó a la Subsecretaría de Pesca "una cuota de pesca de investigación que no excede el 10% del desembarque anual histórico la cual se limita a una cantidad específica de individuos de cada especie por localidad o área geográfica contemplada en el presente estudio". Para tal efecto, se considera un tamaño mínimo muestral de 100 individuos por especie y localidad.

4.3. Identificar y caracterizar genéticamente la(s) principal(es) unidad(es) evolutiva(s) de raya volantín y raya espinosa en la costa chilena

La estrategia convencional para realizar evaluaciones genéticas de los límites demográficos de un stock, implican: 1) la colección de muestras de organismos adultos de toda una región ya sea de forma oportunista durante la pesca o

preferiblemente, durante periodos reproductivos cuando es probable que sean más distintos genéticamente; 2) caracterizar la diversidad genética promedio dentro de cada stock putativo, y 3) probar si la diversidad genética se distribuye al azar con respecto a los límites putativo del stock o en toda la región de investigación. Cuando se detecta la estructura genética, los límites de dispersión son un indicador fuerte y por lo general, se aceptan como la base para delimitar diferentes poblaciones (Carvalho & Hauser, 1994). Recientemente, se ha argumentado que el criterio más apropiado es si el límite de la dispersión es demográficamente significativo en el contexto de un objetivo de administración en particular (Palsbøll *et al.*, 2007, Waples, 1989). La manera más eficaz para comprender los vínculos entre los procesos demográficos y la genética de poblaciones es través de simulaciones demográficas-genéticas que establezcan criterios para la aceptación de una estructura de stock en base a las condiciones específicas requeridas (Lowe & Allendorf, 2010, Palsbøll *et al.*, 2007).

El presente objetivo se compone de cuatro elementos, los cuales tiene como objetivo identificar las principales unidades evolutivas en las especies en estudio. Cada componente del presente objetivo, se presenta a continuación:

4.3.1. Una revisión sobre la biología, pesquería y conservación de las rayas *Zearaja chilensis* y *Dipturus trachyderma*

En general, literatura publicada (revisada por pares o 'peer-reviewed') sobre biología básica y taxonomía de rayas hocicudas es escasa a nivel mundial. Por ejemplo,

no hay información adicional (molecular o morfológica) que apoye a la hipótesis de la reasignación de género propuesto por Last & Gledhill (2007). Los cambios recientes en la situación taxonómica en estas rayas, han llevado a la confusión fundamental para la ordenación pesquera evidente en las pesquerías de América del Sur, donde dos especies simpátricas antiguamente pertenecientes a un género (*Dipturus*) corresponde al conjunto de batoideos de mayor valor comercial en el continente americano (Menni & López, 1984; Agnew *et al.*, 2000; Bustamante *et al.*, 2012).

Una matriz de referencia fue construida utilizando motores de búsqueda especializados, es decir, Google Scholar, ScienceDirect, SharkReferences y bibliotecas académicas de todo el mundo, a través de la combinación de palabras clave al azar que coinciden con los nombres científicos y comunes con respecto a las entidades biológicas conocidas como *Zearaja chilensis* y *Dipturus trachyderma* (tanto en Español u otro idioma), por ejemplo, 'Raja', 'Zearaja', 'Dipturus', 'trachyderma', 'trachydermus', 'chilensis', 'roughskin skate', 'raya volantín', 'raya espinosa', 'raya de vientre áspero'. Los resultados de la búsqueda fueron filtradas por su contenido y sólo aquellos que se centran de alguna manera en las especies objetivo fueron incluidos en la matriz. Además, se aplicó un filtro adicional para excluir aquellas referencias sin muestras observadas o analizadas. El resto de resultados fueron contados una sola vez y fueron separados en siete categorías en relación con su contenido, las que pueden incluir sub-categorías para unificar contenidos. Las categorías utilizadas (y secciones) incluyen anatomía y morfología (tamaño corporal, coloración, dentículos dérmicos, dentición, componentes esqueléticos, huevos); listados e inventarios biológicos (rangos de distribución); hábitat y hábitos alimentarios; patrones de historia de vida

(reproducción, edad, crecimiento y longevidad); pesca (sureste del Pacífico, Atlántico sudoccidental); genética y parásitos.

4.3.2. Uso de marcadores moleculares mitocondriales para la identificación de raya volantín *Zearaja chilensis* y raya espinosa *Dipturus trachyderma*

En el sureste del Océano Pacífico existen pocos peces cartilagosos que se desembarcan como especies objetivo; y la raya volantín *Zearaja chilensis* y la raya espinosa *Dipturus trachyderma*, son los elasmobranquios de mayor importancia comercial en aguas chilenas (Lamilla *et al.*, 2010; SERNAP, 2012). Varios autores han realizado revisiones taxonómicas, claves de identificación y guías de campo donde se describen aspectos generales sobre la morfología de ambas rayas, pero la correcta identificación de caracteres morfológicos que ayuden a su asignación específica y la falta de rigurosidad en los registros de desembarque, son un gran problema para el manejo y administración de cuotas, lo que menoscaba cualquier medidas de conservación hacia ambas especies. De esta forma y considerando que la taxonomía tradicional necesita ser complementada para mejorar las herramientas de identificación en ambas especies de raya; es que se busca definir las OTU a través de diferentes marcadores genéticos del DNA mitocondrial y asegurar la identidad taxonómica de *Zearaja chilensis* y *Dipturus trachyderma*, para mejorar la asignación de recursos y el manejo sostenible de estas dos especies con interés de conservación.

A través del “plan general de muestreo”, se analizaron 271 ejemplares de raya volantín *Zearaja chilensis* y 137 de raya espinosa *Dipturus trachyderma*, los cuales

fueron identificados rutinariamente por observadores científicos entrenados del Laboratorio de Elasmobranquios de la Universidad Austral de Chile, utilizando las claves taxonómicas disponibles (Lamilla & Sáez, 2003; Lamilla & Bustamante, 2005). Una muestra de tejido fue colectada de cada ejemplar, asociando a este una asignación específica preliminar, la cual fue preservada en alcohol (90%). La totalidad de las muestras fueron trasladadas al *Molecular Fisheries Laboratory* de la Universidad de Queensland para su posterior análisis. A una sub-muestra de cada especie se le extrajo el DNA genómico completo con el kit para sangre y tejido QIAgen DNeasy (Qiagen Inc., Valencia, CA).

Se seleccionaron cuatro regiones del ADN mitocondrial tradicionalmente utilizadas para la identificación de especies y relaciones filogenéticas en peces marinos. Cada una de estos genes fueron amplificadas a través de reacciones PCR y las secuencias de nucleótidos fueron obtenidas en un secuenciador Applied Biosystems 3130 XL (Carlsbad, CA) utilizando los protocolos estándar del fabricante. Un listado con los primers utilizados para 16S, *nadh2*, *cox1* y la región control se presentan en la Tabla 1. En el caso de las regiones 16S y *cox1*, se utilizaron primers universales utilizados para rayas (género *Amblyraja*, *Bathyraja*), mientras que los primers para los genes *nadh2* y la región control fueron diseñados 'de novo' mediante el software Primer3 ver.2.3.4 incorporado en el software Geneious ver.7.0.5 (Biomatters Ltd, Auckland, NZ), utilizando la secuencia del mitogenoma de *Zearaja chilensis* producido por Vargas-Caro *et al.* (2014a).

Tabla 1 Listado de primers utilizados para amplificación y secuenciación, usados para la identificación de las especies en estudio.

Nombre del Primer	Secuencia	Referencia
16S AR	5'-CGC CTG TTT AAC AAA AAC AT-3'	Palumbi (1996)
16S BR	5'-CCG GTC TGA ACT CAG ATC ACG T-3'	Palumbi (1996)
<i>cox1</i> RajaF	5'-CCG CTT AAC TCT CAG CCA TC-3'	Spies <i>et al.</i> (2006)
<i>cox</i> RajaR	5'-TCA GGG TGA CCA AAG AAT CA-3'	Spies <i>et al.</i> (2006)
<i>nadh2</i> F4	5'-TCA AGC TTT TGG GCC CAT ACC-3'	<i>Este estudio</i>
<i>nadh 2</i> R4	5'-AGA GGA TGT GAG ATA GAG TCT TGC-3'	<i>Este estudio</i>
CRzch F	5'-TGA ACT CCC ATC CTT GGC TC-3'	<i>Este estudio</i>
CRzch R	5'-GTA TTG GTC GGT TCT CGC CA-3'	<i>Este estudio</i>

Las amplificaciones PCR fueron realizadas en un volumen final de 10 μ L el que contiene 1 μ L de ADN (20-50 ng), 5,9 μ L de agua ultra pura, 1 μ L de buffer 10x MgCl₂ (15 mM, Bioline Australia), 1 μ L de dNTPs (2 mM, Bioline Australia), 0,1 μ L de Taq ADN polimerasa (5 U/ μ L, Bioline Australia) y 0,5 μ L de cada primer. Las condiciones térmicas para cada set de primers, se describen a continuación: para la región 16S (AR y Br), se utilizó una temperatura inicial de denaturación a 94° C por 2 min, seguido por 35 ciclos at 94° C por 30 s, 62° C por 1 min, y 72 °C por 1 min, con una extensión final de 72 °C por 10 min. Para la región *cox1* (RajaF y RajaR), se utilizó una temperatura inicial de denaturación a 95° C por 1 min, seguido por 35 ciclos at 94° C por 1 min, 51° C por 1 min, y 72 °C por 1 min, con una extensión final de 72 °C por 10 min. Para la región *nadh2* (F4 y R4), se utilizó una temperatura inicial de denaturación a 95° C por 1 min, seguido por 35 ciclos at 94° C por 1 min, 57° C por 1 min, y 72 °C

por 1 min, con una extensión final de 72 °C por 10 min. Finalmente, para la región control (CRzch_F y CRzch_R), se utilizó una temperatura inicial de denaturación a 95° C por 1 min, seguido por 35 ciclos at 94° C por 1 min, 55° C por 1 min, y 72 °C por 1 min, con una extensión final de 72 °C por 10 min. Los productos amplificados fueron tratados con 1 U de ExoSAP-IT (USB® Products Affymetrix, Inc) a 37° C por 45 min, seguido por una inactivación a 80° C por 15 min. Los productos PCR limpios, fueron secuenciados en ambas direcciones en un secuenciador ABI 3130XL (Applied Biosystems, Carlsbad, CA) utilizando el kit de secuenciación Big Dye terminator v3.1 y siguiendo los protocolos del fabricante.

Los análisis filogenéticos se realizaron usando el programa Geneious Pro v7.0.6 (Biomatters Ltd., Auckland, New Zealand). Una vez que las secuencias fueron alineadas, se obtuvo la distancia genética existente entre haplotipos usando el modelo Tamura-Nei (Tamura & Nei, 1993). El análisis bayesiano se efectuó para todo el set de datos a través de la extensión Mr. Bayes 3.2.2 para Geneious (Huelsenbeck & Ronquist, 2001). Usando un modelo generalizado de sustitución reversible con una distribución del error tipo gamma. Se analizaron cuatro cadenas en paralelo para 10.000 iteraciones, con un descarte de las primeras 1.000. Las iteraciones restantes se utilizaron para calcular un árbol de consenso y el soporte de los nodos se calcula a través de la probabilidad bayesiana posterior. En la mayoría de los casos se utilizaron secuencias de especies como *Amblyraja radiata*, *Dipturus kwantungensis*, *Zearaja maugeana* y *Z. chilensis* (secuenciada en Korea), para ser usadas como grupo externo de referencias en el proceso de comparación y construcción de los arboles filogenéticos.

4.3.3. Identificación de unidades poblacionales de la raya volantín *Zearaja chilensis* y raya espinosa *Dipturus trachyderma* en aguas chilenas, a través de microsatélites y ADN mitocondrial

A través del plan general de muestreo, se recolectaron un total de 408 ejemplares de *Zearaja chilensis* y *Dipturus trachyderma* (271 y 137, respectivamente) a partir de cinco ubicaciones geográficas en Chile (Tabla 2). Las muestras fueron identificados a través de guías de campo para asegurar la identidad taxonómica (Lamilla & Sáez, 2003; Lamilla & Bustamante, 2005). Sin embargo, en algunos ejemplares juveniles esta identificación fue incierta, y las dos especies no siempre pudieron ser diferenciadas de forma fiable en el campo. Pero en estos casos, la identidad específica fue validada mediante los registros fotográficos en una fecha posterior. Muestras de tejido muscular se obtuvieron de todos los individuos, los que se preservaron en alcohol absoluto y a 4°C, previo a su envío al *Molecular Fisheries Laboratory* de la Universidad de Queensland (Australia). Las muestras una vez en su destino, fueron conservadas a -20°C hasta que la extracción del ADN y subsiguientes análisis.

Tabla 2 Localidades de toma de muestra, indicando el número total de individuos por especie, y el tipo de marcador molecular analizado: mitocondrial (*mtADN*) o nuclear (*nADN*).

Localidad / Especie	San Antonio	Valdivia	Puerto Montt	Aisén	Punta Arenas	Total
<i>Zearaja chilensis</i>						
<i>mtADN</i>	70	61	47	48	45	271
<i>nADN</i>	30	32	32	32	28	154
<i>Dipturus trachyderma</i>						
<i>mtADN</i>	52	53	14	11	7	137
<i>nADN</i>	32	31	14	11	7	95

El ADN genómico total fue extraído para todos los individuos utilizando un método salino modificado (Miller *et al.*, 1988). Una pequeña muestra de tejido (aproximadamente 25 mg) se digirió durante la noche a 55°C en un microtubo de 1,5 ml, el que contiene 600 µl de búfer de lisis (Tris-HCl 50 mM, pH 8,0, 20 mM EDTA pH 8,0 y el 5% de SDS) y 6 µl de proteinasa K (20 mg/ml). Una vez que se completó la digestión, los tubos se colocaron en hielo durante 5 min, y se añadió 200 µl de NaCl (5M) a cada muestra. Los tubos se centrifugaron durante 2 min a 14,000 rpm. El sobrenadante se retiró y se colocó en un nuevo tubo etiquetado donde se añadió 1 ml de isopropil absoluto frío para precipitar el ADN. Las muestras fueron luego centrifugadas durante 5 min a 14,000 rpm. Todo el sobrenadante se eliminó y se añadió 1 ml de etanol al 75%. Las muestras se dejaron a temperatura ambiente durante 15 min y luego se centrifugaron a 14,000 rpm durante 5 minutos. Se eliminó el sobrenadante y los sedimentos de ADN se dejaron secar durante la noche a

temperatura ambiente. Una vez seco, el ADN se re-suspendió en 100 µl de búfer TE (Tris 10 mM, EDTA 1 mM pH 8,0) y se almacenó a -20 °C. Esta extracción de ADN se utiliza para la amplificación de marcadores mitocondriales (*mtADN*) y microsátélites (*nADN*).

Secuenciación NGS y ensamble de genomas mitocondriales

ADN genómico de alto peso molecular se utilizó a partir de una muestra de especímenes tipo (machos adultos) de cada especie, los que se obtuvieron durante los desembarques comerciales en San Antonio (33°35'S, 71°37' W) y Aisén (45°26'S, 72°56'W) durante el plan general de muestreo. El ADN fue fragmentado por cizallamiento acústico usando un sonicador Covaris S2 (Woburn, MA), y las bibliotecas genómicas para secuenciación fueron desarrollados para cada especie con el kit de preparación Illumina TruSeq Nano DNA (San Diego, CA). Las muestras fueron secuenciadas utilizando la plataforma Illumina HiSeq 2000 (San Diego, CA) que apoyó la adquisición de secuencias con extremos pareados, con una longitud de 125bp, siguiendo los protocolos suministrados por Illumina. Las secuencias resultantes se fusionaron utilizando el software FLASH (Magoč & Salzberg, 2011) con un solapamiento mínimo de 25bp y un ratio de 0,2 desajuste. Los contigs resultantes fueron mapeados contra la especie disponible más estrechamente relacionadas, *Dipturus kwangtungensis* (número de acceso al GenBank: KF318309), utilizando Geneious v.8.1 (Biomatters, Auckland, NZ). En el genoma mitocondrial resultante, se comprueba la presencia de indeles (inserción-deleciones) y polimorfismos de nucleótido único (SNP) introducidas por los errores y ambigüedades de secuenciación

de homopolímero en el genoma de referencia. Ambigüedades potenciales y SNPs fueron validados en base a la profundidad y calidad de secuencia. Las secuencias de genes fueron anotados con la a través del servidor MitoAnnotator (Iwasaki *et al.*, 2013), y las bibliotecas completas de secuencias de ADN genómico se registraron en el repositorio de base de datos genómicos, eFish (*Zearaja chilensis* BioVoucher: 2014-ZCH-1004; *Dipturus trachyderma* BioVoucher: 2015-DTR-004).

Desarrollo de primers

Se utilizaron los primers originales descritos previamente para la región de control mitocondrial de *Z. chilensis* (Vargas-Caro *et al.*, 2014) utilizando Primer3 en Geneious Software v.8.1 (Biomatters Ltd, Auckland). La secuencia del primer inicial, *CR-Zch_F* (5'-TGA ACT CCC ATC CTT GGC TC-3 ') se colocó en la proteína prolina (*tRNA^{Pro}*) entre 15,610 y 15,629 bp; mientras que el primer reverso, *CR-Zch_R* (5'- GTA TTG GTC GGT TCT CGC CA-3 ') se posicionó en la región de control, entre 16,186 y 16,205 bp, asegurando la amplificación de aproximadamente 600bp. La secuencias de ambos primers fueron analizados utilizando la herramienta BLAST (Benson *et al.*, 2013), para buscar secuencias homologas en el genoma mitocondrial completo de la especie y en los registros del NCBI GenBank, para asegurar que las secuencias propuestas fueran únicas y específicas a la región control de *Z. chilensis* y *D. trachyderma*.

Además, se utilizaron las bibliotecas de secuenciación de Illumina previamente amplificadas, para identificar potencial loci de microsatélites. Se extrajeron secuencias de entre 150 y 400bp, las que fueron filtradas considerando potenciales

secuencias repetidas utilizando la plataforma QDD v.3.1. (Meglecz *et al.*, 2014). Desde el archivo resultante, se excluyeron las secuencias con repeticiones de dinucleótidos e imperfectas; dejando únicamente aquellas secuencias con un número de unidades de repetición mayor de diez. Posteriormente, las secuencias seleccionadas fueron analizadas en contra del conjunto de datos mundial de NCBI GenBank utilizando la herramienta BLAST, para identificar y excluir loci en regiones codificantes conocidas. Por último, se utilizó Geneious v.8.1 (Biomatters Ltd, Auckland) para crear una biblioteca de NGS para cada especie, y las secuencias de primers (inicial y reverso) fueron analizadas para excluir aquellos pares con homología en regiones fuera del secuencia objetivo acompañante, y para asegurar la no duplicación de loci. Para cada especie se seleccionaron un conjunto de 48 pares de primers, y los primers iniciales fueron atados con una cola "CAG" para permitir el marcaje fluorescente del producto de PCR; mientras que los primers reversos fueron con una cola "GTTT" para asegurar adenilación completa (Peters *et al.*, 2009).

La selección inicial de los primers de microsatélites seleccionados se realizó en 16 individuos. Las muestras fueron amplificadas utilizando una reacción de PCR en un volumen de 11 µl el que contiene 1 µl de ADN genómico (10-15 ng), primer inicial 0.05 µl, 0,25 µl primer reverso, 0,25 µl de 'CAG-FAM', 5,5 µl de 2 x búfer MyTaq (Bioline, Australia, que contiene aproximadamente 0.15ul de Taq) y 3,95 µl de H₂O Milli-Q. Las condiciones del termociclador fueron 95° C durante 3 min, seguido por 37 ciclos de 94° C durante 15 s, 57° C durante 15 s y 72° C durante 10 s. Una última extensión se realizó a 72° C durante 30 minutos y se mantiene a 10° C. Los productos de PCR se diluyeron 200 veces y luego se secuenciaron mediante electroforesis capilar

utilizando un secuenciador ABI 3130xl (Applied Biosystems, Carlsbad, CA) siguiendo las recomendaciones del fabricante.

Los alelos se dimensionaron en contra de un tamaño estándar interno (GeneScan-500 LIZ) antes de ser calificado usando Geneious v.8.1. Once de los 48 pares de cebadores ensayados dieron productos de PCR de alta calidad y resultaron ser polimórficos. La caracterización adicional de estos loci se llevó a cabo mediante el genotipado de 32 muestras adicionales elegidas entre los diferentes lugares de muestreo.

Para optimizar el diseño experimental, se utilizó un análisis de potencia (POWSIM, Ryman & Ramos, 2006) para simular la probabilidad de detectar diferencias genéticas a nivel poblacional de una gama de F_{ST} esperados en dos poblaciones teóricas. El tamaño de la muestra por población fueron 50, 100 y 150 y el número de loci fue 9. Loci fueron excluidos si tenían 1) una importante frecuencia de alelos en más de un 90%, y 2) una menor precisión potencial de puntuación debido a la presencia de un gran número de alelos. Según lo recomendado por Ryman & Palm (2006), las estimaciones de potencia estadística para un nivel definido de divergencia fueron controlados por el cambio de las generaciones de deriva (t) en lugar de variar el tamaño efectivo de la población (N_e), lo que puede causar la pérdida de baja frecuencia de alelos. Los valores de F_{ST} se fijaron en 0.01, 0.005 y 0.0025; los que son equivalentes a una tasa de migración de 2,5%, 5% y 10%. Se utilizaron los siguientes parámetros: tamaño efectivo de la población (N_e) = 1,000; número de simulaciones = 1,000; y generaciones de deriva (t) = 20 ($F_{ST} = 0.01$), 10 ($F_{ST} = 0.005$) y 5 ($F_{ST} = 0.0025$). El grado de diferenciación significativa (cuantificada como valores F_{ST}) para

cada replica fue probada usando Chi-cuadrado y probabilidades de Fisher para probar la hipótesis nula de homogeneidad genética.

Diversidad genética y estructura poblacional utilizando marcadores mitocondriales

Aproximadamente 600bp de la región de control del ADN mitocondrial fueron amplificados usando los primers indicados anteriormente. La amplificación PCR se realizó en reacciones de 10 µl, las que contienen 1 µl de ADN genómico (20-50 ng), 5,9 µl de H₂O Milli-Q, 1 µl de 10x búfer de MgCl₂ (15 mM), 1 µl de dNTPs (2 mM), 0,5 µl de cada primer (*CR_Zch_F* y *CR_Zch_R*), 0,1 µl de ADN Taq polimerasa (5 U/l). El ciclo térmico consistió en una desnaturalización inicial a 95° C durante 1 min, seguido de 35 ciclos a 94° C durante 1 min, 55° C durante 1 min, y 72° C durante 1 min. Se añadió una etapa de extensión final a 72° C durante 10 s. Los fragmentos amplificados se trataron con 1 U ExoSAP-IT (Affymetrix, Inc) a 37° C durante 45 min, seguido por una etapa de inactivación a 80° C durante 15 min. Los productos de PCR limpio fueron secuenciados en ambas direcciones en un secuenciador ABI 3130xl (Applied Biosystems, Carlsbad, CA) usando el kit de secuenciación Big Dye Terminator v3.1.

Las secuencias fueron analizadas utilizando el software Geneious v.8.1 (Biomatters Ltd, Auckland, NZ). Cada secuencia fue revisada manualmente para corregir bases mal llamadas, y todas las posiciones variables fueron confirmadas mediante la comparación de las secuencias generadas por los primers iniciales y reversos. Una vez que en las secuencias se han comprobado las discrepancias, se retiraron las secuencias de ambos primers (*CR_Zch_F* y *CR_Zch_R*), y se genera una secuencia de consenso para cada individuo. Posteriormente, estas secuencias de

consenso se alinearon para determinar la posición de polimorfismos de nucleótido único (SNP) y eventos de inserción-delección (indels) a través de los individuos.

Para caracterizar la diversidad genética de cada población, se calcula el número de haplotipos (N_H), sitios polimórficos e , índices de diversidad de haplotipos (h) y nucleótidos (π) a partir de las secuencias consenso alineadas utilizando DnaSP v.5.10.1 (Librado & Rozas, 2009).

La diferenciación genética entre las poblaciones y pares de Φ_{ST} , fueron evaluados en ARLEQUIN v3.5.1.2 (Excoffier & Lischer, 2010). La distancia genética entre los haplotipos se estima a través del modelo de sustitución de nucleótidos Tamura-Nei (Tamura & Nei, 1993) con un valor gamma de 0,25 y 1,000 repeticiones para evaluar las diferencias significativas entre los valores empíricos y aleatorios de Φ_{ST} .

La expansión demográfica fue evaluada utilizando las prueba de la neutralidad de Tajima D (Tajima, 1989, 1993, 1996) y F_s de Fu (Fu, 1997) en ARLEQUIN. Una red de haplotipos fue construido en NETWORK v.4.6.1.3 (Bandelt *et al.*, 1999) para visualizar el agrupamiento y la diversidad de haplotipos en la muestra analizada por especie.

Diversidad genética y estructura poblacional utilizando marcadores nucleares

Nueve y siete loci fueron seleccionados para genotipificación de *Z. chilensis* y *D. trachyderma*, respectivamente. Cuatro (*Z. chilensis*) y tres (*D. trachyderma*) PCR multiplexados fueron implementados para determinar el genotipo de cada individuo en estos loci (Tabla 3). Los loci y las combinaciones de colores (FAM = azul; VIC =

verde; NED = negro; PET = rojo) para cada PCR múltiple, fueron elegidos para minimizar la superposición de alelos. Un stock de primers se estableció para cada locus, el que consta de un par de primers (inicial y reverso), y el primer CAG marcado con la fluorescencia correspondiente (FAM, VIC, NED o PET). Los stocks de primers consistieron en 6 µl de primer inicial 100uM, 30 µl de primer reverso 100uM, 15 µl de 200um de primer fluorescente CAG- y 99 µl Milli-Q H₂O. Para su uso en PCR, los stock de primers fueron combinaron en una mezcla de primers en proporciones que fueron determinadas experimentalmente para lograr la amplificación óptima en todos los loci (Tabla 3).

Las amplificaciones PCR de microsatélites se realizaron en 14 µl de reacción, la que contiene 2 µl de ADN genómico (10-15 ng), 4 µl de mezcla de primers y 8 µl de 2 x búfer MyTaq (Bioline, Australia, el que contiene aproximadamente 0,15 ul de Taq). La Taq se añadió una vez que la reacción se encontraba a 95° C en la máquina de PCR. Las condiciones térmicas fueron las siguientes: 95° C durante 10 min, seguido por 37 ciclos de 94° C durante 15 s, 57° C durante 15 s y 72° C durante 10 s. Después, la reacción se expuso a 72° C durante 30 min y se mantuvo a 12° C. Los productos de PCR a partir de múltiples reacciones de amplificación (uno por cada cola "CAG") se diluyeron y se combinan en una sola línea (pseudo-línea de multiplexación). La longitud del amplicón se determinó usando electroforesis capilar en un secuenciador ABI 3130xl (Applied Biosystems, Carlsbad, CA). Los alelos se dimensionaron en contra de un tamaño estándar interno (GeneScan-500 LIZ).

Tabla 3 Cantidad del stock de primers por locus microsatélite, añadida a la mezcla de primers para la genotipificación por multiplexación PCR de *Z. chilensis* and *D. trachyderma*. Los números de multiplex se indican entre paréntesis.

Multiplexación ID	Numero de (código interno)	Nombre del Locus	Stock de primer por reacción única (µL)
<i>Zearaja chilensis</i>			
CAG-VIC (M_1)	<i>Zch_MS_08</i>	<i>Zchi_P1_067</i>	0.5
CAG-VIC (M_1)	<i>Zch_MS_13</i>	<i>Zchi_P1_070</i>	0.5
CAG-VIC (M_1)	<i>Zch_MS_19</i>	<i>Zchi_P1_019</i>	0.8
CAG-NED (M_2)	<i>Zch_MS_15</i>	<i>Zchi_P1_059</i>	0.2
CAG-NED (M_2)	<i>Zch_MS_31</i>	<i>Zchi_P1_085</i>	0.5
CAG-PET (M_3)	<i>Zch_MS_06</i>	<i>Zchi_P1_007</i>	0.5
CAG-PET (M_3)	<i>Zch_MS_16</i>	<i>Zchi_P1_072</i>	1.2
CAG-FAM (M_4)	<i>Zch_MS_10</i>	<i>Zchi_P1_057</i>	0.9
CAG-FAM (M_4)	<i>Zch_MS_29</i>	<i>Zchi_P1_083</i>	1
<i>Dipturus trachyderma</i>			
CAG-VIC (M_1)	<i>Zch_MS_08</i>	<i>Zchi_P1_067</i>	0.6
CAG-VIC (M_1)	<i>Zch_MS_19</i>	<i>Zchi_P1_019</i>	0.9
CAG-NED (M_2)	<i>Zch_MS_15</i>	<i>Zchi_P1_059</i>	0.2
CAG-NED (M_2)	<i>Zch_MS_31</i>	<i>Zchi_P1_085</i>	0.5
CAG-NED (M_2)	<i>Dtr_MS_08</i>	<i>Dtra_P1_009</i>	0.8
CAG-PET (M_3)	<i>Zch_MS_06</i>	<i>Zchi_P1_007</i>	0.5
CAG-PET (M_3)	<i>Zch_MS_16</i>	<i>Zchi_P1_072</i>	1.2

Los genotipos fueron anotados y agrupados usando el complemento para microsatélites en Geneious v.8.1 (Biomatters Ltd, Auckland, NZ). El software MICRO-CHECKER v.2.2.3 (Van Oosterhout *et al.*, 2004) se utilizó para comprobar la existencia de errores de puntuación revelados por el exceso de homocigotos (causado por la presencia de alelos nulos y/o alelo descartados) y deficiencias de homocigotos (causadas por anotaciones incorrectas de bandas repetidas).

El software GENEPOP v.4.0 on-the-web (Raymond & Rousset, 1995; Rousset, 2008), fue utilizado para evaluar las desviaciones del equilibrio Hardy-Weinberg (HWE) y la presencia de desequilibrio de unión (*linkage disequilibrium*) entre los diferentes loci utilizando los siguientes parámetros para la cadena de Markov: 1000 pasos de dememorización, 100 lotes y 1000 iteraciones por lote, para realizar las comparaciones múltiples utilizando el ajuste de Bonferroni ($\alpha = 0.05$). El número de alelos (N_A) y sus frecuencias, el índice de fijación (FIS), y la heterocigosidad esperada (H_e) y observada (H_o), fueron estimadas a través del software GenAlEx v.6.501 (Peakall & Smouse, 2006, 2012).

Cada combinación de locus y ubicación fue evaluada para desviaciones de HWE a través de ARLEQUIN v.3.5.2.2 (Excoffier & Lischer, 2010) mediante la prueba de probabilidad exacta de la cadena de Markov con 1.000.000 iteraciones y 100.000 pasos de dememorización. Se utilizaron los ajustes de Bonferroni de α para corregir las múltiples pruebas. Los valores pairísticos para poblaciones (F_{st}) fueron estimados a través de 100 permutaciones utilizando ARLEQUIN.

Pruebas parciales de Mantel fueron implementadas mediante un análisis de aislamiento por distancia (IBD, según Jensen *et al.*, 2005), con significancia determinada mediante pruebas de permutación.

4.4. *Identificar y caracterizar la(s) principal(es) unidad(es) demográfica(s) de raya volantín y raya espinosa presentes en la costa chilena*

A continuación se presentan las metodologías consideradas para el presente objetivo, a saber, el análisis de la morfometría geométrica, el estudio de la variación de adaptaciones locales a través de la estrategia de historia de vida, carga parasitaria y nivel trófico.

4.4.1. *Caracterización y variación morfométrica en la raya volantín *Zearaja chilensis* y raya espinosa *Dipturus trachyderma*, en aguas chilenas*

Para el presente objetivo, se muestrearon 581 ejemplares, correspondientes a 404 *Zearaja chilensis* y 117 *Dipturus trachyderma*. Para ambas especies, se obtuvieron ejemplares de ambos sexos y se aseguró la cobertura de un amplio rango de tallas (Tabla 4). Las muestras provienen de cuatro zonas de muestreo a lo largo de la costa de Chile según lo estipulado en el plan general de muestreo del proyecto FIP 2013-29. En terreno, la totalidad de los ejemplares capturados fueron sexados y se obtuvo una fotografía escalada y perpendicular de la superficie dorsal y ventral (Fig. 1). A una fracción de la captura por localidad, no inferior al 10% del total de individuos, se les

realizaron un total de 43 mediciones directas basadas en características morfométricas. Estas mediciones cubren la totalidad del cuerpo de las rayas (cabeza, disco y cola), incluyendo la longitud total. Además, se registró en todos los casos el número de espinas nucales, en la línea media y entre las aletas dorsales (Tabla 5, Fig. 2). La totalidad de las medidas fueron tomadas con una cinta graduada en milímetros con 0.1 cm de precisión. Todas las mediciones, se expresan en centímetros y las abreviaciones se definen de acuerdo a Last *et al.* (2008). Las mediciones se expresan en % de la longitud total (TL). De forma complementaria, se obtuvo un segundo conjunto de mediciones a través del complemento “Point Picker” en el software ImageJ (Schneider, 2012); las que son homologas al conjunto de 43 mediciones directas obtenidas previamente. Las coordenadas espaciales de cada landmark, junto con información demográfica (especie, sexo, localidad), fueron integradas en una sola matriz de la información morfométrica, expresada como porcentaje de TL, y las variables especie (*Z. chilensis* o *D. trachyderma*), sexo (macho o hembra) y localidad (San Antonio, Valdivia, Puerto Montt o Punta Arenas) fueron incluidas como factores dentro de la matriz. Esta matriz fue utilizada para establecer una segunda matriz de similitud multivariado utilizando distancia euclidiana como unidad de distancia, lo que fue realizado a través del software PRIMER v6 (Clarke & Gorley, 2006), para determinar aquellas medidas corporales significativas en la separación potencial de poblaciones asociadas a las localidades de muestreo. Un análisis de escalamiento no-métrico multidimensional (MDS) de las distancias en esta matriz de similitudes, fue implementado para evaluar visualmente las diferencias entre especies y sexos. Posteriormente, el test estadístico de análisis de similitud (ANOSIM) fue

implementado para evaluar la significancia de las diferencias observadas a través del MDS, en el conjunto de variables especificadas por sexo y localidad. Este test estadístico, pone a prueba la hipótesis nula de que no existen diferencias entre los factores definidos previamente. En el caso de detectar estas diferencias, un análisis de similitud de porcentajes (SIMPER) fue implementado para determinar la contribución porcentual de cada medición morfológica en la diferenciación de los grupos. Este análisis se realiza, hasta que las diferencias acumulativas fueron mayores al 55%.

Figura 1 (*página siguiente*) Ejemplo de fotografías utilizadas en el presente estudio: *Zearaja chilensis*, dorso (A, C) y vientre (B, D); *Dipturus trachyderma* dorso (E, G) y vientre (F, H). Se incluye ejemplo de machos (C-F) y hembras (A, B, G, H). La escala colorimétrica, mide 25 cm de largo.



Tabla 4 Número de ejemplares (*n*) y rango de tallas (longitud total, LT, expresada en cm), en los ejemplares muestreados, separados por sexo, especie y localidad.

	<i>Zearaja chilensis</i>			<i>Dipturus trachyderma</i>		
	<i>n</i>	Min TL	Max TL	<i>n</i>	Min TL	Max TL
<i>Sexo</i>						
Machos	161	73.8	122.8	74	89.0	207.5
Hembras	245	25.0	183.0	103	98.2	242.5
<i>Localidad</i>						
San Antonio	79	76.4	113.4	102	97.6	220.0
Valdivia	117	25.0	114.1	46	89.0	214.3
Puerto Montt	99	82.1	119.8	22	110.5	167.8
Punta Arenas	109	87.2	183.0	7	120.3	242.5
<i>Total</i>	404	25.0	183.0	177	89.0	242.5

Tabla 5 Mediciones morfométricas y merísticas utilizadas en este estudio, con su correspondiente abreviación (modificado de Last *et al.*, 2008).

Lugar corporal	Nombre	Abreviatura
<i>Disco</i>	Longitud de total	1
	Ancho del disco	2
	Largo del disco	3
	Ancho máximo desde el hocico	4
	Longitud del hocico	5

Tabla 5 Continuación.

Lugar corporal	Nombre	Abreviatura
<i>Disco</i>	Distancia desde el hocico al espiráculo	6
	Longitud dorsal de la cabeza	7
	Distancia entre la cloaca hasta el extremo caudal	14
	Distancia entre el hocico y la mandíbula superior	15
	Distancia pre-nasal	16
	Distancia desde el hocico a la última hendidura branquial	17
<i>Cabeza</i>	Diámetro orbital	8
	Distancia entre los ojos y espiráculo	9
	Ancho máximo del espiráculo	10
	Distancia inter-orbital	11
	Distancia inter-espiracular	12
	Distancia entre el hocico y la cloaca	13
	Ancho de la boca	18
	Distancia entre nostriles	19
	Longitud horizontal de la cortina nasal	20
	Ancho máximo de la cortina nasal	21
	Ancho mínimo de la cortina nasal	22
	Ancho del lóbulo de la cortina nasal	23
	Ancho de la primera hendidura branquial	24
	Ancho de la quinta hendidura branquial	25
	Distancia entre las primeras aberturas branquiales	26
Distancia entre las ultimas aberturas branquiales	27	

Tabla 5 Continuación.

Lugar corporal	Nombre	Abreviatura	
<i>Cola</i>	Longitud de cláster (solo en machos)	28	
	Longitud del lóbulo anterior de la aleta pélvica	29	
	Longitud del lóbulo posterior de la aleta pélvica	30	
	Ancho de la aleta pélvica	31	
	Ancho de la cola a la altura de las aletas pélvicas	32	
	Alto de la cola a la altura de las aletas pélvicas	33	
	Ancho de la cola a la distancia media	34	
	Alto de la cola a la distancia media	35	
	Ancho de la cola al origen de la primera aleta dorsal	36	
	Alto de la cola al origen de la primera aleta dorsal	37	
	Ancho de la primera aleta dorsal	38	
	Alto de la primera aleta dorsal	39	
	Distancia entre la primera aleta dorsal al extremo caudal	40	
	Distancia entre la segunda aleta dorsal y el extremo caudal	41	
	Longitud de la aleta caudal	42	
	Distancia entre la cloaca a la inserción de las aletas pélvicas	43	
	<i>Merística</i>	Conteo de agujones nucales	AN
		Conteo de agujones en la línea media	AM
Conteo de agujones entre las aletas dorsales		AD	

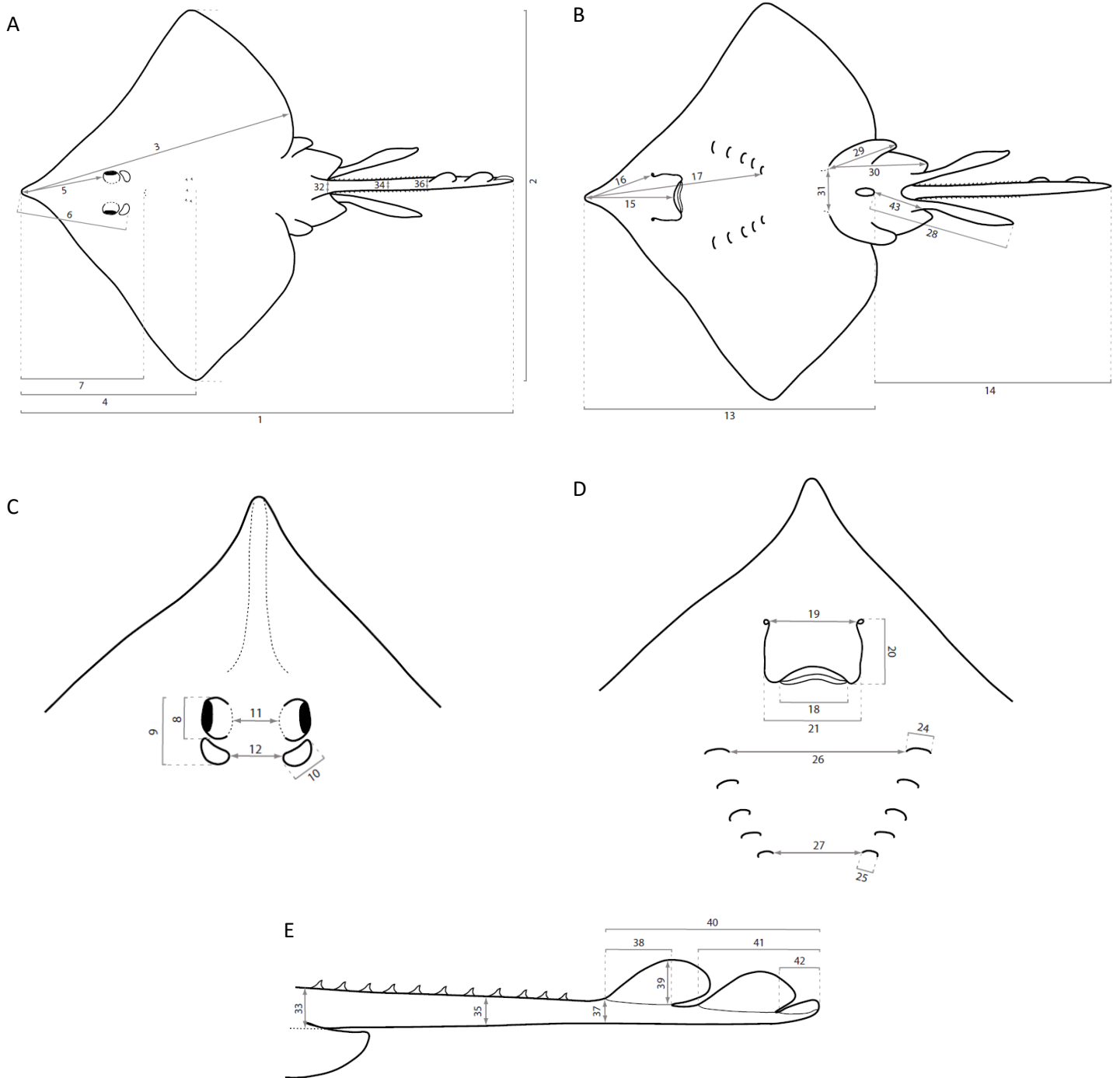


Figura 2 Diagrama de las mediciones morfométricas en cuerpo (A, B), cabeza (C, D) y cola (E) en Batoideos (modificado de Last *et al.*, 2008).

4.4.2. Caracterización y variación de la dieta y nivel trófico de *Zearaja chilensis* y *Dipturus trachyderma* en aguas chilenas

Las muestras obtenidas fueron obtenidas en el marco del plan general de muestreo en las localidades de San Antonio, Valdivia, Puerto Montt y Punta Arenas (Tabla 6). El periodo de muestreo abarcó 2 meses entre noviembre y diciembre del año 2014. Las rayas fueron obtenidas de la pesquería artesanal, realizada con espinel, se trasladaron a puerto, en donde se realizó la toma de muestra, extrayendo los estómagos seleccionados al azar en cada región.

Tabla 6 Número de individuos obtenidos por localidad y separados por sexo.

Localidad	Fecha muestreo	Especie	Sexo
San Antonio	02-12-2014	<i>Z. chilensis</i>	9 Hembras; 4 machos
	28-12-2014	<i>D. trachyderma</i>	5 hembras; 2 machos
Valdivia	17-12-2014	<i>Z. chilensis</i>	2 hembras; 3 machos
	10-12-2014	<i>D. trachyderma</i>	4 hembras; 1 macho
Puerto Montt	19-11-2014	<i>Z. chilensis</i>	3 hembras; 3 machos
	20-11-2014	<i>D. trachyderma</i>	1 hembra; 3 machos
Punta Arenas	28-12-2014	<i>Z. chilensis</i>	3 hembras; 2 machos
	29-12-2014	<i>D. trachyderma</i>	3 machos

Para extraer los estómagos, se realizó un corte en la zona ventral de las rayas en forma de U. Para removerlo del interior se le realizaron dos cortes, un corte a nivel esofágico y otro a nivel pilórico. Los estómagos se abrieron y el contenido estomacal se vació en bolsas plásticas debidamente etiquetadas, luego fueron trasladadas al laboratorio de elasmobranquios (Elasmolab) de la Universidad de Austral de Chile, donde se mantuvieron refrigeradas para posterior análisis e identificación.

Para realizar el análisis del contenido estomacal se descongelaron los estómagos, se vació el contenido estomacal en un colador con malla de 1mm para filtrar. Las presas contenidas en los estómagos se contabilizaron y pesaron con una balanza analítica (0,01 g de precisión), las que fueron agrupadas en las siguientes categorías: crustáceos, peces, cefalópodos, moluscos.

Para la clasificación de los ítems presa, se utilizaron guías y claves de identificación de crustáceos (Retamal, 1981; Zúñiga, 2002), y en el caso de peces óseos para identificar huesos u otolitos, se utilizó la clave osteológica para peces de Chile central (Falabella *et al.*, 1995) y una guía modelo para la identificación de otolitos. Con esta clasificación se intentó identificar cada ítem presa al nivel taxonómico más cercano posible, ya sea a niveles de especie o género.



Figura 3 Proceso de identificación de presas casi completas, posibles de identificar con características externas a simple vista.



Figura 4 Proceso de identificación de presas en estados mas digeridos, imposibles de identificar a simple vista, necesario guias de identificación de mandibulas, otolitos, crustáceos, etc.

Índices numéricos

Para la cuantificación se utilizaron los métodos numéricos (Hyslop, 1980), en el que se contabilizó el número de ejemplares de cada ítem presa, y su porcentaje con respecto al número total de todas las presas; frecuencia de ocurrencia, donde se contabilizó el número de rayas cuyo estómago contiene cierto ítem presa, con respecto al número total de estómagos analizados. Adicionalmente, se utiliza el método gravimétrico, con el cual se contabilizó el porcentaje de peso de cada ítem presa, con relación al peso total estimado para la totalidad de las presas.

Índice de importancia relativa (IIR) (Pinkas *et al.*, 1971), determinó la importancia de una presa en la dieta a partir de la combinación del índice numérico, con peso y frecuencia:

$$\%IRI = (\%G + \%N) \%FA$$

Donde %IRI = es el índice de importancia relativa; %G = el porcentaje en peso; %N = el porcentaje en número y %FA = el porcentaje en frecuencia de aparición.

La categoría de presas se pudo calcular mediante el coeficiente de alimentación (Q), en el cual se considera $Q > 200$ presas preferenciales, $Q \geq 20$ presas secundarias y $Q < 20$ presas raras (Braga y Braga 1987). La diversidad de presas se estableció mediante el índice de Shannon-Wiener (H').

$$H' = - \sum_{i=1}^s p_i \log_2 p_i$$

Donde H' = índice de Shannon- Wiener; S = Número total de especies; P_i = Número de individuos en el sistema de la especie determinada i .

El valor máximo suele estar cerca de 5. A mayor valor del índice indica una mayor biodiversidad de las especies.

La amplitud de la dieta se calculó utilizando el índice estandarizado de Levin (Krebs, 1989), empleando la técnica propuesta por Labropoulou & Eleftheriou (1997) como:

$$B_i = \frac{1}{n} - 1 \left| \left(\frac{1}{\sum_j P_{ij}^2} \right) - 1 \right|$$

Donde B_i es el índice de Levin para el depredador j ; P_{ij}^2 es la proporción de la dieta del depredador i sobre la presa j , y n es el número de categorías de presas.

Los valores de este índice fluctúan de 0 a 1, menores a 0,6 indican que la dieta está dominada por pocas presas, por lo tanto se trata de un depredador especialista y mayores a 0,6 corresponden a dietas de depredadores generalistas (Krebs 1989, Labropoulou & Eleftheriou 1997).

La sobre-posición de la dieta, se midió con el índice de Morisita-Horn. Este se ocupó para determinar la sobre posición de la dieta entre juveniles y adultos, sexos y localidades.

$$C\lambda = \frac{2 \sum_{i=1}^n (P_{xi} + P_{yi})}{(\sum_{i=1}^n P_{xi}^2 + \sum_{i=1}^n P_{yi}^2)}$$

Donde $C\lambda$ = índice de Morisita-Horn de sobre posición entre depredador X , y depredador Y ; P_{xi} = proporción numérica de la presa i del total de presas usadas por el depredador X ; P_{yi} = proporción numérica de las presas i usadas por el depredador Y , y n = total de número de presas.

Los valores < 0.29 indican sobre posición baja, valores entre $0.30-0.65$ sobre posición media, y valores > 0.66 indican sobre posición alta de dietas. El valor 1 indica que todos los componentes alimenticios son homogéneos (Horn, 1966; Langton, 1982; Smith y Zares, 1982).

4.4.3. Caracterización y variación de la carga parasitaria de *Zearaja chilensis* y *Dipturus trachyderma* en aguas chilenas

El presente estudio analiza estómagos y válvula espiral de la especie *Z. chilensis* y *D. trachyderma*. Donde se intenta reconocer la presencia de endoparásitos y su identificación. Se analizó el estómago y válvula espiral de 48 rayas obtenidas durante los meses de noviembre y diciembre del 2014, de 4 localidades (San Antonio, Valdivia, Puerto Montt y Punta Arenas); de los cuales, 29 son de la especie *Z. chilensis* y 19 de la especie *D. trachyderma*.

Para conocer la fauna parasitaria de estómagos y válvula espiral, se realizó un corte en la zona ventral de las rayas en forma de U para extraer ambos. Para removerlo del interior se le realizaron dos cortes, un corte a nivel esofágico y otro a nivel pilórico para cortar y vaciar el contenido estomacal en bolsas plásticas, tomando atención a las paredes de estómago por si algún parásito se encontraba adherido en

ellas. La Válvula espiral también es removida cortando la base que se conecta con el ano, y se guarda completa en bolsas plásticas. Luego fueron trasladadas al laboratorio de elasmobranquios (Elasmolab) de la Universidad de Austral de Chile, donde se mantuvieron refrigeradas para su posterior análisis e identificación. Se analizó cada estómago y válvula, y los individuos encontrados se conservaron refrigerados en alcohol de 70°. Posteriormente se observaron en una lupa con 0,5 de aumento y se fotografiaron para posterior identificación. La identificación se realizó gracias a trabajos y publicaciones especializados sobre especies de nematodos en Chile (Muñoz. G y Olmos V, 2008; George-Nascimento & Urrutia, 2000; Cortés. Y & Muñoz G. 2008; etc).

Se realizaron análisis de los parámetros ecológicos de prevalencia parasitaria, intensidad promedio de infección y abundancia, en base a las fórmulas propuestas por Bush *et al.* (1997) en donde la prevalencia es el porcentaje de hospederos parasitados, respecto a la cantidad de hospederos revisados:

$$\textit{Prevalencia (P)} = (\text{N hospederos parasitados}) (\text{N hospederos revisados})^{-1} \times 100$$

La intensidad promedio de infección es la cantidad de parásitos de una especie encontrados en cada hospedero parasitado:

$$\textit{Intensidad promedio de infección (I)} = (\text{N parásitos}) (\text{N de hospederos parasitados})^{-1}$$

La abundancia, se define como la cantidad de parásitos encontrados, con respecto a la cantidad de hospederos revisados:

$$\textit{Abundancia (A)} = (\text{Número de parásitos}) (\text{Número de hospederos revisados})^{-1}$$

4.4.4. Caracterización y variación de la historia de vida de *Zearaja chilensis* y *Dipturus trachyderma* en aguas chilenas

En este objetivo, en cada una de las localidades, los individuos muestreados fueron medidos en su longitud total (LT) que corresponde a la máxima distancia en cm en línea recta y sobre una superficie plana entre la punta del hocico hasta el extremo más distal de la aleta caudal, con una cinta métrica graduada en milímetros. Fueron sexados mediante la presencia/ausencia de clasper. Se determinó frecuencia de tallas de forma grupal en cada localidad para evaluar su normalidad, se aplicó el test Kolmogorov-Smirnov (D). En la localidades en que las muestras fueron menores a 30 se aplicó el test Shapiro-Wilk (W), que se basa en la comparación de los cuartiles de la distribución normal ajustada.

Para determinar la proporción sexual se usó la prueba χ^2 (chi-cuadrado) de bondad de ajuste (Sokal & Rohlf, 1987), para examinar tendencias significativas de segregación sexual entre machos y hembras (proporción 1:1). En cada ejemplar macho se reconoció además, su estado de madurez sexual donde se utiliza una escala adaptada de Stehmann (2002) y Oddone *et al.* (2007), la cual permite identificar dos estados de inmadurez (juvenil y adolescente) y dos de madurez (adulto y activo) según se describe en la tabla 7.

Tabla 7 Escala de madurez sexual para machos basada sobre la observación de la calcificación y rigidez de los clasper.

Órgano	Código	Descripción	Estado
	C = 1	Sin calcificar, no más largos que las aletas pélvicas.	Juvenil
Clasper	C = 2	Parcialmente calcificados, más largos que las aletas pélvicas	Adolescente
	C = 3	Completamente calcificados, rígidos.	Adulto
	C = 4	Completamente calcificados y con presencia de semen	Activo

Como respuesta, la madurez sexual fue registrada de forma binominal (inmaduro 0, maduro 1) en intervalos de 1,5 a 4 cm. La talla media de madurez (L_{50}) fue calculada mediante el ajuste a la curva logística (por minimización de los mínimos cuadrados) de la relación entre la fracción de hembras maduras como una función de la talla:

$$Y = [1 + e^{-(a+bX)}]^{-1}$$

donde Y es la fracción de individuos maduros en el intervalo de talla X ; a y b son constantes del modelo. La proporción $a:b$ representa el tamaño en el cual el 50% de los individuos están maduros (Mollet *et al.*, 2000; Oddone *et al.*, 2005).

4.5. Estimar el número de orígenes (zonas de desove y/o crianza) y su contribución relativa a cada unidad demográfica identificada y zona principal de captura

Identificación de poblaciones natales

El algoritmo de agrupación Bayesiana fue implementado para estimar subdivisión de la población original (indeterminada) a través del software STRUCTURE v.2.3.4 (Pritchard *et al.*, 2000; Falush *et al.*, 2003; 2007; Hubisz *et al.*, 2009.). Para probar la estabilidad de los resultados, el número de poblaciones (K) se estimó con 20 ensayos independientes de $K = 1-10$. La duración del descartado se fijó en 100.000 iteraciones, seguido por 100.000 repeticiones de la cadena de Markov-Monte Carlo (MCMC), bajo el modelo de mezcla con frecuencias de alelos correlacionados. El número óptimo de poblaciones fue estimado utilizando el método Delta K (Evanno *et al.*, 2005) implementado en la herramienta basada en la web STRUCTURE HARVESTER v.0.6.94 (Earl & VonHoldt, 2012). El software “Cluster Markov Packager Across K ”, CLUMPAK (Kopelman *et al.*, 2015) se utilizó para resumir los resultados de la estructura poblacional y proporcionar una representación gráfica en referencia a los individuos y las poblaciones a través un gráfico de barras.

Para la exploración de la estructura poblacional de la especie también se aplicó el análisis discriminante de componentes principales (DAPC, Jombart *et al.*, 2010) incluido en la paquete ADEGENET v.1.4-2 para el software *R* (Jombart, 2008; 2014; Jombart & Ahmed, 2011).

5. RESULTADOS

5.1. *Realizar una revisión bibliográfica del estado del arte referente a la identificación de unidades evolutivas y demográficas en peces cartilagosos.*

5.1.1. **Avances científicos y tecnológicos en la determinación genotípica de peces cartilagosos**

Los estudios genéticos a través de técnicas moleculares son una herramienta única para el estudio de tiburones, rayas y quimeras (peces cartilagosos). Una gran virtud de este tipo de enfoque es que requiere únicamente una pequeña muestra de tejido proveniente de animales vivos (o muertos) de cualquier edad, la que contiene toda su información genómica nuclear (heredada desde ambos padres) y mitocondrial (heredado por línea materna). Al comparar la variación neutral o conservada en determinadas regiones del genoma, es posible investigar las relaciones genéticas a nivel individual (e.g., determinación del genotipo parental, parentesco, estudios de marcaje/recaptura) a través de la evaluación de poblaciones (estructura y tamaño poblacional, filopatría y adaptación local), especies (definición de especies e identificación de especies crípticas), así como de órdenes superiores para diferenciar las relaciones evolutivas.

La aplicación de técnicas genéticas se ha desarrollado rápidamente con el aumento de acceso a nuevos análisis, y a la urgente necesidad de abordar problemas

de conservación y ordenamiento pesquero; como la determinación de la estructura y demografía poblacional de tiburones y rayas explotados comercialmente (FAO, 1999, 2000, 2005). El primer estudio genético en elasmobranquios se publicó hace 25 años (Smith, 1986), donde se utilizaron alozimas para investigar la diversidad genética en dos especies de tiburones, *Mustelus lenticulatus* Phillips 1932 y *Prionace glauca* (L. 1758). La investigación de alozimas ha dominado la literatura de peces cartilaginosos durante más de una década, y se ha utilizado para responder preguntas sobre diversidad genética, estructura poblacional y filogenia (MacDonald, 1988; Lavery & Shaklee, 1989; Heist *et al.*, 1995; Gaida, 1997, Gardner & Ward, 1998, 2002). Con el desarrollo de la reacción en cadena de la polimerasa -PCR- (Saiki *et al.*, 1985), se logró secuenciar regiones específicas del ácido desoxirribonucleico (ADN). Los primeros estudios de ADN en peces cartilaginosos examinaron regiones altamente conservativas de los genes, los que fueron usados para análisis filogenéticos y relaciones de orígenes respecto a los vertebrados (Bernardi & Powers, 1992; Stock, 1992; Le *et al.*, 1993). Otros estudios de regiones más variables, han sido utilizados para describir las relaciones filogenéticas dentro de los peces cartilaginosos hasta el nivel de Orden (Lavery, 1992; Naylor *et al.*, 1997; Douady *et al.*, 2003; Corrigan *et al.*, 2008; Vélez-Zuazo & Argnarsson, 2011), aunque las relaciones de alto nivel entre los miembros existentes de la subclase elasmobranquios siguen siendo objeto de debate (Douady *et al.*, 2003; Naylor *et al.*, 2005).

Recientemente, se han descrito patrones filogeográficos regionales y mundiales a través del uso de marcadores nucleares y mitocondriales (mtADN), lo que ha ampliado la comprensión de los procesos históricos y contemporáneos que han

generado los actuales patrones de distribución en los peces cartilaginosos. El uso de análisis genéticos a nivel poblacional ha permitido informar a administradores y legisladores pesqueros sobre la escala adecuada para el manejo través de la descripción de la estructura del stock (Keeney *et al.*, 2003; Ovenden *et al.*, 2010). Además, aplicaciones forenses que utilizan la identificación del ADN a partir de aletas de tiburón han permitido realizar un control más preciso sobre el comercio internacional (Shivji *et al.*, 2002; Holmes *et al.*, 2009). La aplicación del PCR, ha permitido avanzar hacia nuevas formas de estudiar el genoma, p.e., a través de polimorfismos en la longitud de fragmentos amplificados, amplificación aleatoria de ADN polimórfico (RAPD) y el análisis de microsatélites. Al centrarse en las regiones altamente variables del genoma, se contempla una mayor capacidad de resolución para analizar la estructura del stock en una escala más fina. Los microsatélites en particular, se han utilizado para la identificación individual y han abierto la investigación hacia la determinación de áreas de reproducción, parentesco, relaciones familiares, uso espacial y filopatría.

El uso de tecnologías modernas permite el desarrollo de nuevos marcadores y una mayor producción de datos de secuenciación a costos reducidos, lo que resulta en un salto generacional desde el estudio de fragmentos de genes hacia estudios del genoma por completo. Esta transición también ha provocado un cambio de paradigma de adaptación neutral a variación adaptativa. Muchas de las limitaciones de las técnicas moleculares que se utilizan actualmente (e.g., asumir baja variación genética y el desarrollo de microsatélites), serán probablemente superadas con estos avances en la ciencia molecular.

Identificación de especies a través de marcadores genéticos

La identificación precisa de especies de peces cartilagosos, es la base fundamental para abordar muchas preguntas ecológicas y evolutivas, y es el pilar para cualquier actividad de manejo pesquero y conservación. En 1973, un esquema fue propuesto para la clasificación de los elasmobranquios existentes, basado en extensos estudios morfológicos (Compagno, 1973). Los estudios genéticos se han apoyado muchos de los grupos propuestos por Compagno (1973), pero también se ha repositionado un número de linajes (Vélez-Zuazo & Argnarsson, 2011). Mientras que la morfología, es a menudo el enfoque más rápido y económico para la identificación de especies hay muchas circunstancias en las que las técnicas basadas en ADN pueden ser particularmente útiles como distinguir las especies de tiburones de congéneres similares morfológicamente, p.e., dentro del género *Carcharhinus* o *Dipturus*, así como en la identificación de especies crípticas o híbridas, especímenes inmaduros y partes del cuerpo.

“ADN Barcoding” — El “ADN Barcoding” es una herramienta taxonómica que utiliza un trozo estándar de la secuencia de ADN para identificar un organismo como perteneciente a una especie en particular (Hebert *et al.*, 2003). La secuencia de nucleótidos para el marcador seleccionado se obtiene y se compara con una biblioteca de secuencias de referencia. La precisión del “ADN Barcoding” se basa totalmente en la correcta identificación taxonómica de las muestras utilizadas para generar una biblioteca de referencia; y en el poder discriminante de los marcadores genéticos empleados. El marcador del ADN utilizado frecuentemente para la identificación de la

especies de peces a través del “Barcoding”, es el Citocromo Oxidasa subunidad 1 (*cox1*), una región de 648 pares de bases del mtADN. Las bases de datos de referencia se almacenan y administran a través de diferentes bases de datos globales en línea (e.g., <http://www.boldsystems.org>). Ward *et al.* (2005) publicaron las secuencias *cox1* de 143 especies de peces óseos y 61 especies de tiburones y rayas en Australia, aunque posteriormente ampliaron el número de especies de elasmobranquios a 210 (Ward *et al.*, 2008). La aplicación “Barcoding” al *cox1* también se ha utilizado con éxito para identificar muestras desconocidas a partir de desembarques de especies en pesquerías multiespecíficas, como en el caso de la pesquería de tiburones en Australia (Salini *et al.*, 2007; Holmes *et al.*, 2009), rayas en Alaska (Spies *et al.*, 2006) y elasmobranquios en Canadá (Coulson *et al.*, 2011).

Pero esta técnica no se encuentra limitada al gen *cox1*. Hoelzel (2001) diseñó primers universales dirigidos a pequeñas regiones (155 o 188 pb) del mtADN como el Citocromo B (*cytB*) y los genes nicotinamida adenina dinucleótido (*nadh*) y ubiquinona oxidoreductasa complejo II (*nadh2*). Blanco *et al.* (2008) logró diferenciar 23 especies con una región más larga de *cytB* (423 pb) con una técnica denominada ‘Secuenciación Forense de Nucleótidos Informativo (FINS, por sus siglas en Ingles). Uno de los primeros trabajos en desarrollar marcadores moleculares para mejorar el monitoreo especie-específico en rayas fue publicado por Tinti *et al.* (2003). Su enfoque fue diferenciar especies de rayas capturadas en el Océano Atlántico nororiental y el Mar Mediterráneo, a través de la subunidad 16S del mtADN. Rodrigues-Filho *et al.* (2009) también utilizó 16S además de la subunidad 12S, para

identificar 11 especies de peces en 122 muestras de tejido recogidas en puestos de venta en Brasil.

Para diferenciar entre especies de elasmobranquios, el análisis de secuenciación directa es la técnica más precisa pero también es la más costosa que las técnicas indirectas, tales como fragmentos de restricción de longitud polimórfica (RFLP). Martin *et al.* (1992), purificó el mtADN de 16 especies de tiburones, y luego usando RFLPs del genoma completo logro obtener diferencias a nivel de especie. Heist & Gold (1999) propusieron un análisis conjunto PCR-RFLP de una sección amplificada a partir de un fragmento corto (396 pb) del mtADN, para ayudar en el desafío de identificación de especies a partir de tejido procesado en el control del comercio de especies amenazadas. Hasta la fecha, este método ha sido utilizado con éxito además, para diferenciar tiburones capturados en la costa Brasileña (Mendonça *et al.*, 2009).

Recientemente, los RFLPs han sido utilizados para la identificación de especies. Esta tecnología tiene el poder de detectar múltiples diferencias de nucleótidos que están ampliamente distribuidos en el genoma. Zenger *et al.* (2006) probaron 12 pares de primers sobre 15 especies de tiburones divergentes dentro del Superorden Galeomorphii, y encontró un gran número de locus polimórficos y altos niveles de diversidad alélica. Corrigan *et al.* (2008) realizaron un estudio a gran escala a nivel poblacional utilizando mtADN y marcadores nucleares para los tiburones *Orectolobus halei* Whitley 1940, *Orectolobus ornatus* (De Vis 1883) y *Orectolobus maculatus* (Bonnaterre 1788). Aunque la técnica de AFLP tiene muchas aplicaciones potenciales, no es comúnmente empleada en el diagnóstico de especies de elasmobranquios hasta la fecha. La lenta absorción de esta técnica puede reflejar un problema potencial con la

tecnología, ya que se basa en las diferencias de tamaño de los fragmentos de ADN del genoma nuclear que hace que sea difícil inferir variación de su secuencia.

El monitoreo genético y sistemático de la composición de especies morfológicamente similares capturadas comercialmente, o de productos tales como aletas de tiburón, se hace factible gracias al uso de ensayos especie-específicos para la detección de las especies objetivo. Se han desarrollado herramientas para la identificación de tiburones utilizando reacciones de PCR múltiple que incorporan varios primers especie-específicos dirigidos al RNA nuclear transcrito de espaciador interno 2 (rRNA *ITS2*) y *cytB*. Actualmente existen análisis disponibles para 28 especies, 21 de las cuales pueden ser identificadas en una única reacción (Pank *et al.*, 2001; Shivji *et al.*, 2002; Chapman *et al.*, 2003, 2009; Abercrombie, 2004; Nielsen *et al.*, 2004; Abercrombie *et al.*, 2005; Clarke *et al.*, 2006; Doukakis *et al.*, 2011). Recientemente se han desarrollado ensayos de PCR múltiple para la identificación de tiburones en la región mtADN *cox1* (Caballero *et al.*, 2012).

Precauciones al utilizar ADN para la identificación de especies — La integridad de las metodologías de estudio del ADN depende del conocimiento de las limitaciones específicas de cada taxón de la biblioteca de referencia. Los ensayos de primers especie-específicos, congéneres y especies no objetivo deben ser probados como parte del desarrollo de una investigación. Los ensayos diseñados para una pesquería (e.g., un conjunto de especies de tiburones) que se aplican en otra pesquería diferente pueden dar resultados inesperados debido a la presencia de especies ausentes de la biblioteca de referencia original. En estas circunstancias, se debe realizar un segundo

análisis sobre las muestras positivas para poder validarlas. Es probable que ocurra una amplificación cruzada para especies estrechamente relacionadas en géneros con muchos congéneres estrechamente relacionados, tal como ocurre dentro del género *Carcharhinus* (Clarke *et al.*, 2006). Las técnicas basadas en ADN son muy potentes cuando en conjunto, se contrastan con métodos taxonómicos tradicionales.

La hibridación y las especies crípticas pueden complicar la identificación. Se han reportado híbridos para rayas de río del género *Potamotrygon* (Toffoli *et al.*, 2008), aunque esto aún no ha sido validado utilizando marcadores del ADN. El primer híbrido natural de tiburón fue identificado debido a la falta de coincidencia entre la morfología y las secuencias de mtADN diagnósticas del género *Carcharhinus* (Morgan *et al.*, 2012). La evidencia de elasmobranquios híbridos destaca la necesidad de un enfoque holístico para la identificación de especies mediante la morfología y la genética, ya que los animales híbridos no pueden ser identificados solo a partir de mtADN de herencia materna. Más información acerca de los híbridos se puede conseguir si los marcadores de mtADN se utilizaran en conjunto con marcadores de ADN nuclear. Un factor adicional de confusión es que los genes de mtADN se encuentran a veces en el genoma nuclear (López *et al.*, 1994), lo que puede interferir en el uso de mtADN para la identificación de especies. Hasta la fecha, no hay reportes de este fenómeno en elasmobranquios dada la ubicuidad de ADN nuclear en una gama de taxones (Hazkani-Covo *et al.*, 2010). Se ha identificado un aumento del número de especies de elasmobranquios genéticamente crípticos, e.g., el pez guitarra *Rhinobatos productus* Ayres 1854 (Sandoval-Castillo *et al.*, 2004), el tiburón martillo *Sphyrna lewini* (Griffith & Smith 1834) (Abercrombie *et al.*, 2005; Duncan *et al.*, 2006; Quattro

et al., 2006), la raya *Rhinoptera steindachneri* Evermann & Jenkins 1891 (Sandoval-Castillo & Rocha-Olivares, 2011) y la raya águila *Aetobatus narinari* (Euphrasen 1790) (Richards *et al.*, 2009; Schluessel *et al.*, 2010). Este tipo de grupos crípticos parecen ser particularmente mayor en especies pequeñas demersales o bentopelágicas como en especies pertenecientes a las familias Triakidae, Hemigaleidae y Scyliorhinidae (Gardner & Ward, 1998, 2002, Yamaguchi *et al.*, 2000; López *et al.*, 2006; White & Last, 2006). Uno de los géneros de tiburones más numeroso, *Mustelus*, es también uno de los grupos más problemáticos sistemáticamente (Compagno, 1988). La especie *Mustelus spp* en Australia ha sido intensamente estudiada en varios campos de investigación (genética, morfología, evaluación del stock demográfico), y actualmente hay cuatro especies descritas: *Mustelus antarcticus* Günther 1870 (sur de Australia), *Mustelus ravidus* (White & Last, 2006) (Australia occidental), *Mustelus stevensi* (White & Last, 2008) (Australia occidental) y *Mustelus walkeri* (White & Last, 2008) (noreste de Australia) (White & Last, 2006, 2008). Un tiburón del género *Scoliodon* fue considerado previamente como monotípico pero los análisis morfológicos y de mtADN ND2 demostró tres especies diferentes (White *et al.*, 2010). Recientes investigaciones en el Hemisferio Sur revelaron que existe diversidad críptica en los tiburones *Etmopterus granulosus* (Günther 1880) y *Etmopterus baxteri* Garrick 1957 (Straube *et al.*, 2011). Además investigaciones morfológicas y moleculares ha dado como resultado la resurrección del género *Neotrygon* para un grupo de rayas del Indo-Pacífico que muestran una considerable diversidad genética dentro del mtADN (Last & White, 2008, Ward *et al.*, 2008; Last *et al.*, 2010).

La identificación de tiburones desde capturas pesqueras a través del ADN puede potencialmente mejorar identificaciones erróneas que surgen en terreno, y superar aún más las limitaciones de las entradas de bitácora categorizados que obstaculicen las diferencias biológicas entre especies (Tillett *et al.*, 2012a). Por ejemplo, un único conjunto de mecanismos de gestión diferencial se emplea para un grupo de tiburones del género *Carcharhinus* en la pesca costera en Queensland, Australia; debido en parte a la falta de herramientas para la correcta identificación de especies (DEEDI, 2009). En la reunión de la Organización de las Naciones Unidas para la alimentación y la agricultura (FAO) en 1998, un grupo técnico que trabaja en manejo y conservación de tiburones destacó la necesidad de promover una mayor precisión a la hora de la identificación de especies para asegurar un correcto procedimiento estadístico a través de la educación de los pescadores, científicos y legisladores (Anon, 1998). En Italia, se descubrió un mercado negro de subproductos de tiburones mediante 'ADN barcoding' (Barbuto *et al.*, 2010). Un estudio reciente realizado por Rasmussen *et al.* (2011) describe avances en las técnicas basadas en ADN para la detección de sustitución de especies marinas en el mercado comercial. La aplicación de técnicas existentes en la recolección de tiburones, la vigilancia del comercio, y el desarrollo de métodos específicos basados en el ADN se traducirá en una mejora de la información sobre la que los organismos de conservación y manejo pesquero pueden basar sus decisiones futuras.

Filogeografía y estructura de poblaciones en elasmobranquios

Los estudios poblacionales en elasmobranquios pretenden inferir los procesos históricos y contemporáneos responsables de los patrones de diferenciación genética espacial e identificar las unidades de manejo pesquero y conservación (Beheregaray, 2008; Ovenden *et al.*, 2011). En los últimos años han habido importantes avances analíticos y técnicos en estas áreas en las últimas tres décadas como la teoría de la coalescencia, que combina la filogenética y la genética de poblaciones (Knowles, 2004; Nielsen & Beaumont, 2009). Este nuevo método prueba las dos explicaciones de similitud genética entre poblaciones, debido a semejanzas en la distribución de un ancestro común reciente, o a la similitud debido al flujo de genes existentes (Nielsen *et al.*, 2004, 2009a; Nielsen & Beaumont, 2009; Garrick *et al.*, 2010; Hey, 2010).

Estudios filogeográficos en elasmobranquios — En comparación con otros peces e inclusive vertebrados mayores, son pocos los estudios filogeográficos realizados en peces cartilagosos (Beheregaray, 2008). Sin embargo, existen trabajos para las principales categorías de hábitos (bentónicos, pelágicos y bentopelágicos) y hábitats (costeras, oceánicas y batial) (Musick *et al.*, 2004). La mayoría de los estudios revisados aquí representan la primera aproximación filogeográfica, sin embargo, algunas especies han sido re-examinadas por varios investigadores a través de diferentes sistemas de marcadores, intensidades de muestreo o enfoques geográficos lo que da una idea de los efectos del diseño experimental. Se ha estudiado detalladamente a nivel regional la estructura genética poblacional para algunas especies, con importantes implicaciones para el manejo pesquero.

Barreras filogeográficas a nivel mundial y su influencia sobre los elasmobranquios —

Hay una serie de barreras biogeográficas tradicionalmente reconocidas, como la barrera del Viejo Mundo, del Istmo de Panamá, del Pacífico Oriental, del Atlántico Medio, de Benguela, del Amazonas y de la plataforma de Sunda (Briggs, 1974, 1995). Estas barreras afectan o han afectado previamente, la conectividad de las poblaciones y por lo tanto influyen en los patrones filogeográficos. El grado en que los patrones filogeográficos son concordantes en estas barreras es variable entre especies, lo que se refleja en la vagilidad, hábitos, condiciones ambientales deseadas y susceptibilidad a las influencias naturales y antropogénicas en la conectividad de la cada población.

El cierre del mar de Tetis *c.* 20 millones años atrás (M.a.A.) (Barrera del viejo mundo, Ricou, 1987) y el paso de Panamá *c.* 3 M.a.A. (= Istmo de Panamá, Cronin & Dowsett, 1996) fue importante en moldear la distribución actual de muchas especies y géneros, y linajes genealógicos. Incluso las especies pelágicas con distribuciones mundiales comúnmente exhiben diferenciación genética. Para las especies costeras, el mtADN muestra particiones genéticas típicas a nivel genealógico a través de las cuencas oceánicas (Duncan *et al.*, 2006; Keeney & Heist, 2006) con el ejemplo ocasional de fugas genéticas a través de estas barreras (Duncan *et al.*, 2006; Portnoy *et al.*, 2010; Gubili *et al.*, 2011).

La barrera del Pacífico Oriental es una vasta extensión de océano de *c.* 7000 kilómetros. Si se produce dispersión a través de la barrera se cree que ha sido facilitado por 'escalones' a través de islas (Duncan *et al.*, 2006). Esta barrera ha tenido un espectro de efectos, que van entre la separación completa en algunas especies

costeras (Schultz *et al.*, 2008), al aislamiento de una población monofilética (Jorgensen *et al.*, 2009). En otros casos, no hay registros de efectos en especies oceánicas y pelágicas (Duncan *et al.*, 2006; Keeney & Heist, 2006).

La barrera del Atlántico Medio es mucho más corta en distancia que la barrera del Pacífico Oriental. Algunas especies comparten haplotipos a través de esta barrera (Ahonen *et al.*, 2009; Portnoy *et al.*, 2010; Benavides *et al.*, 2011a), mientras que otras no (Keeney & Heist, 2006, Schultz *et al.*, 2008; Benavides *et al.*, 2011b), lo que indica niveles contrastantes de conexión reciente.

La barrera de Benguela restringe la mezcla de poblaciones del océano Atlántico con especies tropicales del océano Indico, debido a la corriente fría corriendo por el extremo sur de África (Briggs, 1995). Esto es evidente en especies que se distribuyen a nivel mundial donde la genealogía está trifurcada entre las muestras de la zona tropical al oeste del Océano Atlántico, África del Sur y el Archipiélago Indo-Australiano (Duncan *et al.*, 2006). Algunas firmas de flujo genético histórico a través de la punta sur de África están vinculados con la intensificación de la corriente de Aguijar durante los períodos interglaciales cálidos (Peeters *et al.*, 2004). Por el contrario, esta corriente no forma una barrera genética a las especies templadas, tales como el tiburón cobrizo *Carcharhinus brachyurus* (Günther 1870) (Benavides *et al.*, 2011a), y el cazón *Galeorhinus galeus* (L. 1758) (Chabot & Allen, 2009).

Evidencias del efecto de la barrera de la plataforma de Sunda, en el Océano Indo-Pacífico, son escasas debido a que la conectividad entre los Océanos Pacífico e Indico tropical ha cambiado con cada ciclo glacial (Voris, 2000). Para las especies relativamente menos móviles, las aguas profundas de la fosa de Timor (2000–3000 m)

y el fuerte de Indonesia a través del flujo de corriente a lo largo del estrecho de Makassar-Lombok pueden facilitar las principales subdivisiones genéticas entre Indonesia y Australia, en lugar de la vicarianza histórica por formaciones parciales de puentes terrestres (Dudgeon *et al.*, 2009; Ovenden *et al.*, 2009). Algunas especies previamente agrupados a través de esta división también han sido taxonómicamente revisadas y delimitadas (White *et al.*, 2005).

Los estudios realizados a través de la barrera del Amazonas utilizando marcadores microsatelitales y mtADN, hasta ahora se caracterizan por presentar una estructura débil o mínima en los datos de microsatélites y una fuerte subdivisión en el mtADN (Schultz *et al.*, 2008; Karl *et al.*, 2011). Estos patrones se interpretan como una firma de filopatría femenina y son apoyados por estudios de marcaje. Alternativamente, el patrón puede ser explicado por el equilibrio mutación/deriva en un marcador (del mtADN), pero no del otro marcador (microsatélites), a través de una relativamente reciente barrera vicariante.

Casos de estudios en Squaliformes – Este orden de tiburones, incluye un gran número de especies de pequeño a mediano tamaño principalmente bentopelágicos y batiales (Musick *et al.*, 2004). Generalmente se considera dentro de un alto de diversidad no-reconocida y una falta de conocimiento general sobre la estructura poblacional dentro de las especies de este orden (Straube *et al.*, 2011). Recientemente, algunos estudios filogeográficos han empezado a entregar nueva información para ayudar a resolver las incertezas taxonómicas y dispersión de estos tiburones. Estudios moleculares han encontrado una fuerte divergencia genética en el tollo de cachos *Squalus acanthias* L.

1758 en tres regiones diferentes del mtADN (región control, CO1 y ND2) y 8 loci de microsatélites (Ward *et al.*, 2007; Hauser, 2009; Veríssimo *et al.*, 2010), formando dos linajes recíprocamente monofiléticos en el océano Pacífico norte y sur. El manejo pesquero independiente de estos dos linajes ha sido recomendado, así como su revisión taxonómica (Franks, 2006; Hauser, 2009; Ebert *et al.*, 2010; Veríssimo *et al.*, 2010). Straube *et al.* (2011), revisó la estructura genética poblacional en tollos de profundidad (género *Etmopterus*) usando loci de AFLP y *cox1*. Este estudio reveló que p.e., *Etmopterus granulosus* no es endémico de Chile sino ampliamente distribuido en el Hemisferio Sur y sinónimo de *E. baxteri* en Nueva Zelanda. Los bajos niveles de diferenciación poblacional sugieren que *E. granulosus* se mueve entre estos dos países, los que se encuentran separados por casi 7.000 km (Chile y Nueva Zelanda). A la inversa, los especímenes previamente asignados como *E. baxteri* en Sudáfrica parecen representar una especie diferente la cual requiere estudios adicionales.

Por otro lado, en el caso del tollo portugués *Centroscymnus coelolepis* Barbosa du Bocage & de Brito Capello 1864, no se han encontrado evidencias de estructura genética poblacional (a nivel de la región control y 8 microsatélites) entre sitios de muestreo a lo largo del sureste del océano Atlántico. El alto potencial de dispersión de esta especie, así como la ausencia de barreras dentro del sureste del Atlántico podrían explicar la evidente ausencia de diferenciación (Veríssimo *et al.*, 2011).

Tres especies de tiburones del género *Somniosus* han sido estudiadas a nivel del *cytB*, revelando dos clados divergentes: uno para el tiburón de Groenlandia *Somniosus microcephalus* (Bloch & Schneider 1801) (en el estrecho de Cumberland e Islandia) y otro consistente en dos especies, *Somniosus pacificus* Bigelow & Schroeder

1944 (Taiwán y Alaska) y *Somniosus antarcticus* Whitley 1939 (Tasmania) (Murray *et al.*, 2008). Esta información no soporta la separación entre *S. antarcticus* y *S. pacificus* y resalta la incerteza taxonómica al interior de este género de tiburones (Benz *et al.*, 2007). Dos hipótesis se derivan de este trabajo y requerirían confirmación futura: (a) que *S. antarcticus* y *S. pacificus* son la misma especie o (b) que estas dos especies son de origen reciente y no presentan divergencia en el *cytB* (Murray *et al.*, 2008).

Casos de estudios en Lamniformes — Los Lamniformes varían entre especies pelágicas y demersales con un complejo comportamiento y uso de hábitat, incluyendo movimientos migratorios. Como tal, se espera que en tiburones de este orden una variedad de estructura poblacional las que se encuentran resumidas en algunos ejemplos. En el caso del tiburón peregrino *Cetorhinus maximus* (Gunnerus 1765) no se ha observado estructura genérica entre las diferentes cuencas oceánicas, con únicamente seis haplotipos del mtADN y baja diversidad genética, lo que sugiere ya sea un evento de ‘cuello de botella’ reciente previo a la expansión al nivel actual global, o un amplio rango de flujo genético mediado por las hembras (Hoelzel *et al.*, 2006). Para el marrajo de aleta corta *Isurus oxyrinchus* Rafinesque 1810, cuatro marcadores de microsatélites indicaron una débil evidencia de partición genética entre los océanos (Schrey & Heist, 2003). Estos autores sugieren la posibilidad de una dispersión sesgada por sexo considerando resultados previos en genes del mtADN, lo que sugiere una estructura poblacional entre el océano Atlántico Norte-Sur, y el océano Pacífico (Heist *et al.*, 1996).

En el caso del tiburón blanco *Carcharodon carcharias* (L. 1758), una fuerte estructura poblacional ha sido detectada en las diferentes cuencas oceánicas, por ejemplo una profunda divergencia en haplotipos de la región control entre el Indo-Pacífico y Sudáfrica-Atlántico (Pardini *et al.*, 2001; Gubili *et al.*, 2011). Pardini *et al.* (2001) no encontró evidencia de subdivisión genética usando cinco loci de microsatélites y ha propuesto un comportamiento de filopatría natal en hembras para explicar la discrepancia entre los dos sistemas de marcadores. Recientemente, una estructura poblacional significativa fue detectada entre juveniles provenientes de las costas este y sur de Australia a través de la región control del mtADN y loci de microsatélites, lo que sugiere la posibilidad de que el comportamiento reproductiva podría restringir el flujo genético en ambos sexos (Blower *et al.*, 2012). Para el tiburón tigre arenoso *Carcharias taurus* Rafinesque 1810, la región control del mtADN, seis microsatélites y marcadores AFLP revelaron una extensa diferenciación poblacional a nivel global a través de seis regiones geográficas, con baja diversidad genética intrapoblacional. Todas las comparaciones fueron significantes con la excepción de Brasil y el océano Atlántico sur (Ahonen *et al.*, 2009). Esta profunda estructura filogeográfica inferida a través de múltiples marcadores, podría ser típica de especies demersales con movimientos limitados o patrones migratorios fijos.

Casos de estudios en Batoideos — Con algunas excepciones (sobre todo en *Mobula*), las rayas denominadas genéricamente como batoideos, tienden a tener estilos de vida demersales que probablemente influyen en la estructuración genética de la población a escala regional para muchas especies. Los estudios moleculares han revelado la

necesidad de una revisión taxonómica de muchas especies (e.g., *Aetobatus narinari* Richards *et al.*, 2009; Schluessel *et al.*, 2010) y es probable que las futuras investigaciones sobre subdivisión de la población dará lugar a la descripción de más especies. Estructura genética significativa en tres especies de peces sierra *Pristis microdon* Latham 1794, *Pristis clavata* Garman 1906 y *Pristis zijsron* Bleeker 1852 en el norte de Australia a través de la región control del mtADN (Phillips *et al.*, 2011). *Pristis microdon* mostró mayores niveles de estructuración genética que *P. clavata* y *P. zijsron*, posiblemente debido a filopatría localizada de las hembras y el requerimiento de agua dulce de la especie. Se evaluó la filogeografía para *Raja clavata* L. 1758 en aguas europeas usando cinco loci de microsatélites y secuencias de mtADN *cytB* (Chevolot *et al.*, 2006). Una fuerte diferenciación regional entre la cuenca del Mediterráneo, las Azores y de la plataforma continental europea. Esto contrasta con la débil estructura poblacional encontrada para la raya *Amblyraja radiata* (Donovan 1808) que se muestrea con mtADN *cytB* en todo el Atlántico Norte (Chevolot *et al.*, 2007). Aunque ambas especies tienen rasgos de historia de vida y distribuciones similares, la batimetría del borde de la plataforma continental parece limitar la dispersión de *R. clavata*. El estudio de Pasolini *et al.* (2011) reveló que *Raja straeleni* Poll 1951, en África del Sur y la europea *R. clavata*, son especies que se separaron geográficamente recientemente, sobre la base de la agrupación de los haplotipos de la región control del mtADN y valores significativos AFLP *F* entre los dos taxones.

Nueve especies de rayas del género *Bathyraja* han sido estudiadas en el Océano Austral con mtADN (Smith *et al.*, 2008). *Bathyraja* sp. (cf. *eatonii*) de la plataforma y talud continental Antártica es una especie distinta de *Bathyraja eatonii* (Günther

1876) de la Meseta de Kerguelen (localidad tipo). Se observaron clados intraespecíficos significativamente divergentes que indican la diferenciación geográfica tanto para *B. sp.* (cf. *eatonii*) y *Bathyraja maccaini* Springer 1971 entre el mar de Ross y el Océano Atlántico Sur.

Una divergencia significativa fue detectada a través de PCR-RFLP basada en haplotipos de la región control del mtADN en *R. productus* (Sandoval-Castillo *et al.*, 2004) y para el gen *nadh2* de *R. steindachneri* (Sandoval-Castillo & Rocha-Olivares, 2011), entre el Golfo de California y la costa del Pacífico de Baja California, México. También se detectó estructuración poblacional entre el Golfo de California y la costa del Pacífico para *Gymnura marmorata* (Cooper 1864) utilizando *Cytb* (Smith *et al.*, 2009). Esta especie co-ocurre al este en el Océano Pacífico, con una especie morfológicamente similar *Gymnura crebripunctata* (Peters 1869) y la gran divergencia genética confirmó el estado taxonómico válido de ambas especies lo que sugiere orígenes lejanos en lugar de la evolución *in situ* (Sandoval-Castillo *et al.*, 2004). En cambio, el estudio de la raya *Urobatis halleri* (Cooper 1863), utilizando siete loci de microsatélites (Plank *et al.*, 2010) no apoyaron un aislamiento de poblaciones entre el Golfo de California y la costa del Pacífico de Baja California. La población de *U. halleri* muestreada en la isla Santa Catalina, California, separada por un canal de aguas profundas de las zonas costeras, fue significativamente divergentes de las otras poblaciones.

Los estudios moleculares han proporcionado evidencias de un complejo de especies usando marcadores del mtADN como *cytB* y *nadh4* (Richards *et al.*, 2009; Schluessel *et al.*, 2010). Por ejemplo, *Aetobatus narinari* y *A. ocellatus* (Kuhl 1823) en

el Indo-Pacífico. Dentro del complejo *A. narinari*, las poblaciones del Atlántico central, el Pacífico oriental y del Océano Pacífico occidental están formados por tres clados distintos utilizando el mtADN (Richards *et al.*, 2009). Schluessel *et al.* (2010) también informó una estructuración significativa de las poblaciones en el Océano Indo-Pacífico. Estos estudios indican un origen Indo-oeste del Océano Pacífico para el complejo *A. narinari*, con la consiguiente dispersión del oeste alrededor del extremo sur de África en el Océano Atlántico, seguido por la posible dispersión en el Océano Pacífico oriental a través del Istmo de Panamá antes del cierre .

Griffiths *et al.* (2011) analizaron la raya *Dipturus oxyrinchus* (L. 1758) desde el Océano Atlántico nororiental y el Mar Mediterráneo a través de la región control del mtADN. Un análisis bayesiano sugirió que ha ocurrido un poco flujo genético entre las regiones y que poblaciones están separadas 20 kbp. Los análisis complementados con marcadores microsatélites, revelaron especies crípticas en la raya común *Dipturus batis* (L. 1758) en aguas del norte de Europa (Griffiths *et al.*, 2010).

Las extinciones locales y la confusión taxonómica es un problema muy importante en rayas (Dulvy *et al.*, 2000; Iglesias *et al.*, 2009). Por lo tanto, los estudios filogeográficos proporcionan información esencial de referencia acerca de la estructura del stock, lo que es muy importante para un apropiado manejo pesquero y, a menudo han dado la motivación para la revisión taxonómica (e.g., el descubrimiento y proposición de especies crípticas para la sinonimia). Cada vez más estudios están incorporando múltiples marcadores genéticos y están utilizando enfoques basados en modelos para inferir patrones espacio-temporales. La ventaja de estudiar especies con múltiples clases de marcadores moleculares es que la información sobre la historia de

la población se puede obtener a lo largo del tiempo sobre la base de la diversidad genética de cada marcador y la técnica molecular utilizada, que puede proporcionar validación esencial de patrones no cubierto.

Filopatría reproductiva en tiburones y rayas

La filopatría reproductiva desafía los conceptos tradicionales de la estructura genética poblacional ya que pueden producirse diferencias genéticas entre las regiones, en ausencia de barreras físicas para el movimiento. La definición exacta de este comportamiento es un tema de debate, pero en este caso se conoce como el uso a largo plazo de las zonas de crianza de hembras maduras para parición a través de múltiples ciclos de reproducción. La filopatría ha sido descrita recientemente para tiburones, y enfatiza aún más en la complejidad de los patrones de uso del hábitat en elasmobranquios (Feldheim *et al.*, 2001; Pardini *et al.*, 2001; Hueter *et al.*, 2005).

Presiones selectivas asociadas con la estrategia reproductiva y el tamaño corporal son factores que influyen en la filopatría reproductiva. En muchos tiburones, los períodos de gestación de las hembras (comúnmente ≥ 1 año) consumen grandes reservas de energía para producir unas pocas crías bien desarrolladas. Como tal, los costos energéticos de la reproducción son muy altos para las hembras en comparación con individuos machos. La aparición de comportamiento filopátrico también está modelado por presiones selectivas ejercidas sobre las especies que parecen estar asociados con estrategias reproductivas, tamaño corporal y la importancia global de supervivencia de los juveniles de especies resilientes (Portnoy *et al.*, 2006). Bajo este

escenario, las hembras tienen más probabilidades de volver a utilizar áreas de crianza que han sido exitosas (Wourms & Demski, 1993; Last & Stevens, 2009). El uso de las zonas de crianza protege a las crías de sus congéneres más grandes u otras especies depredadoras (Feldheim *et al.*, 2004; Knip *et al.*, 2010; Bruce & Bradford., 2012; Tillet *et al.*, 2012b). Este comportamiento se ha identificado en tiburones como *C. leucas*, *N. brevirostris*, *C. plumbeus* y *C. tilstoni*, que son especies vivíparas costeras (Klimley, 1987), pero también es probable que ocurra en otras especies como *C. carcharias* (Blower *et al.*, 2012).

Los modelos de reproducción aislados no predicen la aparición de filopatría reproductiva en peces cartilaginosos. A pesar de ser vivíparos, no hay registros de este comportamiento en *R. taylori*, que también habita en aguas costeras protegidas (Simpfendorfer & Milward, 1993; Heupel *et al.*, 2006). A diferencia de otros tiburones más grandes, *R. taylori* habita en estas áreas a lo largo de todo su ciclo de vida lo que sugiere que la filopatría reproductiva es más probable en especies más grandes que tienen tamaño de segregación y gastan más energía aumentando la supervivencia de juveniles mediante el uso de las zonas de crianza. Bajo esta hipótesis, es probable que las especies que ponen huevos no presenten este tipo de filopatría. Tampoco se sabe si las especies batoides muestran filopatría reproductiva. En cuanto a los tiburones, sin embargo, los vivíparos grandes que utilizan zonas de crianzas en menores etapas de la vida pueden presentar filopatría. Se necesita una mayor investigación para confirmar esto.

La designación de una especie como filopátrica, requiere un gran esfuerzo de investigación, e.g., la monitorización prolongada durante varios años de un gran

número de individuos. Para hacer frente a esto, la investigación debe ser capaz de discriminar los individuos y rastrear los patrones de movimiento durante largos periodos de tiempo, lo cual es difícil cuando se ocupan métodos de marcado convencionales. Herramientas genéticas (genotipos y seguimiento de los patrones de variación genética) son ventajosas para identificar filopatría e individuos porque trazan el movimiento en el tiempo generacional que proporciona una gran cantidad de datos a largo plazo (Chapman *et al.*, 2009).

Evaluación de la estructura genética poblacional para inferir filopatría — Uno de los primeros estudios en utilizar la estructura genética poblacional para distinguir filopatría se basó en el mtADN (herencia materna) y en la falta de microsatélites (herencia conjunta) de diferenciación para *C. carcharias* entre Sudáfrica y Australia (Pardini *et al.*, 2001). En este estudio, la filopatría se define como no-itinerante (en lugar de afinidad a las zonas de crianza) y concluye que el movimiento limitado de las hembras genera la estructura genética de la población entre Sudáfrica y Australia. Idealmente, los datos de marcadores genéticos podrían ir acompañados de datos biológicos para la prueba de filopatría o diferencias específicas del sexo en el potencial de la dispersión. Si no, los datos genéticos necesitarían estricta interpretación.

El mtADN es únicamente de herencia materna y no se somete a la recombinación como lo hace el ADN nuclear heredado bi-parenteralmente (Awise *et al.*, 1987). Esta diferencia en la herencia causa fijación genética, debido a un aislamiento reproductivo y ocurre más rápido y permanece en el mtADN más tiempo que en los marcadores nucleares (Birky *et al.*, 1983). Los niveles más altos de

diversidad genética se encuentran generalmente en los microsatélites y puede resultar en menores valores relativos de F_{ST} (medida de la diferenciación de la población) que en los marcadores de ADN mitocondrial (Hedrick, 1999; Frankham *et al.*, 2002). Por otra parte, diferentes loci de microsatélites tienen diferentes niveles de polimorfismo dentro y entre especies, y se debe examinar un número considerable de loci para mostrar la existencia de la estructura de la población. Por lo tanto, la sola presencia de estructuración genética a través del mtADN y ausente de datos de microsatélites no es suficiente para concluir filopatría en hembras. Más bien, se requieren análisis estadísticos que cuantifiquen la potencia de los loci seleccionados para detectar la presencia de estructura poblacional (Dudgeon *et al.*, 2009) o el uso de análisis de coalescencia múltiples para la estimación del flujo genético para explicar la causa de las diferencias observadas (Portnoy *et al.*, 2010).

Evaluar la filopatría usando variaciones en la estructura genética poblacional está fuertemente influenciado por la estrategia de muestreo. Por ejemplo, si las hembras permanecen en un área durante un tiempo determinado y luego se dispersan, la identificación de la filopatría dependerá de si las fases de filopatría o de dispersión son muestreadas. Del mismo modo, las hembras filopátricas no poseen necesariamente menores niveles de dispersión. Las hembras pueden volver a las zonas de crianza a parir, aunque tal vez tengan que viajar grandes distancias para encontrar una pareja adecuada o para alimentarse. Distinguir este comportamiento genéticamente es complejo, y proporciona un ejemplo de que un enfoque holístico (incluyendo otros métodos de marcado, tales como acústica o marcado por satélite) podría complementar los análisis genéticos. Por ejemplo, la firma filopátrica

identificada en hembras de *C. carcharias* (Pardini *et al.*, 2001) entró en conflicto con los estudios de marcaje acústico y satelital ya que mostraban que las hembras de *C. carcharias* se mueven entre localidades (Bonfil *et al.*, 2005). En lugar de ver estos resultados como contradictorios, la combinación de resultados indican que el flujo genético entre las regiones de estudio es limitado, ya que el número de migrantes es insuficientes para mezclar la estructura genética de la población, o a que los individuos están regresando a las áreas claves y que la estructuración genética identificada se debió a que el muestro fue realizado mientras los individuos estaban criando en lugar de dispersando.

Blower *et al.* (2012) comparo la estructura genética de la población en el mtADN y microsatélites mayormente en juveniles de *C. carcharias*, en las poblaciones de Australia (costa este y sur-oeste). Este estudio, a diferencia de Pardini *et al.* (2001), encontró una estructura débil pero significativa en los microsatélites que también fue evidente en el mtADN. Llegaron a la conclusión de que ambos, tanto los machos como las hembras reproductoras son filopátricos a escala continental; introduciendo un nuevo componente en la discriminación de filopatría, i.e., la escala. La designación de una especie como filopátrica requiere un conocimiento de la variación del rango local de distribución con respecto a su potencial de dispersión. El desafío consiste en distinguir entre especies que presentan filopatría versus un rango local limitado.

La filopatría reproductiva examina las afinidades a las áreas de crianza por un largo periodo, a diferencia del rango limitado de distribución, y como se mencionó anteriormente es más probable que ocurra en las especies que utilizan estas áreas durante la fase juvenil. Conclusiones extraídas de Blower *et al.* (2012) se

correlacionan con los resultados de los seguimientos acústicos y por satélite, que sugiere que los juveniles de *C. carcharias* tienen una gran fidelidad a las áreas de crianza, esto fue evidente en dos puntos muy concretos de la costa este australiana (Bruce & Bradford, 2012). Las diferencias en las conclusiones con respecto a los patrones de movimiento de los machos entre Pardini *et al.* (2001) y Blower *et al.* (2012) podría estar relacionado con sus estrategias de muestreo. Tillett *et al.* (2012c) realizó un estudio sobre juveniles de *C. leucas* para investigar el comportamiento filopátrico, para esto empleó juveniles dentro de las áreas de crianzas en hábitats que podrían ser conectadas con dispersión.

Este método de muestreo excluye lugares que podrían estar separados por grandes distancias o eventos vicariantes. El estudio permite identificar estructuras en el mtADN que están ausentes en los análisis de microsatélites en los juveniles, lo que indicaría filopatría reproductiva en hembras. Este hallazgo también fue encontrado en *C. leucas* por Karl *et al.* (2011), basado en comparaciones de ADN mitocondrial y microsatélites, a pesar de que el estudio no lo hizo directamente en zonas de crianza.

Tamaño poblacional genéticamente efectivo

La estimación del tamaño poblacional genéticamente efectivo (N_e) ha sido característico en el manejo de animales terrestres por varias décadas (Schwartz *et al.*, 2007), pero emerge del plano teórico hacia la aplicación en manejo comercial y de conservación en animales marinos. Como una forma de complementar los métodos de evaluación de stock convencionales, el monitoreo genético puede estimar el tamaño poblacional efectivo (N_e) para evaluar la abundancia y viabilidad de cualquier pez. Si

consideramos que el tamaño de cualquier población aislada disminuye, la tasa de deriva genética aumenta junto con la tasa de endogamia, acumulación de genes perjudiciales y pérdida de variación adaptativa (Frankham *et al.*, 2010; Hare *et al.*, 2011). Evaluar el N_e de una especie entrega una indicación del tamaño de la población reproductora y la salud genética de la población (Frankham, 1995; Portnoy *et al.*, 2009), generando información invaluable como una herramienta de evaluación de stock para (Luikart *et al.*, 1998; Reed & Frankham, 2003).

Las muchas caras de N_e – Teóricamente, N_e se define como el tamaño de una población ideal que está experimentando una cantidad conocida de la deriva genética. Prácticamente, el tamaño genéticamente efectivo de una población equivale ya sea a una estimación del número de reproductores que producen la cohorte observada (N_b) o el tamaño de media armónica de la población reproductora en varias generaciones (N_E). Esta interpretación depende de la historia de vida de la especie y del método de muestreo adoptado. Waples (1990a, b) mostró que para una especie semélpara como el salmón del Pacífico *Oncorhynchus* spp, el N_e por generación se aproxima el producto de N_b y la duración de la generación cuando el tamaño de la población es constante. Para especies iteróparas como los peces cartilagosos, sin embargo, la relación entre N_b y N_e todavía no ha sido establecida y requiere más investigación (Waples, 2010).

El tamaño de la población histórica o efectivo a largo plazo (denotada aquí como HN_E) equivale a la media armónica del tamaño efectivo de la población por generación sobre c generaciones $4N_E$ en el pasado en el que el tamaño de la población es escalado por la tasa de mutación genética (Hare *et al.*, 2011). Estimaciones HN_E

tienen valor de proporcionar estimaciones aproximadas sobre la biomasa virginal antes de la explotación antrópica (Crandall *et al.*, 1999; Hare *et al.*, 2011) y ha sido estimada para varias especies de elasmobranquios incluyendo *R. typus* (Castro *et al.*, 2007), *S. lewini* (Duncan *et al.*, 2006), *N. brevirostris*, *N. acutidens* (Schultz *et al.*, 2008), *C. maximus* (Hoelzel *et al.*, 2006) y *C. leucas* (Karl *et al.*, 2011a). Las estimaciones HN_E , sin embargo, carecen del rigor necesario para apoyar decisiones de manejo pesquero debido a que: (1) la variación asociada con la estimación de la tasa de evolución molecular, (2) la conectividad de la población desconoce en escalas de tiempo anteriores, que típicamente limitan la resolución de HN_E a una estimación global (Frankham *et al.*, 2010; Portnoy, 2010) y (3) un sesgo metodológico que refleja un bajo tamaño reproductiva a consecuencia de cuellos de botella poblacionales que puedan haber ocurrido en la historia de la especie (Frankham *et al.*, 2010; Portnoy, 2010).

De mayor interés para la administración y conservación pesquera, es el tamaño efectivo de la población contemporánea el o N_e de corto plazo (denotada aquí como CN_E). Este valor CN_E indica si la salud genética actual de la población es suficiente para una adaptación sostenida y se aproxima a la media del número reciente de individuos reproductores (Lande, 1995; Reed & Frankham, 2003; Frankham *et al.*, 2010). El CN_E se calcula utilizando dos enfoques principales, que requiere muestras temporalmente espaciadas desde una población o muestras de un solo punto en el tiempo. Ambos métodos proporcionan información similar, pero tienen diferentes ventajas y limitaciones (Luikart *et al.*, 2010), particularmente cuando se aplica a los elasmobranquios.

Interpretación y aplicaciones del N_E – El tamaño genéticamente efectivo de una población (N_E) puede dar una indicación de la salud genética de una población, que luego puede ser evaluada a través de puntos de referencia que indiquen la urgencia de conservación y el tipo de estrategia de administración requerida. La retención de largo plazo del potencial evolutivo en una población ideal, requerirá un N_E de al menos 500 (Franklin, 1980; Frankham *et al.*, 2010), aunque otros estiman que al menos 5,000 individuos reproductores pueden ser necesarios (Lande, 1995). Para evitar la acumulación de alelos deletéreos, se requiere un $N_E > 1000$ (Palstra & Ruzzante, 2008; Frankham *et al.* 2010) y una depresión por endogamia puede producirse si el N_e cae por debajo de 50 individuos (Franklin, 1980). El cómo estos umbrales se traducen en las poblaciones de peces cartilagosos aún no está claros. Chapman *et al.* (2011), encontraron que a pesar de 95 a 99% reducción de la población durante el siglo pasado, las bajas estimaciones de CN_E cercanas a 250–350 individuos de *P. pectinata*, fueron acompañados de estimaciones empíricas de alta diversidad genética y endogamia insignificante. A través de escenarios se planteó la hipótesis de que (1) la longevidad de la especie (estimada en 30 a 60 años) ha ralentizado la deriva genética, (2) una excesivamente bajo N_e nunca fue alcanzado, o (3) las características generales de la historia de vida y comportamiento reproductivo en los peces cartilagosos, tiende a educir el efecto ‘cuellos de botella’ y la endogamia. Estos hallazgos deberían estimular una mayor investigación sobre la diversidad de otros elasmobranquios amenazados y su sostenibilidad frente a la pesca indiscriminada.

Comprender la relación entre N_e y el tamaño estimado desde censos demográficos (N_c) puede ser de carácter informativo para las decisiones de administración. Una revisión de la proporción $CN_e:N_c$ en peces óseos, encontró que, en general CN_e es de dos a seis órdenes de magnitud inferior al N_c (Hauser & Carvalho, 2008), posiblemente debido a la alta fecundidad, pero baja supervivencia de estos peces. En contraste, los datos disponibles para tiburones sugiere la proporción $CN_e:N_c$ es más similares a la de los mamíferos marinos y terrestres que a teleósteos. Comparación entre CN_e y el tamaño censal de cohorte (N_c) para 902 individuos de *C. plumbeus* desde cinco cohortes provenientes de las zonas de cría del Océano Atlántico occidental mostró relaciones $CN_e:N_c$ cercanas al 0.5 (rango de 95%, CI = 0.2–1.0, Portnoy *et al.*, 2009). Las comparaciones de las estimaciones de la CN_e de *C. taurus* (media = 126.95% CI = 67–474, Ahonen & Stow, 2009) con estimaciones poblacionales desde métodos de marcado/recaptura de adultos maduros (>2 m LT, con promedio de número de individuos a través de diferentes métodos de estimación = 178.95% CI = 58–321, Otway & Burke, 2004) resulta en proporciones de magnitud comparable. Estos resultados preliminares para tiburones son notablemente diferentes de las de los teleósteos marinos e indican que una gran parte de la población (es decir $\geq 50\%$) está contribuyendo muy probablemente al reclutamiento, un hecho que aparentemente no es considerado en las estimaciones censales.

Estudios de simulación muestran que ambos estimadores CN_E temporales pueden utilizarse para investigar tendencias de la población con un muestreo selectivo (Antao *et al.*, 2011). Además, tendencias en la proporción $CN_e:N_c$ a través del tiempo se han seguido investigando. Esta proporción resulta ser constante cuando se

compara entre dos períodos de tiempo para *P. auratus* (Hauser *et al.*, 2002). Ardren & Kapuscinski (2003), encontraron un aumento en la proporción $CN_e:N_c$ durante un período de 17 años para la trucha arco iris *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum 1792) en respuesta a la disminución de tamaño de la población, a pesar de que CN_e fue constante durante este tiempo. La tasa entre $CN_e:N_c$ puede, sin embargo, ser más predecible en especies con baja fecundidad y baja variación en el éxito reproductivo, como los elasmobranquios, que en especies con alta varianza en el éxito reproductivo (Luikart *et al.*, 2010). Estas características de historia de vida, comunes en los peces cartilaginosos hacen de este grupo atractivo para los más la exploración de la relación entre CN_e y N_c , proporcionando un terreno fértil para la colaboración entre los administradores de recursos y genetistas.

Consideraciones generales sobre el N_E – El poder proporcionar estimaciones significativas CN_E a administradores pesqueros requiere regímenes de muestreo cuidadosos y marcadores de selección adaptados a la especie y la población objetivo. El poder de las estimaciones es influenciada positivamente por los tamaños de muestra, número de loci y alelos, y el número de generaciones entre cohortes. Otros factores como la hipótesis del modelo CN_E , historia de vida y la migración poblacional, deben tenerse en cuenta ya que pueden afectar significativamente la magnitud e interpretación de CN_E . El análisis de datos de CN_E puede ser un reto computacional pero una variedad de paquetes de software se han desarrollado para simplificar implementación de los análisis disponibles (los que han sido revisados por Luikart *et al.*, 2010).

El régimen de muestreo está claramente dictado por la elección de cualquiera de los métodos temporales cohorte-dependientes o del enfoque de muestra individual. El tamaño poblacional previsto define el número de individuos necesarios para una estimación precisa. En el caso de poblaciones pequeñas ($CN_E < 200$) se pueden requerir tan sólo 50 muestras únicas, aunque más son siempre preferibles (Waples & Do, 2010). Poblaciones más grandes ($CN_E \geq 1000$) requieren muchas más muestras para alcanzar niveles similares de exactitud y precisión, y el bajo muestreo de una gran población tenderá a generar límites confianza imprecisos (Waples, 1989; Palstra & Ruzzante, 2008; Waples & Do, 2010).

Una revisión cuidadosa es esencial al momento de elegir los marcadores genéticos. La selección adecuada de marcadores *a priori* requiere un análisis preliminar de sensibilidad (es decir, de un estudio piloto) para estimar el número de muestras y los marcadores necesarios para estimaciones precisas. Una indicación de la diversidad alélica de la población para cada marcador es preferible aunque el número de muestras y los loci correspondientes se puede inferir a partir de la simulación estudios (Waples & Do, 2010), aunque con menor precisión. En general, ≥ 10 loci no vinculados y altamente polimórficos son deseables (Palstra & Ruzzante, 2008; Luikart *et al.*, 2010; Waples & Do, 2010). Recientes avances en la identificación rápida de un gran número de loci y alelos, sin embargo, deben traer estimaciones CN_E viables de incluso grandes poblaciones dentro del alcance de administradores en un futuro cercano (Waples & Do, 2010).

Las estimaciones de N_e son sensibles a los supuestos de su constructo subyacente, la idealizada población Wright-Fisher (Wright, 1931). En particular, las

generaciones superpuestas y la migración pueden dar lugar a estimaciones sesgadas N_e en peces cartilagosos. Algunas formulaciones de estimación temporal de N_e tienen la capacidad de identificar generaciones sobrepuestas (Jorde & Ryman, 1995; Waples & Yokota, 2007), y algunos casos niveles de migración (Wang & Whitlock, 2003; Waples, 2010; Waples & England, 2011). Los análisis de la estructura genética poblacional deben sin embargo, ser cuantificados para evaluar la migración como una potencial fuente de sesgo. El efecto de la superposición de generaciones, como se encuentra en los elasmobranquios, es en gran parte no probado para estimadores de tiempo de un solo punto (Waples & Do, 2010) con algunas excepciones (Wang *et al.*, 2010). Otros procesos que contravengan la población Wright-Fisher, tales como la selección, tamaño variable o fluctuante de la población, la proporción desigual de sexos y apareamiento no-aleatorio, tienen menor efecto significativo en la estimación N_e pero debe ser considerados para cada especie de estudio en particular (Palstra & Ruzzante, 2008; Charlesworth, 2009; Luikart *et al.*, 2010; Hare *et al.*, 2011).

La comparación de diferentes estimadores N_e puede ser informativo y, en particular, la concordancia entre los estimadores aumenta la confianza en los resultados (Miller & Waits, 2003; Nomura, 2008; Waples & Do, 2010). Por ejemplo, resultados de magnitud parecida al CN_e en *C. plumbeus* fueron encontrados con ambos métodos temporales y LD (Portnoy *et al.*, 2009). Por el contrario, valores CN_e altamente discordantes pueden indicar un sesgo en el enfoque del modelo (por ejemplo LD se producen por medios distintos de reducción en la población) o efectos ecológicos o biológicos inusuales (Hauser &

Carvalho, 2008; Luikart *et al.*, 2010), lo que requiere una mayor investigación e interpretación con precaución.

Los estimadores de N_e proporcionan una ventana de las características de historia de vida y de la dinámica poblacional que a menudo son muy difíciles de estimar en peces, pero que representa información esencial para su conservación y aprovechamiento sostenible. El potencial de N_e ha sido reconocido gradualmente por administradores y sus resultados están siendo recientemente incorporados en sus planes estratégicos.

Tecnologías recientes, tendencias e implicaciones

El enfoque de la genética para estudios en elasmobranquios a la fecha, ha sido a través de los métodos establecidos. Los estudios que aplican tecnologías genéticas para evaluar el estado del arte son aún escasas, aunque esto, sin duda, proporciona una mejor resolución genética para hacer frente a los desafíos conocidos (por ejemplo, identificación forense de las especies, análisis de captura mixta, análisis de la población a fina escala, y prioridades para el manejo y conservación; FAO, 1999, 2000, 2005).

Esta sección de la revisión expondrá características claves, usos actuales y el futuro potencial de la secuenciación de próxima generación (NGS), (q) PCR cuantitativo en tiempo real y tecnologías de micromatrices para entender, administrar y proteger mejor los elasmobranquios.

Principales características y uso actual de NGS, qPCR y micromatrices —La secuenciación de Sanger o de “terminaciones en cadena” (Sanger *et al.*, 1977a, b) ha sido el principal método de secuenciación de ADN por más de dos décadas de investigación genética, entregando una revolucionaria oportunidad de descifrar genomas enteros (Fleischmann *et al.*, 1995; Venter *et al.*, 2001). En el 2005, se introdujo una nueva generación de tecnologías de secuenciación, conocido como NGS, (Margulies *et al.*, 2005; Shendure *et al.*, 2005). Esta tecnología (NGS), permite la reducción volumétrica de millones de reacciones de secuenciación con un costo económico cada vez menor, lo que permite un cambio en el enfoque de la genética desde gen al genoma (genómica), incluso para pequeños laboratorios e investigadores

privados (Schuster, 2008). Varias plataformas que utilizan diferentes tipos de tecnologías NGS están comercialmente establecidos, y varias revisiones proporcionan detalles sobre sus capacidades y funcionamiento (Mardis, 2008, 2011; Shendure & Ji, 2008; Metzker, 2010). Los resultados comparativos, ventajas y desventajas de diferentes plataformas comerciales de NGS para aplicaciones orientadas a ecología y poblaciones también han sido revisados (Hudson, 2008; Harismendy *et al.*, 2009; Ekblom & Galindo, 2010). Algunos problemas generales asociados a NGS que se han mencionado son: altas tasas de error de secuenciación, longitudes de lectura cortas y el esfuerzo en el análisis y el manejo de mega o giga-bases del código genético. Mientras el análisis y el manejo de datos pueden significar desafíos a largo plazo, ninguna de estas preocupaciones obstaculiza la integración generalizada de las tecnologías NGS en diversas áreas científicas a corto plazo (Shendure & Ji, 2008; Ekblom & Galindo, 2010; Hawkins *et al.*, 2010). Están surgiendo los primeros estudios que emplean NGS para investigar los elasmobranquios, por ejemplo, para identificar y caracterizar secuencias expresadas y microsatélites (Chabot & Nigenda, 2011; Takechi *et al.*, 2011; Chabot, 2012).

Las tecnologías de micromatrices y qPCR en tiempo real (Sчена *et al.*, 1995; Heid *et al.*, 1996) son otras dos tecnologías moleculares altamente influyentes que se publicaron hace más de una década, pero que sin embargo no han sido utilizados para elasmobranquios. Un ensayo qPCR puede medir el número de copias amplificadas basado en los niveles de fluorescencia durante cada ciclo de un PCR sin la necesidad de ninguna medición posterior (Arya *et al.*, 2005). En combinación con la transcripción inversa, esto representa una técnica revolucionaria para perfiles de

expresión génica (VanGuilder *et al.*, 2008). Se ha aplicado en varios estudios de elasmobranquios, principalmente porque este grupo cuenta con especies modelo para la investigación biomédica (Luer, 1989). En algunas de las especies modelo primarios, como el *Raja eglanteria* Bosc 1800, el qPCR basado en perfiles de expresión génica se remonta hace más de una década (Miracle *et al.*, 2001). Un ejemplo más reciente es el estudio realizado por Rytönen *et al.* (2010), que utilizó qPCR en *Hemiscyllium ocellatum* (Bonnaterre 1788) para examinar la idoneidad de nueve genes de referencia para el estudio de estrés hipóxico. La reciente combinación de qPCR con análisis de fusión amplicón (Gundry *et al.*, 2003) ha expandido la utilidad de esta técnica para incluir diagnósticos rápidos basados en análisis de alta resolución de masa (HRM) capaz de detectar SNPs y otras mutaciones genéticas (Reed *et al.*, 2007). Morgan *et al.* (2011) fue el primero en aplicar este método a los elasmobranquios, a fin de distinguir entre las tres especies de carcharínidos morfológicamente crípticos, que son objetivo común en la pesca a lo largo de la costa norte de Australia.

Análisis de micromatrices, es un término usado para describir varios sistemas y dispositivos para alta hibridación paralela de ADN o RNA, cuyo uso principal es similar a la qPCR, es decir, para supervisar la expresión génica o para la detección de SNPs. El potencial de las tecnologías de micromatrices es, sin embargo, mucho mayor (Heller, 2002; Hoheisel, 2006). Incluso si la eficiencia de micromatrices para la cuantificación del RNA es limitada en comparación con qPCR (Morey *et al.*, 2006), ha aumentado en gran medida la capacidad de multiplexación, que cubre de decenas a millones de sitios de prueba en una plataforma de medición tan pequeña como 1 cm² (de ahí su sinónimo: chips de ADN). Yoon *et al.* (2009) proporciona un ejemplo de una

micromatriz de oligonucleótidos diseñados para la identificación de seis especies de rayas pelágicas, cinco especies de rayas bentónicas y una especie de tiburón en aguas Coreanas sobre la base de las diferencias en su secuencia del gen *cox1* en el *mtADN*.

Transición tecnológica hacia la genómica de elasmobranquios — Son numerosas las implicaciones de nuevas tecnologías para los estudios ecológicos y evolutivos moleculares y están más allá del alcance de esta revisión (Hauser & Seeb, 2008; Tautz *et al.*, 2010). El efecto global en áreas científicas es una transición desde información genética a la genómica. Hasta el momento la información genómica de elasmobranquios es limitada. Los primeros genomas mitocondriales completos de elasmobranquios fueron publicados hace más de una década, para *Scyliorhinus canicula* (L. 1758) (Delarbre *et al.*, 1998) y *M. manazo* (Cao *et al.*, 1998). Venkatesh *et al.* (2007), analizaron una parte significativa (28%) del genoma del holocéfalo *Callorhinchus milii* Bory de Saint-Vincent 1823, y resultó ser una referencia fundamental para el análisis comparativo. A diferencia de los genomas de los teleósteos, el genoma de *Callorhinchus milii* no se duplica, haciéndolo similar en 3200 Mb del genoma humano (Venkatesh *et al.*, 2005). *C. mili* se propuso inicialmente como el primer pez cartilaginoso, modelo de genoma principalmente debido a su pequeño tamaño (1200 Mb) en comparación con los genomas de algunas especies populares de elasmobranquios modelos, como *G. cirratum* y *S. acanthias*, que oscilan entre 3800 y 7200 Mb (Venkatesh *et al.*, 2007). Genomas de otros elasmobranquios varían de tamaño, pero en general son superiores a las de otros vertebrados como teleósteos (Stingo & Rocco, 2001; Gregory, 2011). Dentro de los elasmobranquios, el tamaño del

genoma no parece estar relacionado con la posición filogenética, mientras que numerosos pequeños cromosomas (llamados micro-cromosomas) y altos contenido de AT puede indicar una condición más primitiva (Heist, 2004). La secuenciación de los primeros genomas nucleares completos proporcionará nuevas perspectivas y una mayor disponibilidad de NGS se acelerará rápidamente. Ya se han iniciado al menos tres proyectos de secuenciación de todo el genoma en elasmobranquios, para *Raja erinacea* (Mitchill 1825), *S. acanthias* y *R. typus*. A continuación, se describen tres posibles avances metodológicos que serán parte de una transición gradual hacia la investigación genómica en elasmobranquios con un enfoque en manejo y conservación. Varias revisiones sobre genómica ofrecen una perspectiva más completa sobre estos temas (Luikart *et al.*, 2003; Nielsen *et al.*, 2009b; Allendorf *et al.*, 2010; Avise, 2010; Ouborg *et al.*, 2010; Stapley *et al.*, 2010).

Desarrollo efectivo de marcadores específicos — Las secuencias de ADN y microsatélites son actualmente, los marcadores más ampliamente utilizados en estudios en elasmobranquios. Los microsatélites son el principal caballo de batalla para el análisis de alta resolución de la variación genética neutral en varias especies de peces (Chistiakov *et al.*, 2006), aunque en muchas especies de elasmobranquios sigue siendo difícil su identificación y desarrollo (Heist, 2004). Tecnologías NGS pueden ayudar a hacer frente a este desafío al permitir la identificación de cientos de miles de loci microsatélites a través de los genomas de taxones no modelo. Menos de una placa picotituladora llena, usando dominante Roche 454 (www.454.com) puede ser suficiente (Castoe *et al.*, 2010); especialmente si las bibliotecas de microsatélites

están preparadas para esperar resultados óptimos (Santana *et al.*, 2009, Lepais & Bacles, 2011). Por lo tanto, los enfoques NGS no sólo serán importantes para reducir los costos y el esfuerzo de adquirir grandes bibliotecas, sino que también proporcionará muchos más loci y así se logra un aumento sustancial en la potencia y precisión de los estudios basados en microsatélites ahora y a futuro. Con respecto a la identificación de las unidades de manejo y conservación, el aumento del número de marcadores de microsatélites proporcionarán una mayor confianza en la diferenciación entre nula, o débil pero consistente, divergencia genética. En situaciones de alto flujo genético, o donde el equilibrio migración- dispersión aún no está establecido, es posible que incluso un gran número de loci de microsatélites altamente polimórficos no identificarán diferenciación genética neutra, mientras que diferenciación genética adaptativa puede estar presente (Hemmer-Hansen *et al.*, 2007; Nielsen *et al.*, 2009a, c).

Integración de la variación genética adaptativa — Un aspecto importante de la transición de la información genética a la genómica es un cambio de paradigma hacia el estudio de la variación genética adaptativa (Stapley *et al.*, 2010). Tendrán importantes ventajas incluir marcadores de baja selección en futuros estudios de elasmobranquios, por ejemplo, para identificar y priorizar las unidades locales adaptadas de especies con propósitos de manejo y conservación, y para el estudio de las implicaciones micro-evolutivas de las presiones naturales y antropogénicas, tales como cambios ambientales y explotación pesquera (Allendorf *et al.*, 2008, Nielsen *et al.*, 2009b; Stapley *et al.*, 2010). Nielsen *et al.* (2009b) proporciona referencias y

detalles para abordar la adaptación genética en peces. Los dos enfoques generales son: (1) el uso de datos de referencia existentes para la identificación de genes candidatos, o (2) escanear los genomas inexplorados de señales de selección utilizando NGS (Allendorf *et al.*, 2008). El estudio de la variación adaptativa permite inferir diferencias de población microgeográficas en una escala de tiempo ecológica. Una desventaja probable de estudiar la radiación adaptativa en los elasmobranquios es que la última manifestación de adaptación evolutiva generalmente implica experimentos para proporcionar evidencias de la relación entre la variación genética y la aptitud de los individuos residentes versus no residentes (Nielsen *et al.*, 2009b). Esto será particularmente difícil para especies de peces cartilaginosos grandes y móviles, pero puede ser posible utilizando juveniles o pequeñas especies demersales con la colaboración de acuarios públicos. Las áreas emergentes del mapeo genético o genómico (Manel *et al.*, 2003; Hansen & Hemmer-Hansen, 2007; Selkoe *et al.*, 2008; Schwartz *et al.*, 2009; Segelbacher *et al.*, 2010) permiten una valiosa adaptación local mediante el estudio de la genética de poblaciones en relación con gradientes ambientales naturales (Hemmer-Hansen *et al.*, 2007; Nielsen *et al.*, 2009a, c).

Integración de SNP – Los polimorfismos de un solo nucleótido (SNP por sus siglas en inglés), se han convertido en marcadores rutinarios a través de varios campos de la genética animal (Vignal *et al.*, 2002; Morin *et al.*, 2004). A la fecha, existen argumentos convincentes para usar SNP para estudios poblacionales en peces cartilaginosos aunque ninguno estudio ha sido publicado. Por una parte, los SNP son la forma más común de variación genética en la mayoría de los genomas, incluyendo regiones

codificantes y no-codificantes, lo que permite examinar la variación genética neutral y adaptativa a través de una sola clase de marcador. Además, la mayoría de los SNP son bialélicos y por lo tanto, adecuados para el genotipado de alto rendimiento. De igual forma, su modelo de mutación simple hace a los SNP fácilmente detectables, de interpretar y de comparar entre especies y laboratorios. En contraste, la mutación compleja de los microsatélites son mucho más difíciles de detectar e identificar (Li *et al.*, 2002; Morin *et al.*, 2004), pero pueden contener un alto número de alelos por locus y por lo tanto, son individualmente más poderosos para examinar la variación genética neutral. La utilización de una selección específica o un conjunto de SNP (Liu *et al.*, 2005), sin embargo, ofrece una alternativa más atractiva para la gestión y conservación de la investigación orientada a poblaciones naturales (Morin *et al.*, 2004); la que puede ser también aplicable métodos no-invasivos para la colección de muestras u obtención de ADN histórico de especies amenazadas o extintas (Morin & McCarthy, 2007). Los esquemas para el descubrimiento y selección de SNP deben estar bien preparados y la información resultante, debe ser corregidas a fin de evitar el sesgos metodológicos (Rosenblum & Novembre, 2007). Garvin *et al.* (2010), han realizado una revisión técnica mientras que Seeb *et al.* (2011), dedican un número especial para el desarrollo de marcadores de SNP.

La integración de genotipado de alto rendimiento — El genotipado es un aspecto importante de varios tipos de aplicaciones moleculares, incluyendo pero no limitando la asignación de las muestras a nivel de especies, poblaciones o individuos. Tecnologías de micromatriz y qPCR son herramientas muy eficaces para la

determinación del genotipo, aunque hay varios factores que influyen en su efectividad. La genotipificación basados en la hibridación es generalmente más eficaz para los SNPs que para los microsatélites, incluso si los chips electrónicos se ofrecen como alternativa (Radtkey *et al.*, 2000). Si SNP son preferidos debido en parte a la gama de oportunidades de genotipado, la elección de una técnica apropiada, dispositivo o plataforma dependerá de la escala y el diseño del estudio, es decir, los números relativos de SNPs, las especies y las muestras (Ragoussis, 2009; Allendorf *et al.*, 2008; Garvin *et al.*, 2010). Por ejemplo, Morgan *et al.* (2011) realiza un ensayo de qPCR basadas en mtADN y SNPs entre tres especies de carcharínidos morfológicamente crípticos, que era al menos dos veces más rápido y un 75% más barato que la secuenciación del ADN. Yoon *et al.* (2009) eligió una micromatriz de chip de oligonucleótidos para el mismo propósito, demostrando un aumento de la capacidad de esta técnica (> 10 especies). Tecnologías de genotipado de alto rendimiento pueden llegar a ser una herramienta muy importante para el manejo y conservación de elasmobranquios. Conocidos ensayos de diagnóstico utilizando primers especie-específicos y reacciones de PCR multiplexado para los elasmobranquios (Pank *et al.*, 2001; Chapman *et al.*, 2003; Abercrombie *et al.*, 2005. Magnussen *et al.*, 2007) pueden ser expandidos para cubrir ≥ 30 sondas específicas de especie en un solo chip de oligonucleótidos (Kochzius *et al.*, 2010), no sólo para la monitoreo de comercio sino también para monitoreo pesquero, captura y análisis mixto de poblaciones. El proyecto FishPopTrace (<http://fishpoptrace.jrc.ec.europa.eu/>) es un buen ejemplo de aletas de peces (Stokstad, 2010). Se hace necesaria la expansión de esta tecnología en los elasmobranquios.

5.1.2. Avances científicos y tecnológicos en la determinación demográfica de peces cartilagosos

El concepto de stock es fundamental en la práctica de la ciencia pesquera ya que constituye la unidad básica sobre la que se desarrollan los estudios de dinámica de poblaciones de organismos acuáticos explotados comercialmente y sobre la que se aplican las políticas de gestión pesquera. Se han distinguido variados conceptos de stock, siendo los dos más conocidos el stock “genético” y el stock “fenotípico”. El stock “genético”, es aquel que está formado por miembros de una especie que se aparean aleatoriamente y cuya integridad genética persiste si permanecen aislados como grupo, al menos durante el apareamiento, tanto espacial como temporalmente y el stock “fenotípico”, que se definen como grupos intra-específicos que difieren en la expresión de ciertos caracteres debido a efectos medio ambientales o genéticos.

Una de las definiciones más aceptadas es la propuesta por Ihssen *et al.* (1981) en la que un stock es un grupo intra-específico de individuos que se aparean de forma aleatoria y mantienen una integridad espacial o temporal. En algunas ocasiones los stocks aislados pueden re-asociarse después del aislamiento, por ejemplo tras la eliminación de una barrera física que hubiese representado un impedimento para la migración. Así se formarían stocks con límites disjuntos genéticamente pero ahora sin barreras al flujo génico o para que se de una aparente diferenciación morfológica (Grant *et al.*, 1999). En ausencia de otras fuerzas evolutivas el flujo génico llevará como consecuencia la homogeneidad genética o panmixia. Sin embargo, la existencia de la deriva genética también puede causar la diferenciación genética de

subpoblaciones aisladas. Es decir, desde un punto de vista genético la diferenciación entre stocks será la consecuencia del balance entre los efectos homogeneizadores del flujo génico y los efectos diferenciadores de la deriva genética (Allendorf & Luikart, 2007). En realidad el concepto de stock ha seguido un camino paralelo al desarrollo del concepto de “población”, con la excepción de que el stock normalmente se refiere a componentes de una especie que es explotada comercialmente mediante la actividad pesquera (Shaklee & Currens, 2003).

La población o el stock tiene una serie de características estadísticas y/o variables de estado que resultan de la suma de cada uno de sus individuos, las cuales, por los tanto, no pueden ser aplicadas a nivel individual. Estas características de grupo son: la densidad, la tasa de nacimiento, la mortalidad, la inmigración y emigración, la estructura poblacional (edades, tallas, composición genética, etc.) y la distribución de los individuos en el espacio (Krebs, 1994). Una población también puede ser definida como un grupo de individuos con una alta probabilidad de apareamiento entre ellos comparada con la probabilidad de apareamiento con un miembro de alguna otra población (Pianka, 2000). La población se define como un grupo de individuos de la misma especie que viven juntos en un área de suficiente tamaño como para permitir la dispersión normal y/o el comportamiento migratorio y en la cual los cambios numéricos están determinados en su mayor parte por los procesos de nacimiento y muerte.

De acuerdo con esta definición los grupos de organismos que viven en áreas más pequeñas son subpoblaciones y aquellos que ocupan áreas más grandes podrían ser considerados como metapoblaciones. Es decir, la metapoblación es la combinación

de todos los grupos locales de población, que además están separados unos de otros y que tiene un movimiento limitado entre ellos (McCallum, 2000).

La identificación de los stocks o de los límites geográficos dentro de los cuales se reproducen los adultos y se desarrolla el correspondiente ciclo biológico desde el huevo hasta el adulto, es crucial para una gestión efectiva de los recursos pesqueros (Mustafa, 1999). De hecho, el principal propósito de la identificación de stocks es proporcionar información para diseñar estrategias de gestión que prevengan el agotamiento de los stocks “débiles”, que debido a una errónea identificación pudieran ser explotados con unos criterios óptimos para stocks más “fuertes” (Begg, 2005). Los conceptos “débil” o “fuerte” se entienden en relación a la abundancia, productividad y resiliencia de dicho stock.

La manera más exitosa de abordar el problema de la definición de los límites de los stocks es la aplicación de una aproximación holística (Begg & Waldman, 1999), esto es, incorporando al estudio un amplio espectro de técnicas complementarias. Por ejemplo, los métodos genéticos pudieran no ser suficientes para definir los límites geográficos de los stocks en muchas especies de seres acuáticos y sin embargo, otros métodos como los basados en el fenotipo, proporcionar revelaciones sobre la estructura de stock (Grant *et al.*, 1999).

Con la aproximación holística, se puede obtener un marco de información lo más completo posible en respuesta a los requerimientos ecológicos, evolutivos, productivos y operacionales que una definición de stock puede conllevar (Abaunza, 2007). Los diferentes métodos que se pueden utilizar para la identificación de stocks

han sido recogidos recientemente y de forma exhaustiva en Cadrin *et al.*, (2005). Estos métodos se pueden clasificar en:

- Análisis de las características del ciclo vital de la especie: crecimiento, reproducción, mortalidad, reclutamiento, abundancia y distribución. Los estudios de distribución se llevan a cabo normalmente mediante datos de capturas comerciales de la pesquería.
- Uso de marcas naturales: morfometría, merística, uso de los parásitos como marcadores biológicos y análisis genético (secuenciación del ADN mitocondrial o microsátélites).
- Marcado físico: uso de marcas externas (captura/recaptura), marcas pop-up y satelitales.

La investigación sobre la identificación de stocks puede proporcionar respuestas a dos problemas prácticos planteados en la gestión pesquera y que están relacionados entre sí. Uno es la “identificación de stock”, que se refiere a la identificación inicial de las unidades poblacionales existentes dentro de una misma especie y de sus fronteras, y el otro es la “discriminación de stock” que se refiere al proceso de clasificar individuos dentro de esas unidades de stock (Waldman, 2005).

En la discriminación de stock, el investigador tiene una aproximación sobre cuáles son los stocks verdaderos y aplica técnicas estadísticas apropiadas sobre un rango de características biológicas con el fin de discriminar la composición de las capturas de diferentes stocks en una misma área de pesca (Wood *et al.*, 1989; Waldman *et al.*, 1997; Pella & Masuda, 2001).

La elección del plan de muestreo es un paso crucial en los estudios de identificación de stocks. Para ello, además del conocimiento estadístico, hay que tener en cuenta las características biológicas y ecológicas de la especie (Waters & Erman, 1990). Un mal planteamiento en este proceso de diseño puede llevar al fracaso de los objetivos del proyecto y resultar del todo imposible una síntesis de la información necesaria para identificar stocks.

La aproximación holística para la identificación de stock, parece ser especialmente pertinente para aquellas especies con complejas identidades de stock y/o que requieren una gran cantidad de altamente técnicos para abordar el estudio (Begg & Waldman, 1999). En estos casos, es de esperar que si se aplican todas las técnicas sobre el mismo espécimen se facilitará la interpretación de los resultados así como la comparación de las prestaciones de las diferentes técnicas (Waldman *et al.*, 1997), y además se podrá reducir parcialmente la incertidumbre asociada a los estudios observacionales.

El éxito en los estudios de identificación de stock, y en particular en las aproximaciones holísticas, sólo se pueden lograr si hay una idea clara de los aspectos operacionales, logística y organización del diseño de muestreo. En general, para comprender los procesos biológicos, como aquellos que son pertinentes para la identificación de stock, es necesario estudiar tanto los patrones biológicos espaciales como los temporales (Kingsford *et al.*, 1998).

Para llevar a buen término un estudio completo de identificación de stock, el muestreo deberá incluir toda el área de distribución de la especie. En algunos casos, la escala espacial puede ser inabordable desde un punto de vista operacional, haciendo

que sea entonces más apropiado considerar sólo un área determinada, que por supuesto ha de ser lo suficientemente extensa como para que poblaciones locales se puedan desarrollar en ella. En el caso específico de las rayas volantín y espinosa, se consideran las 5 localidades donde se efectúa una pesquería de importancia, es decir, las localidades de San Antonio, Valdivia, Puerto Montt, Aysén y Punta Arenas. Sin embargo, en estos estudios limitados siempre habrá dudas respecto al área verdadera de distribución de los stocks, así como respecto a posibles migraciones hacia o desde poblaciones vecinas. El diseño de muestreo debe por lo tanto recoger los dos requisitos siguientes:

- (a) Aplicar una escala espacial adecuada para obtener información sobre posibles discontinuidades en las características y parámetros poblacionales.
- (b) Considerar un apropiado tamaño de muestreo, que sea también práctico desde un punto de vista operativo, con el fin de alcanzar los objetivos mencionados anteriormente.

No siempre es sencillo cumplir con estos dos requerimientos. Por supuesto, antes de cualquier diseño de muestreo, la primera etapa que hay que cubrir es la revisión de la información existente sobre las características de la estrategia vital de la especie, su ecología y otros estudios de identificación de stocks. Las poblaciones no son entes estáticos sino que varían a lo largo del tiempo. En la escala de tiempo en la que se suele trabajar en pesquerías, del orden de años, esta variación concierne sobre todo a cambios en la distribución, abundancia y en algunos parámetros biológicos. La

variación en relación a procesos evolutivos basados en la genética, normalmente ocurre en una escala de tiempo mucho mayor.

Sin embargo, una repetición del muestreo en el tiempo en estas poblaciones de rayas podría recomendarse para mostrar variaciones en las frecuencias génicas causadas por procesos selectivos. Además, de acuerdo con la teoría neutralista, las variaciones podrían predecirse debido a los cambios en el tamaño de las poblaciones (Gauldie, 1988). La identificación de stock está basada en la falsificación de la hipótesis nula de que no hay diferencias entre las poblaciones muestreadas. A nivel genético esta hipótesis nula se corresponde con la existencia de panmixia. En el caso de que se encuentren diferencias, éstas deberían ser estables en el tiempo para poder llegar a conclusiones válidas.

En los peces y las rayas, la localización de las áreas de desove y el momento en el tiempo en el que se produce la reproducción, son con frecuencia aspectos específicos de una población (Dodson, 1997). Los peces se reproducen en un entorno (área y época del año) que tienda a maximizar la producción de descendientes a lo largo de su vida. Por lo tanto, hay una serie de procesos selectivos que conducen a las estrategias reproductivas. Como dijo Wootton (1998) “las características reproductivas están determinadas por el genotipo y por lo tanto por la historia evolutiva del acervo génico del cual el pez o ejemplar en cuestión es miembro”. En consecuencia, uno de los principales objetivos en cualquier diseño de muestro para la identificación de stock es el de obtener muestras en las áreas de puesta durante la época de desove (Begg, 2005).

Una manera de asegurar que los especímenes se encuentran en el área de puesta es mediante la observación del estado de madurez de las gónadas cuando se realiza el muestreo, especialmente en el caso de las hembras, para asegurar que los especímenes estén en estado activo de puesta, de acuerdo a la presencia de cápsulas a punto de desovar, desovando o habiendo acabado de desovar recientemente, por la forma y ancho del oviducto.

Uso de los parásitos como marcadores biológicos en estudios de identificación de stocks

Cualquier estudio de dinámica de una población de peces explotada comercialmente debería comenzar por la determinación de su identidad biológica en relación a las poblaciones vecinas de la misma especie. Para evaluar el estado de las poblaciones de peces y conseguir una eficiente gestión de las mismas, se requieren datos sobre los siguientes parámetros relacionados con su dinámica: crecimiento, reclutamiento, mortalidad natural, mortalidad por pesca y comportamiento migratorio (Hilborn & Walters, 1992). Estos parámetros deben describir de forma precisa la población objeto de estudio, de manera que la aplicación de los modelos de dinámica de poblaciones pueda reflejar verazmente la demografía y la evolución de la población.

Las técnicas y métodos usados para obtener información sobre la estructura de stock, son de tres tipos principales: marcadores naturales; marcado físico y uso de información relativa a las características de la estrategia vital. Uno de los métodos basados en las marcas naturales: es el uso de los parásitos como marcadores

biológicos. El estudio de la biología de los parásitos posibilita una mejora del conocimiento de la del huésped, dada la íntima relación que existe entre ambos. De ahí que los parásitos hayan sido ampliamente utilizados como indicadores biológicos en el estudio de las poblaciones, migración y filogenia de los peces (Williams *et al.*, 1992).

La primera publicación que describió el uso de los parásitos como marcadores biológicos en el estudio de una población de peces marinos se remonta a más de 60 años atrás. Desde entonces, han sido numerosos los artículos científicos y revisiones que se han publicado sobre el tema (Sindermann, 1961; 1983; Kabata, 1963; MacKenzie, 1983; 1987; 2002; Lester, 1990; Moser, 1991; Williams *et al.*, 1992; Arthur, 1997; MacKenzie & Abaunza, 1998).

La parasitología y la biología pesquera tienen definidos sus propios campos de investigación que necesitan integrarse para la utilización de los parásitos como marcadores biológicos. El problema es que el investigador tiene que considerar las fuentes bibliográficas de ambos campos: a) en relación a la práctica de la parasitología: nociones de sistemática, métodos de laboratorio, biología de los parásitos; b) en relación a las poblaciones de los huéspedes (en este caso peces): técnicas de muestreo e interpretación de los resultados teniendo en cuenta la dinámica de poblaciones del huésped, etc.

El principio básico que subyace en el uso de los parásitos como marcadores biológicos en estudios de poblaciones de peces es que éstos pueden infectarse con un parásito solamente cuando provienen de un área que es endémica para dicho parásito. El área endémica es aquella región geográfica en la cual las condiciones son adecuadas para la transmisión del parásito. Si los peces infectados se encuentran fuera del área

endémica, podemos inferir que los peces habían estado en dicha área en algún momento de su pasado histórico. La información sobre el tiempo máximo que un parásito puede vivir en un huésped particular nos permite estimar el periodo de tiempo desde que el huésped dejó al área endémica de dicho parásito. Cuantos más parásitos con diferentes áreas endémicas se puedan usar, más información se puede obtener sobre los movimientos pasados de las poblaciones del huésped (peces, mamíferos marinos y mariscos), y por lo tanto sobre la estructura de stock.

Por otra parte, además del endemismo, un análisis a fondo de los parámetros estadísticos de la infestación como son: la abundancia (media del número de parásitos por huésped examinado), la intensidad media (media del número de parásitos por huésped infectado examinado), la prevalencia (porcentaje de la población huésped infectada por el parásito) (Bush *et al.*, 1997), así como un análisis del tipo de distribución de la abundancia de parásitos, también puede proporcionar información igualmente útil a la hora de interpretar características poblacionales de los huéspedes.

La manera más eficiente de abordar la identificación de stocks es mediante la aproximación holística o multidisciplinar, en la cual los resultados de los diferentes técnicas y métodos de marcado se comparan y se utilizan para complementarse unos con otros. Sin embargo, cada método tiene sus propias fortalezas y debilidades, y el uso de los parásitos como marcadores biológicos presenta ciertas ventajas sobre otros métodos como el marcado físico o artificial (Williams *et al.*, 1992) y los estudios genéticos (MacKenzie, 2002). El parásito marcador ideal puede ser descrito como aquél que posea las siguientes características, de acuerdo a los criterios de selección sugeridos por Kabata (1963), Sindermann (1983), MacKenzie (1983; 1987) y Williams

et al. (1992). Parásitos que cumplan con todos estos criterios son muy raros de encontrar, por lo que normalmente hay que adoptar una serie de compromisos:

- El parásito debería mostrar en el huésped objetivo unos niveles de infección significativamente diferentes entre las distintas zonas del área de estudio. Los datos de infección se pueden analizar de acuerdo a la prevalencia, intensidad y abundancia de dicha infección, tal como están definidos en Bush *et al.* (1997).
- El parásito debería persistir en el huésped objetivo por un largo periodo de tiempo, cuyo mínimo exigible dependerá de la naturaleza del estudio. En estudios de identificación de stocks y de reclutamiento, solamente se deberían usar los parásitos con una longevidad superior a un año de vida, mientras que para estudios de migraciones estacionales puede ser aceptable el uso de parásitos con una longevidad inferior al año de vida.
- Los parásitos con un ciclo de vida monoxeno o de ciclo directo (parásito que solo utiliza una única especie de huésped en su ciclo de vida, Noble *et al.*, 1989), como los trematodos monogéneos y la mayoría de los crustáceos parásitos, son los más simples de utilizar. Los parásitos con ciclos de vida complejos o heteroxenos (parásitos que utilizan varias especies de huésped durante su ciclo de vida, Noble *et al.*, 1989), tales como los trematodos digéneos, los cestodos, nematodos y acantocéfalos, son más difíciles de usar porque se requiere más información sobre los factores abióticos y bióticos que influyen en la transmisión del parásito entre los diferentes huéspedes. Una vez

obtenida esta información, los parásitos heteroxenos pueden también utilizarse de forma efectiva. Køie (1983), de hecho, sugirió que los trematodos digeneos tenían ventajas como marcadores sobre otros grupos taxonómicos de parásitos porque tienden a ser altamente específicos al huésped primario que normalmente suele ser un molusco. Por lo tanto, el área endémica de un parásito digeneo está determinada mayormente por la distribución geográfica de su molusco huésped.

- El nivel de infección debería permanecer relativamente constante de un año para otro. Si se observan variaciones anuales conviene cerciorarse del nivel, estrato, etc., al que se producen. Así, el análisis de los niveles de infección a través de las distintas cohortes del huésped a lo largo de varios años, puede mostrar unos niveles de variación diferentes que considerando a toda la población huésped en conjunto.
- La detección e identificación de los parásitos debe ser lo más fácil y sencilla posible. El examen del huésped debería conllevar una disección mínima, o de lo contrario el tiempo se convertirá en un factor limitante.
- Hay que evitar el uso de los parásitos con una patogenicidad alta y particularmente aquellos que afecten al comportamiento del huésped.

El estudio de los rasgos del ciclo vital en la identificación de stocks

Para ser capaz de evaluar y predecir el desarrollo de un stock de peces, en primer lugar se ha de identificar y definir el stock (NRC, 1998). Describir un stock es una tarea compleja y se necesita del análisis combinado de diferentes disciplinas de las ciencias biológicas, tales como la genética y el estudio de los parámetros del ciclo vital entre otros. Dentro de esta última disciplina el stock se puede describir en términos de tasas de crecimiento, supervivencia y reproducción, teniendo en cuenta también el comportamiento migratorio (Pawson & Jennings, 1996; Wootton, 1998).

El stock objetivo de la gestión pesquera debería por lo tanto tener unas características relativamente homogéneas de los parámetros del ciclo vital expuestos anteriormente (Gulland, 1971; Cushing, 1995). Teniendo en cuenta los claros nexos de unión entre dichos parámetros, la eficacia biológica individual y las tasas de incremento poblacional (Swain *et al.*, 2005), la comprensión de los rasgos del ciclo vital es un primer paso fundamental para identificar stocks, antes de aplicar otros análisis de identificación de stocks más específicos (Pawson & Jennings, 1996; Begg & Waldman, 1999; Begg, 2005). Además, los compromisos y estrategias que se producen en relación a los rasgos del ciclo vital, son fundamentales para entender la estructura de las comunidades ecológicas y las respuestas de las poblaciones a los cambios climáticos y oceánicos (King & McFarlane, 2003; Bonsall *et al.*, 2004).

En general, el stock debería ser identificado en base al área y al comportamiento de desove (Gulland, 1971). Muchas de las especies explotadas comercialmente cambian sus hábitats durante el devenir de sus vidas. Así, migran activamente a otras áreas diferentes para su alimentación, proceso de puesta o para pasar la etapa invernal. Resulta por lo tanto necesario conocer la distribución espacial

y temporal así como la variabilidad a diferentes escalas de las poblaciones de peces, especialmente para aquellas de las que se recogen datos para su posterior evaluación (Freon & Misund, 1999). Cuando se analizan los rasgos del ciclo vital es importante recordar que tener un cuerpo con más tamaño beneficia al pez en su proceso migratorio, tanto en términos de energía como de capacidad natatoria (Dodson, 1997). El tamaño también tiene una relación muy estrecha con los parámetros reproductivos, tales como la talla de primera madurez y la fecundidad. Por lo tanto, para comparar los parámetros de producción entre áreas diferentes hay que tener cuenta los posibles movimientos migratorios, así como la estabilidad espacio-temporal en los parámetros estudiados (Begg & Waldman, 1999).

Normalmente los datos sobre los parámetros del ciclo vital son recogidos de forma rutinaria por organismos o agencias estatales para obtener una información básica de los stocks explotados comercialmente, que es necesaria para la evaluación de dichos stocks. Es decir, el objetivo de esta información no suele ser la identificación de stocks sino su evaluación. Sin embargo, dependiendo de la resolución espacial y temporal de esos datos, esta información puede llegar a ser igualmente útil para el objetivo de la identificación de stocks. En los proyectos específicos de carácter científico, sí se recogen datos sobre los rasgos del ciclo vital con el fin de identificar stocks pero frecuentemente adolecen de limitaciones espaciales o temporales, debido a la falta de recursos necesarios, y resulta por lo tanto imprescindible tratar de integrar los datos recogidos de forma rutinaria por las agencias pesqueras.

Crecimiento – El crecimiento es uno de los parámetros de la historia vital más frecuentemente utilizado para identificar stocks de peces (Begg, 2005). De hecho, la tasa de crecimiento afecta al tamaño del cuerpo que tiene una positiva influencia sobre muchos rasgos de la historia vital como la fecundidad o la mortalidad (Swain *et al.*, 2005). El crecimiento de un organismo se puede definir como el balance entre la entrada de energía proporcionada por el consumo de alimento y la salida de energía representada por las pérdidas asociadas con el mantenimiento (Wootton, 1998). Esta ecuación podría expresarse en términos de un presupuesto energético, pero la mayoría de los estudios de crecimiento tienen que ver con la talla o el peso de los peces (Ricker, 1975). Así, tenemos las siguientes relaciones que describen aspectos del crecimiento y que se pueden usar para caracterizar stocks o poblaciones:

Relaciones talla-peso – El concepto de crecimiento implica cambios en las magnitudes relativas de talla y peso. Los datos de talla o peso combinados con la edad pueden ser utilizados para construir curvas de crecimiento. Los datos de talla son más fáciles de conseguir que los de peso, y éstos dos más fáciles de obtener que la edad del pez. Es por lo tanto deseable obtener una relación entre la talla y el peso para tener una conversión entre ambas variables. La expresión más comúnmente utilizada es la relación alométrica: donde W es el peso del pez; L es la talla del pez y a y b son constantes. El valor de b se determina normalmente mediante la forma logarítmica de la ecuación:

$$W = a \cdot L^b$$

En esta ecuación b es la pendiente de la regresión lineal del logaritmo del peso frente al logaritmo de la talla.

Factor de condición – La relación entre la talla y el peso proporciona un índice para cuantificar el estado de “salud” del pez (Wootton, 1998). Este índice, el factor de condición, se ha expresado de diversas maneras. En sentido estricto el factor de condición es el parámetro “ a ” en la ecuación de longitud/peso, pero normalmente se utiliza el índice ponderado K , que es una modificación de la misma expresión en la cual el valor del parámetro b se fija a un mismo valor = 3; con W en gramos y L en centímetros.

Reproducción – Los parámetros reproductivos también son fundamentales para entender la estrategia vital de los peces y los procesos biológicos que subyacen en el mantenimiento de la estructura de stock (Begg, 2005). Así por ejemplo, el estudio del desarrollo gonadal en los peces se utiliza para determinar el tamaño o edad a la que una especie determinada alcanza la primera maduración sexual, la proporción de la población apta para la reproducción y el ciclo reproductor que la caracteriza.

Acotar la época de puesta y determinar las áreas de desove, ayudan a explicar los cambios de distribución espacio-temporales de la población adulta. Esta información junto con la de la fecundidad permitirá explicar en gran medida el éxito o el fracaso reproductor de una población. Los conocimientos relacionados con la reproducción junto con aquellos referentes a la mortalidad y al crecimiento constituyen los pilares básicos en los que se asienta la teoría de la dinámica de

poblaciones y caracterizan a un stock en términos de productividad. Existen varios parámetros relacionados con la reproducción que se pueden tener en cuenta para caracterizar stocks o poblaciones (Begg, 2005): la época y localización del desove, la distribución de huevos y larvas, ojivas de madurez por talla o edad, índices gonadales de desarrollo, peso y viabilidad de los huevos, fecundidad, etc. Trataremos aquí algunos de los más frecuentemente utilizados:

Índice gonadosomático: El índice gonadosomático (IGS) se puede expresar como:

$$W_{gon} \cdot 100 \cdot W_t^{-1}$$

en las cuales W_{gon} es el peso de la gónada y W_t es el peso del pez.

Este índice se ha utilizado como indicador de los cambios que se producen durante el desarrollo gonadal. Así el valor más alto del IGS se correspondería con el pico de puesta o el momento inmediatamente anterior. También se ha utilizado para comparar áreas, poblaciones o stocks (Kreiner *et al.*, 2001). El uso del IGS evita en gran parte la subjetividad inherente en la asignación macroscópica de los estados de madurez. De esta forma, el análisis del IGS puede ser útil para ayudar a determinar las épocas y áreas de desove (Lehodey *et al.*, 1997; Brown-Peterson *et al.*, 2002), que es una información de vital importancia a la hora de identificar stocks.

La detección de diferencias en la época y área de puesta podría indicar un proceso de aislamiento reproductivo entre stocks en donde se restrinja el flujo génico hasta un nivel en el que efectivamente los stocks se puedan considerar casi aislados (Begg, 2005). Sin embargo, el uso del IGS no está exento de problemas. El periodo de tiempo en donde se observan los diferentes cambios en las gónadas puede no ser

coincidente según se analicen microscópicamente o mediante el IGS. Además, el IGS no compensa (“normaliza”) completamente los efectos de la talla o tamaño del pez (West, 1990); aunque en algún caso se ha mostrado que el IGS puede ser independiente del tamaño del pez (Lehodey *et al.*, 1997).

Para un mismo estado de madurez sexual, los peces pequeños tienen un IGS más bajo que los peces de mayor tamaño, y este efecto aumenta con la maduración del ovario. En otras palabras, el peso del ovario incrementa más rápidamente con la talla del pez que lo que incrementa el peso del cuerpo. Para que el IGS sea un índice válido de la actividad del ovario se deben cumplir una serie de requisitos. Uno de ellos es la relación lineal entre el peso de la gónada y el peso del cuerpo y como este supuesto raramente se cumple, la utilización del IGS como la razón simple entre el peso del ovario y el peso del pez no parece ser lo más apropiado. Otra expresión para el GSI que puede resultar más adecuada:

$$IGSi = a_i \cdot W / S^b$$

en donde W es el peso de la gónada; S es el tamaño del cuerpo (bien la talla o el peso del cuerpo menos el peso de la gónada); a_i y b son parámetros para la gónada de estado de madurez i .

Talla y edad de primera madurez – El cálculo de las ojivas de madurez permite conocer el número de individuos de la población que han alcanzado la madurez o en contraste los que son inmaduros. El porcentaje de individuos maduros por clase de talla o de edad se estima durante la época de desove. Los datos se ajustan a una curva logística y la talla o la edad a la que el 50% de los individuos están maduros proporciona la talla

o la edad de primera madurez. Para asegurar que los estudios comparativos entre áreas o stocks de las tallas o edades de primera madurez están basados en datos no sesgados, hay que tener en cuenta las siguientes consideraciones en la estimación de ojivas de madurez (Murua *et al.*, 2003):

1. Las muestras utilizadas para el análisis tienen que ser representativas y cubrir el rango de tallas completo de la población. Hay que tener en cuenta además aspectos de la distribución de la especie. Por ejemplo, la proporción relativa de un grupo de edad puede no ser la misma en un área típica de juveniles que en un área de puesta o de alimentación de adultos (ICES, 1999). Es importante que en el muestreo se cubran los rangos de talla y/o edad en donde se produce la transición del estado inmaduro al estado maduro.
2. Todo el componente adulto de la población tiene que incluirse en el análisis. Esto quiere decir que el uso de criterios de análisis histológicos microscópicos se ha de favorecer sobre el uso de criterios macroscópicos en los que resulta difícil distinguir los estados inmaduros de los estados de reposo y maduración temprana.
3. El periodo de tiempo en el que se estudia la madurez tiene que ser relativamente largo. En el caso de que sólo se cubra el periodo de freza, entonces puede ocurrir que un número de individuos que ya hubieran acabado el desove con gónadas en regresión, pudieran ser considerados como

inmaduros. Esto conduciría a una infraestimación de la talla de primera madurez. Por lo tanto, es recomendable cubrir todo el periodo reproductivo.

Fecundidad – Existen varios términos que se utilizan en relación a la fecundidad. Cualquiera de ellos refleja un concepto que puede ser útil para comparar rasgos de las estrategias vitales entre stocks. Así siguiendo a Murua *et al.* (2003) y Abaunza *et al.* (2003) llamaremos “fecundidad anual” al número total de huevos puestos por una hembra en un año (aquí no se incluyen los huevos reabsorbidos por el fenómeno de la “atresia” y se incluye los huevos producidos por una vitelogénesis “de novo”).

“Fecundidad relativa” será la fecundidad dividida por el peso de la hembra. Se denomina “fecundidad anual realizada” a todos los ovocitos con yema desarrollada madurados por año y corregido para la atresia, y “fecundidad por lote” es el número de ovocitos hidratados y/o ovocitos con núcleos-migradores que se producen en un lote. Es decir a la hora de establecer comparaciones de la fecundidad entre distintas muestras de peces hay que definir de qué fecundidad se está hablando y en cada caso tener en cuenta los factores que intervienen: si está o no corregida para la atresia, si se trata de la fecundidad por lote, etc. Además, para asegurar la veracidad de los parámetros que se comparan se ha de estar seguro de cumplir con los requisitos que cualquier estudio de fecundidad debe tener en cuenta tal como se describen en Murua *et al.* (2003).

En el caso de que sea un pez con puestas múltiples y con fecundidad indeterminada (esto es, que producirá durante la época de puesta una vitelogénesis “de novo”, con lo que el número de huevos potenciales no está definido en el momento

anterior a iniciarse el proceso de desove. Esto es justo lo contrario de lo que ocurre en los peces con fecundidad determinada), para averiguar la fecundidad total habrá que averiguar la fecundidad por lote y calcular el número de veces (número de lotes) que pone al año (la frecuencia de puesta).

La fecundidad por lote media se determina mediante una regresión lineal entre la fecundidad por lote y el peso respectivo de la hembra quitando el peso del ovario (Begg, 2005). La línea de regresión se fuerza a que pase por el origen si la intercepción es distinta de cero, de forma que la estima de la fecundidad por lote sea independiente del tamaño del pez. Si se divide a la fecundidad por lote por el peso de la hembra entonces se obtiene la fecundidad relativa por lote:

$$Fbw = Fb/W$$

en donde Fb es la fecundidad por lote y W es el peso del pez.

La relación entre fecundidad y el tamaño del pez se ha demostrado para muchas especies de peces (Gunderson, 1977; Legget & Carscadden, 1978; Lehodey *et al.*, 1997; Yoneda & Wright, 2004), por lo que cualquier comparación de este parámetro entre áreas, poblaciones o stocks ha de hacerse entre muestras de la misma talla, o como se ha visto anteriormente teniendo en cuenta la influencia del factor tamaño del pez. Por otra parte, al igual que en el caso del crecimiento, para que los parámetros de la reproducción sirvan como criterio para caracterizar stocks se necesita una estabilidad temporal en los mismos. Si bien sus valores absolutos pueden cambiar, al menos se ha de mantener el patrón de diferencias observadas con otros posibles stocks. Hay que reconocer que por ejemplo la frecuencia de puesta puede

cambiar de un año a otro. Este parámetro está inversamente correlacionado con la atresia (reabsorción de ovocitos con yema), y por lo tanto también puede ser otra respuesta adaptativa a las condiciones medio ambientales presentes durante la época de desove (Abaunza *et al.*, 2003): buenas condiciones medio ambientales = frecuencia de puesta alta y menos atresia; malas condiciones medio ambientales = frecuencia de puesta baja y atresia alta.

5.2. Diseñar, aplicar y evaluar un plan de muestreo, temporal y geográficamente adecuado para alcanzar los restantes objetivos del proyecto

La metodología establecida para el análisis poblacional dentro del proyecto FIP 2013-29, denominada “Plan General de Muestreo”, no contempla la obtención de muestras de forma independiente sino, que requiere un muestreo pesquero-dependiente, es decir, que las muestras analizadas deban provenir de caladeros tradicionales de pesca utilizados por pescadores artesanales. A pesar de que ambas especies, *Zearaja chilensis* y *Dipturus trachyderma*, se encuentran actualmente en veda biológica (D. Ex. No. 20 y No. 21 de 2014) como consecuencia de una serie de procedimientos administrativos y recomendaciones para proteger la situación de las poblaciones; el proyecto FIP 2013-29 requiere de una cuota especial de extracción para la obtención de muestras en las localidades indicadas (Tabla 8). Considerando la distribución geográfica de ambas especies así como aquellas localidades, identificadas como puertos de desembarque de acuerdo a los registros históricos (SERNAP, 2010); se han identificado cinco localidades al interior de las unidades de pesquería con el fin de obtener muestras biológicas (Figura 5). Estas localidades, se han agrupado en tres zonas: zona centro (unidad de pesquería correspondiente al área marítima comprendida entre el límite norte IV región y el límite sur VII región), en la localidad de San Antonio. La zona sur (unidad de pesquería correspondiente al área marítima comprendida entre el límite sur VII región y el paralelo 41° 28.6 'S), cuya operación se circunscribe alrededor de la ciudad de Valdivia. La Zona Austral (unidad de pesquería

correspondiente al área marítima comprendida entre el paralelo 41° 28.6 'S y el límite sur XII región), con las localidades de Puerto Montt, Aisén y Punta Arenas. De igual forma, como puerto de desembarque de la captura proveniente del desarrollo de la presente pesca de investigación, se utilizaron los terminales pesqueros de San Antonio (V región), Niebla (XIV región), Chiquihue (X región), Aisén (XI región) y Punta Arenas (XII región).

Las variables biológicas, pesqueras y ambientales a registrarse se describen en detalle en el 'Manual del Observador Científico' (Lamilla *et al.*, 2010) en conformidad de la Res. Ex. No. 331 de 2012, referida a los "Protocolos, procedimientos e instrucciones para el monitoreo biológico de condrictios". El registro de información demográfica y sobre la biología reproductiva se rigen por los procedimientos descritos por Bustamante *et al.* (2009), para garantizar la integración de la nueva información con base de datos biológicos existentes de proyectos previos. El periodo de operación para la extracción de la cuota solicitada, contemplo el periodo entre el 1 de octubre 2014 y el 30 de noviembre de 2014.

Tal como se ha mencionado previamente, el presente proyecto se basa en una aproximación holística para identificar poblaciones de peces marinos a partir de lo propuesto por Cadrin *et al.*, (2005). Para tal efecto se han agrupado dos categorías (i.e., métodos genéticos y métodos no-genéticos), las metodologías a aplicar: análisis de estrategias de historia de vida, análisis morfológicos a través de morfometría geométrica, análisis de marcadores ambientales utilizando como proxy la carga parasitaria y nivel trófico; secuenciación del ADN mitocondrial, y análisis de microsatélites del ADN.

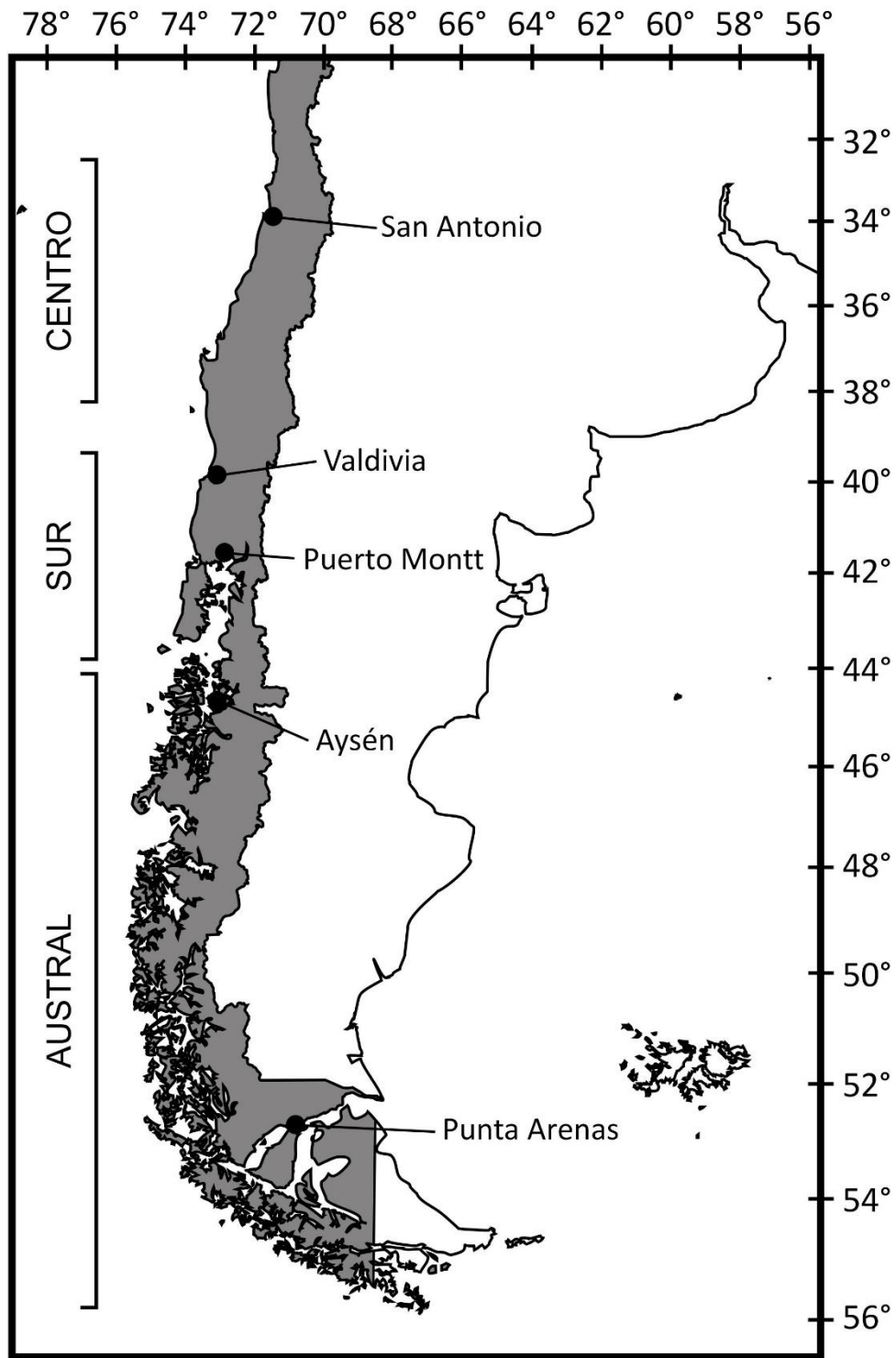


Figura 5 Principales localidades pesqueras donde se realizan actividad pesqueras sobre raya volantín y raya espinosa, a lo largo de las tres zonas de estudio.

Para la definición del estado poblacional a través de métodos genéticos y no-genéticos, las muestras fueron obtenidas sin reemplazo desde operaciones pesqueras de acuerdo al esquema de muestreo explicado anteriormente. De esta forma, la obtención de muestras se realizó a partir de la captura pesquera a bordo de embarcaciones en faenas de pesca comercial, con el fin de identificar la estructura de la población en ambas especies de rayas. Las muestras para el análisis genético fueron colectadas considerando las limitaciones técnicas y legales de las embarcaciones artesanales, i.e., exclusividad de operación en la franja de 5 nm desde la costa y la fidelidad de los sitios de desembarque obligatorios por Ley. Una muestra de tejido fue colectada desde el borde externo de las aletas pélvicas de cada espécimen de raya capturado. Esta selección de muestras será replicada en cada localidad cuantas veces sea necesario, hasta obtener el N requerido por especie y zona; de esta forma se asegura la independencia de los datos de pesca teniendo en cuenta la naturaleza gregaria y el movimiento local relativamente bajo descrito para este género de rayas (Dulvy *et al.*, 2000). Un esquema del plan general de muestreo se encuentra en la Figura 6, donde se indica el origen de las muestras y los parámetros de análisis respectivos.

Como ambos recursos en estudio se encuentran en veda biológica extractiva (D. Ex. No. 20 y No. 21 de 2014), no hay embarcaciones pesqueras autorizadas para su operación extractiva. Para tal efecto, y poder cumplir con los objetivos del presente proyecto, se solicitó a la Subsecretaría de Pesca una cuota especial de investigación de

“100 ejemplares o 2 toneladas por especie por localidad”. En consecuencia, la totalidad del muestreo será realizado por el equipo de trabajo en conjunto con una o dos embarcaciones artesanales, en las zonas tradicionales de captura de raya volantín en sus respectivas localidades.

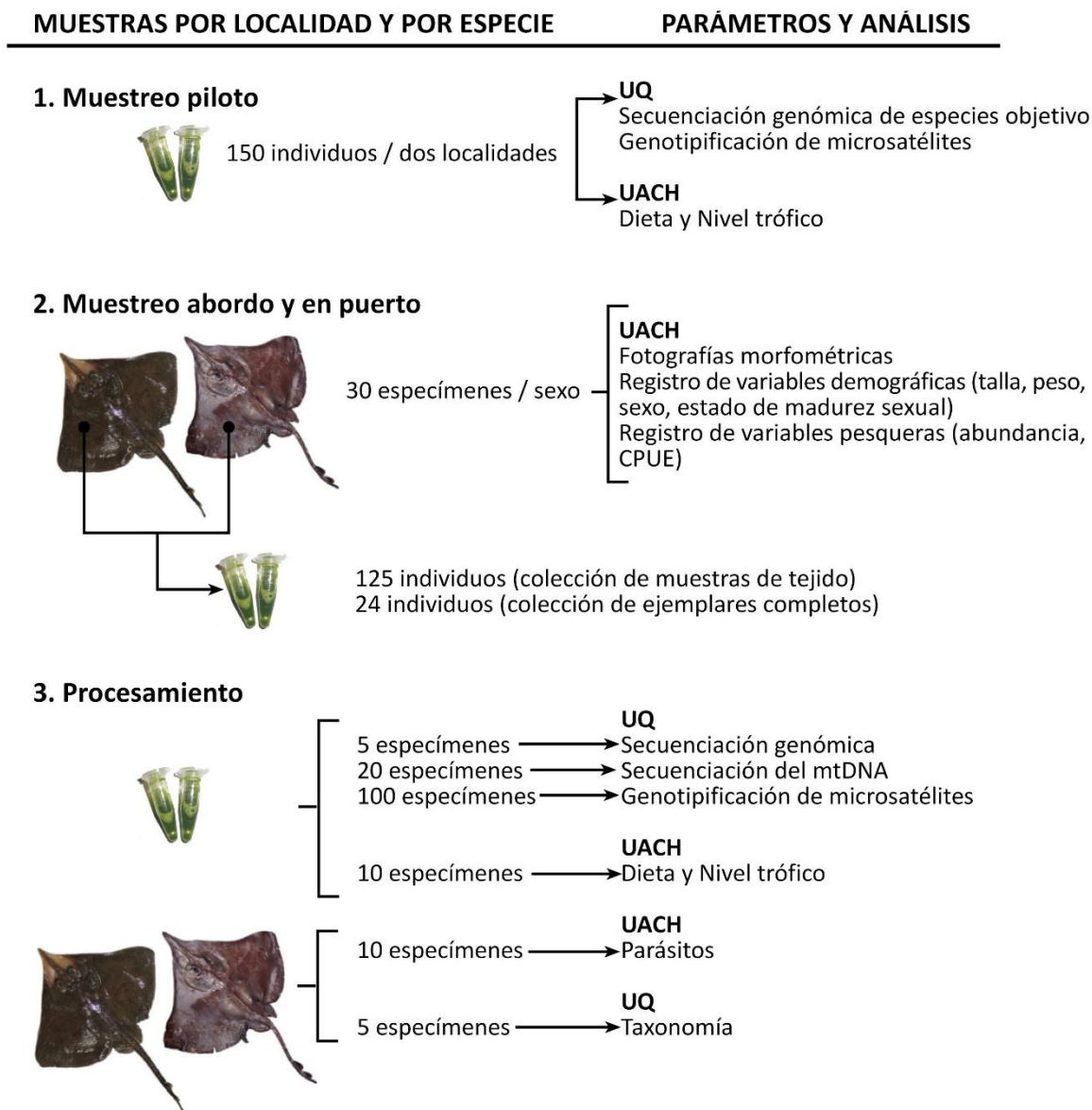


Figura 6 Esquema general del plan general de muestreo para la determinación de unidades poblacionales de raya volantín y raya espinosa en Chile, indicando sus

respectivas unidades funcionales: UACH (Universidad Austral de Chile) y UQ (Universidad de Queensland).

Tabla 8 Conjunto de variables (y respuesta esperada) a evaluar durante la ejecución de la presente propuesta de investigación.

VARIABLE		RESPUESTA
Identificación de la especie		Registro taxonómico de la asignación específica
Localidad/Zona		Identificación de la caleta de desembarque
Individualización del viaje de pesca		Registro de fechas y características de la embarcación
Información pesquera	<i>Localización</i>	Geo-referenciación y registro de profundidad de operación para cada lance de pesca
	<i>Captura</i>	Composición de la captura por lance de pesca, en número de individuos
	<i>Esfuerzo</i>	Descripción del arte de pesca
Información demográfica	<i>Estructura de talla en la captura</i>	Registro de longitud total en cm, análisis por especie y zona geográfica
	<i>Sexos</i>	Equilibrio poblacional H-W (machos y hembras)
	<i>Madurez sexual</i>	Caracterización de los órganos reproductivos
	<i>Mediciones</i>	Análisis de morfometría geométrica
Toma de muestras	<i>Análisis genéticos</i>	- Secuenciación genómica de especies objetivo
		- Secuenciación del mtADN
		- Genotipificación de microsatélites
	<i>Dieta y nivel trófico</i>	Diferencias poblacionales en alimentación y cambios en los niveles tróficos
	<i>Parásitos</i>	Diferencias poblacionales en alimentación en carga parasitaria
<i>Taxonomía</i>	Descripción de caracteres clave para la identificación de especies	

A través de un estudio previo realizado por la unidad técnica (referido como 'estudio piloto' en la propuesta técnica), se han podido ajustar los requerimientos de información así como los protocolos para la toma de datos. La información relevante fue registrada en formularios donde se dispuso una copia para el Servicio Nacional de Pesca, además de copias de respaldo para verificación por parte del Concejo del Fondo de Investigación Pesquera y/o la Subsecretaría de Pesca.

El objetivo del plan general de muestreo es la obtención de total de 100 individuos por especie y localidad para describir la estructura poblacional a través de la secuenciación genómica y genotipificación de microsatélites. Durante los meses de noviembre y diciembre 2014, se capturaron 581 rayas en cinco localidades a lo largo de Chile. Aunque inicialmente, se había considerado la participación de pescadores artesanales de la localidad de Lebu, estos decidieron no participar en el presente proyecto debido a diferentes intereses económicos y falta de incentivo. Un total de 3 toneladas fueron capturadas en San Antonio, Valdivia, Puerto Montt, Aisén y Punta Arenas, lo que representa 581 individuos. Del total de especímenes, 69.8% corresponden a raya volantín (*Z. chilensis*) y 30.2% a raya espinosa (*D. trachyderma*). Adicionalmente a la colección de tejido, se seleccionaron 10 especímenes por especie y localidad. En cada uno de estos especímenes se obtiene y registra el contenido estomacal (sin el estómago) y la válvula espiral. Finalmente, 10 ejemplares, 5 machos y 5 hembras (y al menos uno adulto por sexo) para cada especie y localidad, serán preservados completos y depositados en el Museo Nacional de Historia Natural.

5.3. Identificar y caracterizar genéticamente la(s) principal(es) unidad(es) evolutiva(s) de raya volantín y raya espinosa en la costa chilena

5.3.1. Una revisión sobre la biología, pesquería y conservación de las rayas *Zearaja chilensis* y *Dipturus trachyderma*

Se encontraron un total de 246 artículos en cuanto a la entidades biológicas *Zearaja chilensis* (n = 173) (Figura 7a) y *Dipturus trachyderma* (n = 73) (Figura 7b). Otros 32 artículos fueron excluidos de la matriz, los que únicamente mencionan la especie nominalmente en su contenido. Para *Z. chilensis*, el 77% de los artículos corresponden a las publicaciones científicas y 23% a literatura gris (en su mayoría informes técnicos de pesca), que abarcan casi 170 años desde su descripción original. A pesar de ser una especie relativamente más joven, *D. trachyderma* tiene una proporción similar en los estudios publicados, con un 76% y 24%, respectivamente.

La categoría más estudiado para ambas especies son es 'listados e inventarios biológicos' con al menos un artículo por año, alcanzando hasta 61 publicaciones en *Z. chilensis* y 32 en *D. trachyderma* (Figura 7). Algunas publicaciones contienen información sólo específica sobre la identidad taxonómica o sobre muestreos específicos, mientras que otros informan únicamente datos históricos y/o registros de observación sin mención de las características diagnósticas utilizadas para el reconocimiento de las especies, y por lo tanto son considerados como informes dudosos. Entre las categorías menos populares se encuentran 'hábitat y hábitos' y 'genética', con sólo cinco publicaciones para *D. trachyderma* (Figura 8). La falta de

información en estas categorías podría proporcionar orientaciones futuras de la investigación aplicada, sobre todo en la alimentación de la ecología y la estructura de la población como proxy para entender la dinámica de poblaciones, uso de hábitat y movimientos. Sin embargo, ha habido un marcado aumento en el número de estudios publicados para ambas especies después del año 2000 y especialmente después de 2005 (Figura 9), donde ambas especies se convirtieron en un activo importante para la economía chilena así como un aumento en el interés pesquero junto con la creación de nuevas categorías de desembarque especie-específicas para *Z. chilensis* y *D. trachyderma* (Figura 9). Las rayas hocicudas siguen siendo poco conocidas y poco estudiadas, principalmente debido a la dificultad de acceso (especies de aguas profundas), dependencia de la actividad pesquera para la toma de muestras, y los problemas asociados con el manejo de grandes animales de valor económico. Para evitar un futuro cercano, el colapso de la población debido a medidas de administración incompletas, existe una urgente necesidad de llenar estos vacíos de conocimiento, e instando a investigadores para estudiar (y publicar) en aquellas categorías menos populares.

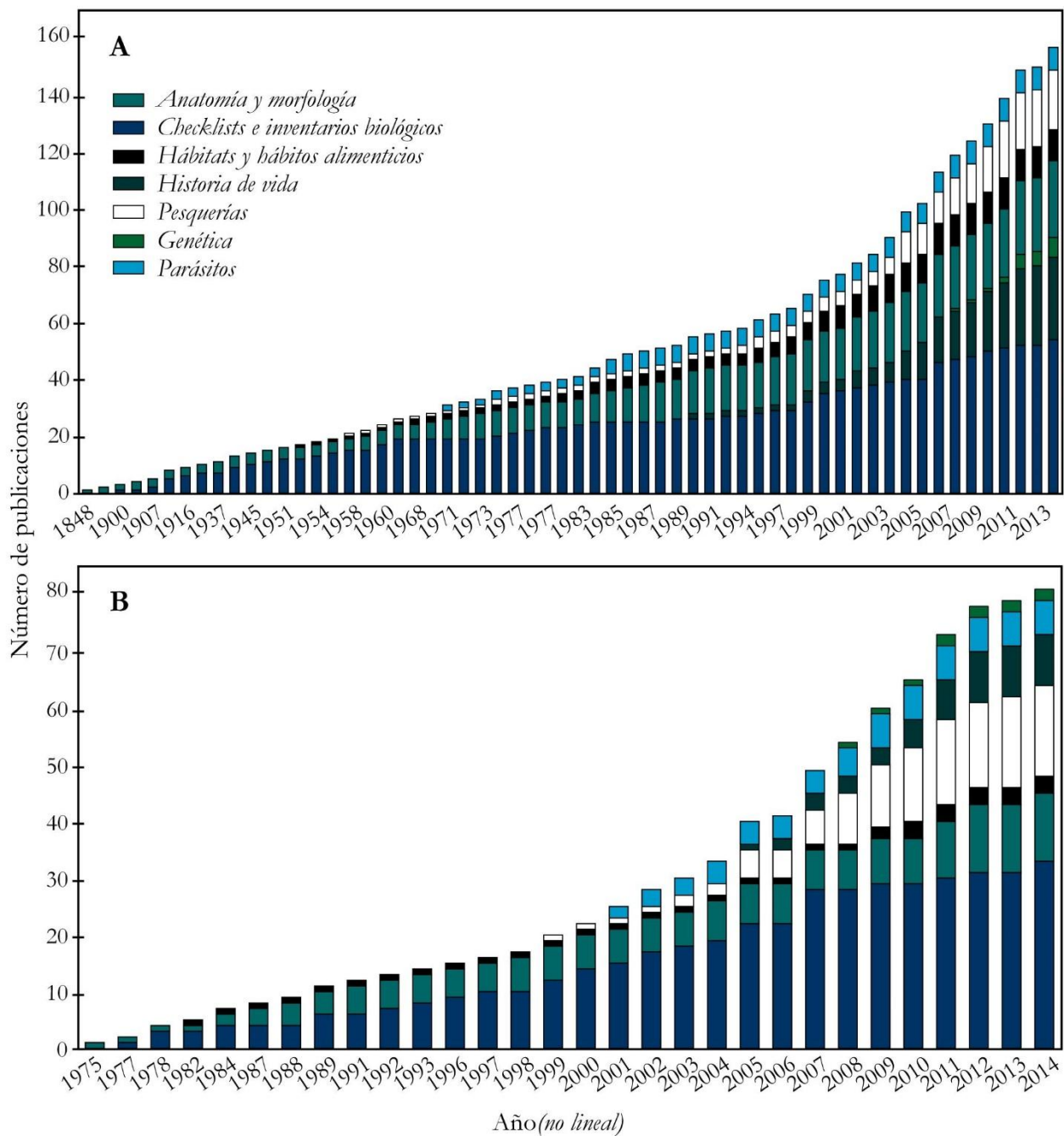


Figura 7 Número acumulado de publicaciones científicas, libros y reportes técnicos separados en siete categorías en relación con (a) *Zearaja chilensis* y (b) *Dipturus trachyderma* (detalles sobre las categorías en el texto).

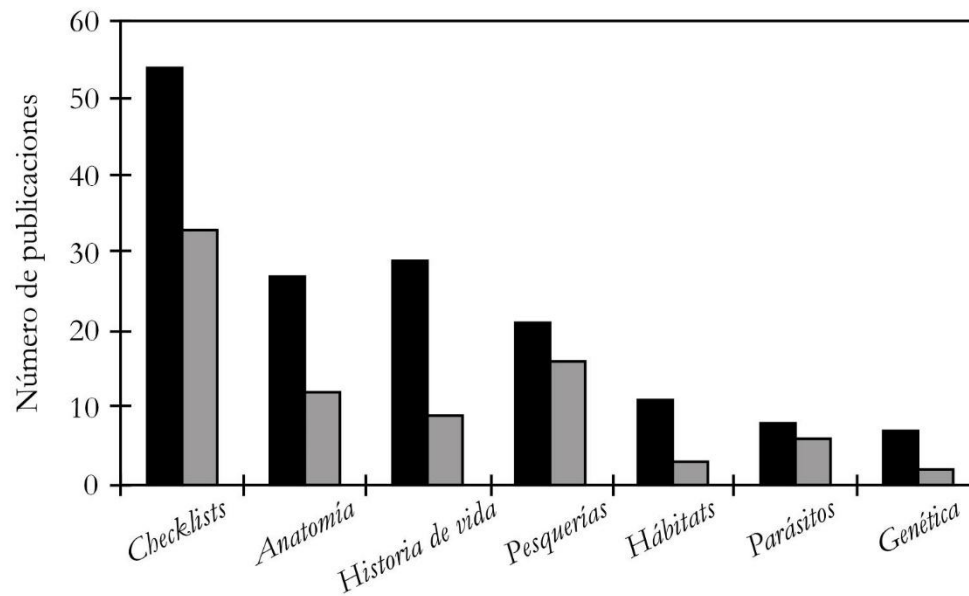


Figura 8 Número de estudios publicados para *Zearaja chilensis* (1848 – 2014) y *Dipturus trachyderma* (1975 – 2014) por categoría de investigación (ordenada por frecuencia).

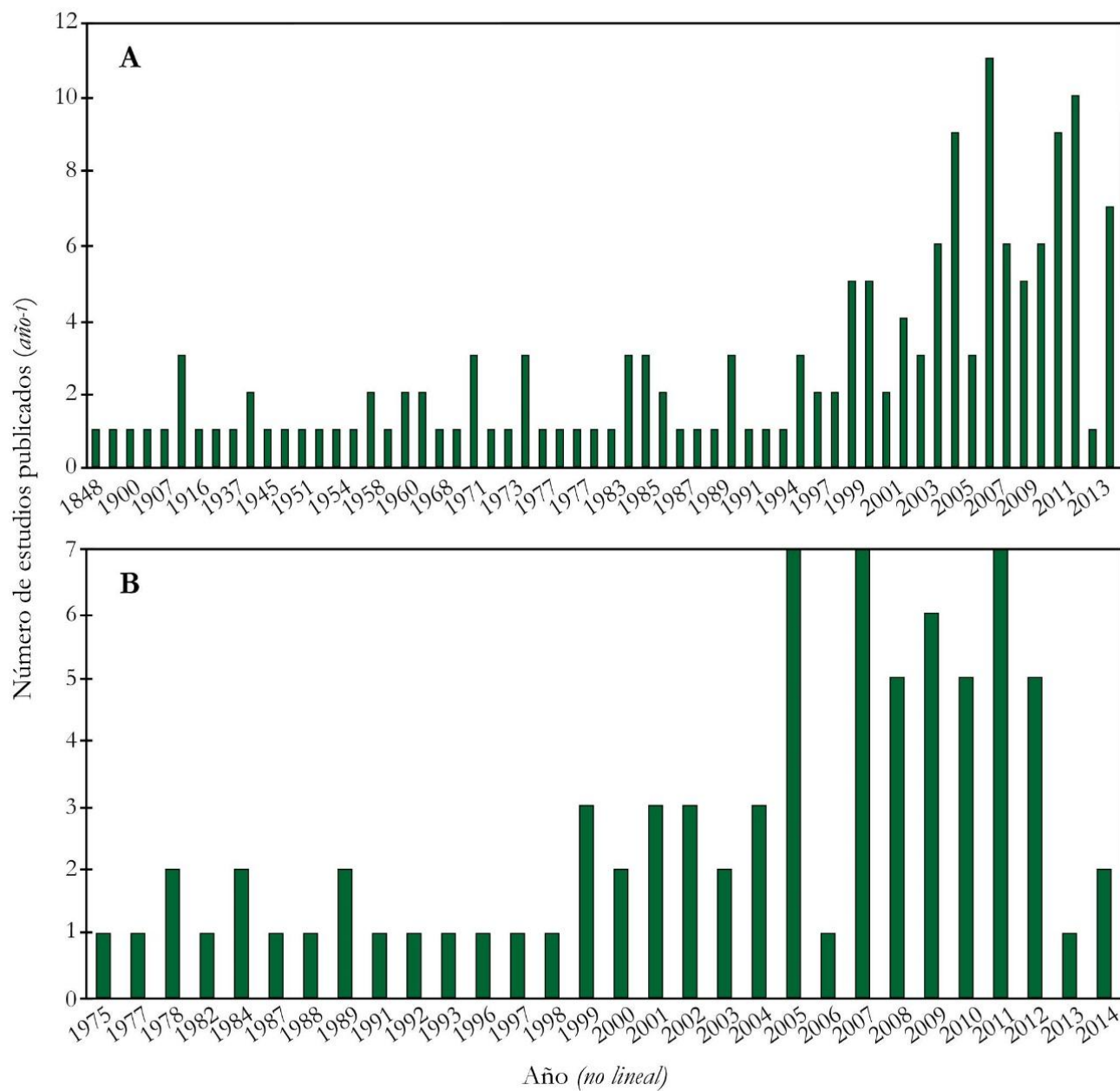


Figura 9 Número total de estudios publicados (no –acumulativos) en relación a (a) *Zearaja chilensis* y (b) *Dipturus trachyderma* entre 1975 y 2014.

Raya volantín *Zearaja chilensis* (Guichenot 1848)

Orden RAJIFORMES Berg 1940

Familia RAJIDAE Blainville 1816

Genero *Zearaja* Whitley 1939

Zearaja chilensis (Guichenot 1848) (Figura 10)

Raja chilensis; Guichenot, 1848 (Descripción original).

Raja chilensis; Philippi, 1892; Delfín, 1900; De Buen, 1959; De Buen, 1960; Carvajal, 1971; Carvajal & Goldstein, 1971; Bahamonde & Pequeño, 1975; Carvajal & Dailey, 1975; Pequeño, 1975; Pequeño, 1977; Ojeda, 1983; Fernández & Villalba, 1985; Pequeño & Lamilla, 1985; Villalba & Fernández, 1985; Sielfeld & Vargas, 1999; Gili *et al.*, 1999; Buschmann *et al.*, 2005.

Raja flavirostris; Philippi, 1892; Delfín, 1900; Garman, 1913; Gotschlich, 1913; Quijada, 1913; Fowler, 1916; Fowler, 1926; Norman, 1937; Oliver, 1943; Fowler, 1943; Fowler, 1945; Hart, 1947; Fowler, 1951; Bahamonde, 1953; Mann, 1954; Bigelow & Schroeder, 1953; Bigelow & Schroeder, 1958; De Buen, 1957; Angelescu *et al.*, 1958; Ringuelet & Aramburu, 1960; López, 1963(a, b); Hulley, 1966; Olivier *et al.*, 1968; Hulley, 1970; Menni, 1971; Ringuelet & Aramburu, 1971; Hulley, 1972; Castello & Tapia Vera, 1973; Sadowsky, 1973; Gosztonyi, 1979; Menni & López, 1979; Gosztonyi, 1981; Menni, 1981; Menni *et al.*, 1981; Menni & Gosztonyi, 1982; Menni & López, 1984; Menni *et al.*, 1984; Raschi, 1986; Threlfal & Carvajal, 1986; Prenski & Sánchez, 1988; Sánchez & Prenski, 1996;

García de la Rosa, 1998; Agnew *et al.*, 2000; Jo *et al.*, 2004; Wakeford *et al.*, 2005; Buschmann *et al.*, 2005.

Raja oxyptera; Philippi, 1892; Delfín, 1900; Lonnberg, 1907; Garman, 1913; Gotschlich, 1913; Quijada, 1913.

Raja latastei; Delfín, 1902.

Raja brevicaudata; Marini, 1933.

Raja (Dipturus) flavirostris; Stehmann, 1970; Menni, 1972; Menni, 1973; Stehmann, 1978; Leible, 1984; Leible, 1987; Leible & Stehmann, 1987; Leible, 1988; Fuentealba & Leible, 1990; Fuentealba *et al.*, 1990; López *et al.*, 1996.

Raja (Dipturus) chilensis; Pequeño, 1989; Lloris & Rucabado, 1991; Pequeño & Lamilla, 1993; Sáez & Lamilla, 1997; Bizikov *et al.*, 2004.

Dipturus chilensis; Bahamonde *et al.*, 1994; Bahamonde *et al.*, 1996; Mould, 1997; McEachran & Dunn, 1998; Meneses & Paesch, 1999; Paesch, 1999; Paesch & Meneses, 1999; Cousseau & Perrotta, 2000; Cousseau *et al.*, 2000, Lucífora *et al.*, 2000; Koen Alonso *et al.*, 2001; Gomes & Picado, 2001; Soto & Mincarone, 2001; Lamilla *et al.*, 2002; Last & Yearsley, 2002; Nion *et al.*, 2002; Sánchez & Mabragaña, 2002; Calderón *et al.*, 2003; Lamilla & Sáez, 2003; Meneses & Paesch, 2003; Buren, 2004; García de la Rosa *et al.*, 2004; Massa *et al.*, 2004; Smith *et al.*, 2004; Acuña *et al.*, 2005; Céspedes *et al.*, 2005; Lamilla & Bustamante, 2005; Quiroz & Wiff, 2005; Oddone *et al.*, 2005; Araya & Cubillos, 2006; Lamilla *et al.*, 2006; Licandeo *et al.*, 2006; Concha, 2007; Cousseau *et al.*, 2007; Ebert & Bizarro, 2007; Ebert & Compagno, 2007; Licandeo & Cerna, 2007; Licandeo *et al.*, 2007; Melo *et al.*, 2007; Aburto *et al.*, 2008; Andrade & Pequeño, 2008; Arkhipkin *et al.*,

2008; Díaz de Astarloa *et al.*, 2008; Domingo *et al.*, 2008; Lamilla *et al.*, 2008; Paesch & Oddone, 2008; Quiroz *et al.*, 2008; Reyes & Torres-Flores, 2008; Mabragaña *et al.*, 2009; Quiroz *et al.*, 2009; Ruarte *et al.*, 2009; Quiroz *et al.*, 2010; Zavatteri, 2010; Aversa *et al.*, 2011; Mabragaña *et al.*, 2011a; Quiroz *et al.*, 2011; Cortes & Cueto, 2012; San Martín & Trucco, 2012; Colonello & Cortes, 2013; Silveira *et al.*, 2014.

Dipturus flavirostris; Menni & Stehmann, 2000; Cedrola *et al.*, 2005; Bovcon & Cochia, 2007.

Dipturus (Zearaja) chilensis; Estalles *et al.*, 2011; Kyne & Sympfendorfer, 2007; Lamilla *et al.*, 2009.

Zearaja flavirostris; Menni *et al.*, 2010; Naylor *et al.*, 2012.

Zearaja chilensis; Kyne *et al.*, 2007; Last & Gledhill, 2007; Menni & Lucífora, 2007; Lamilla *et al.*, 2010; Vargas-Caro, 2010; Lamilla & Flores, 2011; Lamilla *et al.*, 2011; Mabragaña *et al.*, 2011b; Perier *et al.*, 2011; Queirolo *et al.*, 2011; Arkhipkin *et al.*, 2012; Bustamante *et al.*, 2012; Concha *et al.*, 2012; Deli Antoni *et al.*, 2012; Lamilla *et al.*, 2012(a, b); Naylor *et al.*, 2012; Bustamante *et al.*, 2014(a, b); Jeong & Lee, 2014; Sáez *et al.*, 2014; Vargas-Caro *et al.*, 2014.

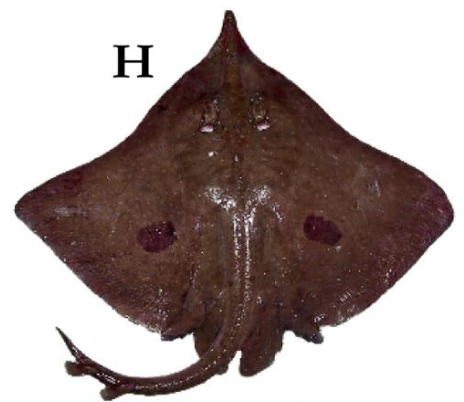
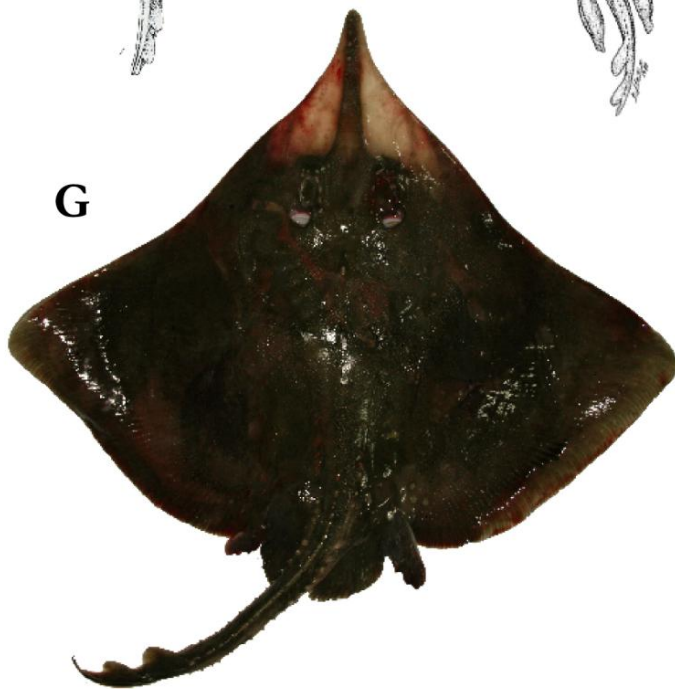
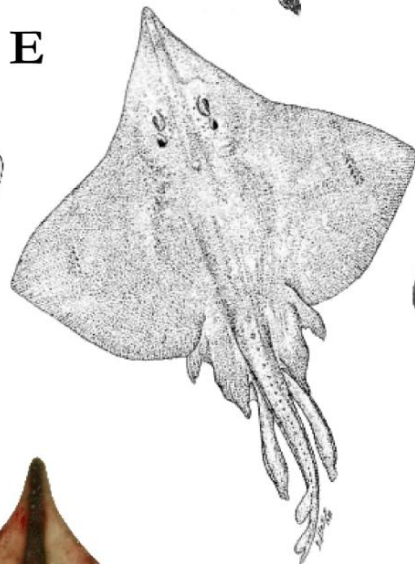
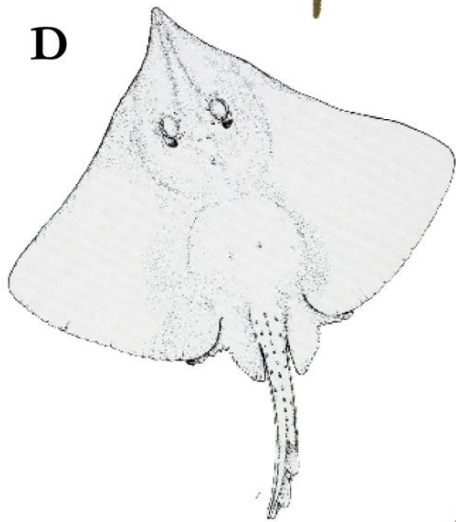
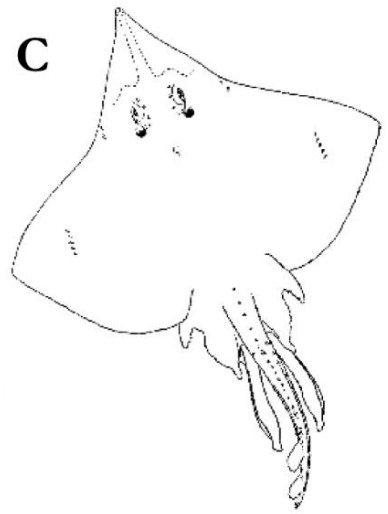
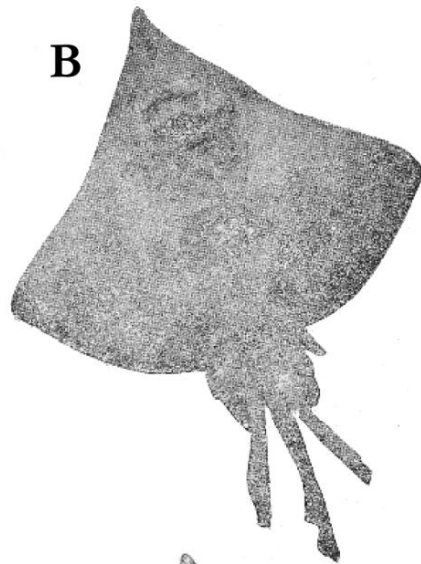
La raya volantín *Zearaja chilensis* fue descrita en 1848 y, desde entonces, la identidad de esta especie ha confundido a la comunidad científica. Guichenot (1848) describió la especie a partir de un macho de 836 mm de longitud total (LT) recogidos en la Bahía de Quintero, Chile. A pesar de que este reporte puede considerarse breve, el autor proporciona información sobre las características externas y destacó el hecho

de que era muy abundante en los mercados locales. Más tarde, Philippi (1982) describió *Raja flavirostris* (Figura 6a) sobre la base de dos hembras de 750 mm de longitud total media y *Raja oxyptera* (Figura 6b), a partir de un macho adulto de 1,080 mm TL de la misma localidad (Quinteros), y entrega una descripción completa incluyendo mediciones morfométricas y una detallada morfología externa. En esta ocasión el autor considera *R. flavirostris* y *R. oxyptera* como especie separadas, principalmente por tener diferentes patrones de espinulación en la región caudal, pero no incluyó una comparación con la anteriormente descrita *R. chilensis*. Delfín (1902) proporcionan la descripción de una nueva especie, *Raja latastei*, basado en un macho (mm LT 795) y una hembra (567 mm LT) de *R. chilensis* provenientes de Coquimbo. Garman (1913) sinonimiza a *R. latastei* y *R. flavirostris* además de proporcionar una comparación entre *R. oxyptera* y *R. flavirostris*. Los cambios aparentes en la madurez sexual debido morfología externa y cambios ontogenético serían los causales para separar dos morfotipos de *R. chilensis* y sugieren la reubicación *R. flavirostris* y *R. oxyptera* a la misma entidad biológica. Más tarde, Norman (1937) publicó una revisión exhaustiva de las rayas (Familia Rajidae) de la Patagonia argentina, con evidencias que apoyan la hipótesis de Garman; y sugiere que esta "identidad biológica" correspondería *R. flavirostris* e incluye *R. chilensis* como un sinónimo *senior*. Interesante, De Buen (1959) proporcionó una descripción y comparaciones de las rayas hocicudas en Chile utilizando muestras (machos y hembras) desde la localidad tipo *R. chilensis*; y concluye que *R. flavirostris*, *R. latastei* y *R. oxyptera* debe ser sinónimos de *R. chilensis* ampliando la descripción original de Guichenot con diferentes morfotipos. Las observaciones de De Buen fueron apoyadas

por Leible (1984, 1987) y Leible *et al.* (1990), quienes describen a *R. chilensis* como una especie polimórfica, distinguiendo al menos tres claras morfotipos diferentes en el centro y sur de Chile, lo que ha sido confirmado por Pequeño & Lamilla (1985), Pequeño (1989), y Lloris & Rucabado (1991). Siguiendo el principio de prioridad del Código Internacional de Nomenclatura Zoológica (ICZN), es recomendable el uso y la aplicación del nombre de *R. chilensis* en lugar de *R. flavirostris*, a la entidad biológica reconocida como 'raya volantín' en aguas chilenas; sin tener en cuenta las recomendaciones de Menni & Stehmann (2000), quienes plantean el cambio de ranking y combinación (artículo 23c ICZN, 1968) y el poder plenario (artículo 79b, ICZN 1968) para considerar a *R. chilensis* como sinónimo *senior* de *R. flavirostris*.

El análisis filogenético proporcionado por McEachran & Dunn (1998), propone la elevación del subgénero *Dipturus* (anteriormente bajo *Raja*) a nivel de género mediante el uso de caracteres morfológicos internos y externos dentro de la Familia Rajidae, tal como fue sugerido inicialmente por Stehmann (1970). Recientemente, Last & Yearsley (2002), han resucitado a *Zearaja* como un subgénero (anteriormente bajo *Dipturus*); mientras que Last & Gledhill (2007) elevan a *Zearaja* como género sobre la base de las características clave de la anatomía externa e interna del cláster. Como consecuencia, la combinación *Zearaja chilensis* (Guichenot 1848) es válida a la fecha, y se sugiere la reubicación de *Raja latastei*, *R. flavirostris* y *R. oxyptera* como sinónimos júnior.

Figura 10 (página siguiente) Morfotipos descritos para *Zearaja chilensis*. **A** Descripción original, hembra, 750 mm LT, Chile (Philippi 1982). **B** macho maduro, 975 mm LT, Chile (Delfín, 1902). **C** macho adulto, Argentina (Norman, 1937). **D** macho inmaduro, 374 mm LT, Argentina (Bigelow & Schroeder, 1958). **E** macho maduro, Argentina (Lloris & Rucabado, 1991). **F** Hembra, Islas Malvinas (Bizikov *et al.*, 2004). **G** Hembra, 690 mm LT, Los Vilos (Chile) (Melo *et al.*, 2007). **H** Hembra madura, 770 LT, Valdivia (Chile).



Raya espinosa *Dipturus trachyderma* (Krefft & Stehmann 1975)

Orden RAJIFORMES Berg 1940

Familia RAJIDAE Blainville 1816

Genero *Dipturus* Rafinesque 1810

Dipturus trachyderma Krefft & Stehmann 1975 (Figura 11)

Raja (Dipturus) trachyderma; Krefft & Stehmann, 1975 (Descripción original);

Krefft, 1978; Leible & Stehmann, 1987; Leible, 1988; Pequeño, 1989; Lloris & Rucabado, 1991; Pequeño & Lamilla, 1993; López *et al.*, 1996; Bizikov *et al.*, 2004.

Raja trachyderma; Menni & Gosztanyi, 1977; Menni & Gosztanyi, 1982; Séret, 1989;

Sielfeld & Vargas, 1992; Sielfeld & Vargas, 1999; Gili *et al.*, 1999; Buschmann *et al.*, 2005; Thiel *et al.*, 2009.

Dipturus trachydermus; López *et al.*, 1989; Compagno, 1999; Knoff *et al.*, 2001b;

Knoff *et al.*, 2002; Oyarzún *et al.*, 2003; Knoff *et al.*, 2004; Cedrola *et al.*, 2005; Compagno, 2005a; Kyne & Simpfendorfer, 2007; Lamilla & Massa, 2007; Menni & Lucífora, 2007; Reyes & Torres-Flores, 2008; Muniz-Pereira *et al.*, 2009; Quiroga *et al.*, 2009; Kyne & Simpfendorfer, 2010; Menni *et al.*, 2010.

Dipturus trachyderma; Stehmann, 1978; Menni *et al.*, 1984; Mould, 1997; McEachran

& Dunn, 1998; Menni & Stehmann, 2000; Cousseau *et al.*, 2000; Gomes & Picado, 2001; Soto & Mincarone, 2001; Knoff *et al.*, 2001a; Nion *et al.*, 2002; Lamilla & Sáez, 2003; Smith *et al.*, 2004; Compagno, 2005b; Lamilla, 2005; Lamilla & Bustamante, 2005; Céspedes *et al.*, 2005; Lamilla *et al.*, 2006; Licandeo *et al.*, 2006; Bovcon & Cochia, 2007; Ebert & Compagno, 2007; Cousseau *et al.*, 2007;

Licandeo *et al.*, 2007; Melo *et al.*, 2007; Jeong & Nakabo, 2008; Arkhipkin *et al.*, 2008; Díaz de la Astarloa *et al.*, 2008; Domingo *et al.*, 2008; Lamilla *et al.*, 2008; Quiroz *et al.*, 2008; Santos *et al.*, 2008; Góngora *et al.*, 2009; Mabragaña *et al.*, 2009; Lamilla *et al.*, 2010; Quiroz *et al.*, 2010; Estalles *et al.*, 2011; Lamilla & Flores, 2011; Lamilla *et al.*, 2011; Mabragaña *et al.*, 2011a; b; Moreira *et al.*, 2011; Perier *et al.*, 2011; Queirolo *et al.*, 2011; Sáez & Lamilla, 2012; Arkhipkin *et al.*, 2012; Concha *et al.*, 2012; Lamilla *et al.*, 2012a,b; Bovcon *et al.*, 2013; Bustamante *et al.*, 2014 a,b.

La raya espinosa *Dipturus trachyderma* fue descrita por Krefft & Stehmann (1975) (Figura 11a), utilizando un macho inmaduro de 1,135 mm TL como holotipo. Este espécimen fue recogido durante los cruceros de R/V "Walter Herving" a América del Sur en 1971, frente al sur de Argentina (49° S, 60° 52' W) en el borde de la plataforma continental externa entre 195 y 200 m de profundidad. Los autores proporcionaron información general acerca de la morfología externa, neurocráneo y cintura pélvica. Teniendo en cuenta que el espécimen tipo es un juvenil inmaduro, la descripción de los caracteres sexuales secundarios está ausente, es decir, clásper y patrones de espinulación. Muestras adicionales fueron colectadas en aguas argentinas, pero por desgracia y debido al gran tamaño de estos animales, solo las mediciones externas generales son registradas (por ejemplo, TL) y, en algunos casos, algunas partes del cuerpo fueron preservadas (Menni & Gosztanyi 1977, 1982). Por ejemplo, una hembra grávida de 2370 mm LT fue capturado de la plataforma patagónica en Argentina, lo que habría contribuido a la biología reproductiva de las especies, pero sólo la longitud

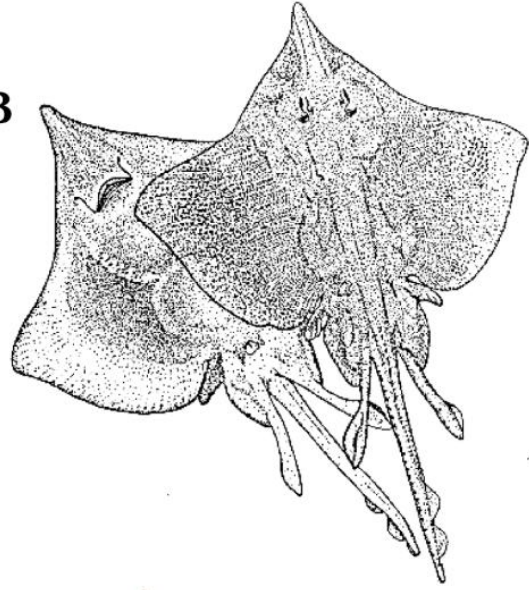
total fue informada. En 1987, Leible & Stehmann (Figura 11b) describen la especie a partir de muestras de aguas Chilenas. Incluso con algunos ejemplares incompletos, los autores fueron capaces de proporcionar una descripción detallada de neurocráneo y cintura pélvica, incluyendo información merística, morfométrica, así como variaciones de forma y escamación. Además, Leible & Stehmann (1987) proporcionaron la primera descripción del cartílago escapulo-coracoide y morfología externa e interna de cláspes. Por desgracia y desde entonces, ningún otro estudio ha abordado caracteres morfológicos. Aunque, información general adicional sobre de la demografía se puede encontrar en listados y guías de campo (Lloris & Rucabado, 1991; Cousseau *et al.*, 2000; Bizikov *et al.*, 2004; Lamilla & Bustamante, 2005; Cousseau *et al.*, 2007).

Figura 11 (*página siguiente*) Morfotipos descritos para *Dipturus trachyderma*. **A** Descripción original, hembra, 1135 mm LT, fuera de Argentina (Kreff & Stehman, 1975). **B** Macho, 2000 mm LT, Chile (Leible & Stehmann, 1987). **C** Macho, 2075 mm LT, Canal Beagle (Lloris & Rucabado, 1991). **D** Hembra, Islas Malvinas (Bizikov *et al.*, 2004). **E** Hembra, 780 mm LT, Los Vilos (Chile) (Melo *et al.*, 2007).

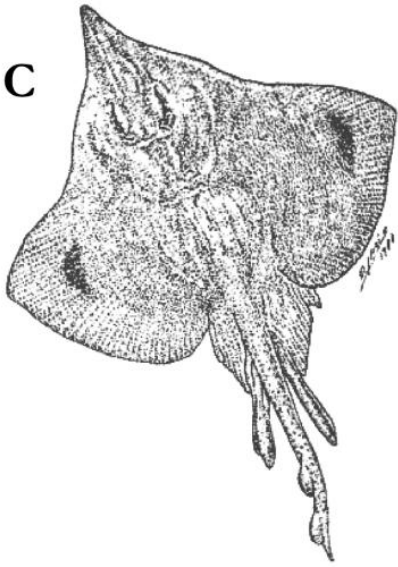
A



B



C



D



E



Características generales

Diagnosis - Zearaja chilensis se caracteriza por la combinación de los siguientes caracteres: disco más amplio que largos, márgenes anteriores ondulados y ángulos exteriores obtusamente puntiagudos. Cartílago rostral largo y fuerte con un rostro de color amarillo-blanco. Superficie dorsal del disco de color marrón oscuro, ocelos están presentes en cada aleta pectoral. Lado dorsal del disco liso, con dentículos esparcidos irregularmente por todo el cuerpo, espinas en la serie orbital, rostro, nuca, cola; y alar y malares (en machos). Superficie ventral con áreas blanquecinas y de color marrón, márgenes posteriores del disco de color marrón rojizo; la mayor parte del disco, las aletas pélvicas y la cola de color pálido a marrón claro. Espinas alares bien desarrolladas con 1 – 3 filas de cada aleta pectoral. Cola con 1 – 3 filas (una mediana y dos laterales) en los machos, y hasta 5 filas en las hembras con un máximo de 47 espinas; 1 a 5 espinas interdorsales. Filas de dientes en la mandíbula superior 30 – 46.

Dipturus trachyderma se caracteriza por la combinación de los siguientes caracteres: disco ampliamente rómbico con esquinas exteriores agudas; margen anterior del disco cóncavo y convexo en el margen posterior con el ángulo interno redondeado a nivel de las aletas pélvicas. Hocico duro, largo y puntiagudo. Superficie dorsal del disco de color marrón oscuro y sin un patrón u ocelos notorios; sólo los poros mucosos son de color negro. Superficie ventral tan oscura como la parte dorsal, de color marrón rojizo en los márgenes posteriores del disco; hendiduras branquiales y cloaca de color blanco cremoso. Ambos lados dorsal y ventral, completamente cubiertos por dentículos dérmicos, por la excepción del vientre que es liso. Espinas

oculares y espiraculares presente pero la espina nucal está ausente y no hay otras espinas en el disco. Espinas alares muy bien desarrolladas con 4 – 5 filas en cada aleta pectoral. Cola con 1 – 3 filas (una mediana y dos laterales) en los machos y hasta 5 filas en hembras con un máximo de 43 espinas; 1 a 4 espinas interdorsales. Filas de dientes en la mandíbula superior 36 – 44.

Tamaño del cuerpo - Las mediciones corporales se utilizan por lo general como un punto de referencia biológico y como proxy para discriminar especies de la mayoría de los estudios de taxonomía, crecimiento, madurez sexual, tamaño máximo y estructura de la población (Francis, 2006). Hubbs & Ishiyama (1968) encontraron que varias especies de rayas comúnmente difieren en el tamaño relativo de muchas partes de la cabeza, tronco, cola y aletas, así como entre sexos. Como consecuencia, investigadores han utilizado una variedad de mediciones haciendo la comparación entre los estudios casi imposible, y en algunos casos lleva a la comparación de datos no- válidos y conclusiones incorrectas (De Buen, 1959; Francis, 2006; Last *et al.*, 2008b).

Diversos autores han estandarizado un número discreto de las medidas corporales que deben ser utilizadas por investigadores para describir un espécimen o una nueva especie, con el fin de ser adecuado para las comparaciones. Hubbs & Ishiyama (1968), publicaron y definieron un gran número de medidas del cuerpo (aproximadamente 76); incluyendo el disco, cola, aletas, cabeza, tronco y zonas craneales. Además, recomiendan el uso del ancho de disco (DW) como la variable independiente cuando se calculan las proporciones relativas de las medidas del

cuerpo de las rayas debido a la alometría negativa de la longitud de la cola como parte de la longitud total (TL). Hulley (1970) utilizó la longitud total como la medición de referencia estándar para las proporciones del cuerpo, que tiene una mayor variación encontrada en las proporciones cuando se utilizó el ancho del disco. Stehmann (1970) también prefiere longitud total sobre el ancho del disco como la medición de referencia para rajióideos. Templeman (1973) a través de mediciones repetidas en animales frescos indica que el ancho del disco es muy variable, y esto es diferente cuando los peces se miden en diferentes estados y por diferentes observadores. En material preservado, el DW depende de la forma en la que se ha conservado la muestra y destaca la importancia de hacer mediciones cuando el animal aún está fresco. Más tarde, Francis (2006) revisó los métodos utilizados para la medición corporal en condriictios, y recomienda el uso de la longitud total como referencia en batoideos. Consciente de la necesidad de una metodología estándar para medir las rayas, Last *et al.* (2008b) proponen una lista resumida de 46 mediciones (y definiciones) y recomiendan el uso de la longitud total como referencia del tamaño del cuerpo.

La longitud total se ha utilizado por la mayoría de los investigadores como la variable independiente en la descripción de la morfometría de especies de rayas, y se considera como una norma adecuada para todos, excepto en individuos muy pequeños. Según Templeman (1987), la alometría negativa extrema de la longitud de la cola reduce la eficacia de la norma longitud total en rayas pequeñas o embriones. En la mayoría de los casos, sólo algunas de las mediciones del cuerpo se toman en los estudios publicados y éstos, por lo general, no son comparables debido a la utilización

de la longitud total (TL) o la anchura del disco (DW) como referencia. Y las rayas hociudas nos no están ajenas a este problema: un total de 7 estudios han documentado morfometría (entre 13 y 23 variables) para *Z. chilensis* (Philippi, 1982; Delfín, 1902; De Buen, 1959; Menni, 1973; Pequeño & Lamilla, 1985; Leible, 1987; Lloris & Rucabado, 1991) y sólo tres para *D. trachyderma* (entre 15-20 mediciones) (Kreff & Stehmann, 1975; Leible & Stehmann, 1987; Lloris & Rucabado, 1991). Sin embargo, estos autores utilizan una variedad de medidas como descriptores del cuerpo y no sólo utilizan la longitud total como referencia, lo que hace prácticamente imposible la comparación entre los estudios.

El tamaño mínimo y máximo reportado para *Z. chilensis* es de 156 mm y 1580 mm LT, respectivamente, donde las hembras crecen tamaños más grandes que los machos (Norman, 1937; Bahamonde, 1953; De Buen, 1959; Leible, 1987; Fuentealba & Leible, 1990; Leible *et al.*, 1990; García de la Rosa, 1998; Cousseau *et al.*, 2000, 2007; Gomes & Picado, 2001; Cedrola *et al.*, 2005; Licandeo *et al.*, 2006; Licandeo & Cerna, 2007; Paesch & Oddone, 2008; Estalles *et al.*, 2011; Lamilla *et al.*, 2012 a, b; Bustamante *et al.*, 2012). Sin embargo, *Dipturus trachyderma* alcanza tamaños mayores a *Z. chilensis*, con un tamaño máximo reportado de 2540 mm LT para hembras y 2320 mm LT para machos en océanos Atlántico y Pacífico (Leible & Stehmann, 1987; Cousseau *et al.*, 2000; 2007; Gomes & Picado, 2001; Cedrola *et al.*, 2005; Licandeo *et al.*, 2007; Lamilla *et al.*, 2012 a, b). Koen Alonso *et al.* (2001), sugieren tamaño mayores a los reportados para *Z. chilensis* (hasta 1500 mm TL), con una talla máxima de 2480 mm de LT para hembras y 2220 mm LT para machos, pero teniendo en cuenta el rango de tamaño global y las características externas (Leible,

1987; Cedrola *et al.*, 2005; Iglesias *et al.*, 2010; Estalles *et al.*, 2011), estos ejemplares podrían ser una identificación errónea de *D. trachyderma* en aguas argentinas.

Coloración - En batoideos el color de la superficie dorsal es generalmente marrón, gris, negro, o amarillento; pero los colores rojo, azul, y verde también se producen en la piel dorsal en algunas especies; aunque la piel ventral generalmente es de color más claro y sin manchas (Kemp, 1999). Ishiyama (1958b) evaluó la importancia sistemática del color en rayas de Japón, y su relación con su distribución geográfica. Múltiples factores tienen que ser considerados antes de asumir que las variaciones de color son resultado de cambio intra-específicos y ontogenéticos, tal como si el color del tegumento es uniforme o irregular, la variación de la superficie dorsal y ventral cuando está fresco y conservado, la presencia de marcas de color o patrones de colores en cualquiera de las superficies del cuerpo, y la presencia de ocelos pectoral. En general, el patrón de color en las rayas puede reflejar cambios de hábitat en ambos rangos, horizontal y vertical, llegando a la conclusión de que las variaciones inter-específica de color, se debe principalmente a factores ambientales independientemente de la relación filogenética. Hubbs & Ishiyama (1968), establecieron que la coloración del cuerpo es una característica importante a revisar en nuevas especies, señalando que el patrón de color en diferentes áreas a menudo diagnóstico y sugiere la evaluación de ambos dos lados por separado, el ventral y el dorsal. Las observaciones del color del disco a nivel dorsal debe incluir el hocico, cráneo, aleta pectoral (es decir, la presencia o ausencia de ocelos), el tronco y las áreas de cola, incluyendo las aletas dorsales y caudal. Las observación disco ventral deben

incluir la boca, hendiduras branquiales, aletas pectorales, pélvicas y de la cola, así como los poros sensoriales especialmente desarrollados alrededor de la cabeza.

La coloración de *Zearaja chilensis* es de color rojo-marrón cuando está fresca, por lo general con manchas oscuras irregulares en cara dorsal que puede desaparecer después de unas horas. Ambos lados del cartílago rostral son amarillentos o translúcidos; y en algunos individuos un gran ocelo circular está presente en la base de cada aleta pectoral. El disco ventral es de color marrón con el abdomen de color blanco cremoso; las aletas pélvicas son de color blanco en la base y rojizo alrededor de los bordes. Los numerosos poros mucosos son de color negruzco y están presentes en la superficie ventral. En los machos adultos, la sección del terminal del cláspere tiene un color rojizo-marrón más claro (Norman, 1937; De Buen, 1959; Leible, 1987; Lloris & Rucabado, 1991; Bizikov *et al.*, 2004; Cousseau *et al.*, 2007).

En *Dipturus trachyderma*, la superficie dorsal es de color marrón oscuro uniforme y sin un patrón discernible aunque los poros mucosos son de color negro. Los ocelos están ausentes en las aletas pectorales. La superficie ventral es de color oscuro/negruzco en áreas grandes, en parte debido a la cobertura con capa mucosa secundaria; el color de fondo es de color marrón oscuro, especialmente en los márgenes posteriores de disco, el abdomen, la pelvis, lóbulos posteriores y parte inferior de la cola. La mandíbula, hendiduras branquiales y cloaca están marcadas de color blanco cremoso. Los poros ventrales están marcados aunque son indistintos debido al color de fondo oscuro. En los machos adultos, la sección del terminal del cláspere tiene un color rojizo-marrón más claro (Krefft & Stehmann, 1975; Leible & Stehmann, 1987; Lloris & Rucabado, 1991; Cousseau *et al.*, 2000, 2007). Aunque

algunas variaciones de color se podrían ser observados debido al crecimiento del cuerpo, dimorfismo sexual y los cambios ambientales (Ishiyama, 1958b; Leible 1988).

Dentículos dérmicos – Los dentículos dérmicos o escamas placoideas son una característica de la piel de los elasmobranquios y holocéfalos; los que cubren todo el cuerpo en los tiburones pero por lo general se distribuyen en forma discontinua en batoideos y quimeras (Reif, 1985; Kemp, 1999). Los dentículos dérmicos consisten en una placa basal (BP) incrustado en la dermis, un cuello que conecta la BP a la corona y una corona espinosa expuesta (Kemp, 1999). En general, la morfología de los dentículos dérmicos puede diferir drásticamente entre especies e incluso regiones del cuerpo; y por lo general están asociados a roles funcionales incluida la protección contra depredadores, la reducción de la abrasión mecánica y arrastre (Reif, 1985; Bushnell, 1991; Raschi & Tabit, 1992; Lang *et al.*, 2012). Las rayas tienen una impresionante variedad de dentículos dérmicos en el disco dorsal y ventral, sobre todo alrededor de la cabeza, el tronco, las aletas pectorales y pélvicas, y la cola. Los dentículos más pequeños, llamados espínulas (o 'prickles' en Inglés) tienen menos de 2 mm de longitud y pueden cubrir bien el dorsal, ventral o ambas superficies del disco (Ishiyama, 1958; Stehmann & Bürkel, 1984; Leible, 1988; Deynat, 2000a; Gravendeel *et al.*, 2002). Los dentículos de mediano tamaño, conocidas como espinas (o 'thorns'), son más grandes a 3 mm y tienen un BP circular o en forma de estrella. Las espinas están situadas generalmente en la superficie dorsal y se pueden separar en serie según la región del cuerpo, es decir, serie orbital, rostral, nugal, escapular y caudal (Hubbs & Ishiyama, 1968; Stehmann & Bürkel, 1984; Gravendeel *et al.*, 2002). La distribución, número y el borde de la BP en las espinas son por lo general, de carácter

diagnóstico para la identificación de especies (Hubb & Ishiyama, 1968; Leible, 1988; Gravendeel *et al.*, 2002, Last *et al.*, 2008b). Las rayas tienen también, un carácter sexual secundario basado en dentículos dérmicos y presente en los machos adultos: una serie de dentículos grandes y curvados llamados ganchos, específicamente en la región malar y alar, que puede diferir entre las especies en número de filas transversales y longitudinales. Los ganchos alares son eréctiles y se agrupan cerca de los márgenes pectorales, mientras que los ganchos malares no son eréctiles y están alineados cerca del margen del disco a la altura de los ojos (Bigelow & Schroeder, 1953; Hubb & Ishiyama, 1968). Las espinas caudales y otros dentículos dérmicos, han sido utilizados en estudios taxonómicos y filogenéticos para discriminar especies de rayas actuales y fósiles (Stehmann & Bürkel, 1984; Gravendeel *et al.*, 2002). Recientemente, las espinas caudales también se han utilizado para estimar la edad algunas rayas a nivel mundial (Gallagher & Nolan, 1999; Henderson *et al.*, 2004; Gallagher *et al.*, 2006; Davis *et al.*, 2007; Matta & Gunderson, 2007; Moura *et al.*, 2007). Sin embargo, se han publicado pocas investigaciones en cuanto a la morfología de los dentículos dérmicos y sus variaciones con fines taxonómicos y filogenéticos (Deynat & Seret, 1996; McEachran & Konstantinou, 1996; Deynat, 1998; 2000a,b).

En general, todo el cuerpo de las rayas hocicudas se encuentra cubierto con dentículos dérmicos aunque el disco dorsal es más áspero que el lado ventral (Leible, 1988); *Dipturus trachyderma* se caracteriza por tener ambos lados, dorsal y ventral, totalmente cubiertos de espínulas cuando son maduros con la excepción de un parche suave alrededor del estómago (Kreffft & Stehmann, 1975; Menni & Gosztanyi, 1977; Leible & Stehmann, 1987). Sin embargo, *Zearaja chilensis* tiene un cuerpo

relativamente suave excluyendo zona rostral, con escasas espínulas en la superficie dorsal y sin dentículos notables en el disco ventral. En Tabla 9 se muestra el número de espina y su distribución en las diferentes zonas del cuerpo para las rayas hocicudas presentes en Chile, aunque algunos valores pueden variar según el sexo y el estado de madurez. Por ejemplo, la presencia de la serie alar en machos maduros la que es utilizada durante el apareamiento para mantener a la hembra, mientras que las hembras madura tienden a tener más espinas en la zona caudal que los machos (Leible, 1988). Además, la presencia de una espina nugal en *Zearaja chilensis* se ha considerado como un carácter diagnóstico que puede separarlo de *Dipturus trachyderma*, la cual no tiene ninguna espina en la serie nugal (Leible, 1987). Más tarde, el mismo autor reconoce que *Z. chilensis* es una especie polimórfica destacando que la espina nugal no siempre está presente, y no se debe tener en cuenta su presencia como una característica diagnóstica de la especie (Leible *et al.*, 1990). Sin embargo, este hecho ha sido ignorado en varias guías de campo (Cousseau *et al.*, 2000; Lamilla & Sáez, 2003; Lamilla & Bustamante, 2005; Cousseau *et al.*, 2007; Sáez & Lamilla, 2012) lo que aumenta la incertidumbre en la identificación rápida de especies.

Dentición – La morfología dentaria ha sido ampliamente utilizada en estudios taxonómicos, biológicos y fósiles de peces cartilaginosos (Herman *et al.*, 1994; 1995; 1996; Kemp, 1999; Adnet & Cappetta, 2001; Lamilla & Sáez, 2003; Sáez & Lamilla, 2012). La investigación aplicada relacionada a dientes de batoideos ha entregado la descripción completa de la morfología dental (Feduccia & Slaughter, 1974; Du Buit,

1978; Pequeño & Lamilla, 1979; 1985; Lamilla, 1986; Leible, 1987; 1988; Zorzi & Anderson, 1988; Lamilla & Meléndez, 1989; Herman *et al.*, 1994; 1995; 1996; Lamilla *et al.*, 1995; Lamilla & Sáez, 2003; Sáez & Lamilla, 1997; 2004; Delpiani *et al.*, 2012), en lugar de proporcionar información de cuanto al números, organización, malformaciones y dimorfismo sexual, considerando la adaptación ontogenética de los dientes en peces cartilagosos (Motta, 2004). La morfología dental puede variar dentro de una especie y estos cambios pueden estar relacionados con el tamaño del cuerpo, la preferencia de la dieta, la madurez sexual y el sexo (Bigelow & Schroeder, 1953; Leible, 1988).

Tabla 9 Variación en el número de dentículos dérmicos en la raya volantín *Zearaja chilensis* y la raya espinosa *Dipturus trachyderma* (Modificado de Guichenot, 1848; Philippi, 1892; Delfin, 1902; Norman, 1937; De Buen, 1959; Menni, 1973; Leible, 1987; Leible & Stehmann, 1987; Lloris & Rucabado, 1991; Bizikov *et al.*, 2004).

Serie	Rango	
	<i>Z. chilensis</i>	<i>D. trachyderma</i>
Orbital	1 – 9	1 – 7
Espiracular	1 – 2	n/a†
Nucal	0 – 1	0
Alar	9 – 33	17 – 48
Filas alares	1–3	4 – 5
Caudal	10 – 47	11 – 43
Interdorsal	1 – 5	0 – 4
Filas caudales	3 – 5	3 – 5

† No existe información disponible en la literatura mencionando esta serie.

Poco se conoce sobre la dentición de *Z. chilensis* y *D. trachyderma*. La literatura disponible se limita a descripciones de 'varias filas de dientes', que van desde 30 hasta 46 filas en *Z. chilensis* (Philippi, 1892; Delfín, 1902; Norman, 1937; Leible, 1987; 1988) y 36 a 44 filas en el caso de *D. trachyderma* (Krefft & Stehmann, 1975; Leible & Stehmann, 1987; Lloris & Rucabado, 1991). Leible (1987) describe el dimorfismo sexual dentario de *Z. chilensis*, con dientes afilados y cónicos (con punta) en rayas macho maduras mientras que las hembras tienen una forma ovalada y roma. El dimorfismo dentario se ha asociado a los hábitos de alimentación (Feduccia & Slaughter, 1974) y al comportamiento reproductivo (McEachran, 1977). Aunque no se han publicado más estudios en relación con la morfología dental o fórmulas dentales para rayas hocicudas en América del Sur, dos características ampliamente utilizadas como caracteres diagnósticos en peces cartilagosos.

Componentes esqueléticos – Los elasmobranquios generalmente comparten características externas que hacen que la identificación de especies dificultosa, sobre todo en los primeros estados de vida (Ishiyama, 1958b). Los estudios de la anatomía y sistemática de batoideos han revelado una variación significativa entre los sistemas anatómicos (Compagno, 1977; Miyake, 1988; Miyake & McEachran, 1991) y sobre todo en el neurocráneo, cintura pectorales y pélvicas, y en los órganos reproductores masculinos; los que proporcionan caracteres diagnósticos útiles (Ishiyama & Hubbs, 1968; Hulley, 1970; Stehmann, 1970; Hulley, 1972; McEachran, 1982; 1983). Según Ishiyama (1958b), diferencias en los componentes esqueléticos del cláster

proporcionan excelentes características sobre la relación filogenética dentro de los grupos genéricos y a nivel de especie; además de proveer un análisis discriminante entre especies estrechamente relacionadas. El cláspers es el carácter principal usado para resucitar a *Zearaja* a nivel de género (Last & Yearsley, 2002), y ha sido utilizado para trasladar otras especies del género *Dipturus* a este nuevo género (Last & Gledhill, 2007). Diferencias externas de morfología del cláspers son notorias entre rayas hocicudas; Por ejemplo, el escudo ('shield') es corto y robusto en *Zearaja* pero es largo y delgado en *Dipturus*; y el lóbulo distal es espatulado en *Zearaja* y es redondo en *Dipturus*. Internamente, los cláspers pueden diferir en sus componentes estructurales por la presencia o ausencia de cartílagos (Lasy & Gledhill, 2007). Menni (1971) describió los componentes internos de la cláspers de *Zearaja chilensis* y más tarde, fue complementado por Leible (1987), con una comparación anatómica externo. Sin embargo, la presencia del cartílago accesorio terminal 1 (*atr1*) fue reportado erróneamente por Menni (1971) y Leible (1987), aunque en *Zearaja* no existe una estructura equivalente (Last & Gledhill 2007). Leible (1987) también describió el neurocráneo, cintura pélvica y el escapulo-coracoide, y ha sugerido variaciones intra-específicas entre las poblaciones de rayas hocicudas chilenas, destacando la necesidad de una mayor investigación. Para *Dipturus trachyderma*, las primeras observaciones taxonómicas fueron proporcionados en las descripciones originales (Krefft & Stehmann, 1975), aunque Leible & Stehmann (1987), incluyen una descripción detallada de las estructuras externas e internas, como el neurocráneo, cintura pélvica, escapulo-coracoide y cláspers; reportando la presencia del *atr1* y centinela ('sentinel'), ambas estructuras ausentes en especies de *Zearaja*. Moreira *et al.* (2011)

encontraron diferencias en el neurocráneo, escapulo-coracoide y cláster entre *Dipturus trachyderma* y *D. menni*, soportando la presencia de dos especies diferentes teniendo en cuenta que algunos especímenes de *D. menni* se identificaron originalmente como *D. trachyderma* (Gomes & Picado, 2001). Por otra parte, Leible (1988) realizó una revisión sobre la taxonomía de batoideos de América del Sur (y sus métodos de estudio), destacando el hecho de que la mayoría de las especies tienen una variación morfológica marcada principalmente relacionado a diferencias sexuales o relacionadas a la madurez sexual. Teniendo en cuenta que no se han realizado estudios adicionales con respecto a la morfología cláster (y otros componentes esqueléticos) en los últimos 25 años; y la importancia relativa de estas estructuras para ayudar en los estudios filogenéticos, se considera necesaria una revisión de los componentes del esqueleto interno de las rayas hocicudas de Suramérica.

Cápsulas de huevos - La gran variedad de modos de reproducción que se encuentran en los peces elasmobranquios incluyen desde la oviparidad a diferentes formas de viviparidad (Hamlett, 2005). La oviparidad se caracteriza por que los huevos fertilizados son encapsulados en una estructura compleja. Estas cápsulas (o huevos) se utilizan para proteger los embriones durante el desarrollo (Hamlett & Koob, 1999). La morfología de estas cápsulas se considera que son género- y especie- específicas (Ishiyama, 1950; 1958a; Ebert, 2005; Ebert & David, 2007; Ishihara *et al.*, 2012). Varios autores han señalado que la morfología de las cápsulas en rayas no solo es útil para la identificación de especies, sino también para determinar relaciones filogenéticas entre familias y órdenes (Ishiyama, 1958a; Ishihara, 1990; Ishihara *et*

al., 2012). Las variaciones de la morfología en las cápsulas de huevos también pueden indicar diferencias en el hábitat de donde se depositan (Ebert *et al.*, 2006) e información sobre la estrategia reproductiva de la especie (Dulvy & Reynolds, 1997; Didier, 2004; Kyne y Simpfendorfer, 2010).

El uso de cápsulas de huevos de rayas como una característica taxonómica para la identificación de especies y para estudios sistemáticos, ha sido documentado para numerosas especies (Ishiyama, 1958a; b; Hubbs & Ishiyama, 1968; Ishiyama & Hubbs, 1968). Sin embargo, siempre se requiere la identificación previa de las cápsulas provenientes de hembras previamente identificadas, para evitar suposiciones incorrectas (tipo 'quien puso a quien') dentro de las especies co-ocurrentes y conspecíficas. A menudo, estos supuestos no tienen en cuenta la posibilidad de especies no- residentes y por lo tanto, requieren descripciones de los huevos en el útero garantizar la identificación adecuada de las especies (Ebert & Davis, 2007).

Las cápsulas de huevos en las rayas hocicudas son generalmente de forma rectangular con un proceso quitinoso en cada esquina (Mabragaña *et al.*, 2011b). Las cápsulas de *Zearaja chilensis* y *Dipturus trachyderma* se han descrito a partir de muestras del Atlántico sudoccidental (Paesch & Oddone, 2008; Mabragaña *et al.*, 2011b) y desde el sureste del Pacífico (Concha *et al.*, 2012). En el caso de *Z. chilensis*, las cápsulas son relativamente grandes, entre 94 a 158 mm de longitud de cápsula (CL) y entre 64 a 76 mm de ancho de cápsula (CW). La cápsulas de huevo de *D. trachyderma* es una de las más grandes entre los peces cartilagosos (Mabragaña *et al.*, 2011b; Concha *et al.*, 2012), alcanzando hasta 197 – 230 mm LC y 100 – 163 mm CW. La cápsula de *Z. chilensis* es de color marrón oscuro con una superficie lisa, finamente

estriado y sin bordes notorios; mientras que *D. trachyderma* tiene un color dorado-marrón con bordes bien desarrollados y una fuerte quilla lateral, similar a la forma de las especies de la *Dipturus* del Hemisferio Norte. Por ejemplo, de la raya gigante *Dipturus gigas* (Ishiyama, 1958), la raya hocicuda *Dipturus oxyrinchus* (L. 1758) (Ishiyama, 1958b). Sin embargo, la cápsula de *D. trachyderma* tienen cuernos más pequeños, situados más cerca de la zona terminal de borde anterior cuando se compara con las cápsulas *Z. chilensis* (Concha *et al.*, 2012). Las rayas hocicudas del sur de Sur América son ovíparas, con una cápsula por oviducto a la vez (Mabragaña *et al.*, 2011b; Concha *et al.*, 2012), y una sincronía sintética marcada en la actividad de las glándulas nidamentales, similar a lo que ha sido documentado en otros rajoideos (McEachran & Aschliman, 2004; Ebert & Compagno, 2007).

Inventarios biológicos - Teniendo en cuenta que *Zearaja chilensis* fue descrita en 1848 (como *Raja chilensis*), los registros reales de su presencia en Chile fueron escasas durante los 50 años siguientes, y sólo se hizo conocido después de 1900 como consecuencia de la actividad pesquera. Varios autores han documentado la *Zearaja chilensis* en el Pacífico sur y el Atlántico sur, en primer lugar como *Raja flavirostris* durante 1900–1960 (Delfín, 1900; 1902; Lonnerberg, 1907; Garman, 1913; Gotschlich, 1913; Quijada, 1913; Fowler, 1926; Norman, 1937; Oliver, 1943; De Buen, 1957). En aguas chilenas, los listados de verificación y guías de identificación en terreno han informado de la presencia de *Raja chilensis* (De Buen, 1959; 1960; Bahamonde & Pequeño, 1975; Pequeño, 1977; 1989). Pequeño (1989) también incluyó a *Dipturus trachyderma* dentro de la ictiofauna Chilena. La presencia de ambas rayas hocicudas,

ha sido documentada por Pequeño & Lamilla (1993), Sielfeld & Vargas (1999), Lamilla & Sáez (2003), Lamilla & Bustamante (2005) y Bustamante *et al.* (2014 a, b). En el suroeste del Atlántico *Zearaja chilensis* ha sido reportada en listas sistemáticas y guía de campo para los peces marinos de Argentina y Uruguay por Ringuelet & Aramburu (1960), López (1963), Stehmann (1978), Menni *et al.* (1984), López *et al.* (1989; 1996), Lloris & Rucabado (1991), Nion *et al.* (2002), Bovcon & Cochia (2007) y Ruarte *et al.* (2009). Posteriormente, Menni & Lucifora (2007), Cousseau *et al.* (2000; 2007) y Perier *et al.* (2011) incluyeron ambas rayas, *Zearaja chilensis* y *Dipturus trachyderma*, como parte de la fauna de condrictios de Argentina y Uruguay, mientras que Bizikov *et al.* (2004) incluyó como parte de las Islas Malvinas. En Brasil, la presencia de *D. trachyderma* se realiza indirectamente a través de listas taxonómicas (Gomes & Picado, 2001) y estudios de parásitos (Knoff *et al.*, 2001a; b; 2002; 2004). Reportes adicionales de *Z. chilensis* y *D. trachyderma* se encuentran en lista de verificación mundiales, tales como Mould (1997), Compagno (1999), Smith *et al.* (2004), Compagno (2005a, b), Ebert & Compagno (2007), Kyne & Simpfendorfer (2007; 2010) y Thiel *et al.* (2009). Entre 1989 y 2010, varios autores emplearon una mala combinación específica (*D. trachydermus*) y un año incorrecto (1974) para *Dipturus trachyderma* lo que generó confusión en la sinonimia de esta especie en la literatura (Compagno, 1999; Compagno, 2005a; b; Kyne & Simpfendorfer, 2007; 2010).

Distribución - El género *Zearaja* está restringido al hemisferio sur (Beentjes *et al.*, 2002; Cousseau *et al.*, 2007; Last & Gledhill, 2007; Bustamante *et al.*, 2014b), mientras que rayas hocicudas del género *Dipturus* tiene una distribución en todo el mundo,

incluyendo el Caribe (Compagno, 1999; Gomes & Picado, 2001), Atlántico noroeste (McEachran & Carvalho, 2002; Gedamke *et al.*, 2005; Schwartz, 2012), América del Sur (Soto & Mincarone, 2001; Lamilla & Bustamante, 2005; Díaz de Astarloa *et al.*, 2008; Bustamante *et al.*, 2014b), Australasia (Last *et al.*, 2008a, Last & Álava, 2013), Europa del Este y África (Ellis *et al.*, 2005a; b; Ebert & Compagno, 2007; Cannas *et al.*, 2010). La mayor diversidad de especies de rayas hocicudas no solo se produce en el talud continental, sino que también están presentes en las zonas demersales de la plataforma continental en todo el mundo (Ebert & Compagno, 2007).

En el sureste del Pacífico, *Zearaja chilensis* se encuentra en aguas frías templadas fuera de Chile entre los 32° S y 56° S (Figura 128), aunque hay registros dudosos alrededor de 29° S (Delfín, 1902). La localidad tipo es Bahía Quinteros, Chile central (Philippi, 1892). La ausencia histórica de registros entre 1848 y 1892 puede explicarse por el relativo subdesarrollo de las comunidades costeras, quienes proporcionan la mayor parte de los registros durante los años siguientes. El rango de distribución de *Z. chilensis* ha sido ampliado considerablemente desde 1900 y presencia se ha documentado en el centro, sur y zona austral de Chile (Figura 12). La presencia de *Dipturus trachyderma* fue documentado por Leible & Stehmann (1987), a partir de muestras recogidas en el centro y sur de Chile, y su rango de distribución se ha ampliado para incluir la Patagonia y Chile Austral (Figura 13). En general, *Z. chilensis* y *D. trachyderma* parecen tener la misma distribución en aguas chilenas (32° S – 56° S), pero este rango puede no ser preciso teniendo en cuenta que la mayor parte de los registros documentados provienen de la pesquería de palangre demersal que opera en el mismo rango latitudinal. Cruceros pesquero-independientes, que incluyan

el norte de Chile (al norte del 32° S) son necesarios para confirmar los límites latitudinales (Bustamante *et al.*, 2012 a). Sin embargo, no hay registros de la presencia de rayas hocicudas alrededor de la isla oceánica en el Pacífico sudoriental (Andrade & Pequeño, 2008).

En el Atlántico suroeste, la presencia de *Z. chilensis* está documentada a lo largo de la costa argentina, a partir de 34° S a 54° S, incluyendo las Islas Malvinas (Figura 12). A diferencia de los registros en Chile, la mayor parte de las observaciones documentadas se han hecho a través de cruceros científicos en lugar de puntos o datos dependientes de la pesquería (Menni & Stehmann, 2000). Teniendo en cuenta que *D. trachyderma* fue descrita desde aguas Argentinas (Kreffft & Stehmann, 1975), durante muchos años se consideró como restringida al Atlántico sur (Menni & Gosztanyi, 1977; Menni *et al.*, 1984). La distribución reciente de *D. trachyderma* incluye registros al sur del 40° S y alrededor de la Islas Malvinas, co-ocurriendo con *Z. chilensis* (Figura 13). Sin embargo, todos los registros provienen desde ambas, aguas frías-templadas y aguas frías influenciadas por la corriente de Humboldt y de Malvinas, en el Pacífico y el Atlántico respectivamente; aunque ejemplares de *D. trachyderma* han sido registrados al sur de Brasil (Gomes & Picado 2001). Teniendo en cuenta la ausencia de registros desde el Golfo de San Matías (Argentina) hacia latitudes bajas y la identificación errónea de *D. mennii* en aguas brasileñas (Gomes & Picado 2001), los registros de *D. trachyderma* al norte del Río de La Plata son dudosos y los especímenes de Brasil podrían corresponder a *D. mennii* (o de otra especie cercana relacionada).

Hábitat – Los condrictios puede ser uno de los grupos más exitosos de peces que habitan en los ecosistemas marinos de todo el mundo, y en esta sección se hace referencia al 'hábitat' como la distribución batimétrica en lugar de rango latitudinal el que se ha discutido previamente. Los gradientes térmicos latitudinales se pueden utilizar para separar el océano en cuatro zonas: zonas tropicales, templado-cálidas, frío-templadas, y polar (Briggs, 1995). Las rayas hocicudas, *Z. chilensis* y *D. trachyderma*, se distribuyen en aguas frío-templadas de América del Sur desde la plataforma y talud continental de centro de Chile hasta el sur de Brasil, con profundidad entre 14 y 477 m (Norman, 1937; Leible & Stehmann, 1987; Lloris & Rucabado, 1991; García de la Rosa, 1998; Agnew *et al.*, 2000; Menni & Stehmann, 2000; Gomes & Picado, 2001; Licandeo *et al.*, 2006; Bustamante *et al.*, 2014b). Los registros de aguas poco profundas, entre el 14 – 100 m de profundidad, son comunes para *Z. chilensis* (Menni & López, 1984; Leible *et al.*, 1990; García de la Rosa, 1998; Concha *et al.*, 2012); aunque *D. trachyderma* parece ser menos abundante a esta profundidad. Lloris & Rucabado (1991), reporta la capturar de un espécimen a 20 – 22 m de profundidad en el Canal de Beagle. Cedrola *et al.* (2005) reportan profundidades de capturada entre 87 a 97 m en el Golfo San Jorge. En general, *D. trachyderma* es más probable que se encuentre entre 180 m y 350 m de profundidad (Kreffft & Stehmann, 1975; Menni & Gosztonyi, 1977; Bizikov *et al.*, 2004; Lamilla *et al.*, 2010; Menni *et al.*, 2010; Arkhipkin *et al.*, 2012), con registros hasta los 400 – 500 m de profundidad (Leible & Stehmann, 1987; Gomes & Picado, 2001). Sin embargo, *Z. chilensis* se ha encontrado en profundidades de hasta 450 m (Ojeda, 1983; Menni & López, 1984; Fuentealba & Leible, 1990; García de la Rosa, 1998), pero es abundante

entre los 150 y 350 m de profundidad (Menni & Gosztanyi, 1977; Menni & López, 1984; Leible, 1987; Leible *et al.*, 1990; Licandeo *et al.*, 2006; Quiroz *et al.*, 2009, Arkhipkin *et al.*, 2012).

Figura 12 (*página siguiente*) Distribución de la raya volantín *Zearaja chilensis* en Sur América. Los números representan los registros documentados de: (1) Philippi (1892), (2) Delfín (1902), (3) Lohnnberg (1907), (4) Gotschlich (1913), (5) Norman (1937), (6) De Buen (1959), (7) Carvajal (1971), (8) Menni (1973), (9) Sadowsky (1973), (10) Ojeda (1983), (11) Raschi (1984), (12) Fernández & Villalba (1985), (13) Leible (1987), (14) Leible *et al.* (1990), (15) Lloris & Rucabado (1991), (16) Lucifora *et al.* (2000), (17) Gomes & Picado (2001), (18) Koen Alonso *et al.* (2001), (19) Céspedes *et al.* (2005), (20) Licandeo *et al.* (2006), (21) Cousseau *et al.* (2007), (22) Licandeo & Cerna (2007), (23) Aburto *et al.* (2008), (24) Díaz de Astarloa (2008), (25) Quiroz *et al.* (2009), (26) Silveira (2009), (27) Arkhipkin *et al.* (2012), (28) Bustamante *et al.* (2012), (29) Deli Antoni *et al.* (2012), (30) Bustamante *et al.* (2014). El círculo oscuro representa la localidad tipo.

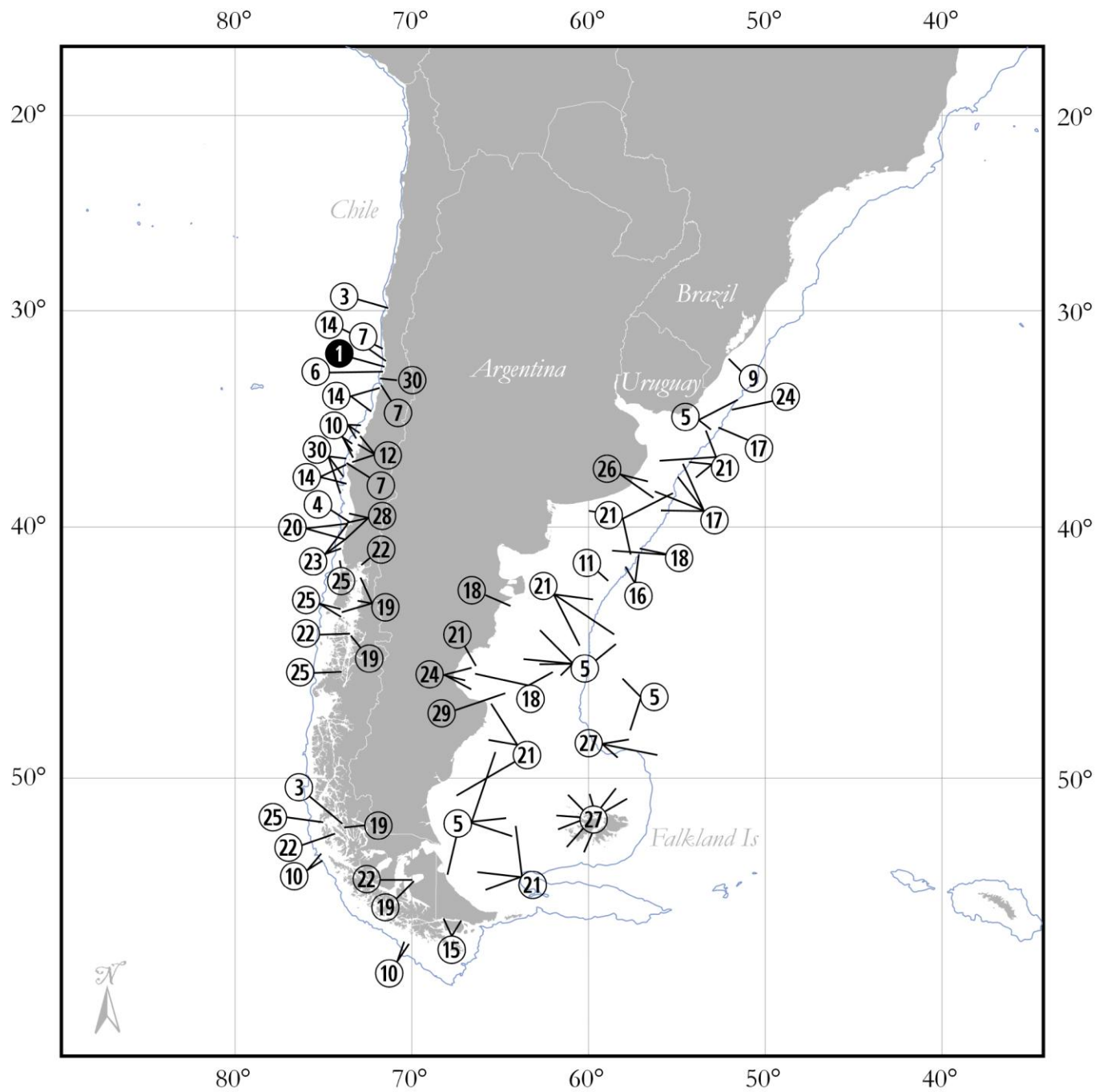
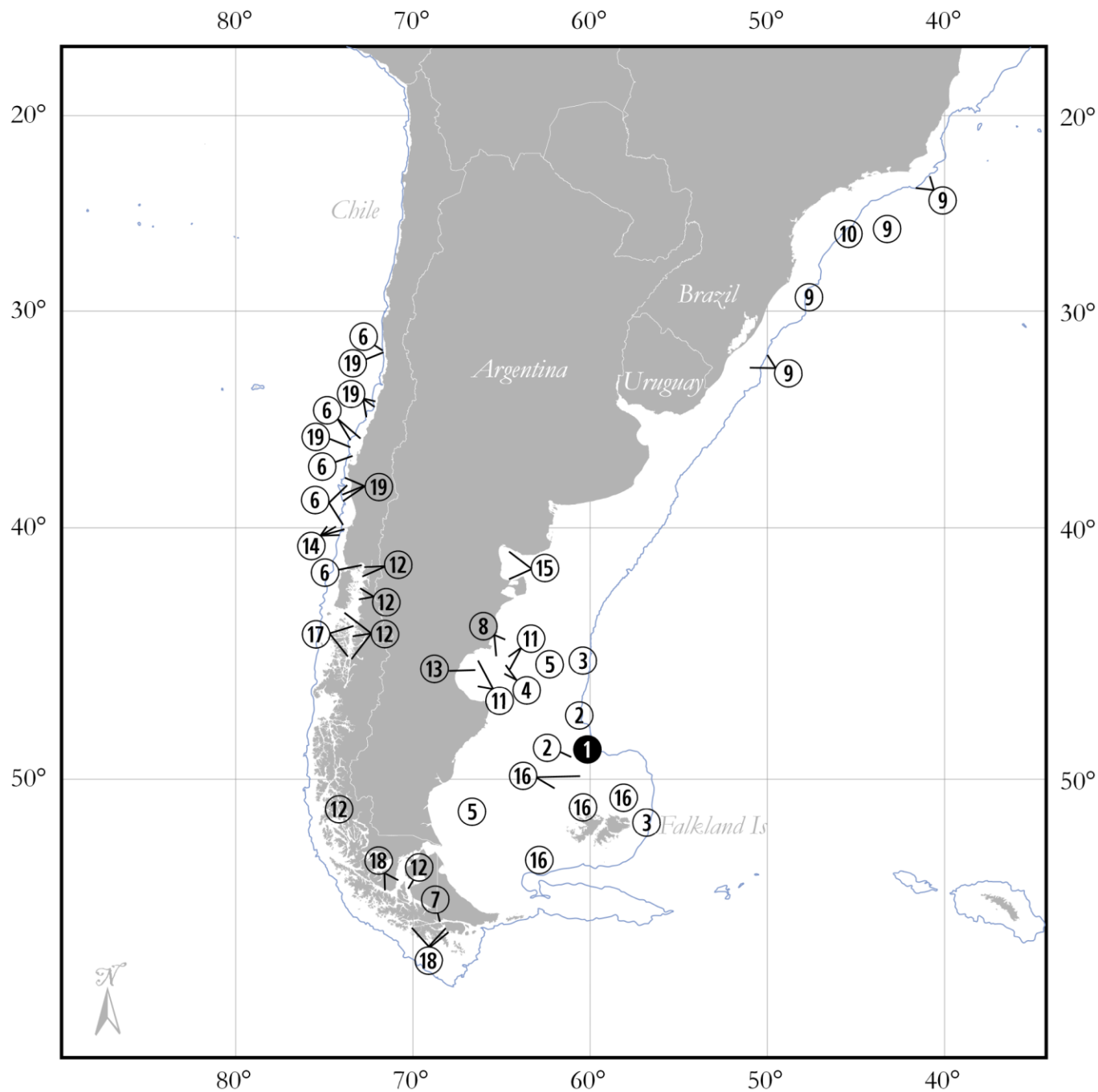


Figura 13 (*página siguiente*) Distribución de la raya espinosa *Dipturus trachyderma* en Sur América. Los números representan los registros documentados de (1) Krefft & Stehmann (1975), (2) Menni & Gosztanyi (1977), (3) FRV “Walther Herwing” (1978), (4) FRV “Holmberg” (1983), (5) Menni *et al.* (1984), (6) Leible & Stehmann (1987), (7) Lloris & Rucabado (1991), (8) Cousseau *et al.* (2000), (9) Gomes & Picado (2001), (10) Knoff *et al.* (2001), (11) Cedrola *et al.* (2005), (12) Céspedes *et al.* (2005), (13) Díaz de Astarloa *et al.* (2008), (14) Lamilla *et al.* (2010), (15) Perier *et al.* (2011), (16) Arkhipkin *et al.* (2012), (17) Lamilla *et al.* (2012 a), (18) Lamilla *et al.* (2012 b), (19) Bustamante *et al.* (2014b). El círculo oscuro representa la localidad tipo.



Las preferencias de temperatura y salinidad han sido reportadas para ambas especies en el Atlántico sudoccidental. Menni (1973), Menni & López (1984) y García de la Rosa (1998), reportan temperatura de captura entre 3.52 – 14 °C y salinidad entre 32.15 a 34.33 ppm para *Z. chilensis*, y temperatura de 4.0 a 8,2 °C y salinidad de 33.1 a 33.6 ppm para *D. trachyderma* (Krefft & Stehmann, 1975; Menni & Gosztonyi, 1977; Menni *et al.*, 2010; Arkhipkin *et al.*, 2012). La raya espinosa *D. trachyderma* se caracteriza como una especie endémica de la Provincia Magallánica como discute Bustamante *et al.* (2014b). La Provincia Magallánica es una región biogeográfica relativamente estable en América del Sur, con masas de agua fría distribuidas a lo largo de la latitud 42° a 56° S en Chile y Argentina (Camus, 2001), extendiendo su influencia en todo el talud continental hasta los 36° S (Balech & Ehrlich, 2008). La barrera térmica producida por las masas de aguas cálida- tropical de la Provincia Argentina (Menni *et al.*, 2010), la cual se extiende desde Río de Janeiro (23° S) hasta la Península Valdés (42° S), podría restringir la extensión hacia el norte de especies de la Provincia Magallánica y dentro de la plataforma continental Argentina. La falta de registros de *D. trachyderma* entre las latitudes 32° S y 41° S en el Atlántico sudoccidental, plantea preguntas al respecto de su presencia en aguas brasileñas (Gomes & Picado 2001), casi a 1500 kilómetros al norte de los registros argentinos no-confirmados.

Hábitos alimenticios – La dieta, el consumo de alimento y los hábitos alimenticios de las rayas hocicudas han sido poco estudiados o desconocidos en la mayoría de los casos, sobre todo en aquellas especies presentes en la captura incidental de las

pesquerías de arrastre Argentinas (Koen Alonso *et al.*, 2001), Tasmania (Treloar *et al.*, 2007), Mar de Barrents (Dolgov, 2005), Sudáfrica (Ebert *et al.*, 1991) y en el noroeste del Océano Atlántico (Templeman, 1982). Ebert & Bizzarro (2007) estandarizaron las composiciones de la dieta y los niveles tróficos de batoides en todo el mundo, y estiman que el nivel trófico (tL) de *Z. chilensis* es 4.22, con peces óseos (81,76%) como la principal preferencia dietaria. Los valores de tL pueden cambiar de acuerdo con el tamaño del animal, por ejemplo, al ser una especie bentónica-demersal, Bahamonde (1953) y De Buen (1959) reportan a crustáceos (y en particular, al cangrejo *Munida gregaria*) como el principal elemento de la dieta de juveniles de *Z. chilensis* (entre tamaños de 13 a 50 cm LT). Sánchez & Prenski (1996) también encontraron crustáceos como preferencia de presas para tallas pequeñas (entre 20 y 40 cm TL) pero las rayas de gran tamaño (> 50 cm TL) tienen a la merluza argentina (*Merluccius hubbsi*) como presa principal. Los cambios en la dieta han sido documentados por García de la Rosa (1998) y Sánchez & Mabragna (2002), donde la alimentación en rayas mayores a 85 cm LT se basa principalmente en peces (90–100%). Según Koen Alonso *et al.* (2001), los langostinos son la presa más importante en la dieta de los individuos <35 cm LT. El patrón dietario de *Z. chilensis* puede variar en relación a la madurez sexual en lugar de a la estructura de tallas (Koen Alonso *et al.*, 2001), lo que sugiere que los hábitos alimenticios están relacionados con la vida de la historia de la especie.

Diversos autores han informado de que las rayas hocicudas del género *Dipturus* se alimentan principalmente de crustáceos decápodos y secundariamente de teleósteos (Ebert & Bizarro, 2007; Treloar *et al.*, 2007, Kyne *et al.*, 2008; Simon *et al.*,

2009; Yigin & Ismen, 2010; Forman & Dunn, 2012). Desafortunadamente, no existen estudios que aborden la dieta o los hábitos de alimentación para *Dipturus trachyderma*. Sin embargo, en aguas argentinas, Cousseau *et al.* (2007) encontró en el estómago de una hembra de gran tamaño (242 cm LT) cuatro individuos de merluza *M. hubbsi* (>45 cm LT), un ejemplar de raya costera (*Psammobatis* sp.) y restos de una centolla (*Lithodes* sp.).

Reproducción - Las rayas hocicudas, como todos los elasmobranquios, tienen fecundación interna como estrategia reproductiva (Wourms, 1977; Carrier *et al.*, 2004; Conrath & Musick, 2012). La Familia Rajidae también se caracteriza por ser ovípara, en la que los huevos fecundados están encerrados en cápsulas las que son fijadas en el sustrato o sobre el fondo marino (Wourms, 1977; Carrier *et al.*, 2004). Las hembras de *Zearaja chilensis* y *Dipturus trachyderma* tienen dos ovarios funcionales y úteros (uno en cada lado). Los ovarios inician el desarrollo de los ovocitos vitelogénicos cuando las hembras alcanzan tamaños de 940 y 1039 mm LT, mientras que los machos maduran entre 760 y 900 mm LT (Fuentealba & Leible, 1990; Licandeo *et al.*, 2006; Paesch & Oddone, 2008; Quiroz *et al.*, 2009; Bustamante *et al.*, 2012). Licandeo & Cerna (2007) encontraron que ambos, la glándula nidamental y el útero de *D. trachyderma*, crecen en tamaño cuando las hembras alcanzan 2000 mm LT; y los machos maduran cerca de los 1860 mm LT donde se realiza el crecimiento de los cláspers. Según Concha *et al.* (2012), ambas especies de rayas hocicudas son ovíparos simples, teniendo cápsula por el oviducto. La oviparíá como ocurre en la mayoría de las rayas, es una estrategia especializada ya que se basa en las ventajas de

producir un pequeño número de huevos y recién nacidos competentes de gran tamaño (Wourms, 1977). No existe mucha información sobre la fecundidad ovárica pero Fuentealba & Leible (1990), estiman el número total de 70 ovocitos anuales para *Z. chilensis*. Licandeo *et al.* (2006) y Licandeo & Cerna (2007), reportan una rango entre 22 a 62, y 24 a 84 ovocitos respectivamente. Para *D. trachyderma*, la fecundidad ovárica total es de 28 a 68 folículos anuales (Licandeo *et al.*, 2007). Sólo una cápsula de huevo por oviducto se ha documentado para ambas especies, pero el número de embriones por cada huevos es desconocida pero por lo general sólo un embrión está contenido por capsula. Con la excepción de dos especies, la raya grande *Raja binoculata* Girard 1855 y la raya moteada *R. pulchra* Liu 1932, tienen hasta cuatro embriones por capsula (Ebert & Winton, 2010). Sin embargo, la fecundidad de las rayas ovíparos es muy baja en comparación con otros peces (Wourms, 1977). El período de gestación para ambas especies, *Z. chilensis* y *D. trachyderma*, no se han reportado pero los períodos de incubación para batoideos ovíparos puede durar desde unos pocos meses a un año o más (Carrier *et al.*, 2004). No se ha observado el apareamiento para ninguna de las rayas hocicudas. Richards *et al.* (1963) sugieren que en las especies de pequeño tamaño, el apareamiento se realiza con superficies ventrales opuestas mientras que los machos de especies más grandes pueden tener una aproximación ya sea dorsal o ventral hacia las hembras.

Edad, crecimiento y longevidad – La estimación de la edad a la madurez, longevidad y tasa de crecimiento, son pilares fundamentales para la evaluación de poblaciones marinas y poder formular recomendaciones teniendo en cuenta la productividad y

vulnerabilidad intrínseca de cómo una población va a cambiar en el tiempo (Ricker, 1975; Cailliet *et al.*, 1986; Cailliet & Goldman, 2004). Una variedad de estructuras orgánicas se puede usar para estimar la edad (y crecimiento) en condriictios, tales como las vértebras (Francis *et al.*, 2001; Gedamke *et al.*, 2005; Ainsley *et al.*, 2014; Natanson *et al.*, 2014), espinas dérmicas (Moura *et al.*, 2004; Campana *et al.*, 2006; Serra-Pereira *et al.*, 2008) y espinas caudales (Henderson *et al.*, 2004; Francis & O Maolagáin, 2005; Arkhipkin *et al.*, 2008; Francis & Gallagher, 2009). Una técnica popular para estimar la edad en elasmobranquios es a través de secciones del centro vertebral de la región torácica (Cailliet *et al.*, 2006). Generalmente, los pares de bandas de crecimiento son visibles en mayor o menor grado desde el centro vertebral en tiburones (Goldman, 2004) y batoideos (Francis *et al.*, 2001; White *et al.*, 2001; Licandeo *et al.*, 2006; Pierce & Bennett, 2010).

La edad y el crecimiento de *Z. chilensis* pueden verse afectados por la distribución geográfica de acuerdo a las diferencias encontradas en Chile (Licandeo & Cerna, 2007). La edad máxima estimada es de 21 a 27 años para hembras y 17 a 23 años para machos (ver Tabla 4); mucho mayor si se compara con los 9 años de la raya congénere, *Z. nasuta* (Francis *et al.*, 2001). Sin embargo, los estudios publicado sobre edad para *Z. chilensis* antes de 2000, puede estar subestimados debido a la inclusión de *D. trachyderma* en las muestras examinadas (Fuentealba & Leible, 1990; Fuentealba *et al.*, 1990; Bahamonde *et al.*, 1994; 1996; Gili *et al.*, 1999). Usando la misma técnica vertebral, Licandeo *et al.* (2007) estiman la edad de *Dipturus trachyderma* en aguas chilenas, donde definen un anillo de crecimiento como un par de bandas que constan de uno banda muy calcificada (color opaco) y una banda

menos calcificada (color translúcido). La edad máxima estimada para *D. trachyderma* es 26 años para hembras y 25 años para machos (Licandeo *et al.* 2007); lo que coincide con los resultados publicados por Céspedes *et al.* (2005), quien estima una edad máxima de 27 años para los sexos combinados (Tabla 9).

Dipturus trachyderma puede ser una de las especies de raya más grande y más longevas, junto con *Bathyraja griseocauda* (Arkhipkin *et al.*, 2008), *Dipturus batis* (Du Buit, 1972), *Dipturus innominatus* (Francis *et al.*, 2001), *Raja binoculata*, *Raja Rhina* (McFarlane & King, 2006) y *Zearaja chilensis* (Licandeo *et al.*, 2006), donde la mayoría de ellas alcanzarían más de 20 años de edad. En general, las hembras de *Z. chilensis* y *D. trachyderma* crecen hasta tamaños más grandes que los machos como en la mayoría de las rayas hocicudas (Tabla 4). La edad y el modelo de crecimiento siguen una tendencia general observada en especies grandes, con tasas de crecimiento más lentas y alta longevidad que aquellas especies de rayas más pequeñas, las que tienen un crecimiento más rápido (Sulikowski *et al.*, 2005); y son vulnerables al colapso de sus poblaciones como ha sido sugerido para *Zearaja chilensis* (Agnew *et al.* 2000; Bustamante *et al.*, 2012).

Pesquería en el Pacífico sureste - La pesca dirigida hacia rayas comenzó durante 1979 en Chile, inicialmente dirigidos al *Zearaja chilensis*. Hasta el año 2004, al menos seis rayas de diferentes géneros (por ejemplo, *Amblyraja*, *Dipturus*, *Rajella*) se desembarcan en la misma categoría genérica y son etiquetados como 'rayas' en los registros oficiales junto con *Z. chilensis* y *D. trachyderma* (Gili *et al.*, 1999; Roa & Ernest, 2000). Recientemente, se 'capturan' rayas como la pesca incidental de en

pesquerías de peces óseos demersales, como por ejemplo, la merluza austral (*Merluccius australis* Hutton 1872) y congrio dorado (*Genypterus blacodes* Forster 1801); lo que se ha convertido en una actividad económica alternativa para muchos pescadores artesanales como resultado del valor comercial creciente y la demanda del mercado por rayas de gran tamaño. En general, la pesquería de rayas es geográficamente extensa, abarcando alrededor de 20 grados de latitud entre San Antonio y Punta Arenas (Figura 14), con la mayor parte del esfuerzo de pesca concentrado entre Valdivia y Aisén. La Autoridad de Pesca de Chile ha identificado dos componentes principales dentro de esta pesquería: barcos industriales (más de 18 m de longitud) los que tienen zonas de pesca restringidas (más allá de las primeras 5 millas náuticas a lo largo de toda el área de la pesca, y exclusividad al sur del paralelo $41^{\circ} 28,6' S$), y que desembarcan rayas únicamente como captura incidental; y embarcaciones artesanales (entre 12 y 17 m de longitud), que son gestionados a través de cuotas de pesca.

Los desembarques (y el esfuerzo de pesca) han aumentado de manera constante después de 1993, cuando la pesquería se abrió al mercado asiático. La flota artesanal se hizo más fuerte, debido a la inversión internacional y, junto con la pesca industrial, reportó 3000 toneladas en los desembarques (Figura 15). En la actualidad, la flota artesanal representa el 70% de los desembarques nacionales con aproximadamente 1900 embarcaciones mientras que sólo cinco buques industriales están autorizados desembarcar rayas como captura incidental de la pesca de arrastre de merluza, lo que representa el 20-25% de la captura total. Durante 1997, se establecieron las muchas de las medidas de administración pesquera, incluyendo el

cierre del acceso a nuevas embarcaciones y cuotas de capturas anuales entre el Concepción y el paralelo 41° 28,6' S (Figura 15). Durante la crisis financiera de Asia en 1998, los desembarques de rayas aumentaron considerablemente, alcanzando un máximo de 4000 y 5193 toneladas durante el 2000 y 2003 respectivamente, donde aproximadamente el 85% se capturó solamente por la flota artesanal (Figura 16). Los registros de desembarque en los años siguientes disminuyeron alrededor de un 40% (SERNAP, 2012), pero no fue hasta 2004 que ambas especies, *Zearaja chilensis* y *Dipturus trachyderma*, se separaron oficialmente en diferentes categorías de desembarque oficiales por la Autoridad Pesquera (Figura 16).

La raya volantín *Z. chilensis* es capturada en Chile, no solo como especie objetivo sino también una especie objetivo secundaria en teleósteos y tiburones, es decir, en la pesquería de congrio dorado *Genypterus blacodes*, tollo de cachos *Squalus acanthias* L. 1758, merluza común *Merluccius gayi* (Guichenot 1848), lenguado *Paralichthys microps* (Günther 1881), corvina *Cilus gilberti* (Abbott 1899) y congrio negro *Genypterus maculatus* (Tschudi 1846) (Lamilla *et al.*, 2008; 2010; Bustamante *et al.*, 2012). Sin embargo, la raya espinosa *Dipturus trachyderma* sólo se captura como especie objetivo secundarias en la pesquería de raya volantín y congrio dorado, aunque en proporciones bajas (> 25% por viaje de pesca) y alcanzando un máximo de desembarque anual de 60 toneladas en 2006 (Figura 15). Los registros de desembarque de *D. trachyderma* están subestimados en las estadísticas oficiales debido a que las rayas adultas (> 10 kg) se procesan a bordo y sólo sus aletas son desembarcadas (Lamilla, 2005), mientras que *Zearaja chilensis* se desembarca y se vende completa (sin eviscerar). A pesar de que sólo las rayas objetivo son

identificadas y registradas en las estadísticas de desembarque, por lo menos otras seis especies de rayas se desembarcan como captura incidental y son reportados en una categoría genérica sin identidad taxonómica, por ejemplo *Bathyraja albomaculata* (Norman 1937), *B. brachyurops* (Fowler 1910), *B. griseocauda* (Norman 1937) y *Rajella sadowskii* (Krefft y Stehmann 1974), las que representan el 5% de los desembarques de rayas nacionales (Lamilla *et al.* 2010).

Tabla 10 Resumen de los estudios de edad y crecimiento para *Zearaja chilensis* y *Dipturus trachyderma*.

Método	Sexo	L_{∞}	K	t_0	t_{max}	$t_{50\%}$	$L_{50\%}$	Referencia
<i>Zearaja chilensis</i>								
Vértebra	♀	1456 mm TL	0.084	-1.534	24	-	1068 mm TL	Céspedes <i>et al.</i> (2005)
	♂	1248 mm TL	0.972	-1.655	21	-	822 mm TL	
Vértebra	♀	1283 mm TL	0.112	-0.514	27	14	1060 mm TL	Licandeo <i>et al.</i> (2006)
	♂	1078 mm TL	0.134	-0.862	23	11	860 mm TL	
Vértebra	♀	1364 mm TL	0.104	-0.669	21	13.49	1031 mm TL	Licandeo & Cerna (2007)
	♂	1179 mm TL	0.116	-1.056	17	10.74	879 mm TL	
	♀	1496 mm TL	0.087	-1.266	22	12.75	1035 mm TL	
	♂	1220 mm TL	0.11	-1.263	19	10.31	871 mm TL	
<i>Dipturus trachyderma</i>								
Vértebra	♀/♂	2848 mm TL	0.067	-0.443	27	-	1940 mm TL	Céspedes <i>et al.</i> (2005)
	♂	-	-	-	-	-	1540 mm TL	
Vértebra	♀	2650 mm TL	0.079	-1.438	26	17	2150 mm TL	Licandeo <i>et al.</i> (2006)
	♂	2465 mm TL	0.087	-1.157	25	15	1951 mm TL	

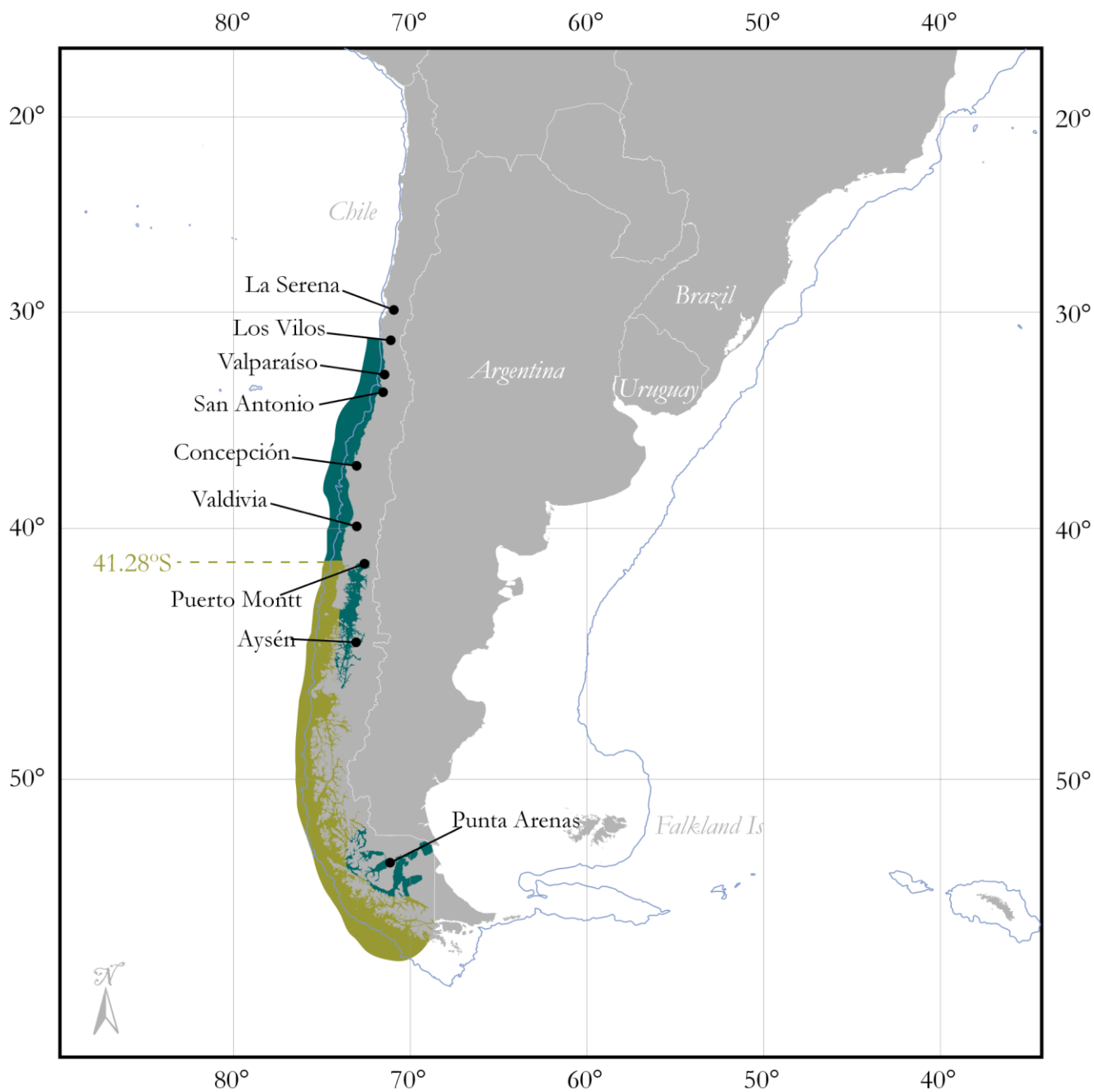


Figura 14 Distribución espacial de la pesquería de *Zearaja chilensis* y *Dipturus trachyderma* en Chile, indicando los principales puertos pesqueros y la extensión de la zona de pesca artesanal (verde oscuro) e industrial (verde claro).

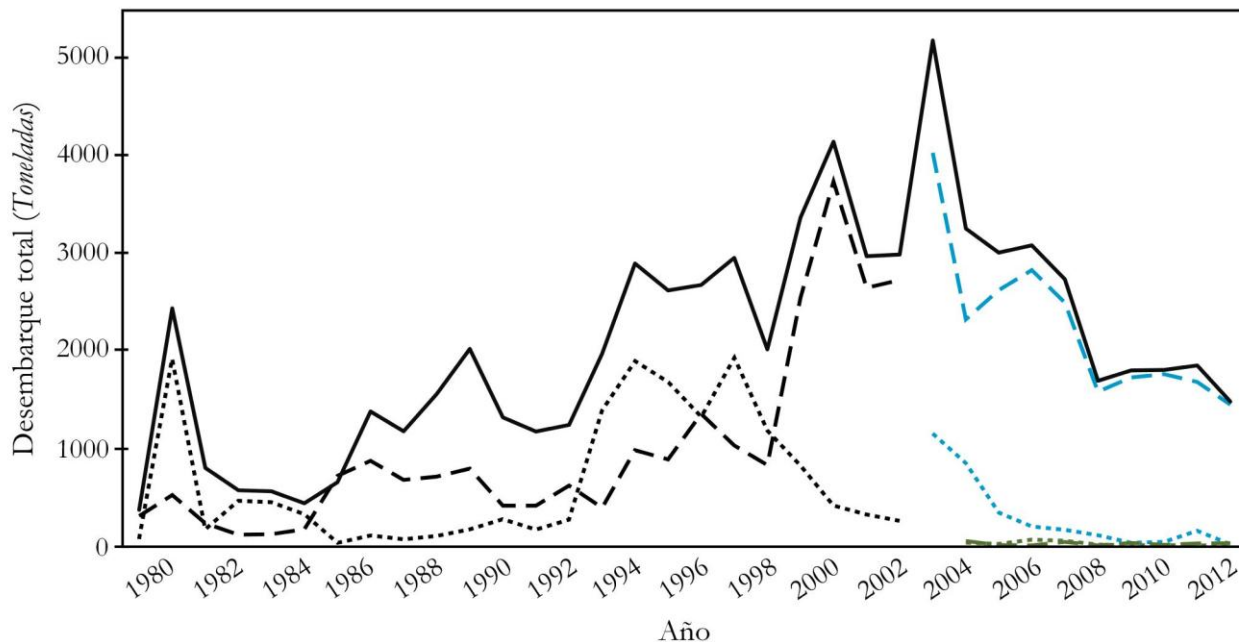


Figura 15 Desembarque total de rayas hocicudas (*Zearaja chilensis* y *Dipturus trachyderma*) entre 1979 y 2012 separados por pesquería y por especie. La captura total está representada por la línea sólida (negra). La fracción artesanal (línea discontinua) e industrial (línea punteada) se encuentran separadas por categoría de desembarque: *Zearaja chilensis* (azul) y *Dipturus trachyderma* (verde).

Después de 2006, un cierre temporal fue impuesto a la flota artesanal, y tiene lugar durante los meses del verano austral (diciembre a febrero) para proteger "posibles eventos reproductivos" (Lamilla, 2005). Más tarde, un cierre total de la pesquería fue impuesto a toda la flota durante el 2009 hasta 2011, en respuesta a la disminución de las rayas medida de desembarque y al declive global de la biomasa. A pesar de estos cierres, la Autoridad Pesquera ha permitido capturar hasta 700 toneladas al año como resultado de las presiones políticas. Hoy en día, la pesquería de rayas en Chile se considera bajo el régimen "plena explotación"; sin embargo, la

información sobre la estructura del stock de las rayas hocicudas permanece desconocida confundiendo la evaluación, administración y manejo de ambos recursos. El alto porcentaje de juveniles presentes en las capturas, la tendencia a la disminución del tamaño de, así como un esfuerzo de pesca constante, son síntomas de un colapso pesquero; síntomas documentados recientemente para *Z. chilensis* en Chile (Bustamante *et al.*, 2012). La pesquería sustentable requiere estrategias de administración basadas en el conocimiento exhaustivo de la biología y ecología de las poblaciones biológicas, especialmente en el caso de las rayas hocicudas las que tienen patrones de historia de vida intrínsecas que las hacen altamente susceptibles a la sobreexplotación comercial (Dulvy *et al.*, 2000; Dulvy & Reynolds, 2002; Frisk 2010; Dulvy *et al.*, 2014).

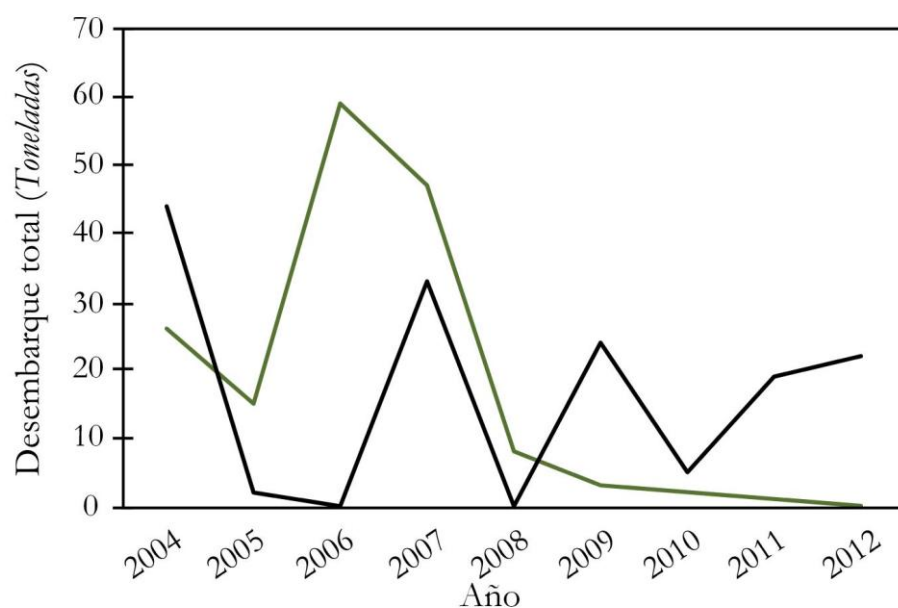


Figura 16 Desembarque total de *Dipturus trachyderma* entre los años 2004 and 2012 separados por la pesquería artesanal (gris claro) e industrial (gris oscuro).

Pesquería en el Atlántico suroeste - Una situación diferente se observa para la zona que incluye Argentina, Uruguay e Islas Malvinas, donde las rayas hocicudas no son capturadas como especies objetivo sino como captura incidental en varias pesquerías de arrastre (Paesch & Oddone, 2008). Sánchez *et al.* (2012) analizaron los registros de desembarque de peces marinos en la Argentina desde 1898 hasta 2010, y *Zearaja chilensis* sólo aparece después de 2008. Sin embargo, *Dipturus trachyderma* no fue informada dentro de ninguna categoría desembarque, pero alguna información puede descartarse desde los registros captura incidental. Las rayas hocicudas (*Z. chilensis* y *D. trachyderma*) son reportadas en la pesquería del camarón rojo patagónico (*Pleoticus muelleri* Bate, 1888) y la merluza común (*Merluccius hubbsi* Marini, 1933) (Angelescu *et al.*, 1958; Cedrola *et al.*, 2005; Estalles *et al.*, 2011). En Islas Malvinas se ha informado a *Z. chilensis* como una especie abundante desde 1993, donde es capturada en la pesquería multi-especifica de rayas, con aproximadamente 16 otras especies (Agnew *et al.*, 2000; Falkland Is Government, 2013; 2014). Cedrola *et al.* (2005) estimaron la captura incidental de rayas para la pesquería de *P. muelleri* en el Golfo San Jorge, reportando siete especies y entre ellas, a *Z. chilensis* como la más frecuente con una biomasa total de 2135 kg (55,6% de la captura total). Marginalmente, *D. trachyderma* sólo está presente en el 9.3% de los lances con una biomasa total de 829 kg teniendo en cuenta que entre 1.6 – 1.89% de la captura total son rayas (Pettovello, 1999; Cedrola *et al.*, 2005). En general, la frecuencia de ocurrencia de *Z. chilensis* es 48.95% en la pesquería de camarón (*P. muelleri*) y 73.65% en merluza (*M. hubbsi*), mientras que la presencia de *Dipturus trachyderma* en la pesquería de merluza es 25.22% (Bovcon *et al.*, 2013).

Estalles *et al.* (2011), reportan a *Z. chilensis* como una de las especies más abundantes (21.5% de abundancia relativa) en la pesquería de arrastre demersal de *M. hubbsi*, junto con *Dipturus trachyderma* que también se encuentra presente en menor proporción (1.5% del total de la captura incidental). Sin embargo, la presencia de *D. trachyderma* puede ser dudosa (lo que implicaría la presencia de una especie diferente) al considerar el pequeño tamaño de madurez reportado (400 mm LT) en comparación con individuos en el Pacífico (2150 mm LT, Licandeo *et al.*, 2007). En aguas Argentinas, *D. trachyderma* es reportada como una especie rara con una importancia comercial menor (Góngora *et al.* 2009; Bovcon *et al.*, 2013).

Genética – El análisis molecular se ha convertido en una herramienta estándar para estudiar poblaciones de elasmobranquios, y en su mayor parte se utiliza para estimar relaciones filogenéticas y para definir su estructura poblacional (Heist, 2004a; Portnoy, 2010; Dudgeon *et al.*, 2012). Diversos métodos genéticos se utilizan cada vez más para el análisis de la estructura y conectividad de stocks, para identificar individuos a nivel de especie (teniendo en cuenta la presencia de especies hermanas y crípticas) y para identificar inclusive, partes del cuerpo desde mercados, tales como aletas de tiburón (Lavery & Shaklee, 1991; Shivji *et al.*, 2002; 2005; Heist, 2004a; Clarke *et al.*, 2006; Griffiths *et al.*, 2010); lo que ayudando al manejo pesquero y conservación de especies marinas (Heist, 2004b; Ovenden *et al.* 2009; 2010). La primera aproximación genética para *Zearaja chilensis* y *Dipturus trachyderma* fue hecha por Céspedes *et al.* (2005), quienes intentaron separar especies utilizando electroforesis de proteínas y marcadores moleculares de ADN basado en 100

individuos provenientes de aguas chilenas. Usando electroforesis de proteínas, los autores fueron capaces de separar las especies y hacer comparaciones con la identificación en terreno la cual coincidió en la mayoría de los casos (88%), pero fallaron cuando intentaron amplificar las regiones nucleares y mitocondriales mediante PCR, argumentando la falta de marcadores específicos para la especie y también que las especies son muy cercanamente relacionadas. Más tarde, Díaz de Astarloa *et al.* (2008), intento secuenciar cinco ejemplares de *Z. chilensis* y dos de *D. trachyderma* de aguas argentinas utilizando la región *cox1*. Estos autores distinguen *Z. chilensis* de otras especies *Dipturus* pero fracasaron en su intento de amplificar a *D. trachyderma* argumentando una falta de amplificación del gen *cox1* como resultado de las diferencias mutacionales dentro de los sitios de los marcadores, lo que indica que *D. trachyderma* posee un haplotipo *cox1* propio significativamente divergente. Usando marcadores para *nadh2*, Naylor *et al.* (2012) secuencia ocho ejemplares de *Z. chilensis* proveniente de una sola localidad en Chile, y aunque fueron capaces de diferenciarla del congénero *Z. nasuta* y de la entidad biológica identificada como '*Z. flavirostris*' desde Islas Malvinas (a pesar de ser un homónimo secundario de *Z. chilensis*, Last & Gledhill, 2007). Las posibles diferencias entre especímenes de Argentina pueden estar relacionadas con el polimorfismo existente a lo largo de su distribución geográfica (Leible *et al.*, 1990).

Recientemente, Jeong & Lee (2014), proporcionaron una descripción del genoma mitocondrial completo de *Z. chilensis*. La estructura del mitogenoma es similar a otras rayas, con 16,909 pb de longitud representadas por 13 regiones codificantes de proteínas, 22 genes tRNA, 2 genes rRNA y 2 zonas no-codificantes (el

origen de replicación y región control). Sin embargo, Vargas-Caro *et al.* (2014) realizaron una comparación del genoma mitocondrial de *Z. chilensis* de Jeong & Lee (2014) con una muestra proveniente de aguas chilenas y encontró un 97,4% de similitud (en lugar de un valor cercano al 100%, como se espera). Teniendo en cuenta que la muestra de tejido utilizada por Jeong & Lee (2014) fue tomada de un filete crudo en un restaurante coreano (sin revisión del espécimen), el 2,6% de diferencia puede indicar la presencia de dos poblaciones separadas de, aparentemente *Z. chilensis* en América del Sur o dos especies diferentes, y se destaca la importancia del cuidado al utilizar recursos genéticos sin una referencia taxonómica o un espécimen de referencia (Vargas-Caro *et al.*, 2014).

Parásitos – Los parásitos han sido ampliamente utilizados como marcadores biológicos para proporcionar información que ayude al manejo pesquero, especialmente al permitir establecer límites poblacionales de sus hospedadores (Lester, 1990; Moser, 1991; Williams *et al.*, 1992; Mackenzie, 2002). Básicamente, un pez puede llegar a ser infectado con un parásito sólo cuando están dentro de la zona endémica de influencia de ese parásito. Mientras más parásitos con diferentes áreas endémicas se puedan usar, mejor es la información que se obtiene sobre los últimos movimientos de las poblaciones de peces y por lo tanto sobre la estructura del stock (Mackenzie & Abaunza, 2013). Estudios de carga parasitaria tienen un valor particular en aguas profundas, donde los marcajes y métodos de recaptura pueden ser dificultosos (Mosquera *et al.*, 2003). El uso de parásitos como herramienta de ayuda está bien documentado para peces teleósteos; sin embargo, no hay mucha información

para condriictios (Moore, 2001). Aproximadamente 20 parásitos se han descrito a nivel genérico o de especie a partir de muestras de *Zearaja chilensis* (n = 12) y *Dipturus trachyderma* (n = 8) y se han resumido en las Tablas 11 y 12. Los sitios de infección son en su mayoría el estómago y la válvula espiral, pero la boca y branquias también han sido documentados (Villalba & Fernández, 1985).

Tabla 11 Parásitos reportados que infectan a la raya espinosa *Dipturus trachyderma*.

Especie	Referencia
Platyhelminthes: Cestoda	
Orden Trypanorhyncha; Familia Tentaculariidae	
<i>Myxonybelinia beveridgei</i>	Knoff <i>et al.</i> (2002; 2004)
Orden Trypanorhyncha; Familia Lacistorhynchidae	
<i>Paragrillotia sp.</i>	Leible <i>et al.</i> (1990)
Orden Tetraphyllidea; Familia Phyllobothriidae	
<i>Phyllobothrium c.f. lactuca</i>	Leible <i>et al.</i> (1990)
Platyhelminthes: Trematoda	
Orden Plagiorchiida; Familia Azygiidae	
<i>Otodistomum veliporum</i>	Knoff <i>et al.</i> (2001b); Kohn <i>et al.</i> (2007)
Nematoda: Rhabditea	
Orden Ascaridida; Familia Anisakinae	
<i>Anisakis sp.</i>	Knoff <i>et al.</i> (2001a)
<i>Contracaecum sp.</i>	
<i>Raphidascaris sp.</i>	
Acanthocephala: Palaecanthocephala	
Orden Echinorhynchida; Familia Rhadinorhynchidae	
<i>Gorgorhynchus sp.</i>	Knoff <i>et al.</i> (2001b); Santos <i>et al.</i> (2008)

Tabla 12 Parásitos reportados que infectan a la raya volantín *Zearaja chilensis*.

Especie	Referencia
Platyhelminthes: Cestoda	
Orden Tetraphyllidea; Familia Onchobothridae	
<i>Acanthobothrium annapinkiensis</i>	Carvajal & Goldstein (1971)
Orden Tetraphyllidea; Familia Phyllobothriidae	
<i>Echeneibothrium magalosoma</i>	Carvajal & Dailey (1975); Leible <i>et al.</i> (1990)
<i>Echeneibothrium multiloculatum</i>	Carvajal & Dailey (1975); Carvajal <i>et al.</i> (1985),
<i>Echeneibothrium williamsi</i>	Leible <i>et al.</i> (1990)
<i>Phyllobothrium</i> sp.	Leible <i>et al.</i> (1990)
Orden Trypanorhyncha; Familia Grillotiidae	
<i>Grillotia dollfusi</i>	Carvajal & Goldstein (1971); Leible <i>et al.</i> (1990)
Platyhelminthes: Trematoda	
Orden Plagiorchiida; Familia Azygiidae	
<i>Otodistomum cestoides</i>	Threlfall & Carvajal (1986); Aburto <i>et al.</i> (2008)
Phylum Nematoda: Rhabditea	
Orden Ascaridida; Familia Acanthocheilidae	
<i>Pseudanisakis tricupola</i>	Fernández & Villalba (1985)
Orden Ascaridida; Familia Anisakidae	
<i>Anisakis</i> sp. (type I)	Fernández & Villalba (1985)
<i>Pseudoterranova</i> sp.	Fernández & Villalba (1985)
Orden Spirurida; Familia Physalopteridae	
<i>Proleptus Carvajali</i>	Fernández & Villalba (1985)
Arthropoda: Maxillopoda	
Orden Cyclopoida; Familia Chondracanthidae	
<i>Acanthochondrites</i> sp.	Villalba & Fernández (1985)

5.3.2. Uso de marcadores moleculares mitocondriales para la identificación de raya volantín *Zearaja chilensis* y raya espinosa *Dipturus trachyderma*

Se obtuvieron fragmentos en 408 especímenes de raya volantín y raya espinosa. La amplificación de las cuatro regiones del ADN mitocondrial, fue exitosa en todos los casos, con bandas observables entre los 500 y 1,000 bp (Figura 17). Si bien es cierto se logró obtener secuencias de nucleótidos, de aproximadamente 600 bp para todas las regiones, solo una región entrega suficiente información que permita reconocer diferencias específicas.

El alineamiento final para cada región mitocondrial, incluyó además las especies *Raja asterias*, *R. brachyura*, *R. miraletus*, *Dipturus batis*, *D. nidarosensis*, *D. lemprieri*, *D. tengi*, *D. oxyrinchus*, *D. pullopunctatus* y *D. kwangtungensis*, como taxa control dentro del orden Rajiformes, las que se encuentran disponibles en la base de datos GenBank del NCBI.

Para la región 16S, se incluyen 622 bp y 45 taxa. A nivel general, se observan dos clados en el árbol filogenético (Figura 18), el primero contiene exclusivamente a cuatro especies del género *Raja* con una identidad (porcentaje de bases idénticas) sobre 98,9%. El segundo clado, agrupa indistintamente los géneros *Dipturus* y *Zearaja* con una identidad inter-específica entre 99,5% y 100%.

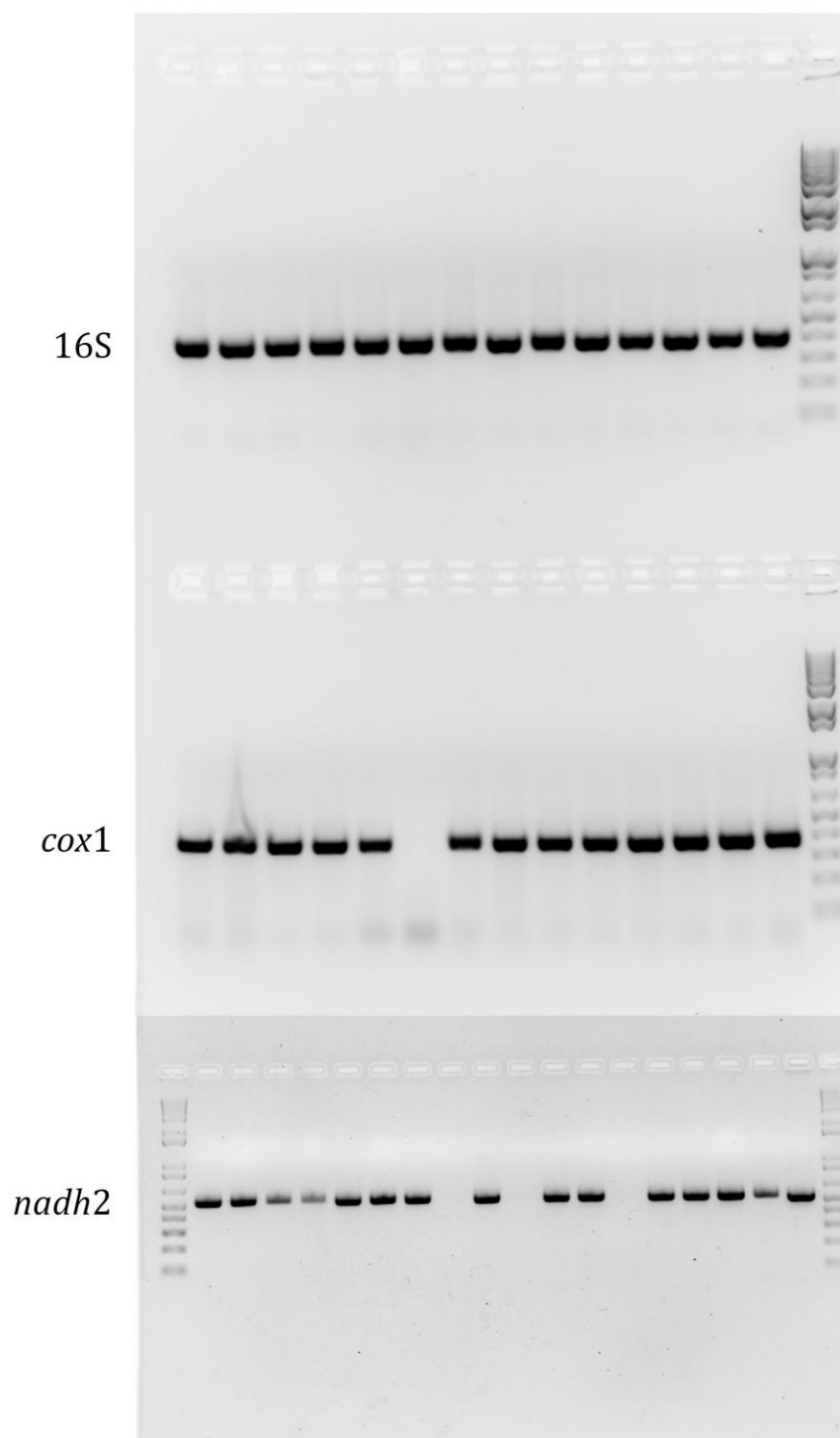


Figura 17 Gel de agarosa (1%) en buffer TBE, indicando la amplificación de los fragmentos 16S, *cox1* y *nadh2* del ADN mitocondrial de *Zearaja chilensis*. La referencia de medidas corresponde al DNA 1kb GeneRuler DNA (Thermo Scientific).

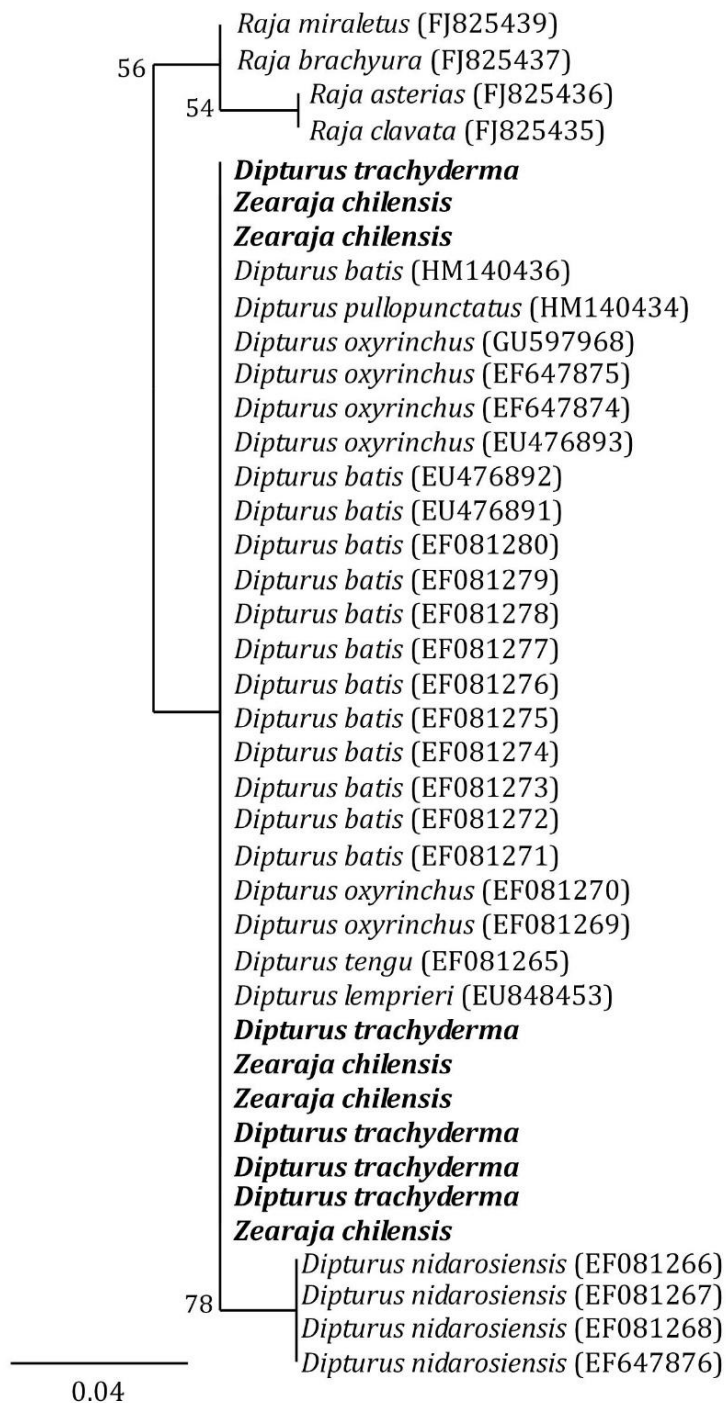


Figura 18 Árbol de consenso (colapsado) de la región 16S del ADN mitocondrial de 12 especies de Rajiformes (Familia Rajidae), incluyendo secuencias originales de *Zearaja chilensis* y *Dipturus trachyderma* (en negrita) Se indican nodos con probabilidad bayesiana significativa. Escala corresponde al número de sustituciones por nodo. Se indican los códigos de acceso GeneBank (si corresponde).

A diferencia de la región 16S, las regiones *cox1* y *nadh2* mostraron 96% y 95% de sitios idénticos, respectivamente (Figura 19 y 20). En ambos genes, se observa un clado dominante el que incluye a los géneros *Dipturus* y *Zearaja* indistintamente. Los porcentajes observados no entregan información suficiente, por lo que la separación entre entidades biológicas tampoco fue posible. Sin embargo, con estas dos regiones se pueden observar diferencias en el origen de la muestra a nivel geográfico, específicamente entre el Océano Pacífico y el Atlántico. En la Figura 19 se identifican dos clados separados, el primero de ellos corresponde a todas aquellas secuencias de *Zearaja chilensis* disponibles en bases de datos provenientes de aguas Argentinas, mientras que en el segundo clado se observan las secuencias realizadas para el proyecto en conjunto con otras secuencias también de *Zearaja chilensis* disponibles en las mismas bases de datos para Chile. Esta clara diferencia entre muestras provenientes del Océano Atlántico y Pacífico, sugiere poblaciones separadas de la misma especie. Similar a lo ocurrido con la región *cox1*, se observa en el gen *nadh2* (Figura 20). La agrupación de las secuencias obtenidas, refleja un clado separado, el que correspondería a secuencias provenientes del Océano Pacífico, aunque no entrega información que permita diferenciar indistintamente las especies de rayas.

Las diferencias observadas a través del análisis de fragmentos de las regiones 16S, *cox1* y *nadh2*, no entrega información sobre las entidades biológicas, y su comparación inter-específica sugiere secuencias casi idénticas entre en los géneros *Zearaja* y *Dipturus*.

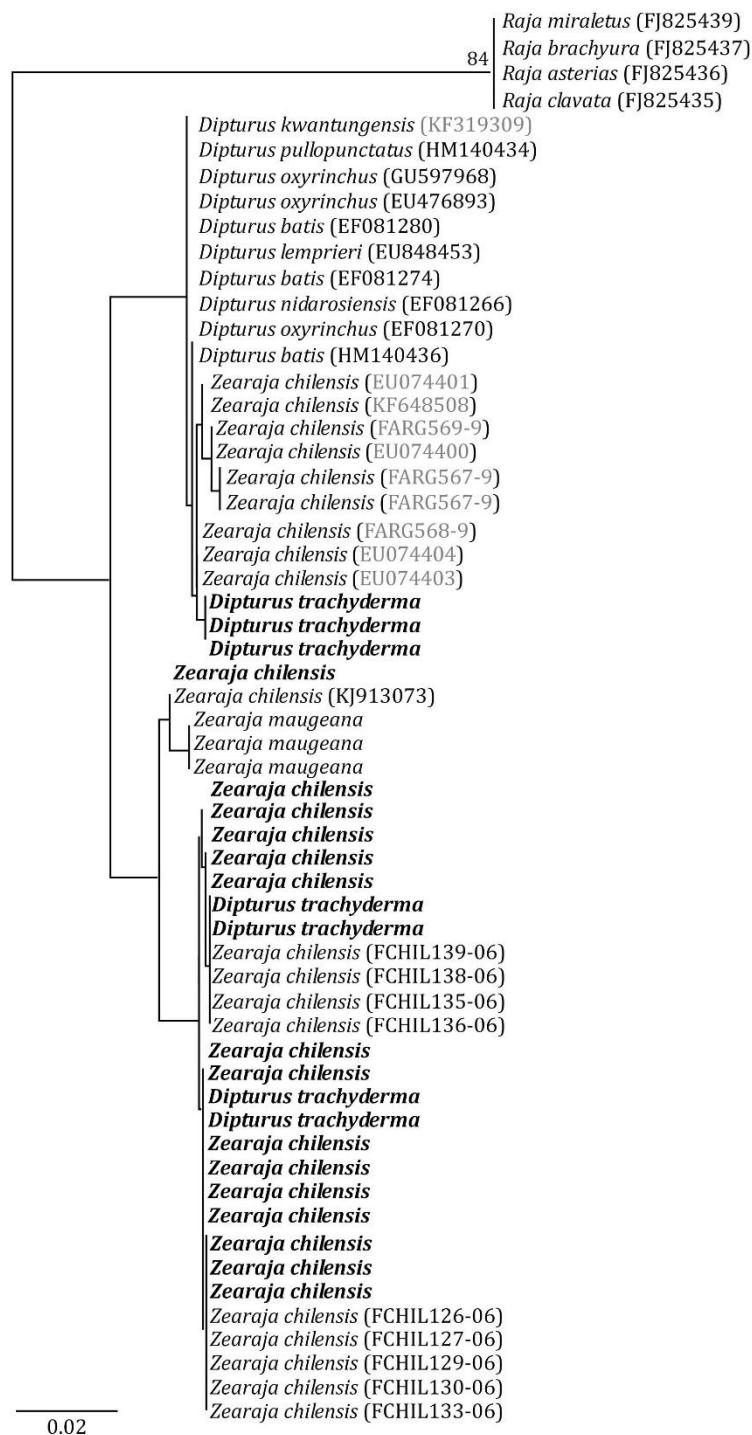


Figura 19 Árbol de consenso (colapsado) de la región *cox1* del ADN mitocondrial de 12 especies de Rajiformes (Familia Rajidae), incluyendo secuencias originales de *Zearaja chilensis* y *Dipturus trachyderma* (en negrita) Se indican nodos con probabilidad bayesiana significativa. Escala corresponde al número de sustituciones por nodo. Se indican los códigos de acceso GeneBank (si corresponde), donde EU, FARG y KF, corresponden a secuencias de animales de Argentina y FCHIL: secuencias provenientes de Chile.

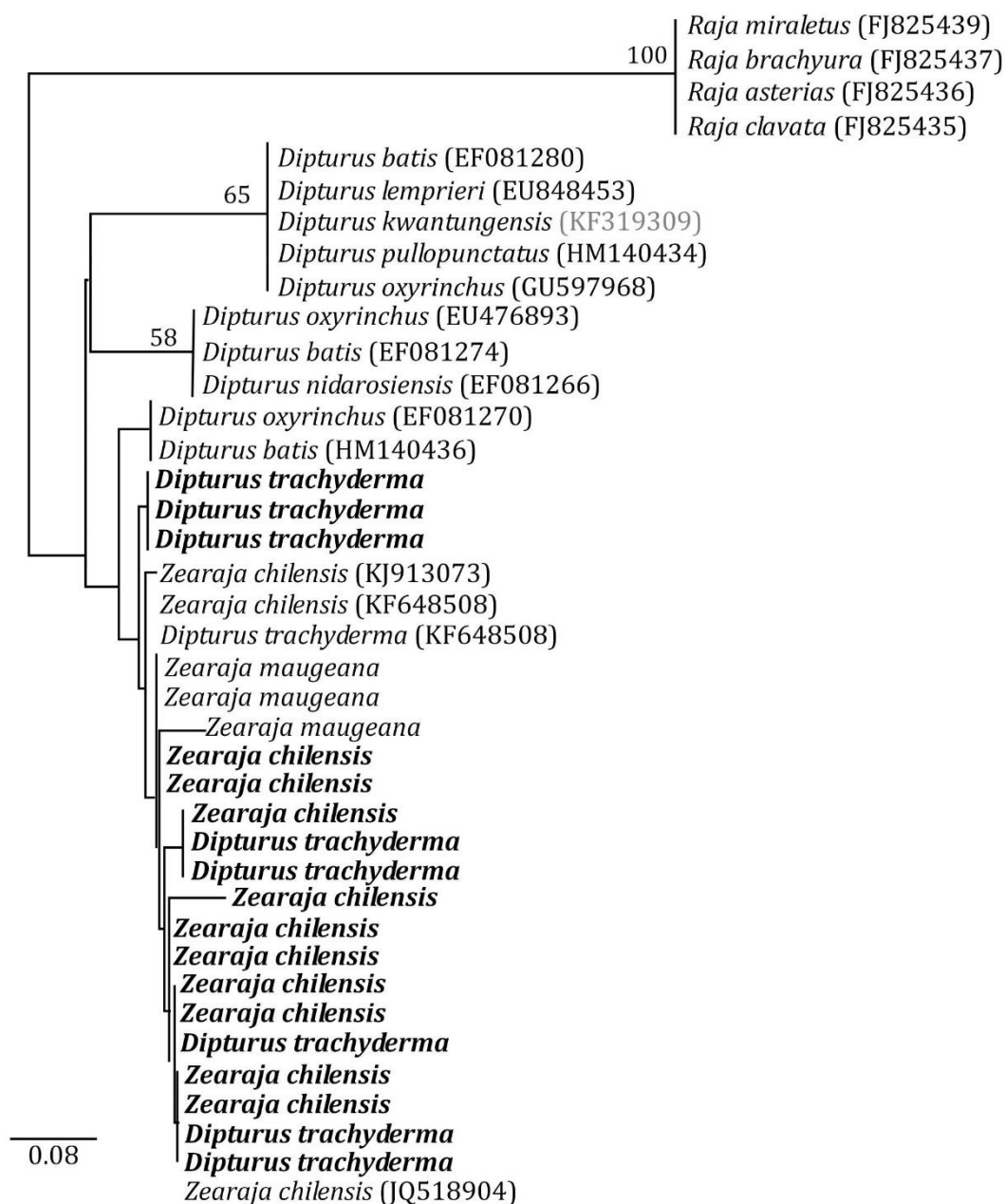


Figura 20 Árbol de consenso (colapsado) de la región *nadh2* del ADN mitocondrial de 12 especies de Rajiformes (Familia Rajidae), incluyendo secuencias originales de *Zearaja chilensis* y *Dipturus trachyderma* (en negrita) Se indican nodos con probabilidad bayesiana significativa. Escala corresponde al número de sustituciones por nodo. Se indican los códigos de acceso GeneBank (si corresponde).

En el caso de la región control, se observa una situación diferente. Las secuencias analizadas en general, presentan 98% de sitios idénticos y sin embargo, se logra por primera vez diferenciar claramente a *Z. chilensis* de *D. trachyderma* (Figura 21), encontrando patrones claros de especiación.

En la Figura 21 se observa que todas las muestras analizadas provenientes de la costa chilena, se agrupan en dos clados, los que corresponden a las dos especies en estudio (*D. trachyderma* y *Z. chilensis*). A pesar de evidenciar esta separación, al menos dos individuos identificados en terreno como *D. trachyderma* se encuentran agrupados en el clado de *Z. chilensis*, lo que evidencia que existen problemas de identificación, aun con personal entrenado en el reconocimiento de estas especies. Los sitios de variabilidad en las secuencias de la región control sugieren sitios diagnósticos que permiten reconocer los diferentes géneros de rayas de la Familia Rajidae, y en particular, permite separar molecularmente los géneros *Zearaja* y *Dipturus*.

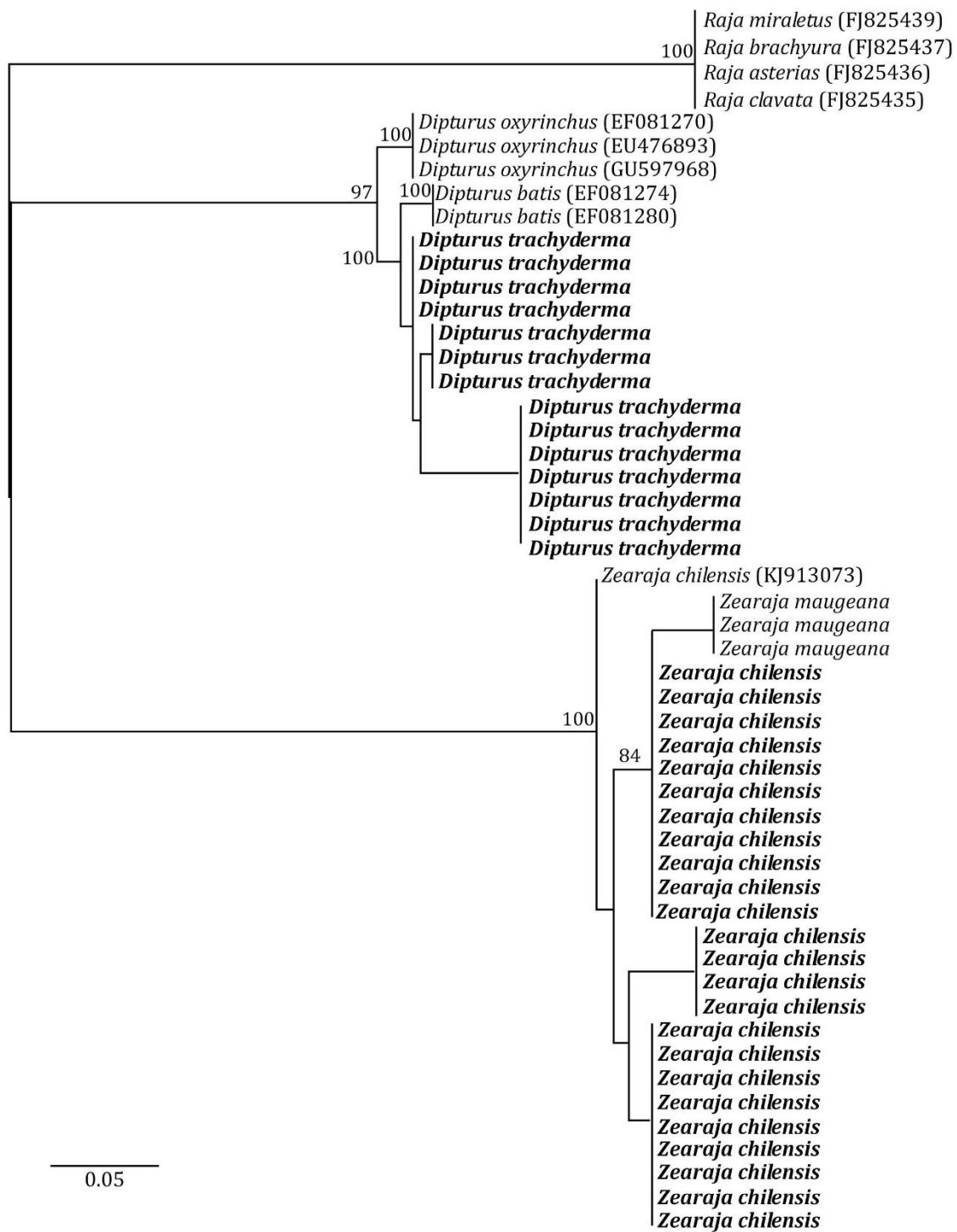


Figura 21 Árbol de consenso (colapsado) de la región control del ADN mitocondrial de 12 especies de Rajiformes (Familia Rajidae), incluyendo secuencias originales de *Zearaja chilensis* y *Dipturus trachyderma* (en negrita) Se indican nodos con probabilidad bayesiana significativa. Escala corresponde al número de sustituciones por nodo. Se indican los códigos de acceso GeneBank (si corresponde).

5.3.3. Identificación de unidades poblacionales de la raya volantín *Zearaja chilensis* y raya espinosa *Dipturus trachyderma* en aguas chilenas, a través de microsátélites y ADN mitocondrial

Secuenciación NGS y ensamblaje de genomas mitocondriales

El genoma mitocondrial completo de la raya volantín *Zearaja chilensis* se describe desde un único espécimen recolectado en San Antonio, Chile (Figura 22). Se obtuvieron un total de 694,593 con una longitud promedio de cada secuencia de 268.8bp (min: 8bp; máx: 616bp). El genoma mitocondrial (mitogenoma), tiene una longitud total de 16.909bob (Número de acceso GenBank: KJ913073), el cual es similar en tamaño, respecto a otras rayas de la Familia Rajidae (rango de 16.724 – 16.972, $n = 8$).

El orden y estructura de la secuencia de los genes de *Z. chilensis* es coherente con otros elasmobranquios y comprende 13 regiones codificantes de proteínas (PCG): 22 genes de *tARN*, 2 genes de *rARNr* y 2 zonas no codificantes (origen de replicación y región control). El mitogenoma presenta un sesgo A+T (69.6%) como se ve en muchos otros peces marinos, y una composición de nucleótidos total de A, 37.7%, T, 31.9%, C, 18.8%, y G, 11.6%. La mayoría de los genes se encuentran codificados en la hebra *H*, a excepción de *nadh6* y ocho genes *tRNAs* los que se encuentran codificados en la hebra *L*. La longitud de la secuencia de genes de *tARN* varió entre 68–75bp, mientras los PCG varían de longitud entre 168bp (*ATP8*) a 1,836bp (*nadh5*). Todos los PCGs utilizan ATG como el codón de partida, a excepción de *cox1*, que utiliza GTG. Únicamente el gen *nadh6* utiliza TAG como codón de parada, mientras que todos los otros genes

utilizan TAA, o codones incompletos (TA- o T--). Superposiciones en la secuencia de genes fueron identificados en seis lugares; el más largo fue de 10bp, entre *ATP8* y *ATP6*.

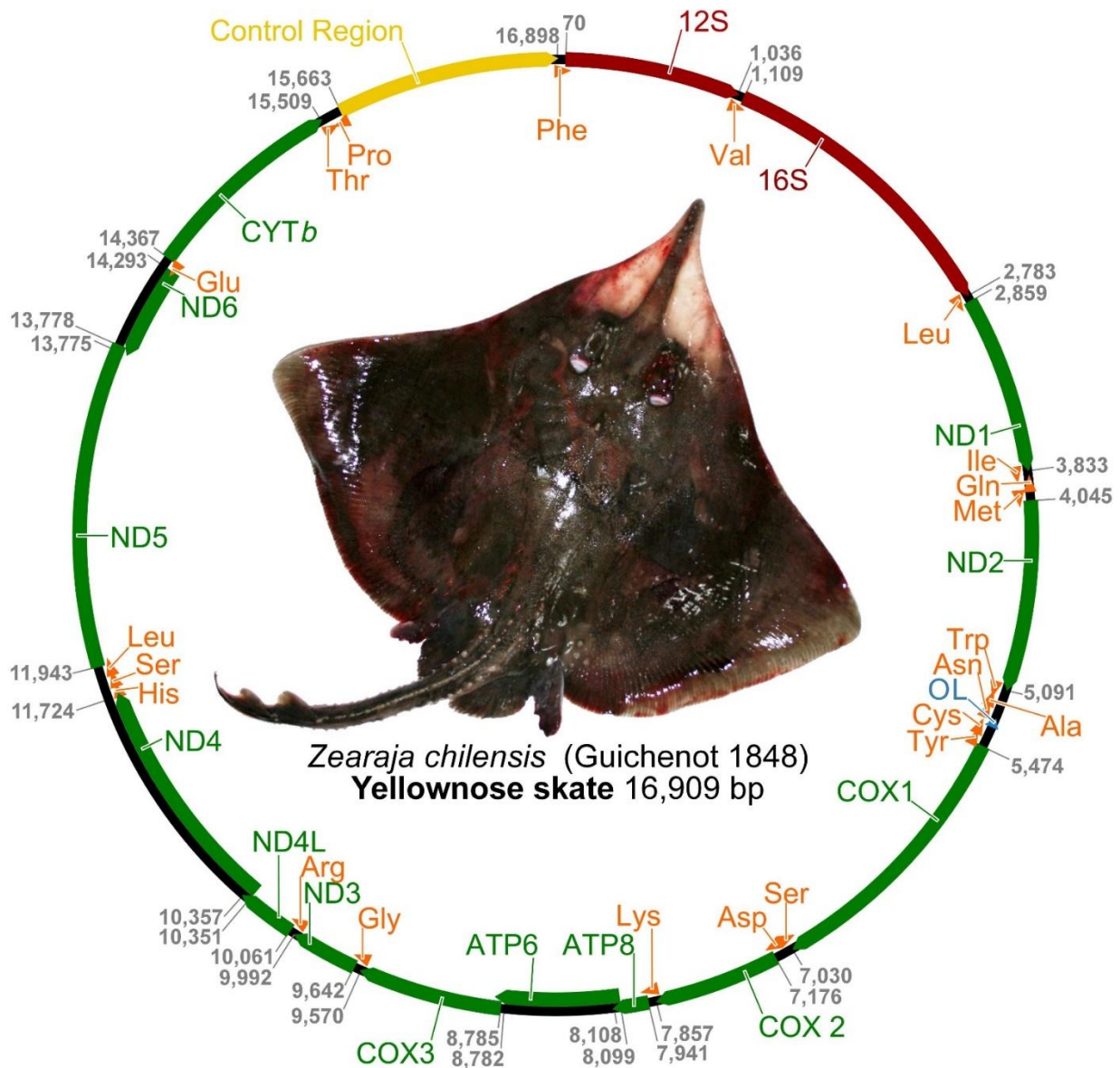


Figura 22 Genoma mitocondrial completo de la raya volántin *Zearaja chilensis* (GenBank: KJ913073, eFish BioVoucher: 2014-ZCH-1004). La dirección de las

subunidades (hebras *H* y *L*) se indican como flechas. Para las regiones codificantes de proteínas (en verde) se indican la posición inicial y final de nucleótidos.

El genoma mitocondrial completo de la raya espinosa *Dipturus trachyderma* fue descrito desde un único espécimen recolectado en Aisén (Chile). Un total de 1,455,724 secuencias se obtuvieron utilizando la tecnología Illumina NGS producir un mitogenoma de 16,907bp (número de acceso al GenBank: KR152643) (Figura 23).

El mitogenoma de *D. trachyderma* tiene un sesgo hacia T+A (58.4%) similar a otros peces marinos, y las proporciones relativas (%) de bases en el ADN de A, 29.7%, T, 28.7%, G, 14.7%, y C, 27.0%. El orden y estructura de la secuencia de genes para *D. trachyderma* es consistente con otros elasmobranquios, y consta de 13 regiones codificantes de proteínas (PCG), 22 genes de *tARN*, las subunidades 12S y 16S del *rARN* y 2 zonas no codificantes. La mayoría de los genes fueron codificados en la hembra *H*, a excepción del gen *nadh6* y ocho *tARN*, los que son codificados en la hebra *L*. La longitud de la secuencia de genes de *tARN* varió entre 68–75 pb, mientras las PCG varían de longitud, entre 168bp (*ATP8*) a 1,836bp (*nadh5*). Todos los PCGs utilizan el codón ATG como el codón de partida, a excepción de *cox1*, que utiliza GTG. El gen *nadh6* utiliza TAG como el codón de parada, mientras todos los otros genes utilizan TAA o codones incompletos (TA- o T--). Superposiciones de genes fueron identificados en seis lugares; el más largo fue de 10 pb entre *ATP8* y *ATP6*. Más detalles sobre los genomas mitocondriales en ambas especies se encuentran descritos en Vargas-Caro *et al.* (2014, 2015b).

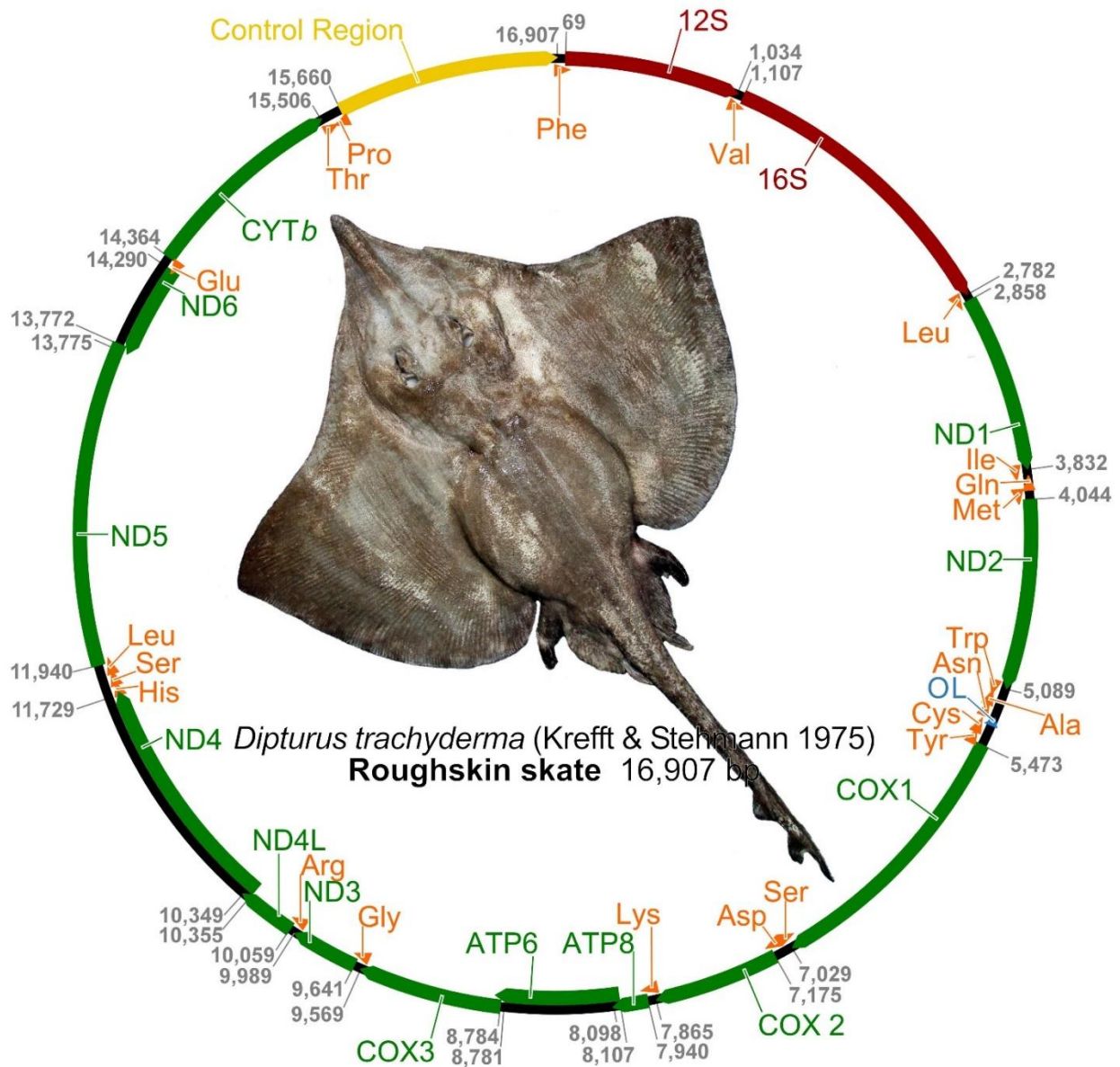


Figura 23 Genoma mitocondrial completo de la raya espinosa *Dipturus trachyderma*, GenBank: KR152643, eFish BioVoucher: 2015-DTR-004). La dirección de las subunidades (hebras *H* y *L*) se indican como flechas. Para las regiones codificantes de proteínas (en verde) se indican la posición inicial y final de nucleótidos.

Desarrollo de primers

Una simulación de potencia, se realizó para analizar la capacidad de resolver el análisis de la estructura poblacional a través de los loci de microsatélites desarrollados. Los resultados sugirieron que una F_{ST} de 0.0025 podría ser detectada con 80% y 99% de certeza estadística utilizando 10 y 16 loci respectivamente, con 150 individuos genotipados por localidad (Tabla 13). La reducción del tamaño muestral evidencia un efecto mayor que la reducción del número de loci. Cuando se reduce el tamaño de la muestra a 50 individuos, la capacidad de detectar diferencias en la F_{ST} (0.0025) usando 10 y 16 loci disminuye a 25% y 40%, respectivamente. Sin embargo, al considerar un tamaño muestral reducido, se demuestra la necesidad de aumentar el número de loci. La detección de F_{ST} (0.01) se mantuvo robusta (> 95%) a lo largo de todos los tamaños muestrales.

Tabla 13 Simulaciones de potencia para detectar diferencias entre un rango de valores de F_{ST} . Se indican el (L) número de loci y el (n) tamaño de la muestra.

Loci	F_{ST}		
	0.0025	0.005	0.01
10L (n = 150)	80%	100%	100%
10L (n = 100)	51%	90%	100%
10L (n = 50)	25%	60%	95%
16L (n = 150)	99%	100%	100%
16L (n = 100)	86%	100%	100%
16L (n = 50)	40%	71%	100%

Diversidad genética y estructura poblacional utilizando marcadores mitocondriales

Zearaja chilensis – Un total de 271 secuencias parciales de la región de control (557bp) fueron amplificadas con éxito. La composición de nucleótidos de estas secuencias fue la siguiente: citosina 21.9%, timina 35.2%, adenina 34.2% y guanina y 8,8%.

El análisis de estas secuencias reveló un total de 11 haplotipos con diez sitios polimórficos y un indel de 1bp (Tabla 14). De los 11 haplotipos, ocho son exclusivos de su localidad muestral (*Zch_CR_H_4, H_6, H_7 y H_9* en San Antonio; *Zch_CR_H_5, H_8 y H_11* en Valdivia y *Zch_CR_H_10* en Puerto Montt). Los tres restantes haplotipos, *Zch_CR_H_2* se observaron en todas las localidades con frecuencias que van desde 0.0571 hasta 1.0, seguido por *Zch_CR_H_1* que se observó en todas las localidades (sin incluir Aisén) y *Zch_CR_H_3* que se observa en San Antonio y Valdivia. Curiosamente, Aisén y Punta Arenas carecen de haplotipos únicos, donde Aisén es dominada por *Zch_CR_H_2* (1.0) y Punta Arenas por *Zch_CR_H_1* (0.644) y *Zch_CR_H_2* (0,356) (Tabla 15).

Los índices de diversidad genética no pudieron ser estimados para para Aisén debido a la presencia de un sólo un haplotipo. De las localidades restantes San Antonio, Valdivia y Punta Arenas mostraron índices de diversidad muy similares ($h = 0.4965, 0.4617$ y 0.4687 , respectivamente), mientras que Puerto Montt mostró la menor diversidad ($h = 0,0842$) (Tabla 16). En general, la diversidad de nucleótidos (π) mostró valores bajos en todas las localidades ($\pi = 0.001 \pm 0.001$) con valores específicos de población que van de 0.0001 ± 0.0003 a 0.0024 ± 0.0017 . Los valores de

D (Tajima) y F (Fu) para San Antonio, Valdivia y Puerto Montt fueron negativos y no significativamente diferente de cero, con la excepción de Puerto Montt (Tabla 16). Los resultados sugieren que la hipótesis nula de reciente expansión demográfica no puede ser rechazada.

Tabla 14 Haplotipos, posición del nucleótidos y sitios polimórficos de la región de control del *mtADN* en *Zearaja chilensis*. Los guiones (-) indica los sitios de delección (indel) y los puntos (·) indican identidad de nucleótidos con el haplotipo 1. Se indica además, el (n) número de individual para cada haplotipo.

Haplotipos	Posición del nucleótido en sitios polimórficos										n	
	1	1	1	2	2	4	4	5	5	5		
	9	0	2	6	0	0	1	9	1	2		2
<i>Zch_CR_H_1</i>	A	G	-	G	A	T	T	C	C	C	T	123
<i>Zch_CR_H_2</i>	·	·	-	·	·	·	·	·	T	·	·	121
<i>Zch_CR_H_3</i>	G	·	-	·	·	·	·	·	·	·	·	5
<i>Zch_CR_H_4</i>	·	A	T	·	·	·	·	·	·	T	C	7
<i>Zch_CR_H_5</i>	·	·	-	·	G	·	·	·	T	·	·	5
<i>Zch_CR_H_6</i>	·	·	-	A	G	·	·	·	T	·	·	5
<i>Zch_CR_H_7</i>	·	·	-	·	·	C	·	·	·	·	·	1
<i>Zch_CR_H_8</i>	·	·	-	·	·	·	C	·	T	·	·	1
<i>Zch_CR_H_9</i>	·	·	-	A	·	·	·	·	·	·	·	1
<i>Zch_CR_H_10</i>	·	·	-	·	·	·	·	T	T	·	·	1
<i>Zch_CR_H_11</i>	·	·	-	·	·	·	C	·	·	·	·	1

Tabla 15 Frecuencia de los 11 haplotipos de la región control del *mtADN* para *Zearaja chilensis* para cinco localidades en Chile. Los números entre paréntesis, corresponde al número de individuos por localidad.

Haplotipo	San Antonio (70)	Valdivia (61)	Puerto Montt (47)	Aisén (48)	Punta Arenas (45)
<i>Zch_CR_H_1</i>	0.7000	0.7210	0.0213	-	0.6440
<i>Zch_CR_H_2</i>	0.0571	0.1310	0.9570	1.0000	0.3560
<i>Zch_CR_H_3</i>	0.0429	0.0328	-	-	-
<i>Zch_CR_H_4</i>	0.1000	-	-	-	-
<i>Zch_CR_H_5</i>	-	0.0820	-	-	-
<i>Zch_CR_H_6</i>	0.0714	-	-	-	-
<i>Zch_CR_H_7</i>	0.0143	-	-	-	-
<i>Zch_CR_H_8</i>	-	0.0164	-	-	-
<i>Zch_CR_H_9</i>	0.0143	-	-	-	-
<i>Zch_CR_H_10</i>	-	-	0.0213	-	-
<i>Zch_CR_H_11</i>	-	0.0164	-	-	-

Tabla 16 Diversidad genética de la región de control del *mtADN* para *Zearaja chilensis*. Se indican el (N_H) número de haplotipos, (S) número de sitios polimórficos, (h) diversidad de haplotipos, (π) diversidad de nucleótidos, (MPD) diferencia de medias por pares., (PTD) probabilidad de Tajima D , (PFS) probabilidad de Fu F . Los (*) indican un valor de P significativo para D y $F < 0.05$.

Localidad	San Antonio	Valdivia	Puerto Montt	Aisén	Punta Arenas
N_h	7	6	3	1	2
S	8	4	2	0	1
H	0.4965 ± 0.0695	0.4617 ± 0.0729	0.0842 ± 0.0552	na	0.4687 ± 0.0437
Π	0.0024 ± 0.0017	0.0012 ± 0.0010	0.0001 ± 0.0003	na	0.0008 ± 0.0008
D (Tajima)	-0.74221	-0.54267	-1.471	na	1.44998
P_{TD}	0.278	0.333	0.030*	na	0.935
F (Fu)	-1.01359	-2.21227	-2.94745	na	1.74131
P_{FS}	0.432	0.080	0.005*	na	0.719

Los valores pairísticos de Φ_{ST} oscilan entre 0.00008 y 0.62171 (Tabla 17). Los resultados sugieren dos grupos distintos a nivel poblacional, el primero formado por San Antonio, Valdivia y Punta Arenas con los valores Φ_{ST} cercanos a 0.0, y un segundo grupo que incluye Puerto Montt y Aisén con los valores Φ_{ST} entre 0.5 a 0.6. Diferencias significativas entre los pares de Φ_{ST} se observa entre San Antonio y todas las otras localidades. Los conjuntos Valdivia-Punta Arenas y Puerto Montt-Aisén mostraron divergencias pairísticos no-significativos.

Tabla 17 Valores pairísticos de Φ_{ST} y P para *Zearaja chilensis* entre localidades. Los valores de Φ_{ST} se presentan bajo la diagonal, los valores de P , sobre la diagonal. Se indican (*) los valores significativos de $P \leq 0,05$.

	San Antonio	Valdivia	Puerto Montt	Aisén	Punta Arenas
San Antonio	–	0.02703	0	0	0
Valdivia	0.03603*	–	0	0	0.11712
Puerto Montt	0.50002*	0.58316*	–	0.69369	0
Aisén	0.52531*	0.62171*	0.00008	–	0
Punta Arenas	0.07990*	0.02340	0.58435*	0.54427*	–

La red de haplotipos de la región control del *mtADN* evidencia la ausencia de una estructura general entre todas las localidades, con únicamente una o dos mutaciones entre los haplotipos observados más frecuentes en San Antonio y Valdivia (Figura 24). Sin embargo, se puede observar una diferencia entre el conjunto de localidades de aguas interiores (Aisén y Puerto Montt) y aguas exteriores (San Antonio, Valdivia y Punta Arenas). Las localidades de Puerto Montt y Aisén se encuentran representados en su mayoría por H_2 (80%) sin embargo, este haplotipo se encuentra compartido con las otras localidades pero con frecuencias muy bajas (Tabla 15).

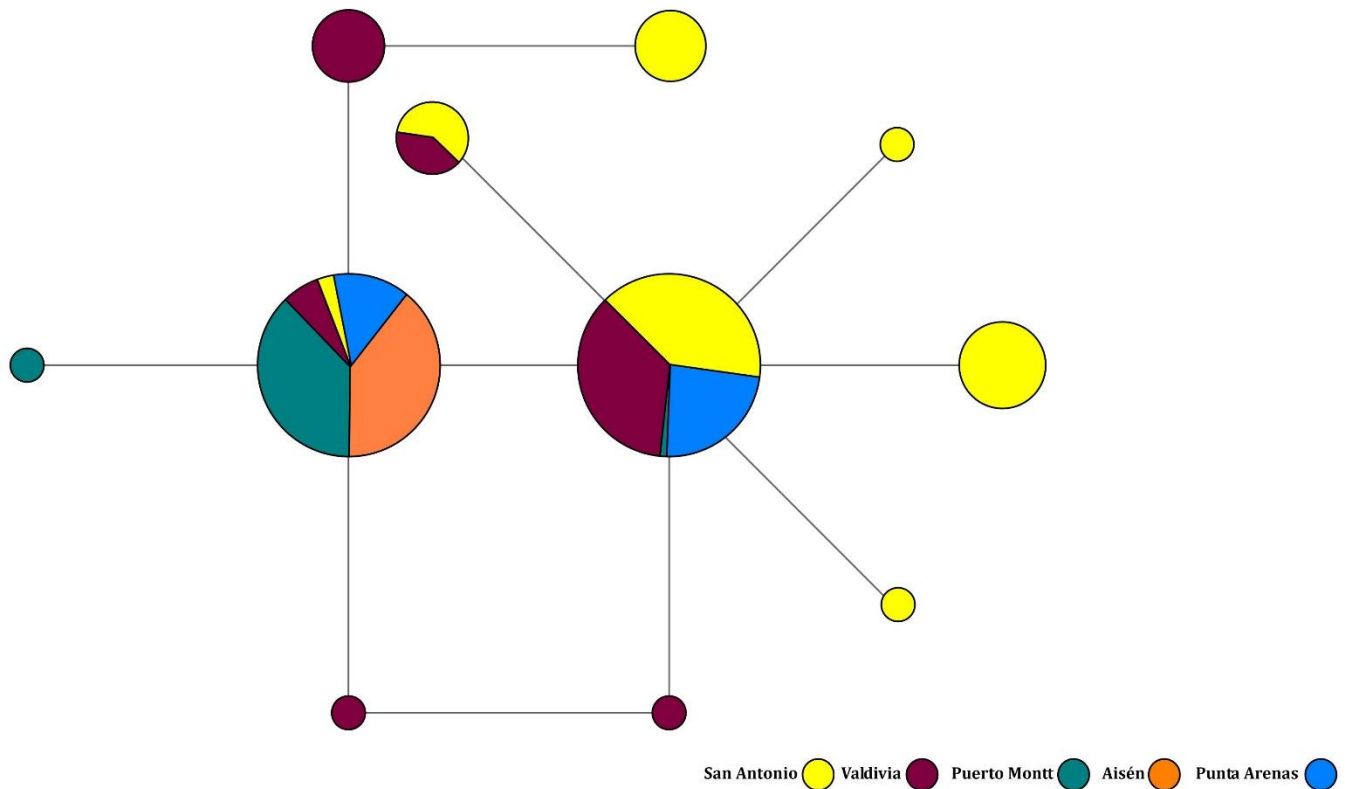


Figura 24 Red de haplotipos de la región control del *mtADN* para *Zearaja chilensis*. Los círculos representan haplotipos individuales y su tamaño es proporcional a la frecuencia observada. Las localidades se indican en colores.

Dipturus trachyderma – Un total de 137 secuencias parciales de la región de control (556bp) fueron amplificadas con éxito. La composición de nucleótidos de estas secuencias fue la siguiente: citosina 21.3%, timina 35.6%, adenina 34.5% y guanina 8.6%.

El análisis posterior, reveló un total de nueve sitios polimórficos los que definieron un total de 4 haplotipos (Tabla 18). Los resultados demuestran que *Dtr_CR_H_4* es el único haplotipo compartido entre localidades y domina claramente

sobre los otros, con frecuencias que van entre 0.811 a 1.0 (Tabla 19). El haplotipo *Dtr_CR_H_2* se observó en San Antonio, Valdivia y Puerto Montt, mientras que *Dtr_CR_H_3* en Valdivia y Puerto Montt. Sin embargo, ambos haplotipos (*Dtr_CR_H_2* y *Dtr_CR_H_3*) mostraron valores bajos de frecuencia entre 0.01 a 0.07. Valdivia fue el único lugar en el que se pudieron observar los cuatro haplotipos; de hecho el haplotipo *Dtr_CR_H_1* es único para esta localidad. Las otras localidades restantes carecen de haplotipos únicos (Tabla 19).

Tabla 18 Haplotipos, posición del nucleótidos y sitios polimórficos de la región de control del *mtADN* en *Dipturus trachyderma*. Los guiones (-) indica los sitios de delección (indel) y los puntos (·) indican identidad de nucleótidos con el haplotipo 1. Se indica además, el (*n*) número de individual para cada haplotipo.

Haplotipo	Posición del nucleótido en sitios polimórficos									<i>n</i>
	1	1	1	2	2	2	3	4	5	
	4	7	7	0	4	7	0	0	4	
	9	6	8	1	5	1	5	2	9	
<i>Dtr_CR_H_1</i>	C	C	C	A	T	A	A	T	G	7
<i>Dtr_CR_H_2</i>	·	T	T	G	A	T	G	C	T	4
<i>Dtr_CR_H_3</i>	·	T	T	G	A	T	G	·	T	2
<i>Dtr_CR_H_4</i>	T	T	T	G	A	T	G	·	T	124

Tabla 19 Frecuencia de cuatro haplotipos de la región control del *mtADN* para *Dipturus trachyderma*, para cinco localidades en Chile. Los números entre paréntesis, corresponde al número de individuos por localidad.

Haplotipo	San Antonio (52)	Valdivia (53)	Puerto Montt (14)	Aisén (11)	Punta Arenas (7)
<i>Dtr_CR_H_1</i>	-	0.1320	-	-	-
<i>Dtr_CR_H_2</i>	0.0192	0.0377	0.0714	-	-
<i>Dtr_CR_H_3</i>	-	0.0189	0.0714	-	-
<i>Dtr_CR_H_4</i>	0.9810	0.8110	0.8570	1.0000	1.0000

Los índices de diversidad no pudieron ser estimados de Aisén y Punta Arenas, ya que sólo se observó un haplotipo para estos lugares. Desde las localidades restantes Valdivia mostró los más altos índices de diversidad ($h = 0.4617$), seguido por Puerto Montt y San Antonio ($h = 0.2747$ y $h = 0.0385$, respectivamente, Tabla 20). La diversidad de nucleótidos (π) mostró valores bajos en todos los lugares que van 0.0001 y 0.003. Los índices D (Tajima) y F (Fu) para San Antonio y Puerto Montt fueron negativos y no significativamente diferente de cero, con la excepción del P valor de D , en para San Antonio (Tabla 20). Los resultados sugieren que una reciente expansión demográfica en estas localidades podría ser considerada.

Tabla 20 Diversidad genética de la región de control del *mtADN* para *Dipturus trachyderma*. Se indican el (N_H) número de haplotipos, (S) número de sitios polimórficos, (h) diversidad de haplotipos, (π) diversidad de nucleótidos, (MPD) diferencia de medias por pares., (PTD) probabilidad de Tajima D , (PFS) probabilidad de Fu F . Los (*) indican un valor de P significativo para D y $F < 0.05$.

Localidad	San Antonio	Valdivia	Puerto Montt	Aisén	Punta Arenas
N_h	2	4	3	1	1
S	2	9	2	0	0
H	0.0385 ± 0.0366	0.4617 ± 0.0729	0.2747 ± 0.1484	na	na
Π	0.0001 ± 0.0003	0.0036 ± 0.0023	0.0007 ± 0.0008	na	na
D (Tajima)	-1.46012	0.05381	-0.95919	na	na
P_{TD}	0.036*	0.577	0.197	na	na
F (Fu)	-0.89375	3.40986	-0.85452	na	na
P_{FS}	0.099	0.921	0.078	na	na

Los valores pairísticos de Φ_{ST} indican una divergencia no significativa entre las localidades (Tabla 21). Aunque los valores entre San Antonio y Valdivia parece ser significativos, se observó una ausencia de estructura poblacional entre todas las localidades. Esta situación puede deberse a la ocurrencia única del Haplotipo *Dtr_CR_H_1* en Valdivia, el que es divergente en siete mutaciones del resto de haplotipos.

Tabla 21 Valores pairísticos de Φ_{ST} y P para *Dipturus trachyderma* entre localidades.

Los valores de Φ_{ST} se presentan bajo la diagonal, los valores de P , sobre la diagonal. Se indican (*) los valores significativos de $P \leq 0,05$.

	San Antonio	Valdivia	Puerto Montt	Aisén	Punta Arenas
San Antonio	-	0	0.12613	0.99099	0.99099
Valdivia	0.11014*	-	0.36937	0.19820	0.43243
Puerto Montt	0.07389	0.02790	-	0.51351	0.76577
Aisén	-0.04555	0.03749	0.02902	-	0.99099
Punta Arenas	-0.07561	0.00688	-0.01564	0	-

La red de haplotipos para la región control del *mtADN* de *D. trachyderma*, mostró una falta general de estructura poblacional, lo que se encuentra en directa relación al predominio (90%) de un haplotipo *Dtr_CR_H_4* entre las localidades (Figura 25). Aunque este haplotipo es compartido por todas las localidades, es dominante en San Antonio y Valdivia. Sin embargo, se debe suponer un sesgo relacionado con el tamaño de muestreo en las localidades restantes. Sin embargo, Valdivia es la única localidad que muestra un haplotipo único (*Dtr_CR_H_1*) divergente por siete mutaciones del conjunto de haplotipos.

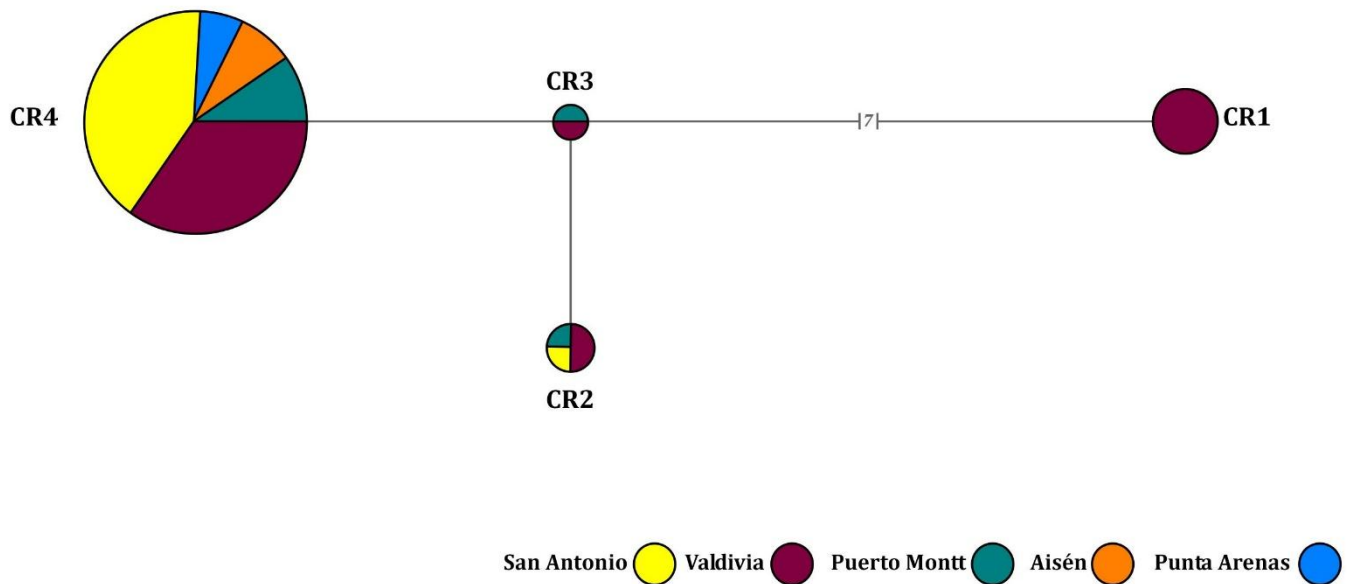


Figura 25 Red de haplotipos de la región control del *mtADN* para *Dipturus trachyderma*. Los círculos representan haplotipos individuales y su tamaño es proporcional a la frecuencia observada. Las localidades se indican en colores.

Diversidad genética y estructura poblacional utilizando marcadores nucleares

Zearaja chilensis – Un total de 154 individuos de cinco localidades fueron genotipados con nueve loci de microsatélites. Todos los loci fueron polimórficos con diversidad alélica que osciló entre 4 (*Zch_MS_10*) y 13 alelos (*Zch_MS_31*) (Tabla 22). La heterocigosidad observada (H_0) osciló entre 0.300 y 0.810; mientras que heterocigosidad esperada (H_E) osciló entre 0.302 y 0.800. Los valores más altos de H_0

y H_E fue registrado para los loci *Zch_MS_19* y *Zch_MS_31* respectivamente; mientras que el locus *Zch_MS_13* mostró el valor más bajo (Tabla 22).

Tabla 22 Caracterización de los nueve loci polimórficos de microsatélites utilizados en *Zearaja chilensis*. El nombre del locus (MS) y el código interno (P1) de laboratorio se encuentran indicados. Además, se incluye el (N_A) número de alelos, el (N_E) número efectivo de alelos por locus, y la heterocigosidad (H_O) observada y (H_E) esperada.

Locus (MS)/ Código (P1)	Secuencia de primer (3'-5')	Motif	Tamaño (bp)	N_A	N_E	H_O	H_E
<i>Zchi_P1_067</i>	F: GGA TTT CAT AAA GTG AGT ATT GGC	(AC)10	143	5	2.234	0.545	0.540
<i>Zch_MS_08</i>	R: CAA ACT TTA AGA TG TGG TGG C						
<i>Zchi_P1_070</i>	F: CAG CCA GAT GTT CTA TCT CCC	(AC)7	166	5	1.443	0.300	0.302
<i>Zch_MS_13</i>	R: GAC CAT AAA CCC AGG TGC C						
<i>Zchi_P1_019</i>	F: TTA TGA AGT AGA CCT CAA ATT AAC CC	(AAT)8	213	7	4.944	0.810	0.797
<i>Zch_MS_19</i>	R: TTT ACT AGT GCA GAC TTA ATG CCG						
<i>Zchi_P1_059</i>	F: CTT CCT TGA CAT TCC TTG GG	(AATG)7	141	5	2.562	0.599	0.609
<i>Zch_MS_15</i>	R: ACC TTA ACA TAG AAT ATC ACT GCG G						
<i>Zchi_P1_085</i>	F: TTT GAG TAA ATG GCC ACC G	(AC)7	182	13	5.205	0.768	0.800
<i>Zch_MS_31</i>	R: AAC TGT CCA CAA TTC CTC CC						
<i>Zchi_P1_007</i>	F: GAA ATA AAC AGA GTA CCC TCT ATG GC	(ATC)8	137	8	1.859	0.474	0.452
<i>Zch_MS_06</i>	R: CCG ACT CAT GAA TTT CTC CC						
<i>Zchi_P1_072</i>	F: GAC TCC TGT TGT TCT ATG TTC CC	(AC)10	301	7	2.750	0.578	0.622
<i>Zch_MS_16</i>	R: ATG GAC CCT TTA TCT CAG GG						
<i>Zchi_P1_057</i>	F: CAT CGT GTG ACT GAG TGC G	(AGC)7	333	4	2.870	0.614	0.650
<i>Zch_MS_10</i>	R: TGT GCA CCA CGA TTT AGG C						
<i>Zchi_P1_083</i>	F: AGG TTT AGA GGG ATA TGG GC	(AC)9	394	7	2.136	0.518	0.496
<i>Zch_MS_29</i>	R: CCA GTA AGC CTG TTA ATA TAA GGG						

Todos los loci de microsatélites fueron probados por errores de puntuación usando MICROCHECKER, el que identifico la posibilidad de alelos nulos sólo para un locus (*Zch_MS_10*) en Aisén debido a un exceso de homocigotos. No hay evidencias de error de puntuación debido a repeticiones, alelos nulos o desaparición de alelos en cualquier otro locus o localidad. Los análisis de Hardy-Weinberg mostró que la mayoría de los loci estaban en equilibrio (aproximadamente 90%), aunque cinco loci presentaron una desviación significativa de HWE en una localidad ($P = 0.01$) y valores significativos para dos loci ($P = 0.04$) para tres localidades (Tabla 23). No hay evidencia de desequilibrio para ningun par de loci.

Tabla 23 Valores significativos ($P \leq 0.05$) para el test exacto de equilibrio Hardy-Weinberg en *Zearaja chilensis*.

Población		Locus								
		<i>Zch_</i> <i>MS_08</i>	<i>Zch_</i> <i>MS_13</i>	<i>Zch_</i> <i>MS_19</i>	<i>Zch_</i> <i>MS_15</i>	<i>Zch_</i> <i>MS_31</i>	<i>Zch_</i> <i>MS_06</i>	<i>Zch_</i> <i>MS_16</i>	<i>Zch_</i> <i>MS_10</i>	<i>Zch_</i> <i>MS_29</i>
San Antonio	$n= 30$	-	-	-	-	-	0.01	-	-	-
Valdivia	$n= 32$	-	-	-	-	-	-	0.04	-	-
Puerto Montt	$n= 32$	-	0.04	-	-	-	-	-	-	-
Aisén	$n= 32$	-	-	-	-	-	-	-	0.01	-
Punta Arenas	$n= 28$	-	-	0.04	-	-	-	-	-	-

El número observado de alelos dentro de las localidades osciló entre 2 para San Antonio en el locus *Zch_MS_13* y, 10 para San Antonio y Puerto Montt en el locus *Zch_MS_31* (Tabla 24). San Antonio mostró el promedio más alto de H_0 y H_E (0.603 y 0.613, respectivamente) y el promedio más bajo fue observado en Aisén (0.534 y 0.546, respectivamente). El coeficiente de *inbreeding* (F_{IS}), varió entre -1.000 y 1.000. Entre las localidades, se detectaron valores de F_{IS} positivos debido a las deficiencias de heterocigotos en todos los loci. El locus *Zch_MS_16* tuvo la mayor cantidad de valores positivos de F_{IS} para todas las localidades, mientras que el locus *Zch_MS_06* y *Zch_MS_29* presentaron la mayoría de valores negativos (Tabla 24). Los valores de F_{IS} , indican también que Aisén tiene el mayor promedio positivo (0.303) y Punta Arenas el mayor negativo (-0.023). Sin embargo, no se encontraron valores significativos de F_{IS} entre localidades.

Tabla 24 Diversidad genética de los nueve loci de microsatélites por localidad para *Zearaja chilensis*. Se indican el (N) número de individuos; el (N_A) número de alelos observados por locus; el (N_E) número efectivo de alelos por locus; la heterocigosidad (H_o) observada y (H_e) esperada; y el (F_{is}) coeficiente de *inbreeding* de Wright para los individuos en relación con su localidad.

Localidad	Zch_ MS_08	Zch_ MS_13	Zch _MS_19	Zch_ MS_15	Zch_ MS_31	Zch_ MS_06	Zch_ MS_16	Zch_ MS_10	Zch_ MS_29
San Antonio									
N	30	29	27	30	30	30	30	26	29
N_A	5	2	6	4	10	7	4	4	6
N_E	2.120	1.355	4.688	2.423	5.488	2.222	2.985	3.011	2.836
H_o	0.500	0.241	0.852	0.633	0.867	0.467	0.600	0.577	0.690
H_e	0.528	0.262	0.787	0.587	0.818	0.550	0.665	0.668	0.647
F_{is}	0.054	0.079	-0.083	-0.079	-0.060	0.152	0.098	0.136	-0.065
Valdivia									
N	32	32	32	32	32	32	32	32	32
N_A	5	3	7	5	9	6	5	4	6
N_E	1.775	1.290	4.923	2.510	4.719	2.060	3.025	3.122	2.663
H_o	0.438	0.219	0.750	0.563	0.750	0.594	0.563	0.688	0.625
H_e	0.437	0.225	0.797	0.602	0.788	0.515	0.669	0.680	0.625
F_{is}	-0.002	0.026	0.059	0.065	0.048	-0.154	0.160	-0.011	-0.001
Puerto Montt									
N	31	30	24	31	31	32	31	32	31
N_A	5	4	6	4	10	5	6	4	3
N_E	1.961	1.457	4.923	2.773	6.343	1.822	3.444	2.745	1.442
H_o	0.484	0.233	0.875	0.677	0.806	0.469	0.645	0.656	0.355
H_e	0.490	0.314	0.797	0.639	0.842	0.451	0.710	0.636	0.306
F_{is}	0.013	0.257	-0.098	-0.059	0.043	-0.039	0.091	-0.032	-0.158

Tabla 24 continuación

Localidad	Zch_ MS_08	Zch_ MS_13	Zch _MS_19	Zch_ MS_15	Zch_ MS_31	Zch_ MS_06	Zch_ MS_16	Zch_ MS_10	Zch_ MS_29
Aisén									
N	32	32	32	31	30	32	31	32	31
N _A	5	4	6	5	7	5	4	4	5
N _E	2.459	1.431	5.292	2.673	3.644	1.544	2.069	2.684	1.560
H _o	0.625	0.344	0.906	0.548	0.633	0.375	0.548	0.438	0.387
H _e	0.593	0.301	0.811	0.626	0.726	0.353	0.517	0.627	0.359
F _{is}	-0.053	-0.141	-0.117	0.124	0.127	-0.064	-0.061	0.303	-0.078
Punta Arenas									
N	28	28	27	28	28	28	28	28	28
N _A	4	3	6	4	8	5	5	4	5
N _E	2.856	1.682	4.893	2.431	5.829	1.647	2.227	2.785	2.181
H _o	0.679	0.464	0.667	0.571	0.786	0.464	0.536	0.714	0.536
H _e	0.650	0.406	0.796	0.589	0.828	0.393	0.551	0.641	0.541
F _{is}	-0.044	-0.145	0.162	0.029	0.052	-0.182	0.028	-0.114	0.011

Una leve estructura poblacional genética fue evidenciada para *Z. chilensis* utilizando los loci de microsatélites. Los valores de *Fst* basados en loci de microsatélites oscilan entre -0.003 y 0.001 (Tabla 25). Aunque la mayoría de estos valores no son significativos (valores de $P \leq 0.05$), los valores generales de *Fst* no son diferentes de cero. Sin embargo, basado en los valores individuales de *Fst*, se observa un aislamiento por distancia (IBD) de carácter significativo ($r = 0.6934$, $P = 0.01$) (Figura 26).

Tabla 25 Valores pairísticos de *Fst* y *P* para *Zearaja chilensis* entre localidades. Los valores de *Fst* se presentan bajo la diagonal, los valores de *P*, sobre la diagonal. Se indican (*) los valores significativos de $P \leq 0,05$.

	San Antonio	Valdivia	Puerto Montt	Aisén	Punta Arenas
San Antonio	-	0.66602	0.06152	0.10547	0.03027
Valdivia	-0.00219	-	0.40625	0.01660	0.00293
Puerto Montt	0.00828	0.00084	-	0.72363	0.07617
Aisén	0.00696	0.01150*	-0.00340	-	0.10352
Punta Arenas	0.01109*	0.01928*	0.00783	0.00612	-

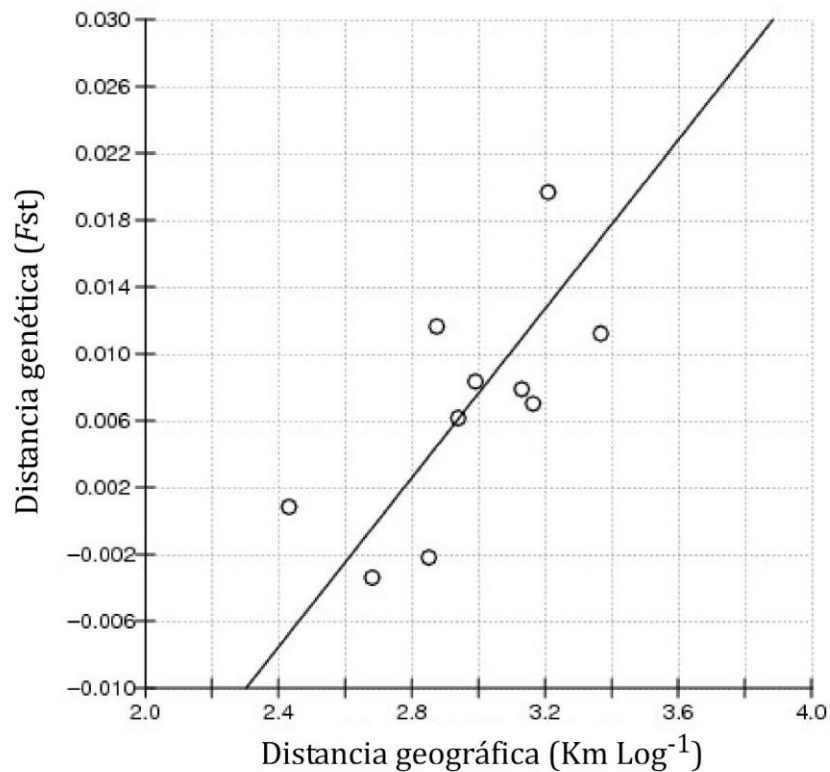


Figura 26 Correlación basada en los valores de *Fst* de microsatélites, entre la distancia genética y geográfica *Zearaja chilensis* en las localidades estudiadas.

Dipturus trachyderma – Un total de 95 individuos proveniente de cinco localidades fueron genotipados con siete loci de microsatélites. Todos los loci fueron polimórficos con diversidad alélica que oscila entre valores de 2 (*Zch_MS_15*, *Zch_MS_06*) y 6 (*Zch_MS_31*, *Dtr_MS_08*) alelos (Tabla 26). La heterocigosidad observada (H_0) osciló entre 0.142 y 0.580; mientras que la heterocigosidad esperada (H_E) varía entre 0.209 y 0.568. Los mayores valores de H_0 y H_E fueron registrados para el locus *Zch_MS_3*, mientras que el locus *Zch_MS_16* mostró los valores más bajos (Tabla 26).

Todos los loci microsatélites fueron revisados por errores en las anotaciones a través de MICROCHECKER, y se evidencia la posibilidad de alelos nulos para el locus *Zch_MS_16* en San Antonio y el locus *Zch_MS_15* en Valdivia, debido a repeticiones en la secuencia de oligonucleótidos y al exceso de homocigotos. Sin embargo, no hay evidencias de errores de anotación debido a repeticiones, alelos nulos o descartes en cualquier otro loci o localidad. Los análisis de Hardy-Weinberg mostraron que la mayoría de los loci estaba en equilibrio (aproximadamente 90%), sólo dos loci presentan una desviación significativa del HWE, para una localidad en particular, con valores de P entre 0.003 y 0.037 (Tabla 27). No hay evidencia de desequilibrio para ningún par de loci investigado.

Tabla 26 Caracterización de los siete loci polimórficos de microsatélites utilizados en *Dipturus trachyderma*. El nombre del locus (MS) y el código interno (P1) de laboratorio se encuentran indicados. Además, se incluye el (N_A) número de alelos, el (N_E) número efectivo de alelos por locus, y la heterocigosidad (H_O) observada y (H_E) esperada.

Locus (MS)/ Código (P1)	Secuencia de primer (3'-5')	Motif	Tamaño (bp)	N_A	N_E	H_O	H_E
<i>Zchi_P1_67</i>	F: GGA TTT CAT AAA GTG AGT ATT GGC	(AC)10	143	4	1.691	0.445	0.387
<i>Zch_MS_08</i>	R: CAA ACT TTA AGA TGT GGT GGC						
<i>Zchi_P1_70</i>	F: CAG CCA GAT GTT CTA TCT CCC	(AC)7	166	4	1.805	0.475	0.419
<i>Zch_MS_13</i>	R: GAC CAT AAA CCC AGG TGC C						
<i>Zchi_P1_59</i>	F: CTT CCT TGA CAT TCC TTG GG	(AATG)7	141	2	1.907	0.463	0.475
<i>Zch_MS_15</i>	R: ACC TTA ACA TAG AAT ATC ACT GCG G						
<i>Zchi_P1_85</i>	F: TTT GAG TAA ATG GCC ACC G	(AC)7	182	6	2.326	0.580	0.568
<i>Zch_MS_31</i>	R: AAC TGT CCA CAA TTC CTC CC						
<i>Dtr_P1_09</i>	F: GCA ACA GTT CTT CTC CAC CG	(ACTC)13	329	6	1.899	0.434	0.468
<i>Dtr_MS_08</i>	R: AAG CAA GCT TCA GCA GCC						
<i>Zch_P1_07</i>	F: GAA ATA AAC AGA GTA CCC TCT ATG GC	(ATC)8	137	2	1.346	0.289	0.253
<i>Zch_MS_06</i>	R: CCG ACT CAT GAA TTT CTC CC						
<i>Zchi_P1_72</i>	F: GAC TCC TGT TGT TCT ATG TTC CC	(AC)10	301	4	1.283	0.142	0.209
<i>Zch_MS_16</i>	R: ATG GAC CCT TTA TCT CAG GG						

Tabla 27 Valores significativos ($P \leq 0.05$) para el test exacto de equilibrio Hardy-Weinberg en *Dipturus trachyderma*.

Población		Locus						
		<i>Zch_MS_08</i>	<i>Zch_MS_19</i>	<i>Zch_MS_15</i>	<i>Zch_MS_31</i>	<i>Dtr_MS_08</i>	<i>Zch_MS_06</i>	<i>Zch_MS_16</i>
San Antonio	$n= 32$	-	-	-	-	-	-	-
Valdivia	$n= 31$	-	-	-	0.037	-	-	-
Puerto Montt	$n= 14$	-	0.003	-	-	-	-	-
Aisén	$n= 11$	-	-	-	-	-	-	-
Punta Arenas	$n= 7$	-	-	-	-	-	-	-

El número observado de alelos dentro de todas las localidades, vario entre valores de 2 en la mayoría de las localidades y loci, y 6 para el para locus *Zch_MS_31* en Valdivia (Tabla 28). Puerto Montt presentó el mayor promedio de heterocigosidad H_0 y H_E (0.471 y 0.440, respectivamente) y la media más baja de H_0 y H_E fue observada en Punta Arenas (0.347 y 0.322, respectivamente). El coeficiente de *inbreeding* (F_{IS}), varió entre valores de -1.000 y 1.000. Entre localidades, se observaron valores de F_{IS} positivos debido a las deficiencias de heterocigotos en todos los loci. Sin embargo, el locus *Zch_MS_16* tuvo los valores más positivos de F_{IS} a través de las localidades, mientras que el locus *Zch_MS_08* tuvo los valores más negativos (Tabla 28). Los valores de la F_{IS} también indican que San Antonio tiene el promedio positivo mayor (0.05) y Punta Arenas el mayor negativo (-0.09), sin embargo, no se observan valores significativos de la F_{IS} .

Tabla 28 Diversidad genética de los siete loci de microsatélites por localidad para *Dipturus trachyderma*. Se indican el (N) número de individuos; el (N_A) número de alelos observados por locus; el (N_E) número efectivo de alelos por locus; la heterocigosidad (H_o) observada y (H_e) esperada; y el (F_{IS}) coeficiente de *inbreeding* de Wright para los individuos en relación con su localidad.

Localidad	Zch_ MS_08	Zch_ MS_19	Zch_ MS_15	Zch_ MS_31	Dtr_ MS_08	Zch_ MS_06	Zch_ MS_16
San Antonio							
N	32	32	31	30	29	32	32
N_A	2	3	2	4	5	2	2
N_E	1.882	1.877	1.845	2.335	2.143	1.398	1.319
H_o	0.438	0.438	0.516	0.567	0.552	0.281	0.156
H_e	0.469	0.467	0.458	0.572	0.533	0.285	0.242
F_{IS}	0.067	0.064	-0.127	0.009	-0.035	0.012	0.354
Valdivia							
N	32	32	32	30	29	32	32
N_A	4	4	2	6	5	2	4
N_E	1.637	1.938	1.822	2.403	1.890	1.168	1.374
H_o	0.438	0.469	0.313	0.567	0.379	0.156	0.250
H_e	0.389	0.484	0.451	0.584	0.471	0.144	0.272
F_{IS}	-0.124	0.031	0.307	0.029	0.194	-0.085	0.081
Puerto Montt							
N	14	14	13	14	11	14	14
N_A	2	3	2	3	3	2	2
N_E	1.849	2.435	1.988	2.142	1.716	1.415	1.415
H_o	0.571	1.000	0.308	0.571	0.273	0.357	0.214
H_e	0.459	0.589	0.497	0.533	0.417	0.293	0.293
F_{IS}	-0.244	-0.697	0.381	-0.072	0.347	-0.217	0.270

Tabla 28 Continuación

Localidad	<i>Zch_</i>	<i>Zch_</i>	<i>Zch_</i>	<i>Zch_</i>	<i>Dtr_</i>	<i>Zch_</i>	<i>Zch_</i>
	<i>MS_08</i>	<i>MS_19</i>	<i>MS_15</i>	<i>MS_31</i>	<i>MS_08</i>	<i>MS_06</i>	<i>MS_16</i>
Aisén							
N	11	11	8	8	8	11	11
N _A	2	3	2	3	3	2	2
N _E	1.936	1.449	1.882	2.169	1.662	1.424	1.308
H _o	0.636	0.182	0.750	0.625	0.250	0.364	0.091
H _e	0.483	0.310	0.469	0.539	0.398	0.298	0.236
F _{is}	-0.316	0.413	-0.600	-0.159	0.373	-0.222	0.614
Punta Arenas							
N	7	7	7	7	7	7	7
N _A	2	2	2	3	3	2	1
N _E	1.153	1.324	2.000	2.579	2.085	1.324	1.000
H _o	0.143	0.286	0.429	0.571	0.714	0.286	0.000
H _e	0.133	0.245	0.500	0.612	0.520	0.245	0.000
F _{is}	-0.077	-0.167	0.143	0.067	-0.373	-0.167	-

No se detectó una estructura genética significativa basada en los valores pairísticos de F_{ST} entre todas las localidades. Los valores de F_{ST} variaron entre -0.035 y 0.041 (Tabla 29). Aunque los resultados indican valores significativos F_{ST} entre Valdivia y Puerto Montt estos no son muy diferentes de cero. Por otra parte, no hubo diferencias significativas entre las otras localidades. No se observan diferencias significativa debido a un aislamiento por distancia (IBD) ($r = -0.1996$, $P = 0.6480$) basada en los valores de F_{ST} (Figura 27).

Tabla 29 Valores pairísticos de *Fst* y *P* para *Dipturus trachyderma* entre localidades. Los valores de *Fst* se presentan bajo la diagonal, los valores de *P*, sobre la diagonal. Se indican (*) los valores significativos de $P \leq 0,05$.

	San Antonio	Valdivia	Puerto Montt	Aisén	Punta Arenas
San Antonio	-	0.13184	0.35840	0.99609	0.16602
Valdivia	0.01095	-	0.02832	0.60840	0.43652
Puerto Montt	0.00227	0.03048*	-	0.24805	0.07227
Aisén	-0.03531	-0.00751	0.01032	-	0.60742
Punta Arenas	0.02012	0.00011	0.04121	-0.01737	-

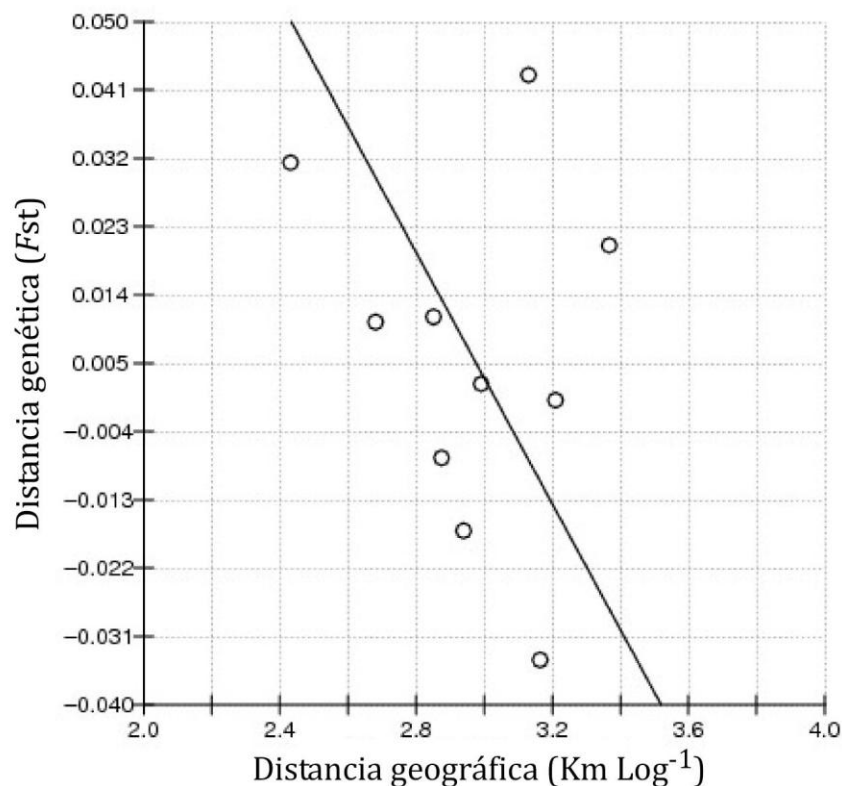


Figura 27 Correlación basada en los valores de *Fst* de microsatélites, entre la distancia genética y geográfica *Dipturus trachyderma* en las localidades estudiadas.

5.4. Identificar y caracterizar la(s) principal(es) unidad(es) demográfica(s) de raya volantín y raya espinosa presentes en la costa chilena

5.4.1. Caracterización y variación morfométrica en la raya volantín *Zearaja chilensis* y raya espinosa *Dipturus trachyderma*, en aguas chilenas

Las características morfométricas completas de la raya volantín *Zearaja chilensis* y la raya espinosa *Dipturus trachyderma*, se presentan en la Tabla 30. Cabe destacar que algunas medidas, p.e., diámetro orbital (8), distancia pre-nasal (16), distancia desde el hocico a la última hendidura branquial (17); son levemente diferentes entre especies, con una leve sobre posición de los rangos. Mientras que otras mediciones, e.g, ancho máximo del espiráculo (10), la distancia entre aberturas branquiales (26 y 27), ancho de la cola a la altura de las aletas pélvicas (32), son bastante diferentes. En algunos casos inclusive, p.e., ancho máximo desde el hocico (4), distancia desde el hocico al espiráculo (6), longitud dorsal de la cabeza (7); se observan grandes diferencias entre machos y hembras probablemente asociados a los cambios morfológicos asociados a la madurez sexual. Cabe destacar que el largo (2) y ancho del disco (3) proporcionalmente menores en *D. trachyderma* que en *Z. chilensis*. Esta diferencia en las proporciones del largo/ancho del disco, dan la característica forma sub-romboidal a *D. trachyderma*.

En el caso de *Z. chilensis*, se observa un marcado dimorfismo sexual lo que no es evidente en *D. trachyderma* (Figura 28). Estadísticamente, el análisis visual realizado a través del MDS fue corroborado a través del test ANOSIM. No se observan

diferencias significativas en la raya espinosa (ANOSIM_{D. trachyderma}: $R = 0.071$; $P = 0.122$), aunque las diferencias entre sexos en la raya volantín son significativas (ANOSIM_{Z. chilensis}: $R = 0.362$; $P < 0.01$). Dado el dimorfismo sexual en *Z. chilensis*, la comparación entre ambas especies fue realizada considerando estas diferencias. La visualización multivariada de la información a través del MDS, evidencia una clara separación entre especies (Figura 29). Estadísticamente, estas diferencias son significativas (ANOSIM: $R = 0.532$; $P < 0.01$).

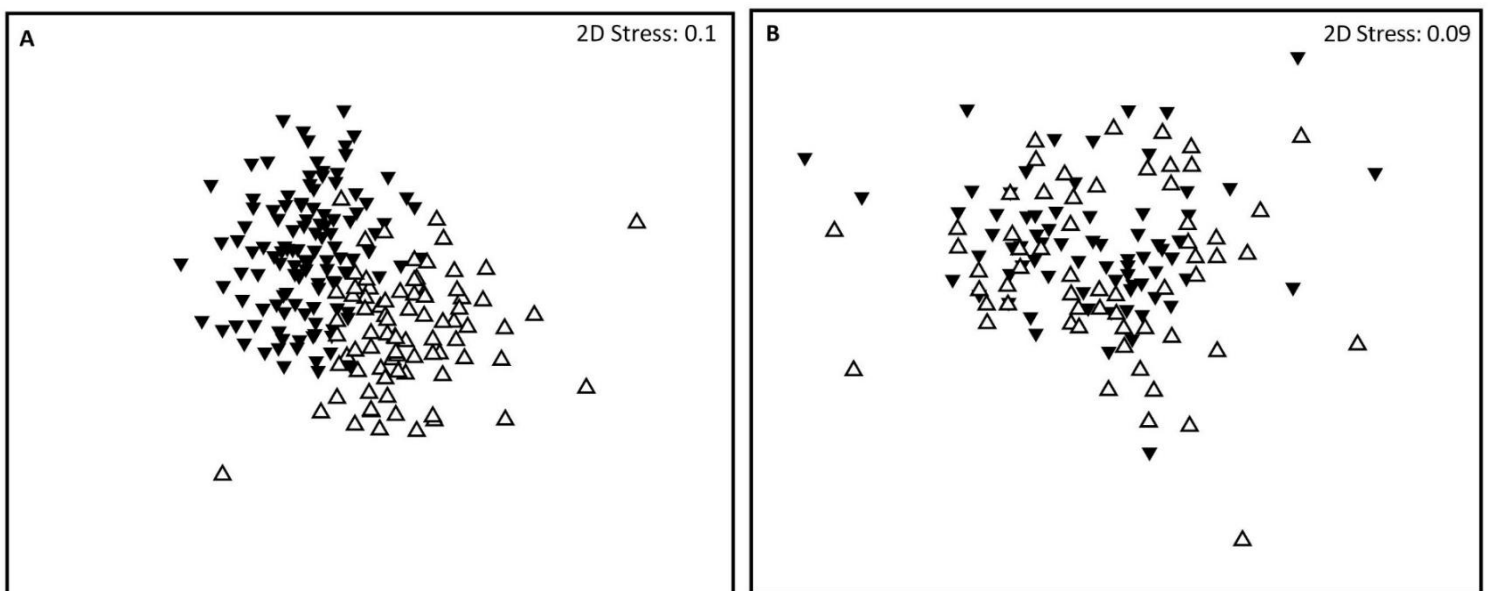


Figura 28 Escalamiento no-métrico multidimensional de las diferencias morfométricas entre machos (triángulos negros) y hembras (triángulos blancos) de (A) *Zearaja chilensis* y (B) *Dipturus trachyderma*.

Tabla 30 Caracterización morfométrica de machos y hembras de *Zearaja chilensis* y *Dipturus trachyderma*. Valores y rangos (mínimo y máximo) se expresan como porcentaje de la longitud total (TL), excepto en TL (1), la que se presenta en cm. Definición de cada medida (ABR) se encuentran en la Tabla 5. Longitud de cláspes (*) no aplica en hembras.

ABR	<i>Zearaja chilensis</i>				<i>Dipturus trachyderma</i>			
	Hembras		Machos		Hembras		Machos	
1	105.0	(79.2 – 183.0)	97.4	(85.2 – 113.6)	171.9	(117.4 – 242.5)	167.9	(110.8 – 200.4)
2	77.7	(59.8 – 85.1)	77.2	(73.4 – 82.6)	72.5	(71.0 – 76.9)	71.2	(68.2 – 75.9)
3	61.6	(48.3 – 65.4)	60.7	(59.3 – 65.5)	59.0	(56.6 – 63.5)	58.2	(55.9 – 66.8)
4	37.1	(29.1 – 40.1)	35.9	(33.8 – 37.5)	36.0	(31.7 – 39.5)	34.3	(32.6 – 68.6)
5	19.1	(15.3 – 20.7)	17.6	(16.2 – 20.5)	20.4	(19.0 – 28.1)	19.5	(17.8 – 20.7)
6	24.8	(19.7 – 27.4)	23.3	(21.9 – 32.7)	24.9	(23.4 – 27.7)	23.6	(22.5 – 25.4)
7	27.0	(21.3 – 29.4)	25.5	(24.0 – 29.4)	27.0	(24.8 – 29.5)	25.7	(19.3 – 27.3)
8	3.5	(2.7 – 4.4)	3.8	(3.1 – 12.4)	2.5	(1.7 – 3.5)	2.6	(2.1 – 3.5)
9	6.0	(4.5 – 8.6)	6.2	(5.7 – 7.2)	4.6	(4.3 – 5.9)	4.4	(4.2 – 5.1)
10	3.2	(2.3 – 37.8)	3.4	(2.2 – 3.7)	2.3	(1.6 – 3.3)	2.4	(1.7 – 2.8)
11	6.8	(5.5 – 7.9)	6.4	(5.5 – 7.6)	5.8	(5.3 – 7.1)	5.6	(4.5 – 7.1)
12	7.8	(6.4 – 8.4)	7.6	(6.8 – 8.2)	6.1	(6.0 – 8.3)	6.2	(5.4 – 6.7)
13	62.1	(49.7 – 65.0)	59.8	(57.9 – 64.5)	56.1	(54.4 – 64.0)	54.9	(53.5 – 58.6)
14	37.9	(35.0 – 50.3)	40.2	(35.5 – 42.1)	43.9	(36.0 – 45.6)	45.1	(41.4 – 46.5)
15	19.4	(15.6 – 21.9)	17.5	(16.4 – 20.7)	20.6	(19.2 – 22.4)	19.5	(17.6 – 21.6)
16	16.8	(13.4 – 19.6)	15.0	(14.3 – 18.3)	18.1	(16.8 – 19.1)	16.9	(15.4 – 18.5)
17	35.9	(3.6 – 38.3)	35.6	(32.4 – 38.1)	34.2	(33.0 – 38.2)	33.5	(31.3 – 35.3)
18	10.3	(8.2 – 11.7)	10.8	(9.8 – 12.2)	9.2	(7.5 – 10.2)	8.6	(8.1 – 16.9)
19	10.3	(1.6 – 11.9)	9.7	(9.2 – 10.5)	8.8	(8.5 – 10.7)	8.6	(8.0 – 9.2)
20	5.1	(3.7 – 6.3)	5.3	(4.4 – 6.8)	4.9	(3.7 – 6.9)	4.7	(4.0 – 6.8)
21	14.0	(10.5 – 15.2)	13.6	(10.6 – 15.0)	11.9	(9.1 – 16.2)	11.6	(7.6 – 12.9)

Tabla 30 Continuación.

ABR	<i>Zearaja chilensis</i>		<i>Dipturus trachyderma</i>	
	Hembras	Machos	Hembras	Machos
22	1.0 (0.6 - 2.1)	1.1 (0.8 - 2.0)	1.0 (0.5 - 1.4)	1.1 (0.8 - 1.6)
23	2.0 (1.6 - 12.2)	2.3 (1.5 - 10.4)	1.7 (1.3 - 9.2)	1.6 (1.3 - 9.4)
24	2.4 (1.7 - 2.9)	2.2 (1.6 - 3.2)	1.6 (1.2 - 2.1)	1.7 (1.3 - 1.9)
25	1.8 (1.4 - 3.2)	1.8 (1.2 - 2.2)	1.5 (1.2 - 1.7)	1.4 (1.2 - 1.9)
26	19.7 (13.9 - 22.6)	18.2 (16.4 - 22.1)	16.8 (16.3 - 23.4)	16.3 (1.7 - 17.1)
27	12.2 (9.4 - 13.5)	9.8 (9.3 - 12.4)	10.6 (9.5 - 12.1)	10.1 (9.0 - 16.8)
28	* *	31.3 (17.1 - 33.8)	* *	11.3 (8.1 - 18.7)
29	10.2 (7.5 - 12.4)	11.4 (9.7 - 13.3)	10.0 (8.7 - 10.9)	10.7 (9.5 - 13.3)
30	15.5 (12.0 - 17.0)	19.7 (16.2 - 21.9)	13.8 (12.5 - 14.5)	14.3 (12.6 - 15.6)
31	16.0 (13.9 - 17.9)	14.0 (12.6 - 16.4)	13.9 (11.9 - 16.6)	13.2 (9.9 - 14.5)
32	5.8 (4.1 - 7.1)	6.1 (3.1 - 7.0)	4.8 (3.8 - 6.2)	4.9 (4.3 - 6.2)
33	2.6 (1.7 - 3.5)	2.7 (2.3 - 3.6)	2.5 (1.7 - 2.9)	2.6 (2.0 - 3.2)
34	3.7 (3.0 - 4.0)	3.4 (2.7 - 4.4)	2.7 (2.2 - 3.7)	2.7 (2.3 - 3.5)
35	1.8 (1.1 - 2.6)	1.9 (1.6 - 2.4)	1.7 (1.4 - 1.9)	1.6 (1.3 - 2.0)
36	3.0 (2.2 - 3.6)	2.6 (2.2 - 3.5)	2.4 (1.7 - 3.3)	2.4 (2.2 - 2.9)
37	1.5 (1.0 - 1.8)	1.6 (1.1 - 2.0)	1.3 (1.2 - 1.7)	1.5 (1.1 - 15.9)
38	5.0 (3.7 - 5.7)	5.7 (4.5 - 6.4)	5.1 (4.6 - 5.9)	5.5 (3.4 - 6.3)
39	3.8 (3.2 - 4.5)	4.3 (3.4 - 5.1)	3.2 (2.4 - 4.6)	3.4 (2.9 - 3.9)
40	15.1 (9.4 - 18.9)	15.1 (13.0 - 17.1)	16.7 (13.6 - 18.8)	18.2 (14.0 - 168.2)
41	9.0 (5.8 - 11.1)	9.0 (5.1 - 10.2)	9.9 (8.3 - 11.2)	10.7 (6.3 - 12.3)
42	3.8 (2.1 - 6.0)	3.6 (2.9 - 5.1)	4.2 (3.4 - 5.1)	4.6 (2.9 - 6.2)
43	4.2 (3.3 - 5.3)	5.7 (2.6 - 14.1)	4.9 (3.6 - 5.8)	6.3 (3.6 - 9.3)
AN	1 (0 - 1)	1 (0 - 1)	0 0	0 0
AM	35 (20 - 39)	29 (20 - 37)	30 (25 - 43)	28.5 (27 - 44)
AD	2 (0 - 3)	1 (0 - 2)	2 (1 - 3)	2 (1 - 2)

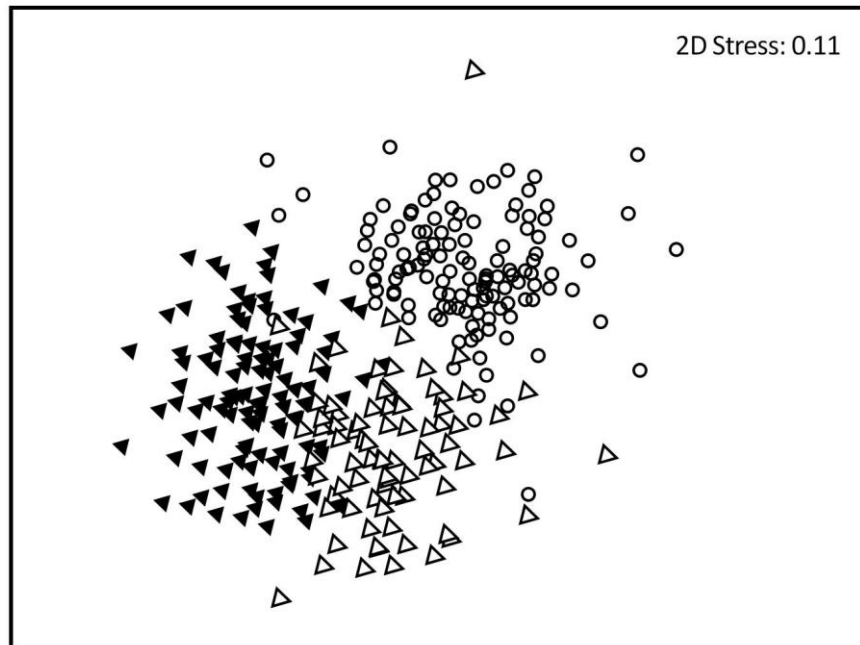


Figura 29 Escalamiento no-métrico multidimensional de las diferencias morfométricas entre *Zearaja chilensis* y *Dipturus trachyderma*. Los círculos negros representan a la población, sexos agrupados de *D. trachyderma*. Los triángulos representan los machos (negros) y hembras (blancos) de *Z. chilensis*.

El análisis SIMPER evidencia las mediciones morfométricas que contribuyen mayormente a la separación de especies (Tabla 31). Una diferencia acumulada sobre el 55% se alcanza considerando tres y cuatro variables, dependiendo del factor de agrupación considerado. Las variables que más contribuyen hacia la separación de especies fueron el conteo de agujones en la línea media (AM), el ancho del disco (2) y la distancia entre el hocico y la cloaca (13). Las diferencias entre machos y hembras de *Z. chilensis* incluye además la longitud del lóbulo posterior de la aleta pélvica (30) entre las variables que aportan diferencias al conjunto.

Tabla 31 Medidas morfométricas que contribuyen a la diferenciación entre los grupos de especies. Solo aquellas mediciones sobre el >55% se presentan en la tabla. Definición de cada medida (ABR) se encuentran en la Tabla 5.

ABR	Valores promedio (%TL)		Diferencias (%)	
	<i>D. trachyderma</i>	<i>Z. chilensis</i> (machos)	Contribución	Acumulativo
AM	30.5	28.5	26.02	26.02
2	72.1	77.2	11.57	37.58
30	13.9	18.9	8.48	46.06
13	55.6	59.8	7.11	53.17

ABR	Valores promedio (%TL)		Diferencias (%)	
	<i>D. trachyderma</i>	<i>Z. chilensis</i> (hembras)	Contribución	Acumulativo
AM	30.5	36.1	28.74	28.74
2	72.1	77.9	13.62	42.36
13	55.6	61.9	11.23	53.6

ABR	Valores promedio (%TL)		Diferencias (%)	
	<i>Z. chilensis</i> (hembras)	<i>Z. chilensis</i> (machos)	Contribución	Acumulativo
AM	36.1	28.5	44.43	44.43
2	77.9	77.2	8.25	52.67
30	15.3	18.9	5.75	58.42

A nivel general, no se observan diferencias significativas en la morfometría entre las localidades muestreadas para ambas especies (ANOSIM $Z. chilensis$: $R_{Global} = 0.153$; $P = 0.341$; ANOSIM $D. trachyderma$: $R_{Global} = 0.319$; $P = 0.245$). Sin embargo, se observan diferencias significativas entre la población de Punta Arenas y Valdivia (ANOSIM: $R = 0.03$; $P > 0.05$) de *Z. chilensis*. En las restantes localidades, estas diferencias no son evidenciadas.

5.4.2. Caracterización y variación de la dieta y nivel trófico de *Zearaja chilensis* y *Dipturus trachyderma* en aguas chilenas

En total se obtuvieron 48 estómagos, 29 pertenecientes a la especie *Zearaja chilensis*, y 19 a la especie *Dipturus trachyderma*. De los estómagos obtenidos, 39 de ellos presentaron contenido con repleción casi completa del estómago, y 9 de ellos presentan estómagos totalmente vacíos, sólo con líquido pero sin posibilidad de identificar algún ítem presa. Del resto de estómagos, se presentan individuos semi-digerido, posible de identificar de manera visual sin mayor problema, al ocupar guías de identificación de crustáceos y peces óseos. En el caso de muestras más digeridas, no es posible identificar o en el caso de peces óseos se realiza identificación de otolitos.

En la totalidad de estómagos con presencia de ítems presa, se identificaron diversas especies o géneros de individuos, donde se determino que los grupos correspondientes a peces óseos y crustáceos son la preferencia al momento de elegir su dieta.

Registro taxonómico de presas

PECES ÓSEOS (Clase Actinopterygii)

Scorpaeniformes (Familia Scorpaenidae)

Sebastes oculatus

Gadiformes (Familia Merlucciidae)

Merluccius gayi

Macruronus magellanicus

Ophidiiformes (Familia Ophidiidae)

Genypterus sp

Perciformes (Familia Pinguipedidae)

Prolatilus jugularis

Pleuronectiformes (Familia Paralichthyidae)

Hippoglossina macrops

Paralichthys sp

CRUSTÁCEOS (Clase Malacostraca)

Decapoda (Familia Porcellanidae)

Petrolisthes sp

Petrolisthes tuberculatus

Allopetrolisthes sp.

Decapoda (Familia Pandalidae)

Heterocarpus reedi

Decapoda (Familia Epialtidae)

Taliepus dentatus

Decapoda (Familia Cancridae)

Cancer sp

Decapoda (Familia Munididae)

Pleuroncodes monodon

Brachyura (Familia Majidae)

Eurypodius latrellei

Euphausiacea (Familia Euphausiidae)

Euphausia sp

MOLUSCOS (Clase Cephalopoda)

Octopoda (Familia Octopodidae)

Octopus sp.

ERIZOS DE MAR (Clase Echinoidea)

Echinoida (Familia Echinidae)

Loxechinus albus

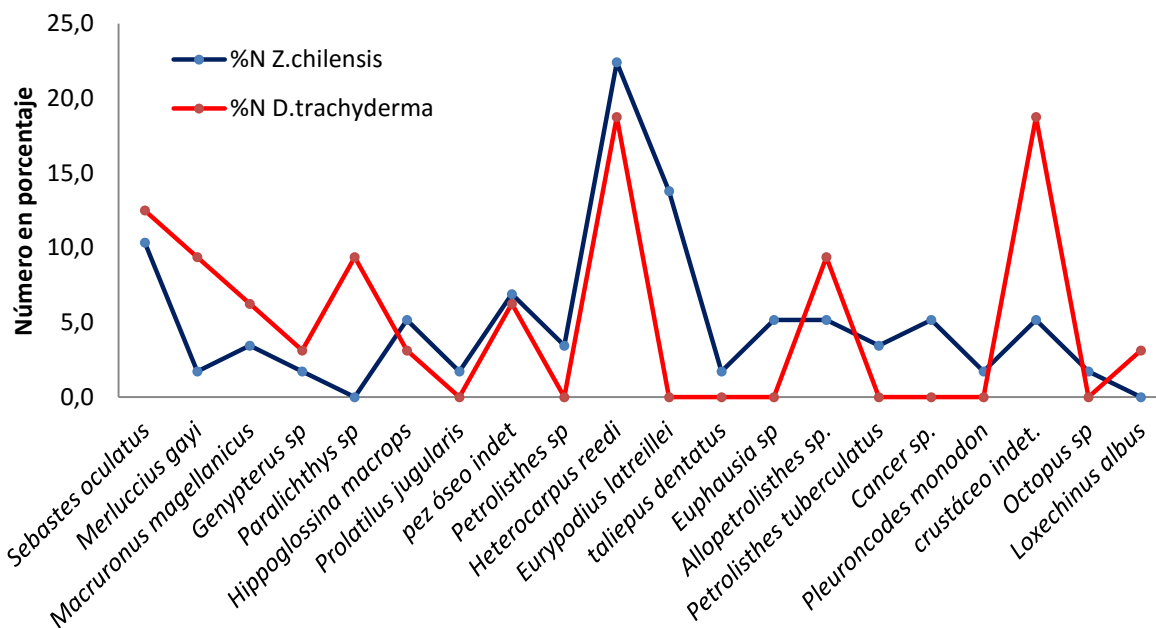


Figura 30 Ítems-presa encontrados en estómagos de *Z. chilensis* y *D. trachyderma*.

Según la Tabla 32, se observó que el espectro trófico de la raya volantín se conformó principalmente de crustáceos y peces óseos, y dentro de estos principalmente el camarón nailon *Heterocarpus reedi*, y el pez *Sebastes oculatus*. Se identificaron 33 presas en total, de las cuales el 51% de los individuos corresponden a crustáceos, 45,5% a peces óseos, y un 3 % a equinodermos. El porcentaje de frecuencia, mostró que también en este caso el camarón nailon tiene mayor ocurrencia. En relación al peso, las presas presentes en los estómagos representaron un total de 1070,58 g, de las cuales el pez *Sebastes oculatus* fue la presa más representativa con 44,96 % del peso total. El Índice de Importancia Relativa señala que la presa con mayor contribución fue el pez *Sebastes oculatus* con un 32,61% IIR, seguido por el camarón nailon (*Heterocarpus reedi*) con 26,96 %, siendo para ambas especies los ítems más importantes dentro de la dieta alimentaria. Según el análisis

del coeficiente de alimentación (Q), se obtuvieron presas preferenciales notorias, el caso del pez *Sebastes oculatus*. Y presas secundarias, reconociendo a *Hippoglossina macrops*; peces óseos indeterminados; *Heterocarpus reedi*; *Eurypodius latreillei*; *Allopetrolisthes sp.* El resto pertenecieron a presas de tipo raro en la dieta de *Zearaja chilensis*.

Tabla 32 Índices numéricos de alimentación para la especie *Zearaja chilensis*.

Ítem/presa	%N	%F	%P	IIR	%IIR	Q
<i>Sebastes oculatus</i>	10,34	13,79	44,96	762,86	32,61	465,13
<i>Merluccius gayi</i>	1,72	3,45	0,29	6,94	0,30	0,50
<i>Macruronus magellanicus</i>	3,45	6,90	4,04	51,63	2,21	13,92
<i>Genypterus sp</i>	1,72	3,45	0,22	6,72	0,29	0,39
<i>Hippoglossina macrops</i>	5,17	10,34	15,35	212,27	9,07	79,38
<i>Prolatilus jugularis</i>	1,72	3,45	2,34	14,01	0,60	4,03
Pez óseo indet.	6,90	13,79	6,26	181,46	7,76	43,17
<i>Petrolisthes sp</i>	3,45	6,90	3,08	44,99	1,92	10,61
<i>Heterocarpus reedi</i>	22,41	20,69	8,07	630,78	26,96	180,97
<i>Eurypodius latreillei</i>	13,79	6,90	3,43	118,77	5,08	47,28
<i>Taliepus dentatus</i>	1,72	3,45	1,17	9,98	0,43	2,02
<i>Euphausia sp</i>	5,17	10,34	0,92	63,07	2,70	4,78
<i>Allopetrolisthes sp.</i>	5,17	6,90	4,95	69,78	2,98	25,58
<i>Petrolisthes tuberculatus</i>	3,45	3,45	0,56	13,83	0,59	1,94
<i>Cancer sp.</i>	5,17	6,90	1,84	48,38	2,07	9,53
<i>Pleuroncodes monodon</i>	1,72	3,45	0,50	7,68	0,33	0,87
Crustáceos indet.	5,17	13,79	1,18	87,67	3,75	6,12
<i>Octopus sp</i>	1,72	3,45	0,79	8,68	0,37	1,37

Tabla 33 Índices numéricos de alimentación para la especie *Dipturus trachyderma*.

Ítem/presa	%N	%F	%P	IIR	%IIR	Q
<i>Sebastes oculatus</i>	12,5	15,8	19,3	502,10	17,92	241,25
<i>Merluccius gayi</i>	9,4	15,8	21,8	491,95	17,56	204,20
<i>Genypterus chilensis</i>	3,1	5,3	0,8	20,45	0,73	2,37
<i>Paralichthys sp</i>	9,4	10,5	18,5	292,96	10,45	173,02
<i>Macruronus magellanicus</i>	6,3	10,5	21,8	295,42	10,54	136,35
<i>Hippoglossina macrops</i>	3,1	5,3	2,8	31,15	1,11	8,73
Pez óseo indet.	6,3	15,8	1,3	118,71	4,24	7,93
<i>Heterocarpus reedi</i>	18,8	15,8	3,8	356,37	12,72	71,63
<i>Allopetrolisthes sp.</i>	9,4	5,3	5,9	80,44	2,87	55,39
Crustáceo indet.	18,8	26,3	3,9	594,87	21,23	72,28
<i>Loxechinus albus</i>	3,1	5,3	0,2	17,72	0,63	0,76

En el caso de la raya espinosa (Tabla 33), se observó preferentemente a peces óseos y crustáceos, de las cuales la presa con mayor preferencia fue el camarón nailon *Heterocarpus reedi*, y en los peces fue *Sebastes oculatus*. Se identificaron 58 presas en total, de las cuales el 70% de los individuos correspondieron a crustáceos, 25% a peces óseos y 1,8% a equinodermos. En relación al porcentaje de frecuencia, se observó que también el camarón nailon tiene mayor ocurrencia. En el peso existió un total de 1570,64 gr, del cual la merluza común y de cola representaron la mayor cantidad en peso con un 21,8 %.

El Índice de Importancia Relativa señaló que la presa con mayor contribución fue el ítem de crustáceos indeterminados con un 21,23% IIR, seguido por *Sebastes oculatus* con un 17,92% IIR y *Merluccius gayi* con un 17,56%, siendo estas 3 las más

importantes dentro de la dieta. El coeficiente de alimentación (Q) indicó que las presas preferenciales en este caso son dos *Sebastes oculatus* y *Merluccius gayi*.

Luego al identificar cada ítem presa dentro de las 4 localidades se observaron ciertas diferencias en el tipos de alimento, algunos específicos de un lugar y otros repetitivos en las diferentes regiones, tanto para *Zearaja chilensis* y *Dipturus trachyderma*.

San Antonio *Zearaja chilensis*

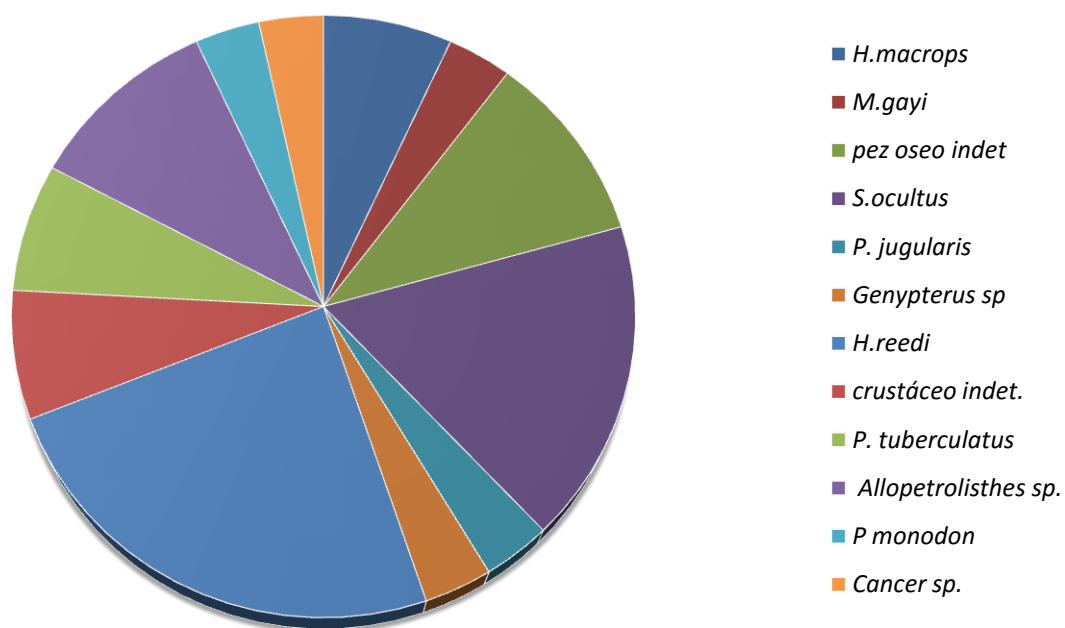


Figura 31 Ítems presa de raya volantín *Zearaja chilensis* en San Antonio.

En San Antonio se analizaron 13 estómagos de raya volantín, uno sólo se encontró vacío, en los demás el ítem presa con mayor porcentaje de importancia relativa fue *Heterocarpus reedi*, seguido por el pez, *Sebastes oculatus*, y peces óseos indeterminados. En el coeficiente de alimentación se observó el mismo patrón con

estas mismas presas como preferentes, crustáceos en general como presas secundarias, y el resto son presas raras.

Tabla 34 Índices numéricos de *Z. chilensis* en la localidad de San Antonio.

Ítem/presa	%N	%F	%P	IIR	%IIR	Q
<i>Sebastes oculatus</i>	17,2	23,08	17,01	790,40	19,2	293,3
<i>Merluccius gayi</i>	3,4	7,69	1,07	34,72	0,8	3,7
<i>Genypterus sp</i>	3,4	7,69	0,83	32,50	0,8	2,8
<i>Hippoglossina macrops</i>	6,9	15,38	3,86	165,50	4,0	26,6
<i>Prolatilus jugularis</i>	3,4	7,69	8,61	92,73	2,2	29,7
Pez óseo indet	10,3	23,08	22,44	756,46	18,3	232,1
<i>Heterocarpus reedi</i>	24,1	38,46	13,93	1463,97	35,5	336,1
<i>Allopetrolisthes sp.</i>	10,3	15,38	18,21	438,55	10,6	187,5
<i>Petrolisthes tuberculatus</i>	6,9	7,69	2,07	69,00	1,7	14,3
<i>Cancer sp.</i>	3,4	7,69	5,92	71,72	1,7	20,1
<i>Pleuroncodes monodon</i>	3,4	7,69	1,86	40,44	1,0	6,3
Crustáceo indet.	6,9	15,38	4,22	171,01	4,1	29,1

Las hembras presentan 24 presas, se observó mayor importancia en la especie de crustáceo *Heterocarpus reedi*, seguido por peces indeterminados y por otro género de crustáceos, *Allopetrolisthes sp.*

Tabla 35 Índices numéricos de hembras de *Z. chilensis* en la localidad de San Antonio.

Ítem/presa	%N	%F	%G	IIR	%IIR	Q
<i>Merluccius gayi</i>	4,2	10	1,36	55,2	1,1	5,7
<i>Sebastes oculatus</i>	12,5	20	14,97	549,5	10,8	187,2
<i>Hippoglossina macrops</i>	8,3	30	4,92	397,5	7,8	41,0
<i>Genypterus sp</i>	4,2	10	1,05	52,2	1,0	4,4
Pez óseo indet	12,5	30	28,57	1232,0	24,3	357,1
<i>Heterocarpus reedi</i>	25,0	40	15,59	1623,4	32,0	389,7
<i>Petrolisthes tuberculatus</i>	8,3	10	2,64	109,7	2,2	22,0
<i>Allopetrolisthes sp.</i>	12,5	20	23,18	713,6	14,1	289,8
<i>Pleuroncodes monodon</i>	4,2	10	2,36	65,3	1,3	9,9
Crustáceo indet.	8,3	20	5,37	274,0	5,4	44,7

Los machos tenían 5 presas, donde los peces óseos presentaron mayor porcentaje de importancia, en este caso *Sebastes oculatus* y *Prolatilus jugularis*, seguido en menor proporción de crustáceos.

Tabla 36 Índices numéricos de machos de *Z. chilensis* en la localidad de San Antonio.

Ítem/presa	%N	%F	%G	IIR	%IIR	Q
<i>Prolatilus jugularis</i>	20	33,3	40,1	2003,1	30,0	801,9
<i>Sebastes oculatus</i>	40	33,3	24,5	2148,6	32,2	978,4
<i>Heterocarpus reedi</i>	20	33,3	7,8	928,3	13,9	157,0
<i>Cancer sp.</i>	20	33,3	27,6	1586,6	23,8	552,0

San Antonio *Dipturus trachyderma*

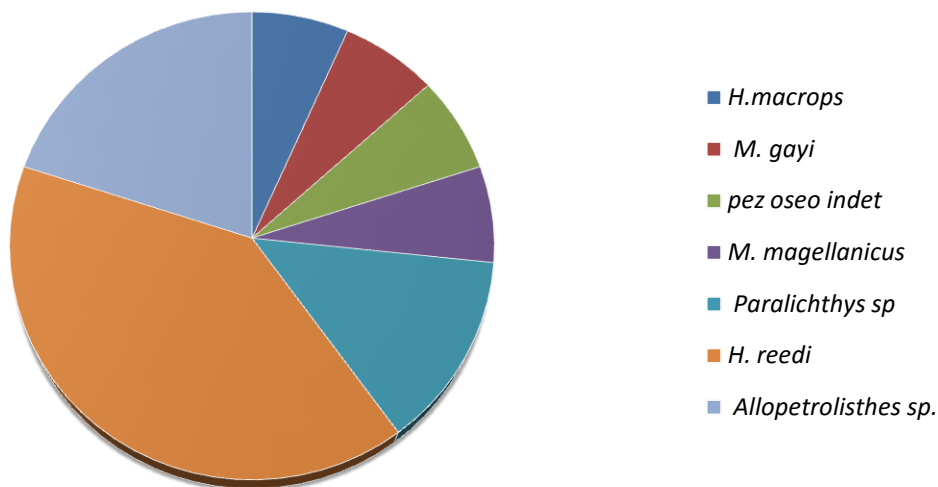


Figura 32 Ítems presa de raya espinosa *Dipturus trachyderma* en San Antonio.

Tabla 37 Índices numéricos de *D. trachyderma* en la localidad de San Antonio.

Ítem/presa	%N	%F	%P	IIR	%IIR	Q
<i>Merluccius gayi</i>	6,7	14,3	13,6	289,70	6,78	90,75
<i>Paralichthys sp</i>	13,3	14,3	30,6	627,22	14,67	407,05
<i>Macruronus magellanicus</i>	6,7	14,3	23,7	433,38	10,14	157,80
<i>Hippoglossina macrops</i>	6,7	14,3	7,0	195,85	4,58	46,96
Pez óseo indet	6,7	14,3	0,7	105,73	2,47	4,70
<i>Heterocarpus reedi</i>	40,0	42,9	9,6	2124,96	49,72	383,29
<i>Allopetrolisthes sp.</i>	20,0	14,3	14,8	497,42	11,64	296,38

En el caso de raya espinosa, se analizaron 7 estómagos, de los cuales sólo 5 presentan contenido, dentro de estos la raya presentó una preferencia en su dieta por la especie *Heterocarpus reedi*. El coeficiente de alimentación indicó a 3 especies como

preferentes, *Paralichthys* sp; *Heterocarpus reedi* y *Allopetrolisthes* sp. El resto fueron presas secundarias en la dieta.

Las hembras presentan 8 presas, de las cuales el ítem de mayor importancia fue el género *Paralichthys*, seguido por el crustáceo de género *Allopetrolisthes* y en 3er lugar *Merluccius gayi*, siendo estos 3 tipos de presa considerados de preferencia.

Tabla 38 Índices numéricos de hembras de *D. trachyderma* en San Antonio.

Ítem/presa	%N	%F	%G	IIR	%IIR	Q
<i>Merluccius gayi</i>	12,5	33,3	22,38	1162,7	17,4	279,8
<i>Paralichthys</i> sp	25	33,3	50,32	2510,6	37,7	1257,9
Pez óseo indet	12,5	33,3	1,15	454,6	6,8	14,4
<i>Heterocarpus reedi</i>	12,5	33,3	1,79	475,7	7,1	22,3
<i>Allopetrolisthes</i> sp	37,5	33,3	24,36	2060,1	30,9	913,7

En el caso de los machos se encontraron 7 presas, de estas el mayor porcentaje de importancia es con *H. reedi*, seguido por dos especies de peces (Tabla 38).

Tabla 39 Índices numéricos de machos de *D. trachyderma* en la localidad de San Antonio.

Ítem/presa	%N	%F	%G	IIR	%IIR	Q
<i>Hippoglossina macrops</i>	14,3	50	17,9	82,2	20,5	255,6
<i>Macruronus magellanicus</i>	14,3	50	60,4	124,7	31,2	863,1
<i>Heterocarpus reedi</i>	71,4	100	21,7	193,1	48,3	1549,1

Valdivia *Zearaja chilensis*

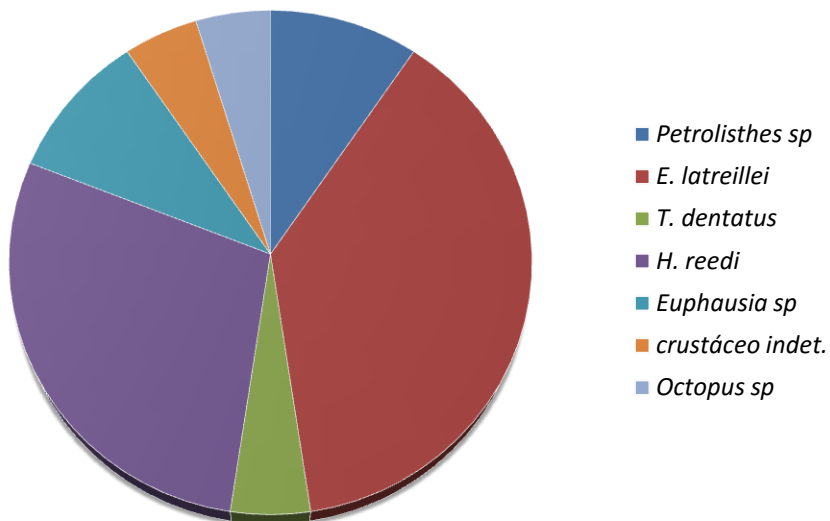


Figura 33 Ítems presa de raya volantín *Zearaja chilensis* en Valdivia.

En el caso de Valdivia, se analizaron 5 estómagos todos con contenido, en donde como ítem presa sólo se encontró individuos del grupo de los crustáceos y el ítem con mayor importancia es *Eurypodius latreillei* con el 40% seguido por *Petrolisthes sp* y *Heterocarpus reedi*. El coeficiente indicó a estas 3 especies como preferentes también, presas secundarias del género *Euphausia* y *Taliepus*. Hembras y machos presentan preferencia sólo por crustáceos, por lo que se observa diferencia sólo a nivel de especies.

Tabla 40 Índices numéricos de *Z. chilensis* en la localidad de Valdivia.

Ítem/presa	%N	%F	%P	IIR	%IIR	Q
<i>Petrolisthes sp</i>	9,52	40	22,74	1290,50	20,77	216,56
<i>Heterocarpus reedi</i>	28,57	20	31,72	1205,87	19,41	906,35
<i>Eurypodius latreillei</i>	38,10	40	25,34	2537,48	40,85	965,40
<i>Taliepus dentatus</i>	4,76	20	8,66	268,42	4,32	41,23
<i>Euphausia sp</i>	9,52	40	5,39	596,39	9,60	51,30
Crustáceo indet.	4,76	20	0,28	100,90	1,62	1,35
<i>Octopus sp</i>	4,76	20	5,87	212,63	3,42	27,95

Valdivia *Dipturus trachyderma*

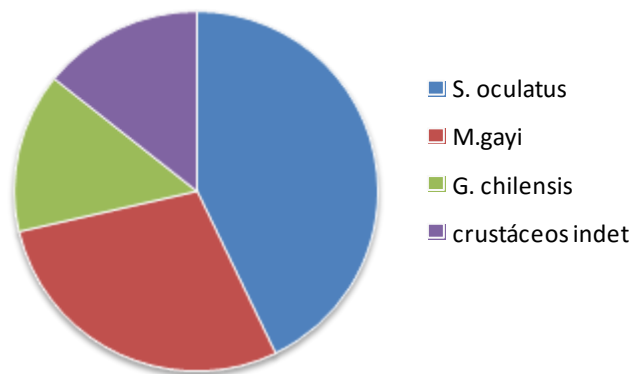


Figura 34 Ítems presa de raya espinosa *Dipturus trachyderma* en Valdivia.

Para Valdivia se analizaron 5 estómagos de la raya espinosa, donde 4 de ellos presentaron contenido, se observó que el pez *Sebastes oculatus* fue la especie más importante, seguida por *Merluccius gayi*. Lo mismo indicó el coeficiente de alimentación. Tanto hembras como machos tienen preferencia por peces óseos,

incluso se destacó a *Sebastes oculatus* como preferencial, seguido por *Merluccius gayi* en ambos grupos.

Tabla 41 Índices numéricos de *Dipturus trachyderma* en la localidad de Valdivia.

Ítem/presa	%N	%F	%P	IIR	%IIR	Q
<i>Sebastes oculatus</i>	42,9	40	51,8	3784,49	51,35	2218,01
<i>Merluccius gayi</i>	28,6	40	45,3	2956,32	40,11	1295,30
<i>Genypterus chilensis</i>	14,3	20	2,1	327,71	4,45	30,07
Crustáceos indet.	14,3	20	0,8	301,48	4,09	11,34

Puerto Montt *Zearaja chilensis*

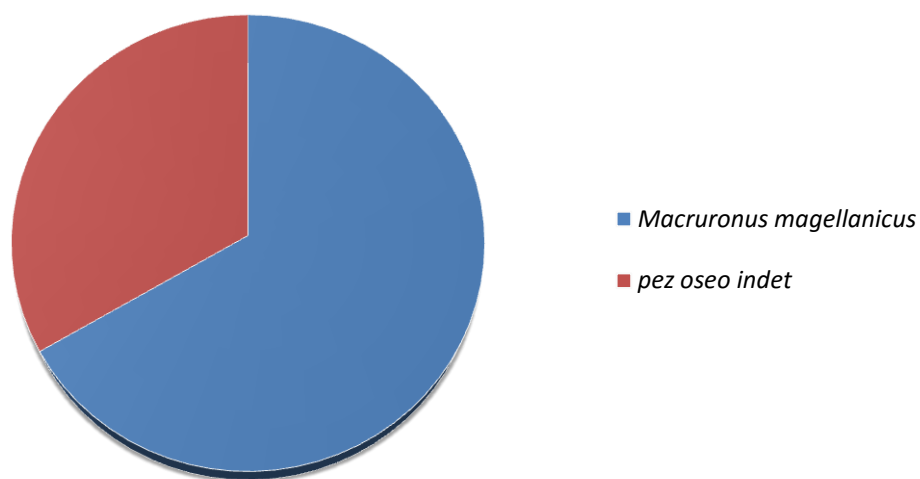


Figura 35 Ítems presa de raya volantín *Zearaja chilensis* en Puerto Montt.

Tabla 42 Índices numéricos de *Z. chilensis* en la localidad de Puerto Montt.

Ítem/presa	%N	%F	%P	IIR	%IIR	Q
<i>Macruronus magellanicus</i>	25	33,33	95,30	4010,1411	75,118728	2382,6058
pez óseo indet	50	16,67	3,88	898,00118	16,821529	194,00353
Crustáceo indet.	25	16,67	0,82	430,26161	8,0597426	20,392416

Los estómagos analizados en Puerto Montt fueron 6, de los cuales solo 4 con contenido, donde se reconoció como ítem presa de mayor importancia al pez *Macruronus magellanicus*. El coeficiente también indicó la preferencia por esta especie, dejando como ítem secundario a peces indeterminados y como raro al grupo de crustáceos.

En hembras se encontró la especie *Macruronus magellanicus* como ítem principal. En el caso de machos sólo un estómago es muestreado encontrándose en el sólo restos de crustáceos por lo ocuparía el 100% de la dieta.

Puerto Montt *Dipturus trachyderma*

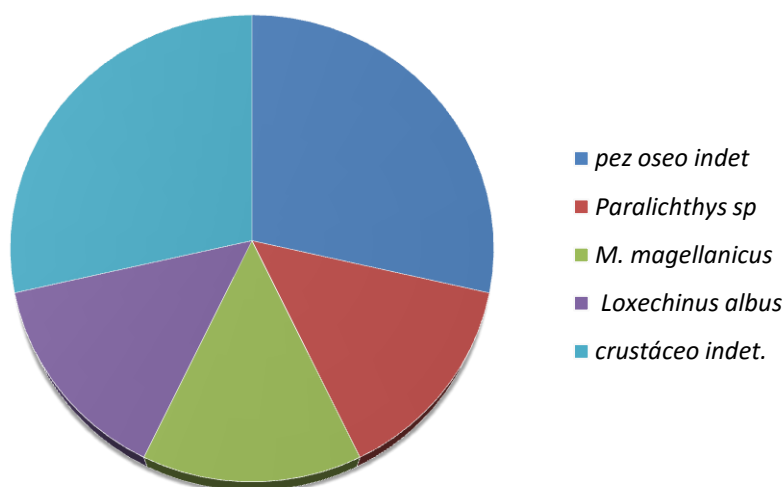


Figura 36 Ítems presa de raya espinosa *Dipturus trachyderma* en Puerto Montt.

Tabla 43 Índices numéricos de *Dipturus trachyderma* en la localidad de Puerto Montt.

Ítem/presa	%N	%F	%P	IIR	%IIR	Q
<i>Paralichthys sp</i>	14,3	25	31,1	1134,95	19,45	444,37
<i>Macruronus magellanicus</i>	14,3	25	61,6	1896,67	32,50	879,46
Pez óseo indet	28,6	50	4,9	1674,46	28,69	140,54
Crustáceos indet.	28,6	25	1,2	743,55	12,74	33,48
<i>Loxechinus albus</i>	14,3	25	1,2	387,09	6,63	17,19

En Puerto Montt se analizaron 4 estómagos de raya espinosa, los cuales tuvieron como ítem presas más importante a la especie *Macruronus magellanicus*, seguido por peces indeterminados y por el género *Paralichthys sp*. El coeficiente identificó a ambas especies como preferentes, y a peces indeterminados con crustáceos como ítem secundario. En hembras solo se analizó un individuo y una presa, que es un pez óseo. Los machos presentaron como ítem de mayor importancia a *M. magellanicus*, seguido por el género *Paralichthys*. Los peces óseos marcaron la dieta entre grupos.

Punta Arenas *Zearaja chilensis*

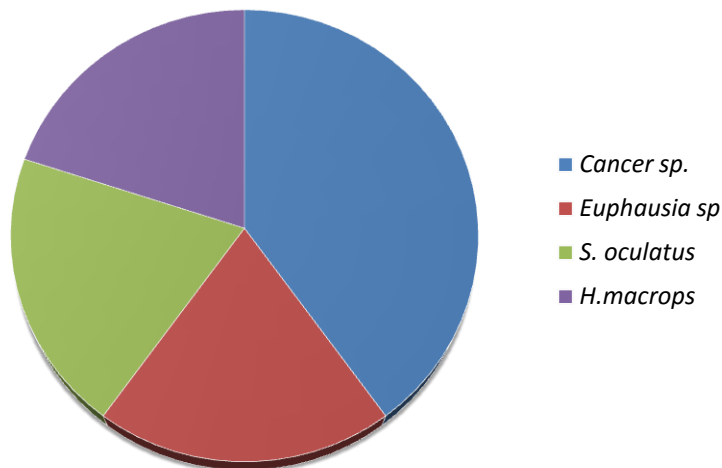


Figura 37 Ítems presa de raya volantín *Zearaja chilensis* en Punta Arenas.

Tabla 44 Índices numéricos de *Z. chilensis* en la localidad de Punta Arenas.

Ítem/presa	%N	%F	%P	IIR	%IIR	Q
<i>Sebastes oculatus</i>	20	20	73,26	1865,13	46,63	1465,13
<i>Hippoglossina macrops</i>	20	20	25,96	919,27	22,98	519,27
<i>Euphausia sp</i>	20	20	0,36	407,12	10,18	7,12
<i>Cancer sp.</i>	40	20	0,42	808,48	20,21	16,96

Para Punta Arenas se analizaron 5 estómagos, de los cuales sólo 2 presentaron contenido estomacal, en este caso el ítem más importante fue *Sebastes oculatus*, seguido por *Hippoglossina macrops*. El resto de presas del grupo de crustáceos quedaron catalogadas como raras en esta dieta. Sólo un estómago fue analizado de hembras con contenido, donde las 2 presas encontradas pertenecen a peces óseos. En el caso de los machos también fue muestreado 1 ejemplar, encontrándose 3 presas, estas del grupo de crustáceos, haciendo la diferencia con las hembras en el tipo de alimento

Punta Arenas *Dipturus trachyderma*

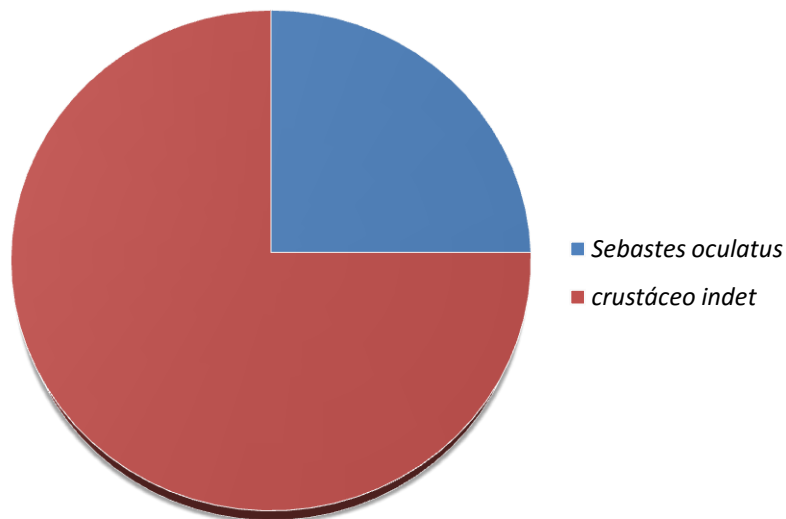


Figura 38 Ítems presa de raya espinosa en Punta Arenas.

Tabla 45 Índices numéricos de *Dipturus trachyderma* en la localidad de Punta Arenas.

Ítem/presa	%N	%F	%P	IIR	%IIR	Q
<i>Sebastes oculatus</i>	25	33,3	15,8	1361,20	7,88	395,90
Crustáceos indet.	75	100	84,2	15916,40	92,12	6312,30

Finalmente en Punta Arenas se observaron sólo 3 estómagos, donde el ítem presa más importante fueron los crustáceos. En el caso del coeficiente, indicó a ambos como presas preferentes debido a la poca diversidad de especies encontradas en los estómagos. Solo hay machos en las muestras de Punta Arenas.

En general, para raya volantín, se encontraron diferencias en las regiones del norte con las más australes, las presas más importantes son los crustáceos tanto en san Antonio como en Valdivia, en cambio en Puerto Montt como en punta arenas son los peces óseos. Para raya espinosa los peces fueron más importantes, siendo en Valdivia y Puerto Montt casi su totalidad de presas de este grupo. En San Antonio

Heterocarpus reedi fue el principal pero aun así la diferencia con las especies de peces no es tanta. En punta arenas se observó una diferencia ya que a pesar de la poca cantidad de individuos se representa mejor su dieta con el grupo de los crustáceos.

Identificación por rango de tamaños

En relación al tamaño de los individuos se realizó una comparación entre especies, en este caso no por localidad por la poca cantidad de individuos para poder comparar. Para la raya volantín, los individuos obtenidos por la pesca, presentaron rangos de talla entre 79 y 183 cm LT. Tomando en cuenta el criterio de pesca, que deja fuera individuos de menor tamaño por ser inmaduros y no útiles para ser vendidos, obtenemos casi la totalidad de individuos maduros, en el caso de los machos maduros completamente a los 90-95 cm aproximadamente, y en el caso de las hembras, individuos maduros sobre los 100-105 cm aproximadamente, por lo que se dividió el rango de talla en individuos con tamaño menor a 100 cm LT y otro rango con individuos mayores a 100 cm LT, aproximando así una diferencia entre individuos juveniles y maduros.

Tabla 46 Índices numéricos de *Z. chilensis* con tallas menores a 100 cm LT.

Ítem/presa	%N	%F	%P	IIR	%IIR	Q
<i>Sebastes oculatus</i>	12,8	14,3	19,0	454,9	13,4	243,9
<i>Merluccius gayi</i>	2,6	7,1	1,2	26,8	0,8	3,1
<i>Genypterus sp</i>	2,6	7,1	0,9	24,9	0,7	2,4
<i>Prolatilus jugularis</i>	2,6	7,1	9,6	87,1	2,6	24,7
<i>Hippoglossina macrops</i>	5,1	14,3	4,3	134,9	4,0	22,1
pez óseo indet	5,1	14,3	11,5	238,3	7,0	59,2
<i>Heterocarpus reedi</i>	17,9	35,7	15,6	1197,2	35,2	279,5
<i>Allopetrolisthes sp.</i>	2,6	7,1	3,0	40,0	1,2	7,8
<i>Petrolisthes tuberculatus</i>	5,1	7,1	2,3	53,2	1,6	11,9
<i>Eurypodius latrellei</i>	20,5	14,3	14,1	494,6	14,5	289,4
<i>Cancer sp.</i>	7,7	14,3	8,0	223,6	6,6	61,3
<i>Euphausia sp.</i>	5,1	14,3	3,4	122,3	3,6	17,6
<i>Pleuroncodes monodon</i>	2,6	7,1	2,1	33,1	1,0	5,3
Crustáceo indet.	7,7	21,4	4,9	269,2	7,9	37,5

Son 14 los individuos analizados con este rango de talla (79–100 cm), donde se pudieron encontrar 39 presas, de las cuales la especie de mayor importancia fue *H. reedi*, seguido por *Sebastes oculatus* y *E. latrellei*. El 70% de los individuos de la dieta está compuesto por crustáceos. Quedando como especies de preferencia en la dieta las 3 nombradas anteriormente.

Tabla 47 Índices numéricos de *Z. chilensis* con tallas mayores a 100 cm LT.

Ítem/presa	%N	%F	%P	IIR	%IIR	Q
<i>Sebastes oculatus</i>	5,6	12,5	53,31	735,84	23,80	296,18
<i>Macruronus magellanicus</i>	11,1	25	5,34	411,18	13,30	59,29
<i>Hippoglossina macrops</i>	5,6	12,5	18,89	305,63	9,89	104,97
pez óseo indet	11,1	25	4,56	391,87	12,68	50,71
<i>Petrolisthes sp</i>	11,1	25	4,06	379,40	12,27	45,16
<i>Heterocarpus reedi</i>	33,3	12,5	5,67	487,55	15,77	189,03
<i>Taliepus dentatus</i>	5,6	12,5	1,55	88,79	2,87	8,60
<i>Allopetrolisthes sp.</i>	11,1	12,5	5,56	208,40	6,74	61,79
<i>Octopus sp</i>	5,6	12,5	1,05	82,56	2,67	5,83

En este caso solo son hembras las analizadas, 8 en total, en las cuales habían 18 presas, donde la de mayor importancia en este caso fue *Sebastes oculatus* seguido por *H. reedi* y *M. magellanicus*. Y según el coeficiente de alimentación solo *S. oculatus* se presentó como una especie preferencial, dejando al resto como secundarias o raras en su dieta. El porcentaje de individuos en crustáceos alcanzó el 66% de la totalidad, pero las presas de peces son de mayor tamaño por lo que aumenta su importancia como presa. Por ende en rayas de menor tamaño las presas pequeñas como los crustáceos fueron más preferidas que en el caso de individuos más grandes.

En la raya espinosa *Dipturus trachyderma*, a diferencia de la raya volantín, presentó rangos de tallas mucho mayores, en este caso las capturas son entre 110 a 220 cm LT. Todas las rayas son inmaduras ya que esta especie alcanza la madurez sexual con tallas mayores a 200 cm por lo que en este caso, todas las rayas obtenidas por la pesca son individuos no desarrollados, y los ya maduros no los capturan por ser muy grandes y complicada su extracción. Todas las hembras eran inmaduras dentro

de los analizados, y en los machos sobre los 150 o 160 cm LT aproximadamente. Estarían entrando en fase 2 o juveniles, por lo que la comparación intentó reflejar diferencias entre inmaduros y juveniles.

Tabla 48 Índices numéricos de *D. trachyderma* con tallas menores a 160 cm LT.

Ítem/presa	%N	%F	%P	IIR	%IIR	Q
<i>Sebastes oculatus</i>	28,6	37,5	32,2	2277,6	41,2	919,0
<i>Merluccius gayi</i>	14,3	25,0	44,1	1460,8	26,4	630,7
<i>Genypterus chilensis</i>	7,1	12,5	2,5	120,3	2,2	17,7
<i>Paralichthys sp</i>	7,1	12,5	16,6	296,8	5,4	118,6
Pez óseo indet.	14,3	25,0	2,6	422,7	7,6	37,5
<i>Loxechinus albus</i>	7,1	12,5	0,6	97,3	1,8	4,6
Crustáceo indet.	21,4	37,5	1,3	853,9	15,4	28,8

Se analizaron 8 individuos, con 14 presas de las cuales la que presenta mayor importancia en su dieta fue *S. oculatus*, seguido por *M. gayi* y crustáceos indeterminados. Ambas especies fueron reconocidas como preferenciales en la dieta.

Tabla 49 Índices numéricos de *D. trachyderma* con tallas mayores a 160 cm LT.

Ítem/presa	%N	%F	%P	IIR	%IIR	Q
<i>Merluccius gayi</i>	5,6	12,5	9,8	191,8	4,4	54,4
<i>Hippoglossina macrops</i>	5,6	12,5	5,0	132,5	3,0	28,0
<i>Macruronus magellanicus</i>	11,1	25,0	39,4	1261,9	29,0	437,4
<i>Paralichthys sp</i>	11,1	12,5	22,0	414,1	9,5	244,6
Pez óseo indet.	5,6	12,5	0,5	75,7	1,7	2,8
<i>Heterocarpus reedi</i>	33,3	37,5	6,9	1508,5	34,7	229,8
<i>Allopetrolisthes sp.</i>	16,7	12,5	10,7	341,6	7,9	177,7
Crustáceo indet.	11,1	25,0	5,7	421,0	9,7	63,6

Como individuos mayores a 160 cm LT, se identificaron a 8 rayas con 18 presas dentro de su contenido estomacal, de las cuales la de mayor importancia relativa fue *H. reedi*, seguida por *M. magellanicus*. En el caso del coeficiente de alimentación se observó cómo presa preferencial a *M. magellanicus*, seguida por el género *Paralichthys* y posteriormente *H. reedi*. Esto se puede deber, al igual que con la raya volantín, al tamaño de presas comparado con cantidad. En el caso de raya espinosa, en ambos rangos de tamaño se observó una mayor preferencia por individuos del grupo de peces óseos.

Índices ecológicos

Para el general de individuos de la raya volantín presentó una variedad de presas semi diversas según el índice de Shannon, hubo una diferencia con los machos e individuos adultos que presentaron en este caso menor diversidad de presas

capturadas. El índice de Levin nos mostró valores menores a 0,6, lo que indicó poca cantidad de presas por lo tanto se trata de un depredador especialista.

Tabla 50 Diversidad y amplitud de nicho, en general, por sexos y estados de desarrollo de la raya *Zearaja chilensis*.

Raya Volantín	Shannon- Wiener (H')	Índice de Levin (B_i)
General	3,65	0,51
Hembras	3,32	0,49
machos	2,38	0,55
<100 cm LT	3,42	0,50
>100 cm LT	2,86	0,44

Tabla 51 Diversidad y amplitud de nicho, en general, por sexos y estados de desarrollo de la raya *Dipturus trachyderma*.

Raya Espinosa	Shannon- Wiener (H')	Índice de Levin (B_i)
General	3,23	0,61
Hembras	2,90	0,48
machos	2,86	0,41
<100 cm LT	2,61	0,51
>100 cm LT	2,71	0,52

Individuos de la raya espinosa presentaron una variedad de presas no tan diversas según el índice de Shannon ya que los valores son menores a los intermedios. El índice de Levin indicó valores entre 0,6 y menores, lo que indica poca cantidad de presas por lo tanto se trató de un depredador especialista.

Tabla 52 Diversidad y amplitud de nicho, en general, por sexos y estados de desarrollo de la raya *Zearaja chilensis* para cada localidad muestreada.

Raya Volantín	Shannon- Wiener (H')	Índice de Levin (Bi)
General	3,65	0,51
San Antonio	3,25	0,47
Valdivia	2,32	0,53
Puerto Montt	1,50	0,67
Punta Arenas	1,92	0,46

Al observar la raya volantín según la localidad de procedencia, se presentó una variedad de presas según el índice de Shannon más diversas en la localidad de San Antonio, y a medida que se va avanzando en latitud, va disminuyendo la diversidad de presas. Lo mismo ocurrió con la amplitud del nicho trófico mostrando valores iguales o menores a 0,6, lo que indicó poca cantidad de presas por lo tanto se trata de un depredador especialista.

Tabla 53 Diversidad y amplitud de nicho, en general, por sexos y estados de desarrollo de la raya *Dipturus trachyderma* para cada localidad muestreada.

Raya Espinosa	Shannon- Wiener (H')	Índice de Levin (Bi)
General	3,23	0,61
San Antonio	2,42	0,45
Valdivia	1,84	0,63
Puerto Montt	2,58	0,45
Punta Arenas	0,81	1,33

En el caso de la raya espinosa según la localidad de procedencia, se presentó una variedad de presas según el índice de Shannon más diversas en la localidad de San Antonio y Puerto Montt, y más disminuida en Valdivia y Punta Arenas. La amplitud del nicho trófico (Índice de Levin) nos mostró valores iguales o menores a 0,6, lo que indica poca cantidad de presas por lo tanto se trató de un depredador especialista

Índice de sobre posición dietaria

El índice de sobre posición de la dieta en el caso de ambas especies con un valor mayor a 0,66 indicó que hay una sobre posición alta entre ellas. Para el total de hembras v/s machos se observó un valor entre 0,3 y 0,65 indicando una sobre posición media. Para el caso de hembras y machos de raya volantín el valor fue menor a 0,29 por lo tanto la sobre posición en este caso es mínima. En machos y hembras de raya espinosa el valor es alto indicando sobre posición alta.

En relación a los tamaños para raya volantín, la sobre posición fue media entre individuos juveniles y maduros, y en el caso de raya espinosa fue mínima la sobre posición entre individuos inmaduros y juveniles.

Tabla 54 Índice de sobre posición de la dieta, entre especies, hembras- machos y tamaños por especie.

Relaciones	Índice de Morisita- Horn
Total <i>Z. chilensis</i> v/s <i>D. trachyderma</i>	0,70
hembras - macho total	0,56
Hembras- machos Volantín	0,12
Hembras- macho Espinosa	0,81
< 100 CM LT - >100 CM LT Volantín	0,54
<150 CM LT - >150 CM LT Espinosa	0,26

5.4.3. Caracterización y variación de la carga parasitaria de *Zearaja chilensis* y *Dipturus trachyderma* en aguas chilenas

De la fauna parasitaria de las rayas volantín y espinosa, en las localidades estudiadas (San Antonio, Valdivia, Puerto Montt y Punta Arenas). Se obtuvieron como resultados un total de 9 individuos con presencia de parásitos de un total de 48 revisados, donde se encontró un total de 73 de ellos. De las 9 rayas con parásitos, sólo 2 son raya volantín, con presencia de parásitos sólo en el estómago, y un total de 6 de estos. El resto se encontraron en estómagos o válvulas espirales de raya espinosa.

Se encontraron un total de 25 parásitos en el estómago de 5 rayas, y 48 parásitos en válvula espiral de 4 rayas. La totalidad de los parásitos fueron pertenecientes a la clase Nematoda, reconocibles por ser organismos vermiformes, su morfología generalmente es cilíndrica, alargada y con simetría bilateral. Tienen un sistema digestivo completo, con la boca en el extremo anterior y el ano cerca del

extremo posterior (Cruz-Reyes & Camargo, 2001). De los 25 parásitos encontrados en el estómago todos estaban en fase larval L3 o adultos.

Tabla 55 Cantidad de Parásitos por localidad, especie y sitio de ubicación.

Localidad	Especie	Estómago	Válvula espiral
Valdivia	<i>D. trachyderma</i>	0	1
Puerto Montt	<i>D. trachyderma</i>	0	1
Puerto Montt	<i>D. trachyderma</i>	2	0
San Antonio	<i>Z. chilensis</i>	5	0
San Antonio	<i>Z. chilensis</i>	1	0
San Antonio	<i>D. trachyderma</i>	0	45
San Antonio	<i>D. trachyderma</i>	15	0
San Antonio	<i>D. trachyderma</i>	0	1
Punta Arenas	<i>D. trachyderma</i>	2	0

De la totalidad de nematodos encontrados, 6 de ellos fueron reconocidos como parte del género *Pseudoterranova* midiendo aproximadamente entre 65 a 80 mm de longitud, siendo estos por su tamaño hembras de esta especie. Dentro de la raya *Z. chilensis* sólo se encontró este tipo de parásito, dentro de 2 hembras maduras, ubicándose en el estómago de manera libre, no adherido a las paredes. Todos estos provenientes de la localidad de San Antonio.

El resto de parásitos en el estómago o en la válvula espiral, fueron representantes del tipo *anisakis sp.* midiendo aproximadamente entre 25 y 30 mm de longitud, un total de 19 de ellos, 16 en San Antonio (2 hembras de raya espinosa); 2 en Punta arenas (1 macho de raya espinosa) y 1 en Puerto Montt (1 hembra raya

espinosa). Y *Raphidascaris sp.* con individuos encontrados entre 10 y 17 mm. 45 de ellos en San Antonio (1 hembra raya espinosa); 2 en Puerto Montt (1 macho raya espinosa) y 1 en Valdivia (1 macho raya espinosa). Todos encontrados en individuos inmaduros de raya espinosa como hospedadores.

Registro taxonómico de parasitos

NEMATODOS (Clase Secernentea)

Orden Ascaridida (Familia Anisakidae) *Pseudoterranova sp*

Anisakis sp

Raphidascaris sp

Los anisakidos son parásitos dependientes del medio ambiente acuático para su desarrollo y sus ciclos biológicos están ligados a la transmisión de estas especies en otras que funcionan como hospedadores. El ciclo de vida de esta familia por lo general implica a invertebrados y peces como anfitriones intermedios (Anderson, 2000).

Raphidascaris sp: Nematodos de pequeño tamaño con la cutícula lisa; cuerpo de color blanquecino; labios bien desarrollado; boca abertura triangular; elevación cuticular pequeña en la base de los labios presentes; esófago ampliado en su mitad posterior; cola de ambos sexos cónica (Carvalho de Melo *et al.* 2011)

Los nematodos del género ***Anisakis sp*** son parásitos el tracto digestivo de su hospedador definitivo, mamíferos marinos, utilizando como hospedadores intermediarios o paraténico invertebrados marinos y peces teleósteos (Davey, 1971;

Wootten & Smith, 1978; Anderson, 2000). En general los individuos de *Anisakis* sp estaban rodeados por una capa translúcida con tonalidad café, la cual está formada de tejido conjuntivo sobre la serosa de diversos órganos. Por la presencia del diente y de los tres labios en el extremo anterior, se les identificó como larvas L3 pertenecientes al género *Anisakis* (Saad *et al.*, 2012)

***Pseudoterranova* sp:** es un Anisakido con gran cuerpo alargado, crestas cuticulares desde el cuello hasta la cola, tres labios prominentes bilobulados, uno dorsal, con una base más ancha que los dos labios subventrales, y con la presencia de dos papilas en forma de huevo. Presencia de dimorfismo sexual, las hembras son de mayor tamaño corporal que los machos (George-Nascimento & Urrutia, 2000).

Parámetros ecológicos en parásitos

De las 48 rayas revisadas en este estudio, se obtuvo una prevalencia de parasitación de un 18,8%, una intensidad promedio de infección de 8,1 parásitos por anfitrión y una abundancia de 1,5 parásitos. También se calculan por género de parásitos, donde *Pseudoterranova* sp, presentó una prevalencia de un 4,2 %, una intensidad promedio de infección de 3 parásitos por anfitrión y una abundancia de 0,1 parásitos; en el caso de *Anisakis* sp tuvo una prevalencia de un 8,3 %, una intensidad promedio de infección de 4,8 parásitos por anfitrión y una abundancia de 0,4 parásitos. Por último con el género *Raphidascaris* sp presentó una prevalencia de un 8,3 %, una intensidad promedio de infección de 12 parásitos por anfitrión y una abundancia de 1 parásito.

Tabla 56 Parámetros ecológicos en parasitología total y por especie de parásito.

Parásitos	Prevalencia	Intensidad	Abundancia
<i>Pseudoterranova</i> sp.	4,2	3	0,1
<i>Anisakis</i> sp.	8,3	4,8	0,4
<i>Raphidascaris</i> sp.	8,3	12	1
Total	18,8	8,1	1,5

5.4.4. Caracterización y variación de la historia de vida de *Zearaja chilensis* y *Dipturus trachyderma* en aguas chilenas

Para la localidad de San Antonio, en *Zearaja chilensis* la estructura de tallas capturadas se ajusta a una distribución normal ($D = 0,0751$; $P > 0,05$) cuya clase modal se encuentra entre 92 y 95 cm L_T . (Fig. 39). El rango de tallas varió entre 76,4 y 113,4 cm L_T (promedio \pm d.s.; $92,50 \pm 8,11$ cm). La proporción de sexo en la captura fue 1:0.7 (machos:hembras), sin observarse diferencias significativas ($\chi^2 = 2.84$, d.f. = 1, $P < 0.05$).

Para *Dipturus trachyderma*, la estructura de tallas capturadas se ajusta a una distribución normal ($D = 0,0656$; $P > 0,05$) ; se observa que presenta tres grupos modales, uno entre 103 y 111 cm L_T ; otro entre 132 y 140 cm L_T y un tercero entre 169 y 176 cm L_T (Fig. 40). El rango de tallas varió entre 97,6 y 220,0 cm L_T (promedio \pm d.s.; $147,78 \pm 27,79$ cm). La proporción sexual en la captura fue 1:2, con un sesgo significativo hacia las hembras ($\chi^2 = 11.32$, d.f. = 1, $P > 0.01$).

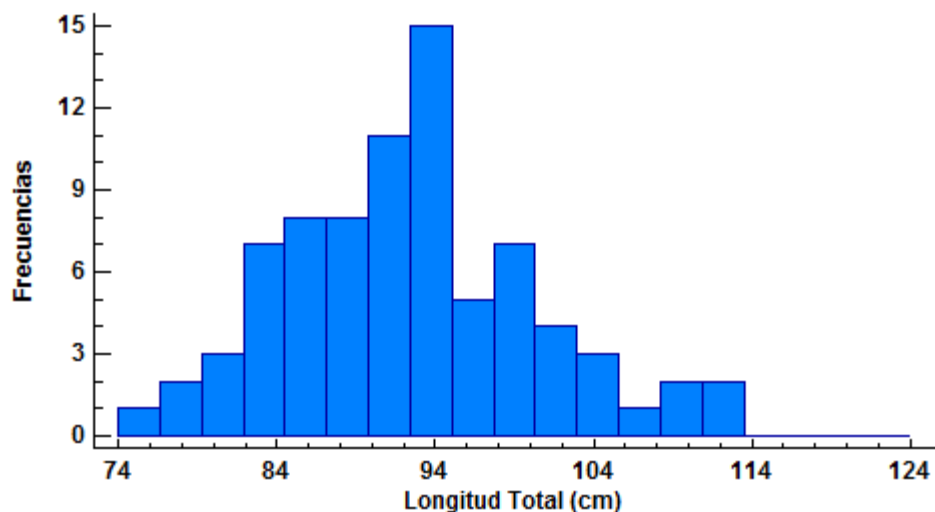


Figura 39 Frecuencia de tallas De *Zearaja chilensis* para la localidad de San Antonio

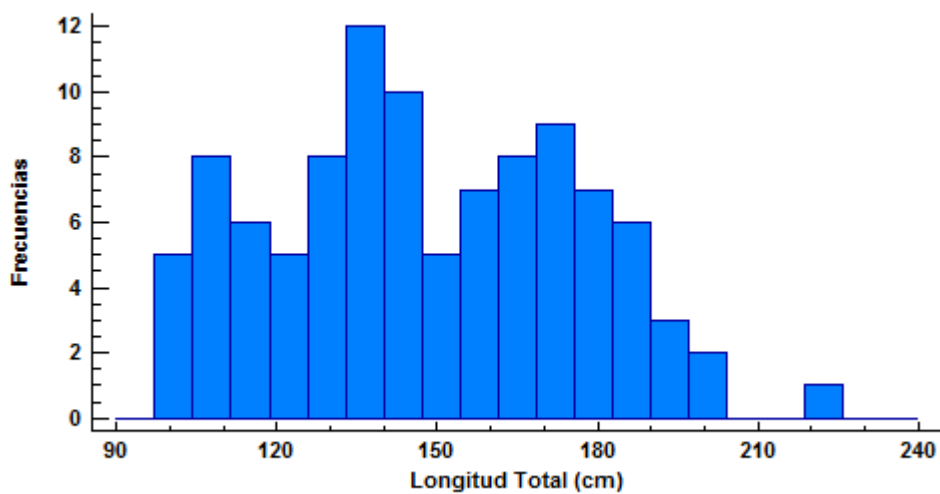


Figura 40 Frecuencia de tallas de *Dipturus trachyderma* para la localidad de San Antonio

Para el caso de Valdivia, las tallas de las capturas de *Zearaja chilensis* se ajustaron a una distribución normal ($D = 0,0853$; $P > 0,05$), presentando dos clases modales una entre 80 y 86 cm L_T y otra entre 92 y 97 cm L_T (Fig. 41). El rango de tallas varió entre 25,0 y 114,1 cm L_T (promedio \pm d.s.; $88,98 \pm 5,32$ cm). La proporción de sexo fue 1:1.7 con un sesgo significativo hacia las hembras ($\chi^2 = 8.214$, d.f. = 1, $P > 0.05$).

De igual forma, las tallas de las capturas de *Dipturus trachyderma* se ajustaron a una distribución normal ($D = 0,1372$; $P > 0,05$), presentando cuatro clases modales una entre 115 y 123 cm L_T , otra entre 132 y 141 cm L_T , una tercera entre 151 y 159 cm L_T y la cuarta entre 169 y 178 cm L_T (Fig. 42). El rango de tallas varió entre 89,0 y 214,13 cm L_T (promedio \pm d.s.; $139,35 \pm 29,26$ cm). La proporción de sexos fue 1:0.8, sin observarse diferencias significativas ($\chi^2 = 0.78$, d.f. = 1, $P > 0.05$).

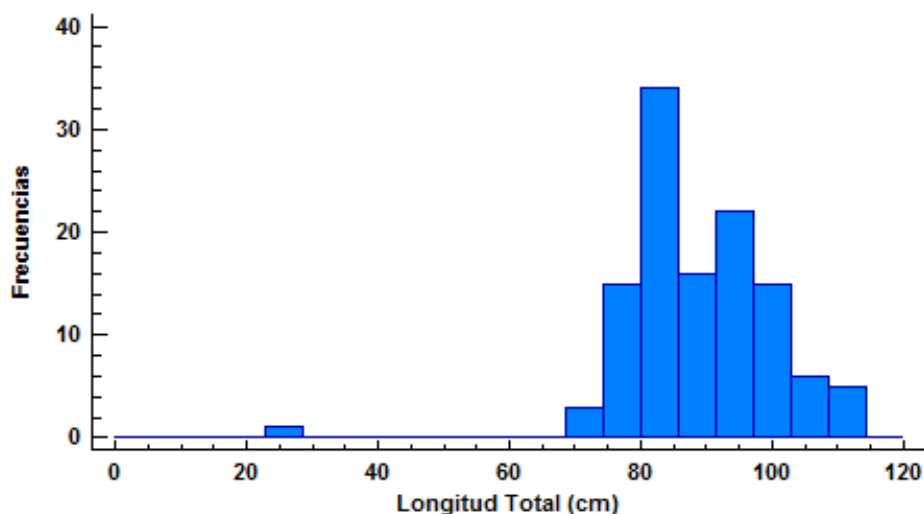


Figura 41 Frecuencia de Tallas de *Zearaja chilensis* para la localidad de Valdivia

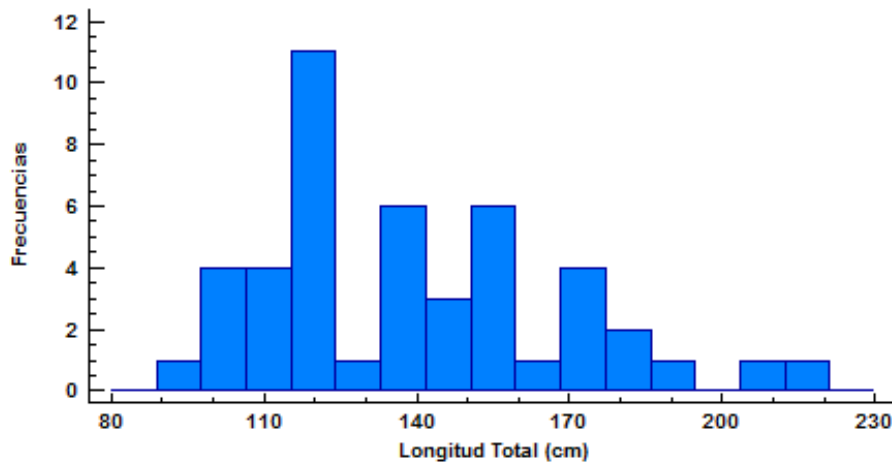


Figura 42 Frecuencia de tallas de *Dipturus trachyderma* para la localidad de Valdivia

Para el caso de Puerto Montt, las tallas de las capturas de *Zearaja chilensis* se ajustaron a una distribución normal ($D = 0,0663$; $P > 0,05$) presentando tres clases modales una entre 95 y 97 cm L_T , una segunda entre 105 y 107,5 cm L_T y una tercera entre 112,2 y 104,5 cm L_T (Fig. 43). El rango de tallas varió entre 82,1 y 119,8 cm L_T (promedio \pm d.s.; 100,44 \pm 9,69 cm). La proporción de sexo fue 1:2.4 con un sesgo significativo hacia las hembras ($\chi^2 = 16.98$, d.f. = 1, $P > 0.01$).

En el caso de *Dipturus trachyderma* la estructura de tallas se ajusta a una distribución normal ($D = 0,2451$; $P > 0,05$) presentando tres clases modales, una entre 111 y 117 cm L_T otra entre 134 y 140 cm L_T y una tercera entre 163 y 169 cm L_T (Fig. 44). El rango de tallas varió entre 108,6 y 167,8 cm L_T (promedio \pm d.s.; 128,82 \pm 18,39 cm). La composición de sexos fue 1:1.33, sin observarse diferencias significativas ($\chi^2 = 0.18$, d.f. = 1, $P > 0.05$).

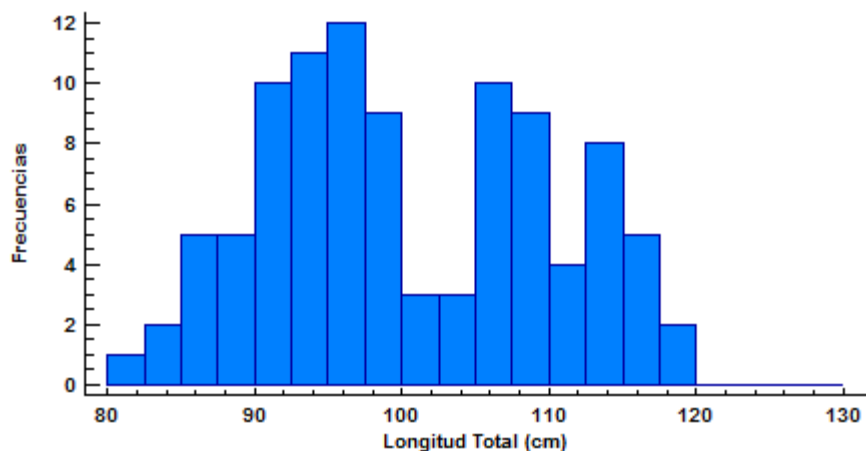


Figura 43 Frecuencia de tallas de *Zearaja chilensis* para la localidad de Puerto Montt

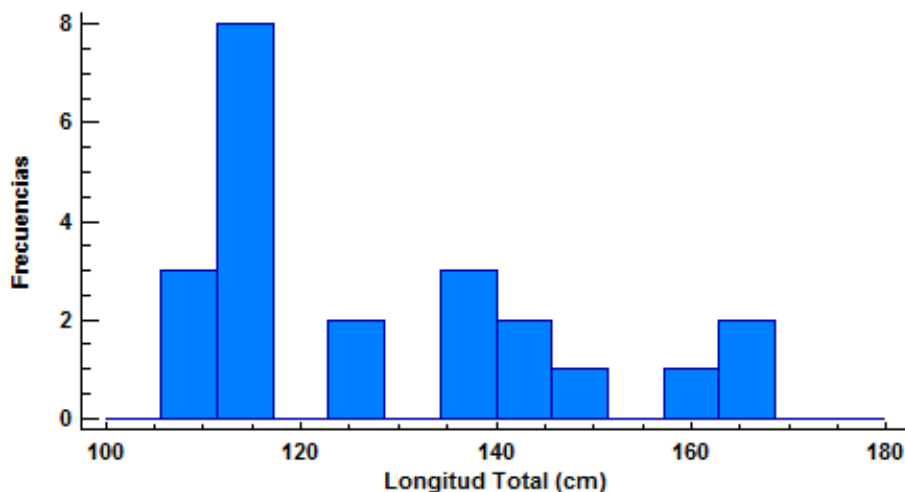


Figura. 44 Frecuencia de tallas de *Dipturus trachyderma* para la localidad de Puerto Montt

En el caso de Punta Arenas, las tallas de las capturas de *Zearaja chilensis* se ajustaron a una distribución normal ($D = 0,0842$; $P > 0,05$) presentando una clase modal que se encuentra entre 108 y 114 cm L_T . (Fig. 45). El rango de tallas varió entre

87,2 y 183,0 cm L_T (promedio \pm d.s.; 112,46 \pm 15,01 cm). La proporción de sexo fue 1:1.6 con un sesgo significativo hacia las hembras ($\chi^2 = 6.56$, d.f. = 1, $P > 0.05$).

Finalmente, las tallas de las capturas de *Dipturus trachyderma* se ajustaron a una distribución normal ($W = 0,9876$; $P > 0,05$) cuya clase modal se encuentra entre 178 y 192 cm L_T . (Fig. 46). El rango de tallas varió entre 120,3 y 242,5 cm L_T (promedio \pm d.s.; 179,71 \pm 38,00 cm). La proporción de sexos en la raya espinosa fue 1:0.75, sin observarse diferencias significativas ($\chi^2 = 0.14$, d.f. = 1, $P > 0.05$).

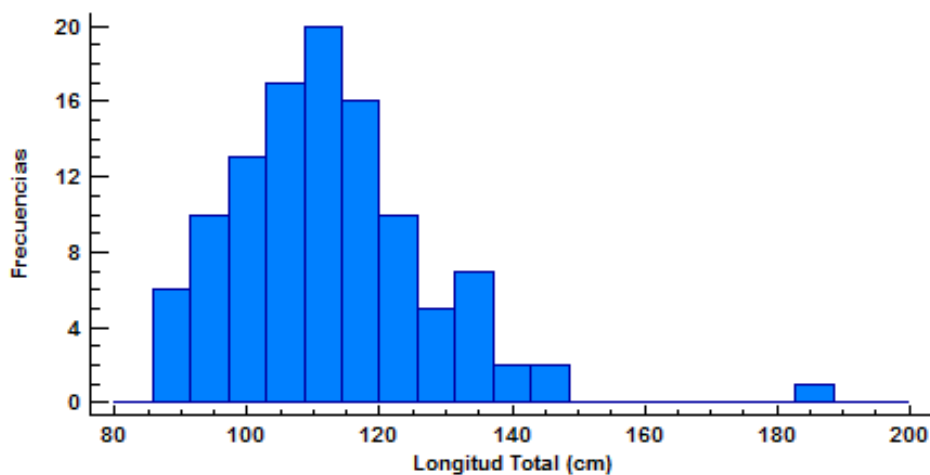


Figura 45 Frecuencia de tallas de *Zearaja chilensis* para la localidad de Punta Arenas

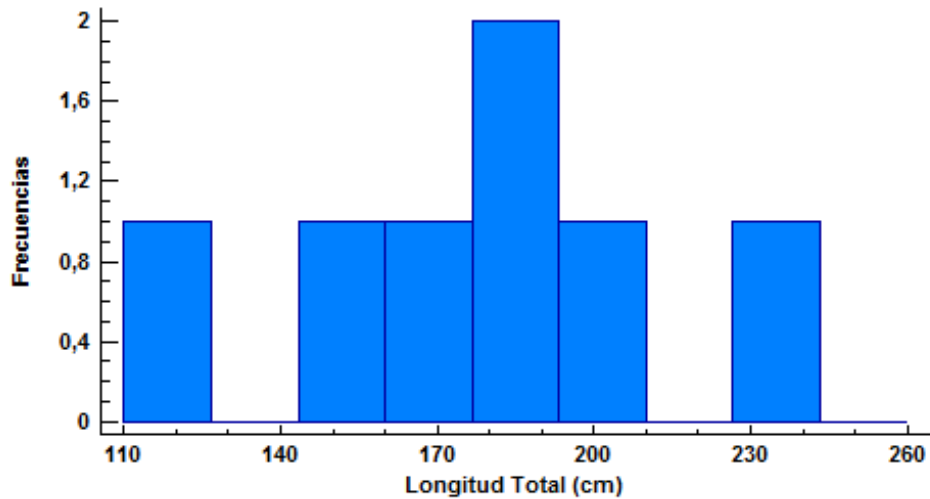


Figura 46 Frecuencia de tallas de *Dipturus trachyderma* para la localidad de Punta Arenas

En lo que respecta al tamaño de madurez (L_{50}), sólo se pudo determinar en machos, ya que en las hembras no se realizó disección. En *Dipturus Trachyderma* no fue posible realizar este análisis porque el 100% de los individuos machos se encontraban inmaduros en todas las localidades en estudio.

De los machos de *Zeraraja chilensis* capturados en San Antonio, el 6,38% de individuos fueron clasificados como juveniles, 10,64% como adolescentes, 21,28% como adultos y el 61,7% como activos. El individuo maduro más pequeño midió 82,5 cm L_T mientras que el individuo inmaduro más grande midió 98,3 cm L_T . Según el modelo logístico para obtener la curva de madurez, el tamaño donde el 50% de la población se encuentra madura (L_{50}) se alcanza en los 84,9 cm L_T (Fig. 47)

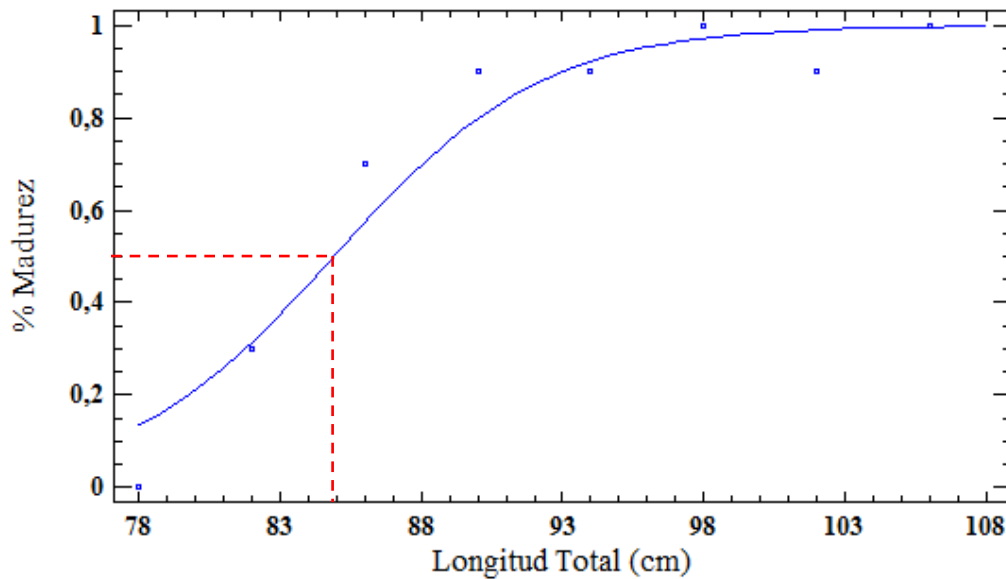


Figura 47 Proporción de machos maduros de *Zearaja chilensis* con respecto a la longitud total correspondientes a San Antonio. Se indica la talla media de madurez para el 50% de los individuos.

En Valdivia, el 2,33% de individuos machos de *Zeraraja chilensis* fueron clasificados como juveniles, 44,19% como adolescentes, 34,88% como adultos y el 18,6% como activos. El individuo maduro más pequeño midió 78,5 cm L_T mientras que el individuo inmaduro más grande midió 85,7 cm L_T . Según el modelo logístico para obtener la curva de madurez, el tamaño donde el 50% de la población se encuentra madura (L_{50}) se alcanza en los 86,44 cm L_T (Fig. 48)

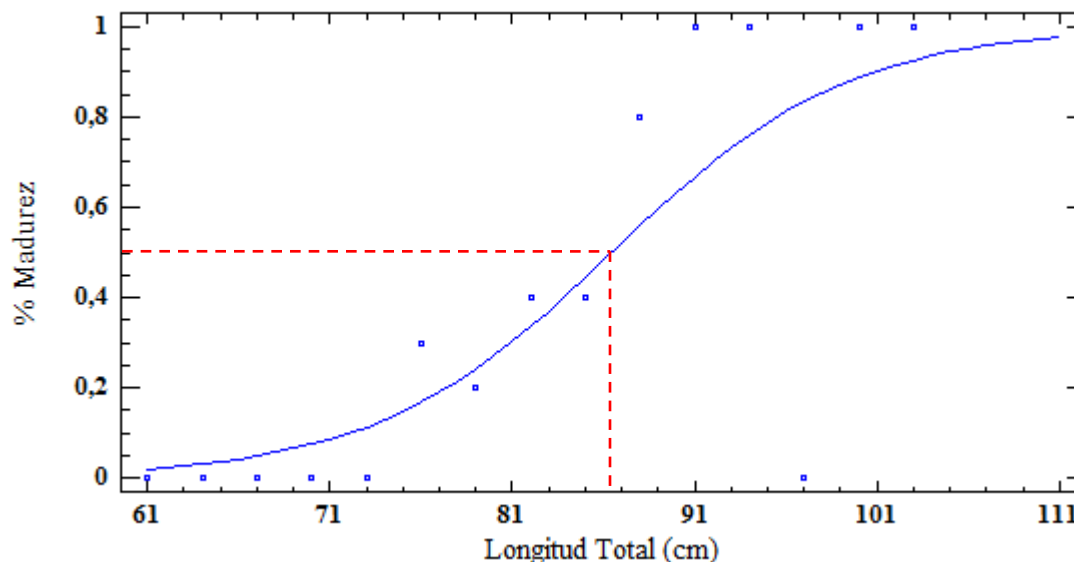


Figura 48. Proporción de machos maduros de *Zearaja chilensis* con respecto a la longitud total correspondientes a Valdivia. Se indica la talla media de madurez para el 50% de los individuos.

En Puerto Montt, no se encontraron individuos machos de *Zearaja chilensis* clasificados como juveniles. Sin embargo fueron clasificados el 55,17% como adolescentes, 24,14% como adultos y el 20,69% como activos. El individuo maduro más pequeño midió 84 cm L_T mientras que el individuo inmaduro más grande midió 95,5 cm L_T . Según el modelo logístico para obtener la curva de madurez, el tamaño donde el 50% de la población se encuentra madura (L_{50}) se alcanza en los 94,61 cm L_T (Fig. 49)

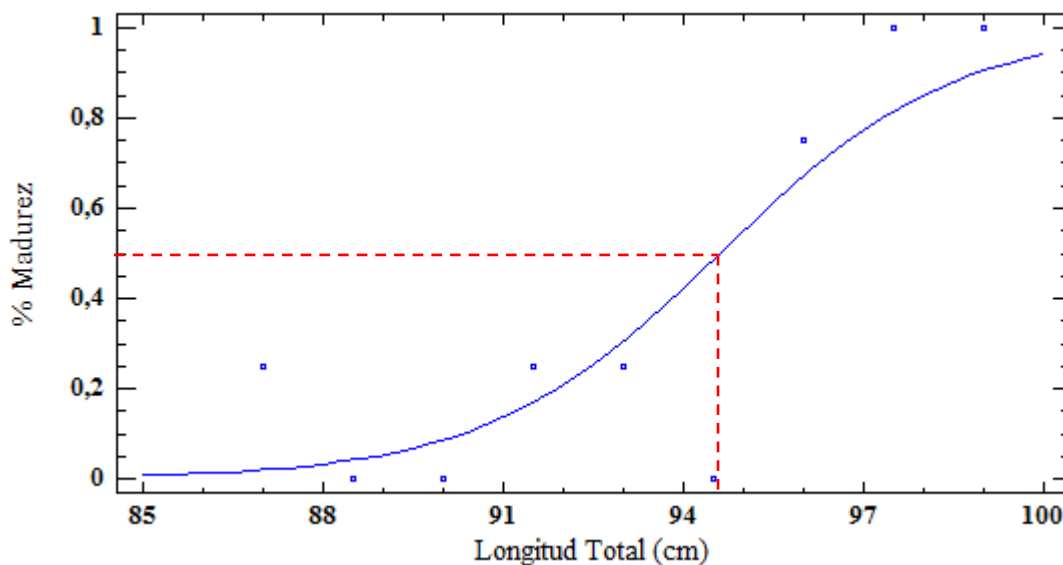


Figura 49. Proporción de machos maduros de *Zearaja chilensis* con respecto a la longitud total correspondientes a Puerto Montt. Se indica la talla media de madurez para el 50% de los individuos.

Por último, en Punta Arenas, el 4,76% de individuos machos de *Zearaja chilensis* fueron clasificados como juveniles, 40,48% como adolescentes, 19,05% como adultos y el 35,71% como activos. El individuo maduro más pequeño midió 97,7 cm L_T mientras que el individuo inmaduro más grande midió 114,3 cm L_T . Según el modelo logístico para obtener la curva de madurez, el tamaño donde el 50% de la población se encuentra madura (L_{50}) se alcanza en los 104,9 cm L_T (Fig. 50)

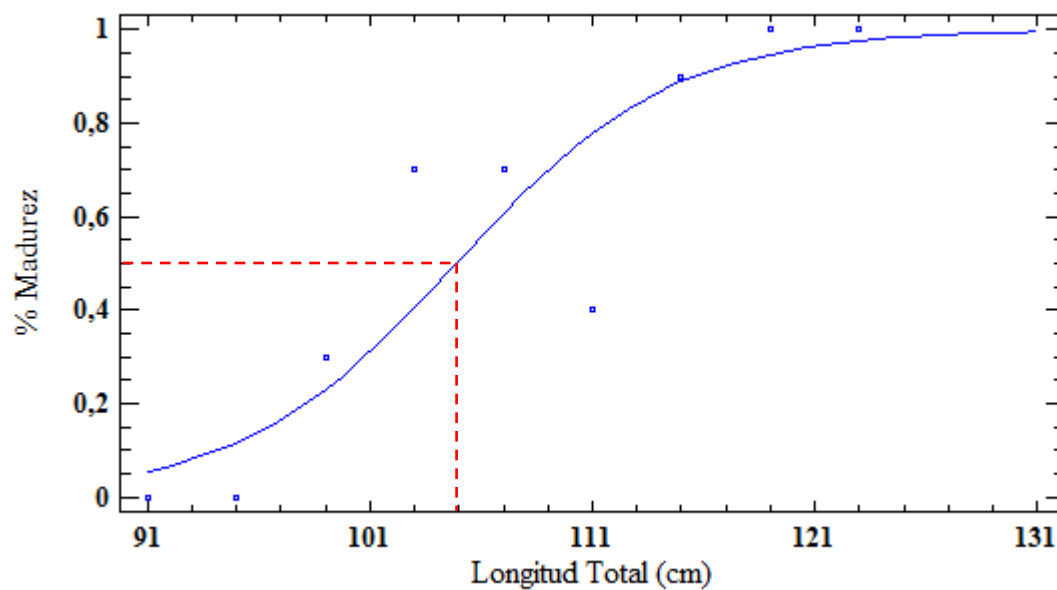


Figura 50. Proporción de machos maduros de *Zearaja chilensis* con respecto a la longitud total correspondientes a Punta Arenas. Se indica la talla media de madurez para el 50% de los individuos.

5.5. Estimar el número de orígenes (zonas de desove y/o crianza) y su contribución relativa a cada unidad demográfica identificada y zona principal de captura

Identificación de poblaciones natales

Los resultados del análisis ΔK y $L'(K)$ provenientes de STRUCTURE HARVESTER, basados en el análisis de estructura poblacional propuesta, indica una mayor probabilidad cuando $K = 5$ en todas las localidades para *Z. chilensis* (Figura 51). La probabilidad de que un individuo de *Z. chilensis* pertenezca a cualquiera de las cinco localidades es idéntica en todos los casos (20%), lo que soporta la ausencia de estructura poblacional inferida desde los loci de microsatélites (Figura 52).

El análisis de DAPC, considerando los nueve microsatélites, agrupa las localidades bajo un solo clúster (Figura 53). A pesar de esto, se puede observar una ligera separación entre Aisén y Puerto Montt, y las restantes ubicaciones, las que se observan sobrepuestas y sin límites discretos.

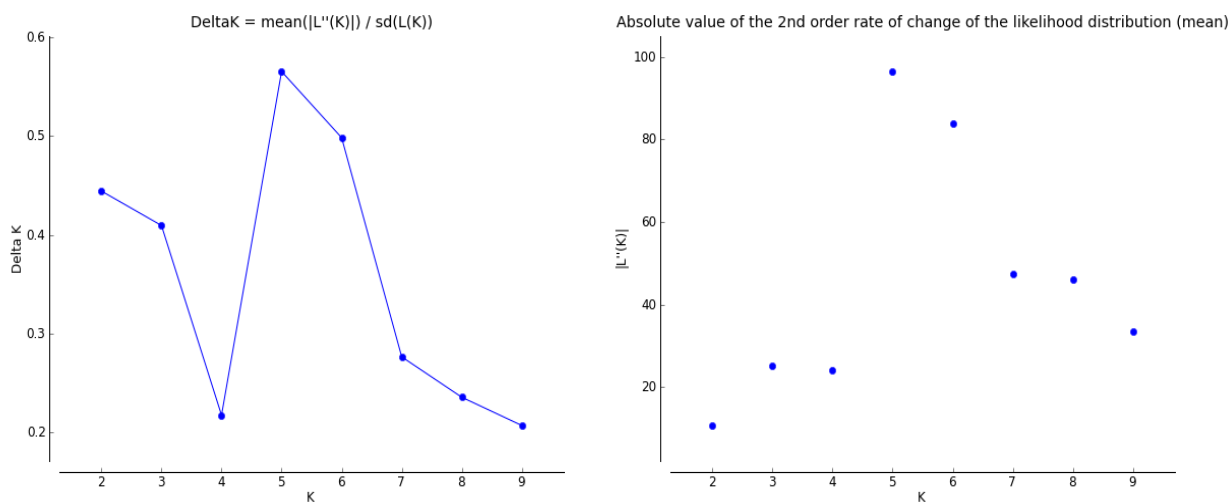


Figura 51 Representación grafica de la variación de la variación de ΔK y $L'(K)$ en *Zearaja chilensis* para valores entre 2 y 10.

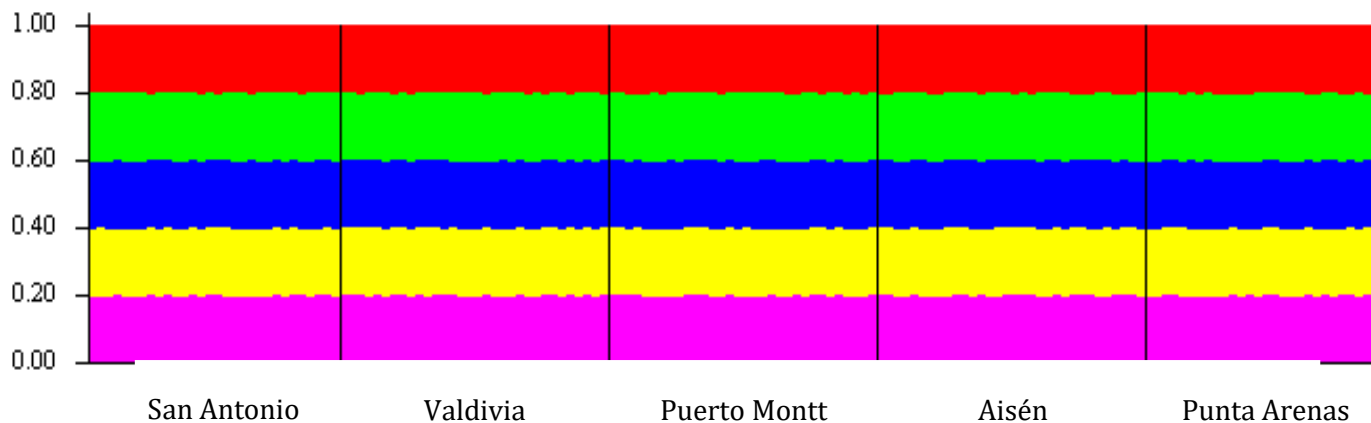


Figura 52 Gráfico de barras en líneas individuales desde STRUCTURE para un ensayo (aleatorio entre 20 réplicas) de hasta cinco grupos arbitrarios ($K = 5$) para *Zearaja chilensis*. Cada individuo se representa por un histograma único con valores de linaje en el eje vertical, y las poblaciones en el eje horizontal.

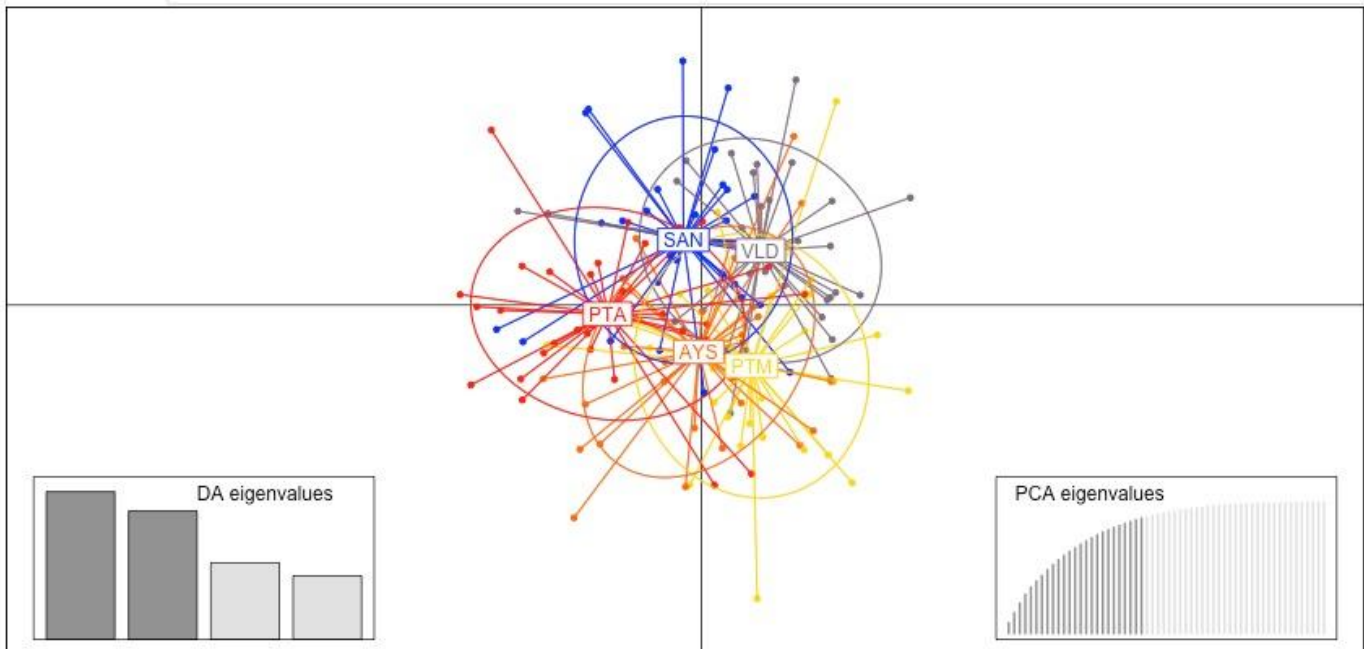


Figura 53 Gráfico de DAPC a partir de nueve genotipos de microsatélites para *Zearaja chilensis*. Se indican las muestras agrupadas por localidad en colores: SAN: San Antonio (azul), VLD: Valdivia (lila), PTM: Puerto Montt (amarillo); AIS: Aisén (naranja), y PTA: Punta Arenas (rojo).

En el caso de *D. trachyderma*, los resultados de los análisis ΔK and $L'(K)$, indican que la mayor probabilidad de valores cuando $K = 3$ para todas las localidades (Figura 54). Para esta especie, la probabilidad de que los individuos pertenezcan a cualquiera de los cinco grupos es idéntico en todos los casos (valores cercanos al 20%) lo que apoya la información sugerida por los loci de microsatélites (Figura 55).

El análisis DAPC, basado en los siete loci de microsatélites, agrupa las muestras provenientes de las cinco localidades bajo un solo clúster sin diferenciación o límites notorios (Figura 56).

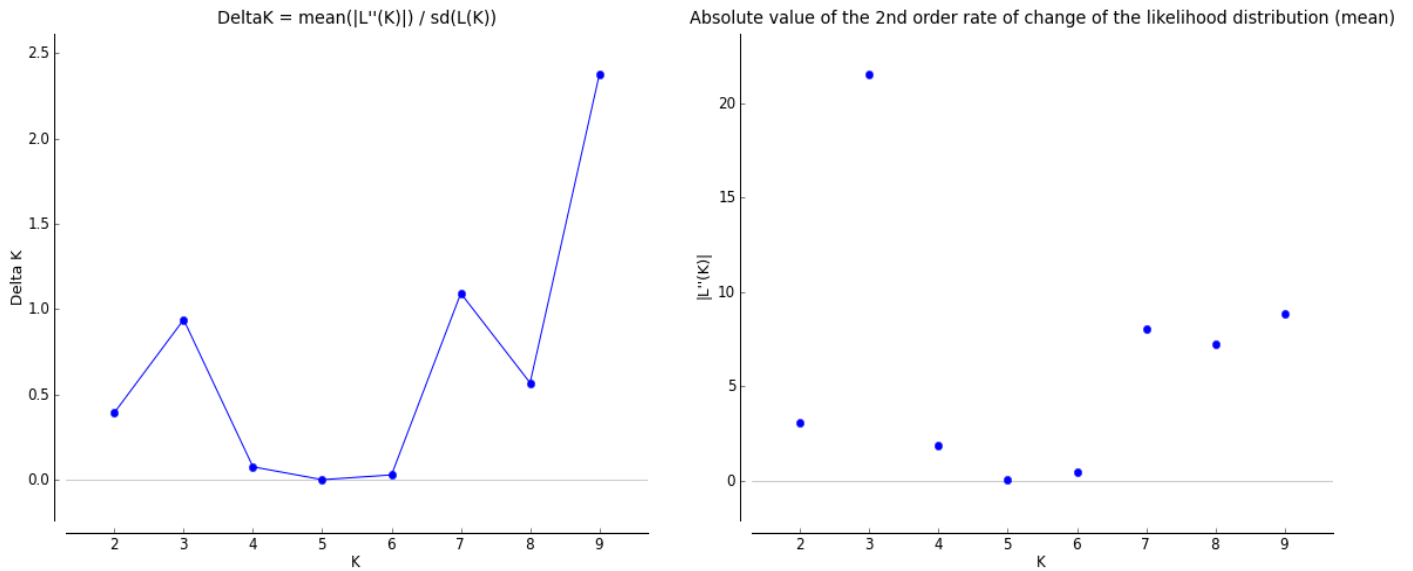


Figura 54 Representación grafica de la variación de la variación de ΔK y $L'(K)$ en *Dipturus trachyderma*, para valores entre 2 y 10.

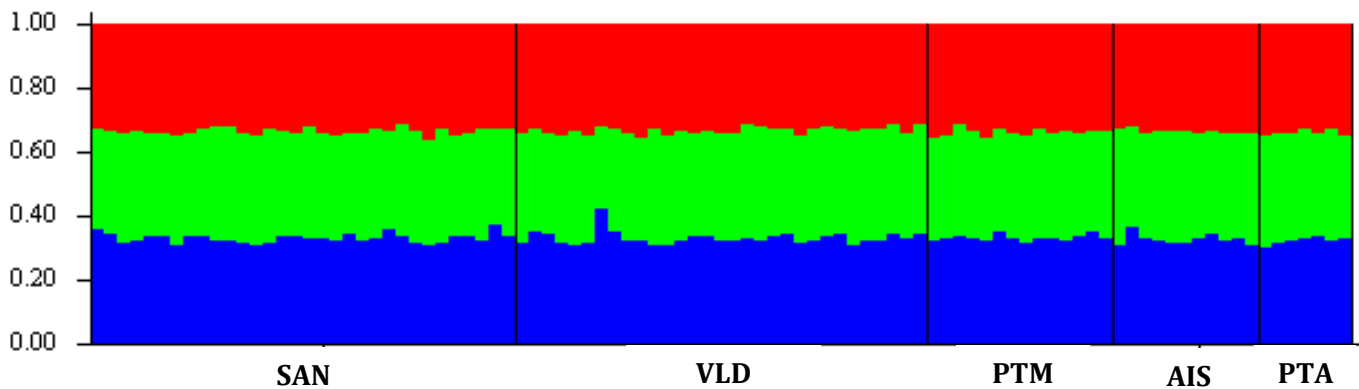


Figura 55 Gráfico de barras en líneas individuales desde STRUCTURE para un ensayo (aleatorio entre 20 réplicas) de hasta tres grupos arbitrarios ($K = 3$) para *Dipturus trachyderma*. Cada individuo se representa por un histograma único con valores de linaje en el eje vertical, y las poblaciones en el eje horizontal.

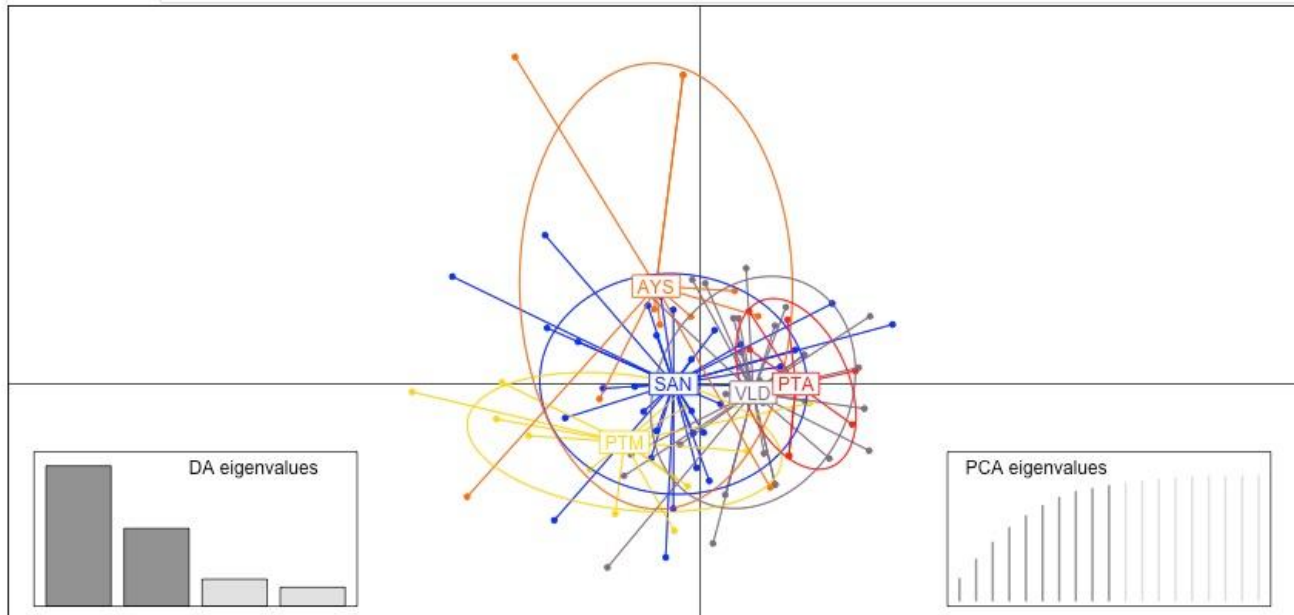


Figura 56 Gráfico de DAPC a partir de siete genotipos de microsatélites para *Dipturus trachyderma*. Se indican las muestras agrupadas por localidad en colores: SAN: San Antonio (azul), VLD: Valdivia (lila), PTM: Puerto Montt (amarillo); AIS: Aisén (naranja), y PTA: Punta Arenas (rojo).

Contribución relativa a la pesquería

La información proveniente de los marcadores mitocondriales es la herramienta a utilizar a la hora de asignar un individuo a una población de origen, en especial para localidades con la mayor diversidad haplotípica o si se busca diferenciar entre poblaciones. Las secuencias obtenidas desde ambas especies para las regiones 16S, *cox1* y *nadh2* muestran una identidad cercana al 100% de sitios idénticos. Sin embargo la región control, permite reconocer una alta diversidad de nucleótidos, permitiendo separar claramente los diferentes géneros y especies, además logra

diferenciar en *Z. chilensis* con altos niveles de confianza la pertenencia de un individuo al conjunto de localidades en aguas interiores (mar interior de Chiloé; Pto Montt y Aysén) de aguas exteriores (San Antonio, Valdivia) y probablemente de otro stock o unidad de manejo al extremo sur del país (Pta Arenas). Para *D. trachyderma* probablemente dos stocks. Aunque no hay estructura poblacional entre localidades, hay un haplotipo compartido por todas ellas, siendo este dominante en San Antonio y Valdivia. Los resultados sugieren una reciente expansión demográfica en estas localidades.

No ocurre lo mismo utilizando microsatélites, los cuales nos dicen no existir evidentes diferencias en la estructura poblacional, y por lo tanto no se puede asignar una zona de origen a un individuo solo usando la información del genoma nuclear. Los micro satélites nos dan cuenta solo de las probabilidades de determinar diferencias específicas entre sí, es decir, si una muestra de tejido pertenece a *Z. chilensis* o a *D. trachyderma*. También los microsatelites nos dan cuenta si la muestra proviene desde el océano Pacífico o del Atlántico con valores altamente confiables.

Estos resultados están en relación directa con la historia de vida de ambas especies de rayas, que se evidencia en la pesquería, caracterizada por individuos juveniles con muy pocas hembras maduras, en el caso de *Z. chilensis* y solo de juveniles inmaduros en *D. trachyderma*

Al integrar la información biológica de *Z. chilensis* y *D. trachyderma* a nuestros resultados, evidencian que las hembras maduras habitarían zonas diferentes a las zonas de pesca artesanal, y que buscarían ambientes costeros para depositar sus

huevos como estrategias para maximizar la probabilidad de eclosión y posterior supervivencia de juveniles.

Las zonas de Pto. Montt y Aysén denominadas (aguas interiores) presentan un hábitat adecuado para la filopatria reproductiva de rayas, con características de aguas mas someras, mas tranquilas, con abundante vegetación algal para el depósito y sobrevivencia de los huevos y juveniles, con una mayor oferta alimentaria de crustáceos, que son el ítem preferencial de juveniles, a diferencia de los adultos que son mas piscívoros.

Es probable que la zona de aguas interiores, sea una gran área de desove y/o crianza que es necesario investigar. El uso de las zonas de crianza protege a las crías de sus congéneres más grandes u otras especies depredadoras.

Las hembras pueden volver a las zonas de crianza a depositar sus huevos, aunque tengan que viajar grandes distancias para encontrar una pareja adecuada o para alimentarse, para lo cual es necesario continuar con la marcación de individuos (mediante spagueti, acústica o satelital), preferentemente de hembras grávidas de aguas interiores y exteriores.

Nuestra recomendación es que se apliquen medidas administrativas diferentes entre stock de aguas exteriores e interiores, seguido de un monitoreo simultaneo y marcaje de hembras adultas o grávidas entre ambas áreas en diferentes épocas del año.

6. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

6.1. *Realizar una revisión bibliográfica del estado del arte referente a la identificación de unidades evolutivas y demográficas en peces cartilagosos.*

6.1.1. Avances científicos y tecnológicos en la determinación genotípica de peces cartilagosos

Las herramientas moleculares son, y continúan siendo utilizadas con éxito para tratar muchos aspectos de la ciencia ecológica y evolutiva. Son de aplicación directa a los problemas que aquejan el manejo y conservación pesquera, incluyendo la identificación de especies, estructura poblacional y la evaluación del tamaño de la población. Con el paso a la era genómica, muchas de las limitaciones de las herramientas genéticas utilizadas actualmente se sobre llevan utilizando tecnologías avanzadas. La integración de nuevos métodos genómicos para el desarrollo de primers y genotipado facilitará una correcta identificación taxonómica y el monitoreo de comercio, así como el análisis y monitoreo de la composición de las pesquerías, que son a menudo desconocidos. Análisis de la población de alta resolución basada en la evaluación de genética tanto neutral como adaptativa, permitirá la identificación y priorización de las unidades de manejo local además de facilitar la gestión específica y planes de conservación de especies y poblaciones con respecto a las condiciones ambientales. La intensificación de la investigación genética en peces cartilagosos

también ayudará a obtener y utilizar información sobre las poblaciones migratorias y aisladas de alta mar, lo que es necesario para un manejo conjunto entre países. Aplicaciones genéticas ya son, y seguirán siendo, un componente integral de la investigación en elasmobranchios. En los últimos 25 años se han visto grandes avances en taxonomía, sistemática, conservación y manejo de peces cartilaginosos, como resultado directo de la caracterización genética. La próxima década promete avances en tecnologías genéticas que mejoren rápidamente las capacidades de investigar estos animales, su genética poblacional, ecológica y evolutiva.

6.1.2. Avances científicos y tecnológicos en la determinación demográfica de peces cartilaginosos

El enfoque multidisciplinario se reconoce como la mejor manera de abordar los problemas y las hipótesis de trabajo en ecología marina, para investigar el porqué de la variabilidad de las clases anuales en los peces, proponiendo estudios conjuntos de oceanografía, meteorología y biología (Sinclair & Smith, 2002). La definición de stock o de población va implícita en casi cualquier investigación que se lleve a cabo en ecología o en pesquerías, puesto que constituye la unidad básica de estudio cuya dinámica poblacional se quiere conocer. Es decir, como describieron Sinclair & Smith (2002), se trata de ver la biología pesquera bajo el prisma de pensar en las “poblaciones” o “stocks”, y no en la especie en general, en entes individuales o en grupos que sean meras abstracciones sin trascendencia biológica. Por lo tanto, para comprender el patrón espacial y temporal de las poblaciones, su riqueza y su

variabilidad necesitan de un amplio espectro de conocimientos provenientes de las distintas ramas de la ciencia.

El problema de la definición de stocks es complejo y por lo tanto también lo será la gestión de los mismos con múltiples consideraciones y objetivos. En general, el propósito último de la identificación de stocks es ayudar a que la gestión de los recursos sea más eficaz y sostenible y a que cumpla con los criterios de precaución. La definición de stock va a depender en cierta manera del objetivo que se persiga y del nivel de integridad considerado. Un enfoque únicamente genético proporcionará una información útil para conocer la evolución y los posibles niveles de intercambio genético de las poblaciones, pero puede quedar incompleto para conocer por ejemplo si existen diferentes componentes de desove. Entre estos componentes puede haber el suficiente flujo genético para no observar diferencias en los marcadores genéticos pero sin embargo tratarse de subpoblaciones con características ecológicas determinadas con su particular contribución a la diversidad genética. Un error en reconocer la existencia de estos componentes o de una estructura compleja de stock, puede llevar a que éstos se erosionen, o incluso desaparezcan, debido a una sobreexplotación pesquera (Stephenson, 1999; Taylor & Dizon, 1999).

El problema es que cuando los datos están agregados en un stock único (cuando en realidad puede haber varios) los indicios de riesgo de desaparición de algún componente poblacional quedan enmascarados en el cómputo total (Frank & Brickman, 2000). Esta práctica es precisamente lo contrario a una política de precaución a la hora de explotar los recursos vivos renovables.

De lo dicho anteriormente resulta obvio que la mejor manera de abordar el problema de la identificación de stocks y de su correcta gestión es disponiendo de toda la información posible. Existen muchos ejemplos en donde se han utilizado varias técnicas combinadas para la identificación de stocks. En primer lugar están los casos en donde se utilizan varias modalidades de una misma técnica. Así por ejemplo Hilbish (1996) ya recomendaba la combinación de varias técnicas genéticas para llegar a comprender la dinámica evolutiva de los organismos marinos.

Una relación similar de modalidades y casos es aplicable al uso de otras técnicas como el análisis de los rasgos de la estrategia vital y características ecológicas (Ruttenberg *et al.*, 2005). En muchos stocks en los que no existe posibilidad de adquirir series históricas demográficas, la información de los rasgos de la estrategia vital puede proporcionar un marco de opciones de gestión, ya que estos datos explican en gran parte las respuesta de las poblaciones a los cambios climáticos y oceánicos (King & Mcfarlane, 2003). En resumen, siguiendo las palabras de Begg & Waldman (1999) y Ward (2000), la estrategia óptima para tener éxito en la identificación de stocks con el fin último de ayudar a una gestión pesquera más sostenible, precautoria y eficaz, es aplicar una aproximación holística que contemple un amplio espectro de técnicas complementarias.

6.2. Diseñar, aplicar y evaluar un plan de muestreo, temporal y geográficamente adecuado para alcanzar los restantes objetivos del proyecto

La alta estacionalidad de la pesquería de rayas en Chile, afecta directamente la disposición y acceso a la información. Los volúmenes de captura ofrecidos, bajo el sistema de pesca de investigación, se encuentran fuera de los niveles rentables. Sin embargo, no se justifica la autorización de mayores volúmenes de captura para establecer la condición reproductiva y la estructura de tallas de la población vulnerable.

Debido al atraso administrativo que postergo el inicio del proyecto en casi 6 meses, no se pudo gestionar la obtención de muestras durante el primer semestre de 2014. La recalendarización de los hitos relevantes del proyecto, oficiado a través de la carta FIP N° 372 del 21 de Agosto de 2014, permite solicitar formalmente a la Subsecretaria de Pesca y Acuicultura una cuota de investigación para acceder a ejemplares de raya volantín y raya espinosa de acuerdo a la metodología propuesta en la oferta técnica del presente proyecto. La falta de comunicación entre las diferentes entidades al interior de SUBPESCA retraso considerablemente el inicio de las actividades de muestreo, sin embargo, la autorización de una cuota de investigación fue otorgada el 30 noviembre de 2014.

Las recomendaciones de una cuota especial de investigación para efectos del presente proyecto, propuestas por la Unidad de Recursos Demersales de la División de Administración Pesquera (Informes Técnicos N° 229/2013, 234/2013 y

235/2013), fueron ignoradas para efecto de los Decretos Exentos N° 20/2014 y 21/2014; los que establecen una veda extractiva para ambos recursos en estudio durante el 2014. La discordancia entre las unidades técnicas y administrativas al interior de SUBPESCA parecen haber sido subsanadas, al gestionar una cuota especial bajo efectos del artículo N° 100 de la Ley General de Pesca y Acuicultura, donde se reserva un 2% del desembarque del año anterior para efectos de investigación. Esta reserva establecida por Ley, fue la única figura legal que permitió la obtención de muestras biológicas.

A través de un uso racional de bajas cuotas (una fracción inferior al 5% del desembarque anual), se comprueba que se puede obtener información biológica a través de un muestreo no-letal. Esta información puede ser luego contrastada con parámetros basales, disponibles en la literatura científica, sobre la biología reproductiva de ambas especies.

Sin embargo, los periodos de estudio (observación) deben ser ajustados en futuros proyectos. Ningún programa para la estimación poblacional puede ser inferior a una temporada de pesca. De igual forma, debe ser un esfuerzo sostenido en el tiempo e independiente de la actividad pesquera. Si se requieren permisos de captura, las entidades gubernamentales deben facilitar el acceso expedito a las muestras siempre y cuando, se respete el carácter no-letal del muestreo. La obtención de permisos para pescas de investigación ha sufrido diferentes cambios en sus criterios de asignación, lo que retrasa la normal ejecución de proyectos financiados por otras entidades distintas a la Subsecretaría de Pesca. Sin embargo, futuros proyectos que consideren la toma de muestra a través de métodos no-letales, no deben ser

consideradas como captura comerciales, ya que no hay desembarque o mortalidad asociada a esta actividad.

El monitoreo de los desembarques de otras pesquerías que pudieran tener captura incidental de raya espinosa y raya volantín, debe ser continuo y riguroso en aguas chilenas (y regiones adyacentes). A pesar de las dificultades y retrasos experimentados en la ejecución de presente plan general de muestreo, se puede tener una noción sobre el estado de salud de la población de rayas observada y potencialmente vulnerable a la pesquería comercial.

Considerando la condición biológica de la captura y el documentado agotamiento pesquero de la población (Bustamante *et al.*, 2012), podemos inferir que el estado del stock se mantiene **vulnerable**, y se recomienda mantener cerrado el acceso y/o captura comercial de raya volantín y raya espinosa en Chile, hasta contar con señales de recuperación. Se recomienda además, la obtención de indicadores biológicos, tales como el aumento de la talla de machos y hembras en la captura (recomendable sobre la talla biológica de referencia) y aumento de la proporción de individuos maduros en la captura (sobre el 70% de individuos deben encontrarse maduros), de igual forma regular los que pueden ser monitoreados de forma anual, y a bajo costo, a través de cruceros pesquero-independientes. A la luz de nuevos antecedentes, se podría analizar la condición biológica del stock y evaluar la reapertura de la pesquería.

6.3. Identificar y caracterizar genéticamente la(s) principal(es) unidad(es) evolutiva(s) de raya volantín y raya espinosa en la costa chilena

6.3.1. Una revisión sobre la biología, pesquería y conservación de las rayas *Zearaja chilensis* y *Dipturus trachyderma*

Por primera vez, la información disponible sobre *Zearaja chilensis* y *Dipturus trachyderma* ha sido revisado en un solo documento, entregando información sobre su historia de vida como herramienta de conservación. La conservación es el acto de custodiar y proteger la biodiversidad, e implica el manejo y administración de cualquier actividad antropogénica, pero la definición de una entidad taxonómica es el primer paso para la conservación de una especie. Aquí, hemos proporcionado un documento con claridad taxonómica que recopila toda la información pertinente a la biología, ecología y pesquería que afectan estas dos especies de raya.

La raya volantín *Z. chilensis* y la raya espinosa *D. trachyderma*, requieren especial atención para mitigar el riesgo de colapso poblacional debido a la pesquería indiscriminada en aguas suramericanas. La disminución de su abundancia, el incremento del esfuerzo pesquero, son síntomas del colapso pesquero que se ha documentado para *Z. chilensis* y la presente investigación ha proporcionado una fuerte evidencia de que las rayas hocicudas tienen un alto riesgo de extinción de un futuro cercano. Dada la creciente preocupación por el estado de conservación de las poblaciones de las rayas hocicudas a nivel mundial, se evidencia la necesidad continua de información científica para ayudar a mejorar nuestro entendimiento de la dinámica

ecosistémica de estas especies, y en consecuencia, mejorar las medidas de administración y conservación para garantizar su explotación sustentable a largo plazo. En esta revisión, se han puesto de evidencia aquellas lagunas de conocimiento que deben abordarse con el fin de comprender mejor la biología y ecología de las especies y potenciales procesos de amenaza para la conservación de rayas en Chile.

6.3.2. Uso de marcadores moleculares mitocondriales para la identificación de raya volantín *Zearaja chilensis* y raya espinosa *Dipturus trachyderma*

A través de la amplificación de fragmentos de la región control en el ADN mitocondrial, se ha logrado determinar bases moleculares diagnósticas para la determinación de especies de rayas comerciales en Chile. Las mejoras tecnológicas y científicas, han permitido innovar en la creación de primers especie-específico, los que han demostrado su eficacia en la identificación *ex post* de muestras de tejido en laboratorio. La evaluación realizada a cuatro regiones del mitogenoma mostro curiosos resultados. Si bien es cierto se logró amplificar y secuenciar segmentos de aproximadamente 600 pares de bases para todas las regiones del ADN mitocondrial en estudio, solo una región provee suficiente información que permita reconocer diferencias específicas.

Diferentes autores en Chile (Céspedes *et al.*, 2005) y Argentina (Díaz de la Astarloa *et al.*, 2008) intentaron, sin éxito, encontrar diferencias en fragmentos del ADN mitocondrial los que puedan confirmar la identificación de rayas comerciales en Sudamérica. Sin embargo, los primers utilizados no han entregado la información

suficiente para establecer relaciones filogenéticas en las especies estudiadas, principalmente debido al uso de tecnologías obsoletas, a la incapacidad de desarrollar primers específicos para rayas, y a la cercanía evolutiva en rayas hocicudas, la que se evidencia en los altos niveles de identidad en las secuencias analizadas.

Las secuencias obtenidas desde ambas especies para las regiones 16S, *cox1* y *nadh2* mostraron una identidad promedio de 99.6% de sitios idénticos agrupándolos en un mismo clado. Esta cercanía no permite separar entre entidades biológicas dentro de la familia Rajidae, y su comparación inter-específica sugiere secuencias idénticas entre *Z. chilensis* como *D. trachyderma*. Los resultados también muestran la cercanía existente entre las especies de interés, *D. trachyderma* no solo se agrupa en el mismo clado con *Z. chilensis*, pero también con otras especies del género *Zearaja*.

Sin embargo, la región control, amplificada a través de primers originales, permite reconocer una alta diversidad de nucleótidos entre especies estudiadas. El valor intrínseco de este fragmento génico, radica en que esta secuencia permite separar claramente los diferentes géneros (90% identidad) y especies (>95% identidad) dentro la familia Rajidae. De esta forma, se seleccionó este marcador para los subsecuentes análisis de estructura poblacional.

6.3.3. Identificación de unidades poblacionales de la raya volantín *Zearaja chilensis* y raya espinosa *Dipturus trachyderma* en aguas chilenas, a través de microsatélites y ADN mitocondrial

Los análisis genéticos han revelado similitudes y diferencias entre las dos especies de rayas estudiadas. Las similitudes reflejan sus preferencias de hábitat en general, y sus estrategias reproductivas; mientras que las diferencias remarcan otros aspectos tales como los tamaños corporales. Sin embargo, como enfoque precautorio hacia el manejo pesquero de ambas especies y antes que realizar otros esfuerzos de investigación para aclarar cualquier incertidumbre a nivel poblacional, se sugiere que las mismas estrategias de administración conservadoras sean implementadas para ambas especies. Esta estrategia se describe más adelante en el objetivo de asignación de orígenes natales.

La variación en el genoma mitocondrial (*mtADN*) proporciona más información sobre la estructura del stock que los loci de microsatélites para ambas especies. Esto no fue inesperado, ya que menores tamaños efectivos poblacionales y mayores tasas conocidas de mutación y fijación de SNP en el *mtADN*, los convierte en una importante herramienta para la genética poblacional. Sin embargo, la variación del *mtADN* en elasmobranquios es notoriamente baja (Dudgeon *et al.*, 2012) y en el presente estudio, se encontraron un número relativamente bajo de SNP por especie en la región de control. El hallazgo de quiebres genéticos entre poblaciones inferidos a través del *mtADN*, pero no en los microsatélites, puede sugerir una falta de potencia en los análisis de microsatélites. Por ejemplo, con el número de rayas evaluadas (alrededor

de 50 individuos por localidad) y número de loci (11 y 9) por especie, se esperaba poder resolver estadísticamente valores de F_{ST} inferiores a 0.01. Sin embargo, otros argumentos podrían sugerir que esta variación no tendría efectos significativos en nuestros resultados. Más bien, nuestros resultados sugieren que el *mtADN* se encuentra subdividido a lo largo de las localidades de muestreo debido a la alta participación de individuos juveniles y a la ausencia de hembras maduras en la pesquería. La fracción de población analizada sugiere una marcada filopatría de las hembras hacia áreas de crianza (zonas de posturas de huevos) y la falta de una señal de subdivisión a partir de microsatélites refleja una dispersión geográfica amplia y apareamiento fuera de las zonas (y periodos) de crianza y puesta de huevos.

Además de la información genética analizada, varios componentes sobre la biología de las especies estudiadas sugieren una filopatría natal de la hembra hacia zonas de crianza costeras. Se ha reportado que las hembras en rayas (Familia Rajidae) tiene la capacidad de almacenar esperma y postergar la implantación de embriones (Carrier *et al.*, 2004), por lo que el apareamiento previo a la migración de las hembras hacia las zonas de crianza es altamente probable. Los huevos de ambas especies son de gran tamaño y la fecundidad es muy baja (Licandeo *et al.*, 2009; Bustamante *et al.*, 2012). Si esta información se integra a nuestros resultados, se evidencia que las hembras maduras 1) habitan zonas diferentes a aquellas donde se realiza la pesca artesanal de rayas, y 2) buscan ambientes costeros para poner sus huevos y maximizar la probabilidad de eclosión y supervivencia de juveniles. En general, la morfología de los huevos en ambas especies sugiere adaptaciones para un ambiente específico, debido a la ausencia de estructuras que faciliten su anclaje a estructuras

asociadas al fondo marino. Los huevos estos diseñados para facilitar su enterramiento parcial (no completo) en sedimento grueso o su deposición en arrecifes rocosos costeros (Concha *et al.*, 2011). En general, muy pocas hembras maduras se han observado cerca de la costa (Bustamante *et al.*, 2012). La mayoría de los individuos capturados por la pesquería (y analizadas en este estudio) son juveniles provenientes desde zonas relativamente costeras. La filopatría de hembras, es una característica particular reconocida pero poco estudiada en muchas especies de elasmobranquios (Dudgeon *et al.*, 2012), y aumenta la susceptibilidad de las especies a la sobreexplotación. Por ejemplo, la población de rayas documentada en cercanías de Concepción (Vargas-Caro *et al.*, 2015a) pudo haber sido extirpada debido a la eliminación de hembras adultas y reproductivamente activas durante periodos de puesta de huevos en zonas de crianza cercanas a la costa. Adicionalmente, el patrón de los haplotipos de *mtADN* entre las localidades estudiadas, remarca la susceptibilidad de ambas especies a la sobreexplotación.

Además del efecto adverso de la filopatría en las hembras, actualmente cada especie se compone de varias unidades de administración pesquera. Nuestros resultados evidencian diferencias significativas en el *mtADN* de *Z. chilensis* entre cada localidad de muestreo, con la excepción de Puerto Montt y Aisén. Las dos últimas localidades se encuentran circunscritas dentro del 'mar interior de Chiloé' y por lo tanto, se esperara una sola población. Sin embargo, se observan menos quiebres en el flujo genético *mtADN* para *D. trachyderma*. El principal quiebre se observa entre San Antonio y Valdivia, en el norte. Curiosamente, el 13% de los individuos valdivianos posee un haplotipo divergentes, haciendo hincapié en su distinción del resto. De

acuerdo con el principio precautorio y también porque ambas especies hacen parte indiscriminada de una sola pesquería, el estado espacial del stock para *Z. chilensis* y *D. trachyderma* se debe considerar limitado y estructurado; por lo que cualquier medida de administración pesquera deben ser implementada de forma independiente para cada una de las unidades identificadas.

La información proveniente desde los marcadores del *mtADN* sugiere también el posible efecto de la sobrepesca en algunas poblaciones. Para ambas especies de rayas, la diversidad de haplotipos *mtADN* fue única - en otras palabras, sólo había un haplotipo presente en algunas localidades. Para Punta Arenas en el extremo sur, la diversidad de haplotipos también fue baja; un haplotipo para *D. trachyderma* y dos para *Z. chilensis*. Hay dos explicaciones posibles para esta situación: que estas localidades hayan sufrido un pronunciado efecto de ‘cuello de botella’ reciente; o un evento “fundador” en estas localidades en un evento pasado (p.e., a escala evolutiva). Un efecto de “cuello de botella” reciente podría haber sido causado por la pesca excesiva, y si es así, podría haber sido detectado en los genotipos de microsatélites desde individuos provenientes de esa ubicación. Durante un evento de cuello de botella, los alelos se pierden más rápido que la heterocigosidad, sin embargo, nuestros resultados no son concluyentes para este análisis.

Como se mencionó anteriormente, los genotipos de microsatélites no fueron particularmente informativos sobre la extensión espacial de las poblaciones. Creemos que esto es debido a eventos de apareamiento durante la etapa de dispersión (no reproductiva), donde ambos sexos se alejan de la costa y, así como a lo largo de la costa en busca de un hábitat adecuado para la alimentación. La especie con un tamaño

corporal más pequeño (*Z. chilensis*) puede no tener una capacidad de dispersión tan extensa como en *D. trachyderma*, principalmente debido a las evidencias de un aislamiento por distancia pronunciado en *Z. chilensis* basado en la información de microsatélites. Esta relación se produce cuando el apareamiento al azar no se produce dentro de toda la población. En cambio, hay una mayor probabilidad de apareamiento entre individuos al interior de una localidad como consecuencia de la dispersión limitada de la especie.

El conjunto de loci de microsatélites utilizados fue cuidadosamente diseñado para detectar la aparición de híbridos entre las especies; ya que diversos morfotipos intermedios han sido registrados previamente (Vargas-Caro *et al.*, 2015a). Sin embargo, los resultados no fueron concluyentes y no podemos rechazar la hipótesis de hibridación, razón por la cual algunas investigaciones están en curso. Si se produce hibridación entre ambas especies de rayas, lo más probable es que sea un evento raro. El uso del mismo conjunto de loci de microsatélites en ambas especies ha confirmado el carácter distintivo de la especie, y ha proporcionado una alternativa a la secuenciación del *mtADN* para la identificación de especies a partir de subproductos. La condición de especies separadas también ha sido confirmada a través de análisis filogenómicos, utilizando los genomas mitocondriales completos de *Z. chilensis* y *D. trachyderma* (Vargas-Caro *et al.*, 2014, 2015b).

6.4. Identificar y caracterizar la(s) principal(es) unidad(es) demográfica(s) de raya volantín y raya espinosa presentes en la costa chilena

6.4.1. Caracterización y variación morfométrica en la raya volantín *Zearaja chilensis* y raya espinosa *Dipturus trachyderma*, en aguas chilenas

Este trabajo ha mostrado la importancia y dificultad de separar dos especies de rayas morfológicamente similares. Las dificultades en la separación de las capturas de elasmobranquios a nivel de especie son comunes en estudios biológico-pesqueros (Lamilla *et al.*, 2010), y usualmente, la información proveniente de registros oficiales obliga a realizar análisis de datos teniendo en cuenta un nivel taxonómico superior. En un caso particular, en Chile se registran los desembarques de *Zearaja chilensis* y *Dipturus trachyderma*, considerando que la raya espinosa (*D. trachyderma*) es generalmente de mayor tamaño corporal y es relativamente menos abundante que la raya volantín (*Z. chilensis*). Sin embargo, cuando son juveniles, es casi imposible diferenciar entre ambas especies (Vargas-Caro *et al.*, 2015a). A pesar de que estas dos especies pueden ser morfológicamente muy similares, tienen diferentes ciclos de vida y roles ecológicos, y en orden de tener un manejo pesquero adecuado, se requiere la correcta discriminación a nivel específico de sus capturas. Es un hecho que los elasmobranquios de aguas profundas, y en particular las rayas, se encuentran entre los organismos marinos más vulnerables de extinguirse por efecto de la sobreexplotación pesquera (Fowler *et al.*, 2005; Dulvy *et al.*, 2014). En Chile, existe una necesidad urgente de implementar medidas de administración eficientes para el

manejo y conservación en la pesquería de rayas (Lamilla *et al.*, 2010), lo que requiere que la información pesquera sea registrada a nivel especie-específico.

En este trabajo, las dos especies fueron separadas a través de un análisis multivariado en base a su morfometría. Cada medición morfológica contribuye relativamente hacia las diferencias generales pero cuando esas pequeñas diferencias son consideradas en conjunto, es posible separar las especies independientemente de su condición reproductiva.

El conocimiento general de ambas especies se encuentra complementado con la información morfológica contenida en este trabajo. El dimorfismo sexual en *Zearaja chilensis* se confirma a través de los cambios morfológicos que sufren los machos con la madurez sexual. En general, los machos pueden cambiar su morfología dentaria como un carácter sexual secundario, en la misma forma de la aparición de agujones alares (Kajimura & Tricas, 1996, Sáez & Lamilla, 2004, Braccini & Chiaramonte, 2002). Estos dos caracteres en conjunto, conllevan a un engrosamiento del músculo abductor de la mandíbula lo que se evidencia en la curvatura característica del margen medio-anterior del disco a nivel de la boca (Figura 57). El alargamiento del cláspes, a consecuencia de la maduración sexual, genera además una deformación en la base de las aletas pélvicas en machos activos (Figura 57), lo que ha sido evidenciado a través del análisis poblacional. De igual forma, el número de agujones en la superficie del disco se presentan como un carácter discriminante entre especies y sexos. Las hembras de *Z. chilensis* pueden presentar hasta 39 agujones en la línea media, mientras que los machos no tienen más de 37. En el caso de *D. trachyderma* este número no supera los 44 agujones; sin embargo, siempre se va a presentar un agujón

entre las aletas dorsales, y en algunos casos hasta 2 o 3. En *Z. chilensis*, los aguijones inter-dorsales pueden no estar presentes, al igual que los aguijones nucales. Este último, la presencia de un aguijón nocal, se ha utilizado como una herramienta diagnóstica para separar ambas especies. En el caso de *D. trachyderma* ningún ejemplar presentó aguijones en la zona nocal, lo cual es consistente con la literatura disponible. Sin embargo, en *Z. chilensis* este carácter puede perderse en la manipulación o simplemente no observarse, lo que le resta validez a su uso como carácter diagnóstico.

A nivel poblacional, considerando cuatro localidades de muestreo a lo largo de Chile, no se pueden evidenciar diferencias morfológicas en las dos especies en estudio. En general, las variaciones morfológicas en peces cartilagosos pueden estar asociados cambios en la condición reproductiva (Cadrin *et al.*, 2005). En ninguno de los casos, se observan diferencias morfológicas considerando el lugar de origen de los individuos, y las únicas diferencias identificadas obedecen al dimorfismo sexual de *Z. chilensis*. A pesar de que no se observaron diferencias significativas en la morfometría de *D. trachyderma*, esto puede asociarse a la ausencia de individuos maduros en ambos sexos (>10% del total de la muestra). En el caso particular de Valdivia y Punta Arenas, las diferencias entre ambos stocks pueden relacionarse al menor tamaño corporal de los individuos capturados en Valdivia. Los individuos de Punta Arenas, presentaron las mayores tallas de captura para esta especie, tendencia que ha sido descrita previamente por Bustamante *et al.* (2012), y que puede estar en directa relación con el grado de explotación del stock residente en las localidades al sur de Puerto Montt.

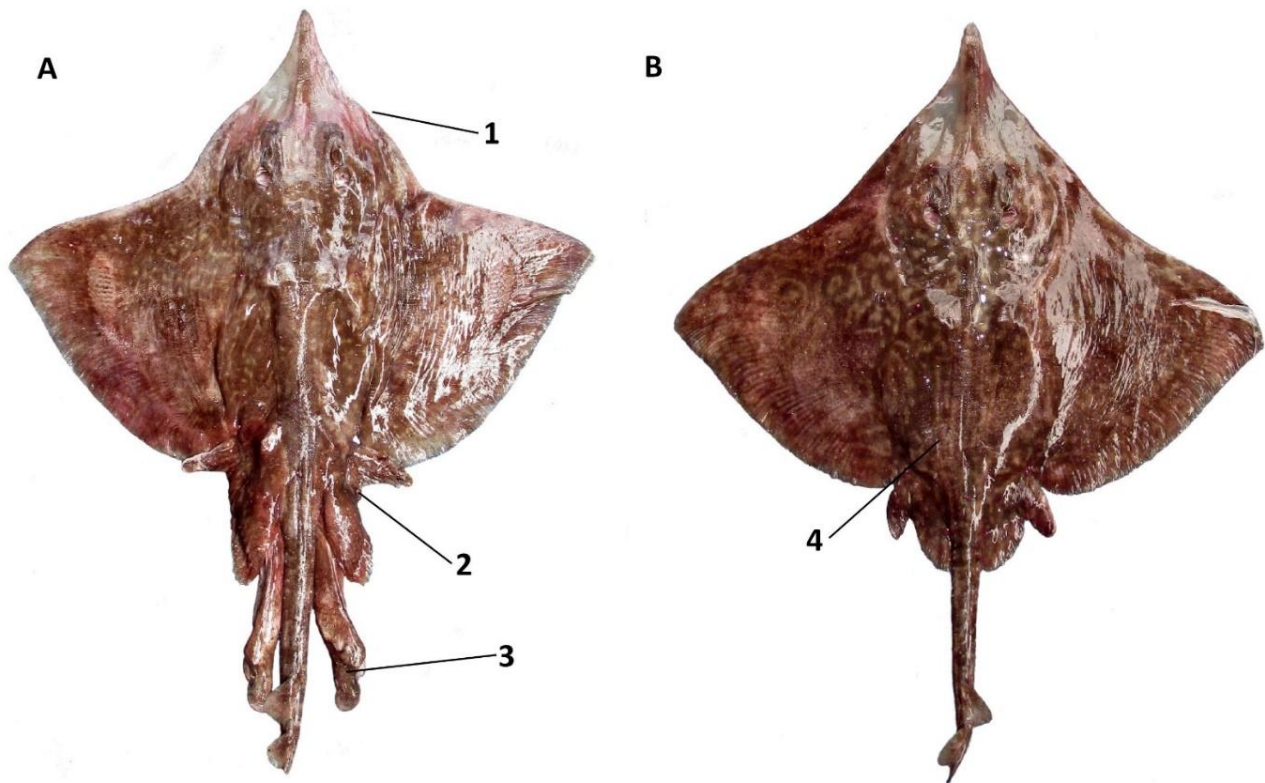


Figura 57 Morfología de especímenes (A) macho y (B) hembra, sexualmente maduros de raya volantín *Zearaja chilensis*. Se indican caracteres sexuales en machos, e.g., engrosamiento de musculo abductor mandibular (1), deformación de la base de las aletas pélvicas (2), alargamiento del cláspes (3); y hembras, e.g., aumento del volumen de la porción distal del disco (4).

A nivel general, algunas mediciones morfométricas, como la comparación del largo total y el largo del disco, usualmente utilizadas en los registros de observadores, no son adecuadas para la separación de especies. Para estas mediciones en particular, existe una gran variabilidad intra-específica más relacionada a diferencias sexuales y

condición reproductiva, y no a las características específicas en rayas (Bustamante *et al.*, 2012). Una vez alcanzada la madurez sexual, el abdomen de las hembras incrementa proporcionalmente más que en los machos debido a la presencia de ovocitos maduros y capsulas de huevos. Sin embargo, la proporción del largo y ancho del disco, junto con el número de aguijones de la línea media, se presenta como una combinación de caracteres que permite la separación de especies.

6.4.2. Caracterización y variación de la dieta y nivel trófico de *Zearaja chilensis* y *Dipturus trachyderma* en aguas chilenas

Con base en los resultados, se propone que tanto raya volantín, como raya espinosa se alimentan de animales bentónicos y bento-demersales generalmente, especialmente de los grupos de la categoría de peces óseos y crustáceos. Esto corrobora estudios anteriores en donde la preferencia por peces y crustáceos es importante, dándose el caso de ser un grupo de ellos preferente como se observó en el Seno de Reloncaví (Bahamonde, 1950) donde se observa que su dieta se basa principalmente en *Munida gregaria* con un 84% aproximado y otros crustáceos, siendo los peces casi inexistentes en su dieta. O sobreponiéndose la dieta de un grupo sobre otro a medida que va aumentando el tamaño de las rayas como se observa con Fuentealba, 1989, donde consumían preferentemente crustáceos en individuos juveniles (90%) y crustáceos (65,8%) y peces (24,4%) en individuos adultos. O lo que se observa en investigaciones de Lamilla año 2002, donde se analiza también el

contenido de *Dipturus trachyderma* los peces fueron más importantes, más del 85% en importancia de presas.

Ambas especies presentan mayor contribución en su dieta por parte de ítems presas específicos como lo son las especies *Sebastes oculatus*, *Heterocarpus reedi*, crustáceos en general y *Merluccius gayi*, con los mayores porcentajes de importancia relativa. En ambos la preferencia por ciertas especies es bastante notoria, catalogando a estas especies como individuos especialistas a momento de capturar sus presas. En general en trabajos previos se observa que la dieta es específica, en muy pocos casos catalogada como generalista, salvo por lo que determina un estudio en el Atlántico donde se caracteriza por ser un depredador generalista, centrando su dieta en peces y crustáceos, donde se observan cambios importantes en su dieta según el tamaño (Koen Alonso *et al.*, 2001).

Cambia el tipo de dieta según estudios anteriores en el tipo de presa de preferencia, cambio que debe ligarse al lugar de procedencia y del tipo de fauna acompañante de cada especie. La diversidad corrobora que existen presas diversas dentro de la dieta, pero aun así, es poca y más específica para ciertos ítems. El índice de Levin de amplitud de nicho trófico comprueba que ambas especies son depredadores especialistas. Según el índice de Morisita- Horn existe una sobre posición en la dieta de ambas especies, indicando y corroborando la preferencia de ambos por ciertas especies, además de compartir idénticos hábitats y localidades.

En localidades estudiadas se observa un patrón en raya volantín donde se observa mayor preferencia por grupos de crustáceos en san Antonio y Valdivia, al contrario de las otras dos donde la preferencia ocurre con peces óseos. Esto puede

deberse a que en estos dos lugares la mayoría de los individuos presenta las tallas mayores, pudiéndose identificar este hecho como una relación con patrones de variación ontogénica.

En el caso de raya espinosa este patrón no es muy notorio ya que casi en general se observan preferencias por peces óseos en la mayoría de las localidades. Las hembras de raya volantín siguen el mismo patrón, los machos presentan una pequeña variación presentando en Punta Arenas mayor preferencia por peces óseos que en las demás localidades, aun así se mantiene la tendencia indicada anteriormente. Estudios en Valdivia habían descrito la dieta como preferencial para peces, en cambio en el presente estudio se describe a los crustáceos como presas principales. En el caso de las hembras de raya espinosa siguen la tendencia a ser casi la totalidad de presas preferenciales los peces óseos, y los machos presentan una pequeña diferencia donde hay mayores porcentajes de crustáceos en las localidades de San Antonio y Punta Arenas.

Existe una sobre posición media entre el general de machos y hembras de este estudio. Machos y hembras de raya volantín presentan mínima sobre posición en su dieta por lo que es más amplio el rango de especies que comparten; en cambio en machos y hembras de raya espinosa la sobre posición de la dieta es alto, por lo que la competencia es mayor por el tipo de presas que eligen.

En el caso de tamaño de los individuos, hay una gran diferencia entre ambas especies, ya que en raya volantín se catalogó a individuos juveniles y maduros según el tamaño. Los catalogados como juveniles presentan una preferencia casi del 70% de ítems presa a los crustáceos. En cambio para individuos maduros la preferencia

cambia a *Sebastes oculatus* cambiando a presas de mayor tamaño. En el caso de raya espinosa se analizan individuos inmaduros y juveniles. En ambos rangos los peces son preferenciales. Aunque existe cantidad de crustáceos pero el tamaño de los peces es mayor por lo que aumenta su valor dentro de la dieta.

La diferencia de tamaño entre ambas especies es notoria, sobre todo a nivel de madurez sexual, por ende en *Zearaja chilensis* se nota el cambio de alimentación entre individuos maduros y juveniles, pero el tamaño de los inmaduros de *Dipturus trachyderma* es similar al de los maduros de *Z. chilensis*, por lo que captura presas más grandes o similares a esta especie y no es posible en este estudio determinar si individuos de menor tamaño en raya espinosa presentaran cierta variación en su dieta.

Como los tamaños de las especies extraídas son similares, es posible entender el hecho de que exista sobre posición de la dieta entre ambas especies según los datos obtenidos en este estudio. En cambio entre estas características, de semi maduros y maduros en *Z. chilensis* la sobre posición de la dieta es media y en inmaduros y semi maduros de *D. trachyderma* es mínima.

Se puede catalogar a *Z. chilensis* como un depredador secundario y al madurar convertirse en uno terciario. En cambio en *D. trachyderma* en general es un depredador terciario dentro de los rangos de tamaño encontrados. Posterior a estos análisis cuantitativos es necesario continuar con un análisis más extenso sobre interacciones tróficas, por eso se agrega una pequeña introducción a los métodos usados con isótopos estables, infiriendo así un nuevo paso posible de seguir para avanzar con la descripción de dietas y niveles tróficos dentro del ecosistema marino y

así identificar de mejor manera el rol que cumple cada individuo dentro de la trama trófica.

6.4.3. Caracterización y variación de la carga parasitaria de *Zearaja chilensis* y *Dipturus trachyderma* en aguas chilenas

Los parámetros ecológicos nos dan un acercamiento del índice de parasitación de los parásitos sobre las especies de hospederos. Existe una categorización de las especies con respecto al porcentaje de prevalencia clasificándolas en especies núcleo aquellas que presentan una prevalencia mayor al 70%, especies satélites menores al 40% y especies secundarias a las que presentan un porcentaje intermedio entre éstas. (Bush & Holmes, 1986). En base a esto las 3 especies encontradas son especies satélites por su bajo porcentaje de prevalencia, indicando que tienen un bajo poder de colonización en los hospedadores.

Todos los parásitos son encontrados en el estómago o en la válvula espiral del hospedador. Se observa una muy baja cantidad de parásitos en la especie *Zearaja chilensis* y sólo un tipo de ellas. En cambio en *Dipturus trachyderma* a pesar de la poca cantidad de rayas parasitadas, la cantidad de los parásitos es bastante mayor, pudiéndose encontrar sobre 30 parásitos en un solo individuo. La presencia de formas larvarias de parásitos se ve influenciada por diversos factores que pueden ser cambios en la ecología marina como temperatura (muy ligada al crecimiento y desarrollo), humedad, luz, abundancia o disminución de hospederos intermediarios, hábitos alimenticios e inclusive tamaño del pez hospedero paraténico, el cual, a mayor

tamaño, alberga mayor cantidad de larvas en sus músculos y vísceras (Atías, 1991). En el caso del individuo que presentó la mayor cantidad de parásitos podría concordar con el factor de tamaño del hospedador ya que este es uno de los más grandes muestreados (200 cm aproximadamente).

Se sabe que la alimentación de los peces es uno de los factores que influye en la presentación de larvas parasitarias en los peces hospederos, en general la raya volantín y raya espinosa se alimentan de crustáceos y peces que son catalogados como hospedadores intermedios de las larvas de los parásitos nematodos. Los anisakidos presentan como hospedador definitivo a mamíferos marinos, en este caso como los condriictios son considerados depredadores topos o cercanos al tope de las tramas tróficas y encontrándose larvas en estado L3 o L4 o Adultas, es posible considerar estas rayas como hospedadores definitivos.

Las 3 especies encontradas concuerdan con las descritas anteriormente como parásitos tanto de *Z. chilensis* como de *D. trachyderma* según Muñoz & Olmos (2008), Villalba & Fernández (1985) y Knoff *et al.* (2001, 2002, 2004). Estas especies también son descritas como parásitos de diversas especies más, por lo que es posible describirlas como poco específicas. Al igual como se describe con las larvas de los anisáquidos que exhiben una escasa o nula especificidad en su hospedero (Pérez-Ponce de León, 1996), debido a lo cual han sido descritas en todos los océanos y en una gran diversidad de especies de peces y cefalópodos (Castillo-Sánchez, 1997; 1998; Pérez-Ponce de León, 1999).

Al ser los anisakidos parásitos poco específicos y pertenecer a un amplio rango de distribución, es necesario obtener características más específicas ya que tanto los

cambios ambientales, como la presencia o ausencia de hospedadores intermediarios entre las diversas áreas de distribución del huésped, pueden marcar diferencias en el conjunto de parásitos de estas rayas .

Los parásitos fueron encontrados en diversos lugares, 4 localidades en general que son San Antonio, Puerto Montt, Valdivia y Punta Arenas, en el caso de *Pseudoterranova sp.* Sólo se encontró en San Antonio. *Anisakis sp.*, tuvo un mayor rango de distribución encontrándose en individuos de San Antonio, Puerto Montt y Punta Arenas, y finalmente el género *Raphidascaris sp.*, fue encontrado en San Antonio, Puerto Montt y Valdivia. Con estos datos se puede ayudar con la información de distribución de estos parásitos.

De esta forma, el estudio de los parásitos puede resultar útil para obtener informaciones sobre la biología, ecología y pautas migratorias, pero con una mayor cantidad de información relacionada tanto con la biología y distribución del huésped como del hospedador.

6.4.4. Caracterización y variación de la historia de vida de *Zearaja chilensis* y *Dipturus trachyderma* en aguas chilenas

En general, considerando las cuatro localidades, la talla de captura de *Z. chilensis* aumenta con la latitud, tal como ha sido reportado previamente (Bustamante *et al.*, 2012). Sin embargo, y aunque no ocurre lo mismo con las tallas de *D. Trachyderma* Punta Arenas registra las tallas más grandes para ambas especies. El aumento en la talla promedio de captura en las localidades australes, podría relacionarse a que en

esta zona se podrían encontrar más ejemplares de mayor tamaño y no a que en esta zona se estarían capturado menos juveniles.

Si bien es cierto, muchos aspectos del sistema y procesos reproductivos de elasmobranquios son un factor importante en la formación de iniciativas de conservación y manejo (Gubanov, 1978; Pratt & Casey, 1990; Conrath & Musick, 2012). En este estudio solo se determinó la talla de madurez en *Z. chilensis*, específicamente en los machos, ya que no se realizó disección en las hembras. En el caso de *D. Trachyderma* no se obtuvieron individuos maduros, por lo que no se pudo determinar este parámetro. Si comparamos esta talla en las localidades, nos damos cuenta que la talla de madurez aumenta hacia el sur, lo que podría deberse a variables medioambientales. No obstante, para poder establecer umbrales de comparación de la talla media de madurez, se requiere mayor información sobre la condición reproductiva del stock, incluyendo la observación de gónadas en machos y hembras.

La proporción sexual a nivel global, en *Z. chilensis* mostró un significativo sesgo hacia las hembras, siendo San Antonio la única localidad en que no hubo diferencias en la composición de sexos. Con *D. trachyderma* ocurre todo lo contrario, ya que en general no presentó diferencias en la proporción sexual, excepto en San Antonio, en donde si hubo diferencias en la composición de sexos, mostrando un sesgo significativo hacia las hembras.

Para tener una visión más completa acerca de los parámetros de historia de vida de las especies objeto de este estudio *Z. chilensis* y *D. trachyderma*, es necesario la

obtención de datos tanto de hembras, como de machos, sobre todo con respecto a parámetros reproductivos.

6.5. Estimar el número de orígenes (zonas de desove y/o crianza) y su contribución relativa a cada unidad demográfica identificada y zona principal de captura

Identificación de poblaciones natales

La genética se presenta como una herramienta útil para dar respuesta a preguntas relacionadas a la identidad de un individuo, o las relaciones de este individuo entre diferentes poblaciones. En el presente estudio, y como se hace mención en objetivos anteriores, la información proveniente desde marcadores mitocondriales (secuencias producidas para la región control de ambas especies) ha demostrado ser más informativa a la hora de definir estructura poblacional. De esta forma, estos marcadores podrían ser de gran utilidad al momento de obtener la determinación de origen de un individuo escogido al azar dentro de una población. Por ejemplo en el caso de *Z. chilensis*, la probabilidad de identificar la localidad de origen de un individuo entre una población en aguas exteriores (San Antonio o Valdivia) o aguas interiores, es altamente significativa. Esta certeza en la determinación de origen, se relaciona con la mayor diversidad haplotípica encontrada en San Antonio y Valdivia, en contraste con lo que se evidencia en aquellas localidades en aguas interiores. Ahora, al no existir diferencias significativas entre las localidades de Puerto Montt y Aisén, la asignación particular de un individuo a una de estas dos localidades se hace prácticamente imposible.

A diferencia de lo mencionado con anterioridad, los resultados basados en el uso de microsatélites demostraron no ser concluyentes para definir la estructura

poblacional de las especies en estudio. Esto significa que la información proveniente de marcadores nucleares no permite reconocer la asignación de origen de un individuo escogido al azar. Según la estructura de microsatélites, cada población se compondría hipotéticamente de individuos provenientes de todas las localidades, y la probabilidad que tiene un individuo de pertenecer a una localidad en particular es idéntica en todos los casos. Sin embargo, este tipo de análisis nos proporciona sólida información en el caso de necesitar asignar un individuo a una de las dos especies en estudio. Como se puede observar en la Figura 58, cuando la totalidad de los individuos se analizan como un conjunto, los microsatélites son altamente confiables identificando individuos provenientes de otra especie, e incluso identificando posibles híbridos, entregando información acerca de la identidad de este en relación al grado de cercanía con una de las especie.

Cabe destacar que la identificación de individuos entre estas dos especies ha sido un problema en el tiempo, especialmente cuando solo una fracción de la población es capturada y esta se compone en la mayoría de los casos de individuos juveniles (bajo talla de primera madurez). La información proveniente desde microsatélites, ha demostrado ser una herramienta esencial para asegurar certeramente la identidad de una muestra desconocida (p.e., un filete o aleta procesada). En el caso hipotético de analizar una muestra desde un individuo procesado (identidad desconocida), se puede obtener información sobre su asignación específica ($P > 0.005$) a través del análisis de microsatélites (Figura 58 y 59). Ambas especies, tienen una firma genética nuclear específica y particular. Sin embargo, para el caso de las especies estudiadas, los microsatélites no entregan

información sobre la población de origen debido a la evidente falta de estructura poblacional en Chile.

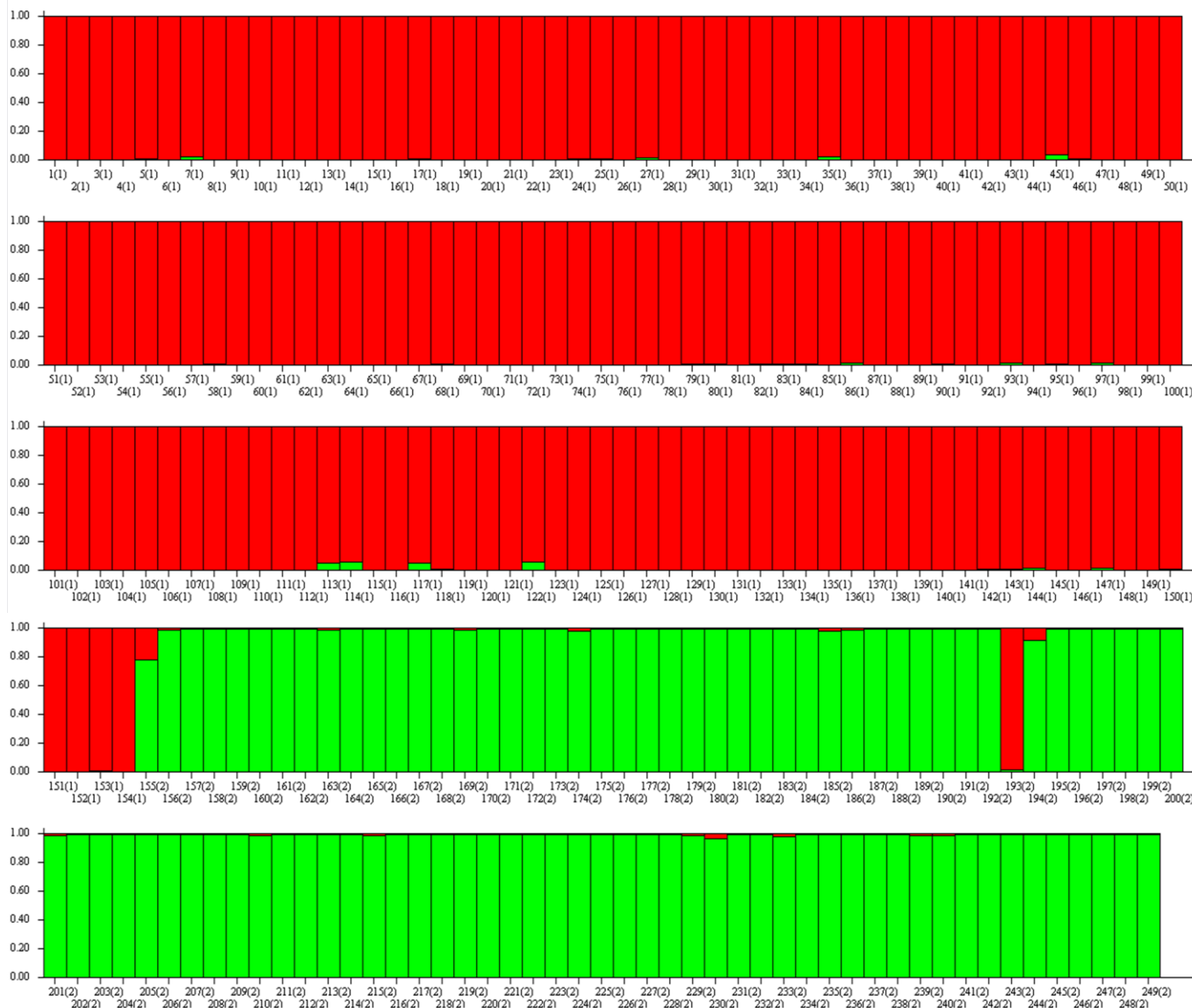


Figura 58 Gráfico de barras en líneas individuales desde STRUCTURE para un ensayo (aleatorio entre 20 réplicas) sobre la identidad de 249 individuos en dos grupos arbitrarios ($K = 2$). Los grupos se encuentran coloreados por especie *Zearaja chilensis*, en rojo, y *Dipturus trachyderma*, en verde. Cada individuo se representa un histograma único en el eje horizontal y con valores de linaje en el eje vertical.

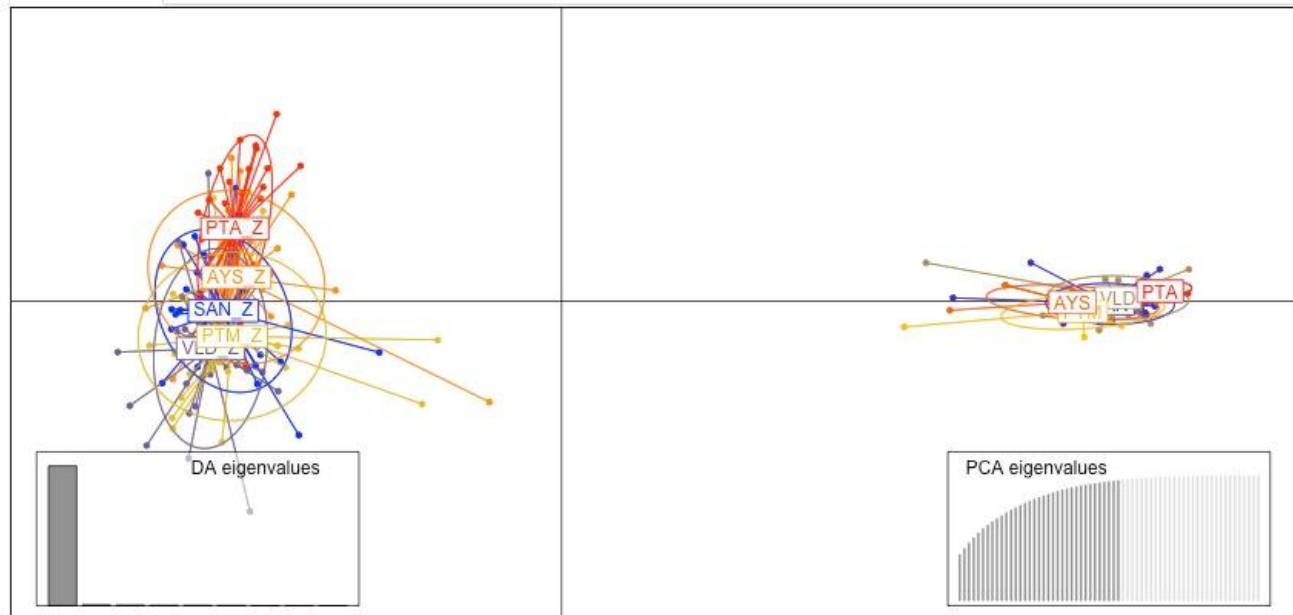


Figure 59 Gráfico de DAPC a partir de seis genotipos de microsatélites para 249 individuos de *Zearaja chilensis* (izquierda) y *Dipturus trachyderma* (derecha). Se indican las muestras agrupadas por localidad en colores: SAN: San Antonio (azul), VLD: Valdivia (lila), PTM: Puerto Montt (amarillo); AIS: Aisén (naranja), y PTA: Punta Arenas (rojo).

Por otra parte, tal como se discutió previamente a través de la amplificación de genes específicos del *mtADN*, por ejemplo *cox1* y *nadh2*, se puede obtener información sobre el origen geográfico de una muestra en particular. La diversidad de haplotipos de estos genes podría ser útil al momento de identificar individuos provenientes de dos zonas claramente separadas por una barrera geográfica, específicamente entre el Océano Pacífico y el Atlántico. En esta situación particular ambos marcadores, microsatélites y mitocondriales, se complementarían ya que no solo serían capaces de

identificar el país de origen entre ambos stocks (Chile y Argentina) sino también entregar información sobre la identidad específica (*Z. chilensis* y *D. trachyderma*).

La sinergia entre los resultados genéticos y los caracteres demográficos reportados para ambas especies de raya, aumenta significativamente la validez de las conclusiones de este estudio. La incorporación de la información genética ha permitido realizar inferencias sobre la biología reproductiva y potenciales modelos de dispersión de cada especie, lo que antes era desconocido. La dinámica de población descubierta en el presente estudio proporciona nueva información valiosa para el manejo sustentable de los recursos raya volantín y raya espinosa. En consecuencia, se espera una mejora sustancial en las medidas actuales de administración pesquera, las que en conjunto con un adecuado monitoreo por parte de las agencias estatales chilenas, podrá entregar certeza al momento de considerar cuotas de captura que armonicen la subsistencia a las comunidades costeras y el equilibrio ecológico.

Contribución relativa a la pesquería

La captura de las especies *Zearaja chilensis* y *Dipturus trachyderma* es captura objetivo por la flota costera artesanal situada entre Valdivia (40° S) y Aysén (45° S) (Licandeo *et al*, 2006), y como pesca accidental en la pesca arrastrera industrial de merluzas; en la pesquería de *Merluccius australis* (Hutton, 1872), que opera al sur del 41°28.6 S (Quiroz *et al*, 2009) y en la pesquería de *Merluccius gayi* (Guichenot, 1848) que opera entre los 34°28 S y 41°28,6 S (Gálvez *et al*, 1998).

Según Quiroz *et al*, 2009 las hembras maduras de *Z. chilensis* representan solo entre el 8 al 10% en Valdivia, isla de Chiloé y canal de Moraleda, pero cerca del 50% en las zonas ubicadas más al sur.

Licandeo *et al*, 2007 dice que para *D. trachyderma*, a pesar de ser considerablemente mas grande que *Z. chilensis*, menos del 37% de la captura total son rayas maduras, con una talla media de captura de 165 y 175 cm LT en machos y hembras, respectivamente.

El stock genético, es aquel que está formado por miembros de una especie que se aparean aleatoriamente y cuya integridad genética persiste si permanecen aislados como grupo, al menos durante el apareamiento, tanto espacial como temporalmente. Una de las definiciones más aceptadas es la propuesta por Ihssen *et al.* (1981) en la que un stock es un grupo intra-específico de individuos que se aparean de forma aleatoria y mantienen una integridad espacial o temporal. La diferenciación entre stocks será la consecuencia del balance entre los efectos homogeneizadores del flujo génico y los efectos diferenciadores de la deriva genética (Allendorf & Luikart, 2007). Por lo tanto, basta que uno pocos individuos adultos migren en una época determinada para que el flujo genético tienda a homogenizar las poblaciones y eso puede estar ocurriendo en las poblaciones de aguas exteriores. En cambio, las condiciones oceanográficas diferentes de aguas interiores y zona de canales permitan ciertos niveles de diferenciación genética.

Más aún, se conoce que las hembras de rayas de la familia Rajidae tienen la capacidad de almacenar espermios y de postergar la implantación de embriones (Carrier *et al*, 2004), por lo que en estas rayas apareamiento no significa fecundación

instantánea, puede esta ser postergada hasta que la hembra encuentre sitios adecuados de postura, refugio y alimentación.

Para nuestros resultados es la información proveniente de los marcadores mitocondriales la herramienta a utilizar a la hora de asignar un individuo a una población de origen, en especial para localidades con la mayor diversidad haplotípica o si se busca diferenciar entre poblaciones. Las secuencias obtenidas desde ambas especies para las regiones 16S, *cox1* y *nadh2* muestran una identidad cercana al 100% de sitios idénticos. Ninguna región, excepto la región de control, provee suficiente información para separar a nivel específico las rayas en estudio, pero si entregan información robusta para inferir el género y potencialmente, determinación de origen. La región control, permite reconocer una alta diversidad de nucleótidos, permitiendo separar claramente los diferentes géneros y especies, además logra diferenciar en *Z. chilensis* con altos niveles de confianza la pertenencia de un individuo al conjunto de localidades en aguas interiores (mar interior de Chiloé; Pto Montt y Aysén) de aguas exteriores (San Antonio, Valdivia) y probablemente de otro stock o unidad de manejo al extremo sur del país (Pta Arenas). Para *D. trachyderma* probablemente dos stocks. Aunque no hay una estructura poblacional entre localidades, hay un haplotipo compartido por todas ellas, siendo este dominante en San Antonio y Valdivia. Los resultados sugieren una reciente expansión demográfica en estas localidades.

En cambio, utilizando microsatélites, estos nos dicen no existir evidentes diferencias en la estructura poblacional, y por lo tanto no se puede asignar una zona de origen a un individuo solo usando la información del genoma nuclear. Los microsatélites nos dan cuenta solo de las probabilidades de determinar diferencias

específicas entre sí, es decir, si una muestra de tejido pertenece a *Z. chilensis* o a *D. trachyderma*. También los microsatélites nos dan cuenta si la muestra proviene desde el océano Pacífico o del Atlántico con valores altamente confiables.

Estos resultados se encuentran fuertemente influenciados por la fracción de la población que captura la pesquería artesanal, es decir, una población compuesta casi en su totalidad por individuos juveniles de ambos sexos y la ausencia de hembras maduras. Estos resultados están en relación directa con la historia de vida de ambas especies de rayas, que se evidencia en la pesquería, caracterizada por individuos juveniles con muy pocas hembras maduras, en el caso de *Z. chilensis* y solo de juveniles inmaduros en *D. trachyderma*.

Al integrar la información biológica de *Z. chilensis* y *D. trachyderma* a nuestros resultados, evidencian que las hembras maduras habitarían zonas diferentes a las zonas de pesca artesanal, y que buscarían ambientes costeros para depositar sus huevos como estrategias para maximizar la probabilidad de eclosión y posterior supervivencia de juveniles.

Las zonas de Pto. Montt y Aysén denominadas (aguas interiores) presentan un hábitat adecuado para la filopatria reproductiva de rayas, con características de aguas más someras, más tranquilas, con abundante vegetación algal para el depósito y sobrevivencia de los huevos y juveniles, con una mayor oferta alimentaria de crustáceos, que son el ítem preferencial de juveniles, a diferencia de los adultos que son más piscívoros.

Es probable que la zona de aguas interiores, sea una gran área de desove y/o crianza que es necesario investigar. El uso de las zonas de crianza protege a las crías

de sus congéneres más grandes u otras especies depredadoras, algo conocido entre los elasmobranquios.

Las hembras pueden volver a las zonas de crianza a depositar sus huevos, aunque tengan que viajar grandes distancias para encontrar una pareja adecuada o para alimentarse, para lo cual es necesario continuar con la marcación de individuos (mediante spaguetti, acústica o satelital), preferentemente de hembras grávidas de aguas interiores y exteriores.

Nuestra recomendación es que se apliquen medidas administrativas diferentes entre stock de aguas exteriores e interiores, seguido de un monitoreo genético simultaneo y marcaje de hembras adultas o grávidas entre ambas áreas en diferentes épocas del año.

Uno de los principales objetivos en cualquier diseño de muestreo para la identificación de stock es el de obtener muestras en las áreas de puesta durante la época de desove (Begg, 2005).

7. CONCLUSIONES

- Se identificaron cinco localidades al interior de la unidad de pesquerías. Estas localidades, se han agrupado en tres zonas:
 - Zona centro (unidad de pesquería correspondiente al área marítima comprendida entre el límite norte IV región y el límite sur VII región), en la localidad de San Antonio. Puerto de desembarque San Antonio (V región).
 - Zona sur (unidad de pesquería correspondiente al área marítima comprendida entre el límite sur VII región y el paralelo 41° 28.6 'S), cuya operación se circunscribe alrededor de la ciudad de Valdivia. Puerto de desembarque Niebla (XIV región)
 - Zona Austral (unidad de pesquería correspondiente al área marítima comprendida entre el paralelo 41° 28.6 'S y el límite sur XII región), con las localidades de Puerto Montt, Aisén y Punta Arenas. Puertos de , Chiquihue (X región), Aysén (XI región) y Punta Arenas (XII región).
- Para la revisión sobre biología, pesquería y conservación de rayas, se encontraron 246 artículos para las especies *Zearaja chilensis* (n= 173) y *Dipturus trachyderma* (n = 73).
- Se entregan nuevas diagnosis para ambas especies, relacionando forma, tamaño del cuerpo, coloración, dentículos dérmicos, dentición, componentes esqueléticos, cápsulas de huevos, distribución, hábitat, alimentación, reproducción, edad, crecimiento, longevidad, pesquerías, genética, parásitos.

- En el uso de marcadores moleculares mitocondriales se obtuvieron fragmentos en 408 especímenes de raya volantín y raya espinosa. La amplificación fue exitosa en todos los casos, con bandas observables entre los 500 y 1.000 pares de bases (bp). El alineamiento final de cada región mitocondrial incluyó además 3 especies del género *Raja* y 7 especies de *Dipturus* disponibles en la base de datos del GenBank. Para la región 16S, se observan dos clados, el primero contiene exclusivamente a cuatro especies del género *Raja* con una identidad (porcentaje de bases idénticas) sobre 98,9%. El segundo clado, agrupa indistintamente los géneros *Dipturus* y *Zearaja* con una identidad inter-específica entre 99,5% y 100%. Las regiones *cox1* y *nadh2* mostraron 96% y 95% de sitios idénticos. En ambos genes, se observa un clado dominante el que incluye a los géneros *Dipturus* y *Zearaja* indistintamente. Sin embargo, con estas dos regiones se pueden observar diferencias en el origen de la muestra a nivel geográfico, específicamente entre el Océano Pacífico y el Atlántico. Similar a lo ocurrido con la región *cox1*, se observa en el gen *nadh2*. La agrupación de las secuencias obtenidas, refleja un clado separado, el que correspondería a secuencias provenientes del Océano Pacífico, aunque no entrega información que permita diferenciar indistintamente las especies de rayas. En el caso de la región control, las secuencias analizadas, presentan 98% de sitios idénticos y logra diferenciar claramente a *Z. chilensis* de *D. trachyderma*, encontrando patrones claros de especiación.

- Para la identificación de unidades poblacionales de ambas especies se describe:
 - a) El genoma mitocondrial completo de *Zearaja chilensis* con una longitud total de 16.909 bp. Con 13 regiones codificantes de proteínas (PCG); 22 genes de *tARN*; 2 genes de *rARNr* y 2 zonas no codificantes (origen de replicación y región control). El mitogenoma presenta un sesgo A+T (69.6%) como se ve en muchos otros peces marinos, y una composición de nucleótidos total de A, 37.7%, T, 31.9%, C, 18.8%, y G, 11.6%.
 - b) El genoma mitocondrial completo de *Dipturus trachyderma* con una longitud total de 16.907 bp. Consta de 13 regiones codificantes de proteínas (PCG), 22 genes de *tARN*, las subunidades 12S y 16S del *rARN* y 2 zonas no codificantes. El mitogenoma de *D. trachyderma* tiene un sesgo hacia T+A (58.4%) similar a otros peces marinos, y las proporciones relativas (%) de bases en el ADN de A, 29.7%, T, 28.7%, G, 14.7%, y C, 27.0%.
- Para el desarrollo de marcadores mitocondriales, el análisis de secuencias en *Zearaja chilensis* reveló un total de 11 haplotipos con diez sitios polimórficos y un indel de 1bp. De los 11 haplotipos, ocho son exclusivos de su localidad muestral (*Zch_CR_H_4*, *H_6*, *H_7* y *H_9* en San Antonio; *Zch_CR_H_5*, *H_8* y *H_11* en Valdivia y *Zch_CR_H_10* en Puerto Montt). La red de haplotipos de la región control del *mtADN* evidencia la ausencia de una estructura general entre todas las localidades. Sin embargo, se puede observar una diferencia entre el conjunto de localidades de aguas interiores (Aisén y Puerto Montt) y aguas exteriores (San Antonio, Valdivia y Punta Arenas). Para *Dipturus trachyderma*

un total de 137 secuencias parciales de la región de control (556bp) fueron amplificadas con éxito. La composición de nucleótidos de estas secuencias fue la siguiente: citosina 21.3%, timina 35.6%, adenina 34.5% y guanina 8.6%. El análisis posterior, reveló un total de nueve sitios polimórficos los que definieron un total de 4 haplotipos. La red de haplotipos para la región control del *mtADN* de *D. trachyderma*, mostró una falta general de estructura poblacional, lo que se encuentra en directa relación al predominio (90%) de un haplotipo *Dtr_CR_H_4* entre las localidades.

- Para el desarrollo de marcadores microsatélites para *Zearaja chilensis* un total de 154 individuos de cinco localidades fueron genotipados con nueve loci de microsatélites. Todos los loci fueron polimórficos con diversidad alélica que osciló entre 4 (*Zch_MS_10*) y 13 alelos (*Zch_MS_31*). Para *Dipturus trachyderma* un total de 95 individuos proveniente de cinco localidades fueron genotipados con siete loci de microsatélites. Todos los loci fueron polimórficos con diversidad alélica que oscila entre valores de 2 (*Zch_MS_15*, *Zch_MS_06*) y 6 (*Zch_MS_31*, *Dtr_MS_08*) alelos.
- Para la caracterización y variación morfométrica de ambas especies 43 medidas fueron analizadas. El análisis SIMPER evidencia las mediciones morfométricas que contribuyen mayormente a la separación de especies. Las variables que más contribuyen hacia la separación de especies fueron el conteo de agujones en la línea media (AM), el ancho del disco (2) y la distancia entre el hocico y la cloaca (13). Hay un marcado dimorfismo sexual en *Zearaja chilensis*, lo que no se aprecia en *Dipturus trachyderma*. Las diferencias entre

machos y hembras de *Z. chilensis* incluye además la longitud del lóbulo posterior de la aleta pélvica (30) entre las variables que aportan diferencias al conjunto.

- En la caracterización y variación de la dieta y nivel trófico para ambas especies, se obtuvieron 48 estómagos; 29 de *Zearaja chilensis* y 19 de *Dipturus trachyderma*. Se observó que el espectro trófico de la raya volantín se conformó principalmente de crustáceos y peces óseos, y dentro de estos principalmente el camarón nailon *Heterocarpus reedi*, y el pez *Sebastes oculatus*. Se identificaron 33 presas en total, de las cuales el 51% de los individuos corresponden a crustáceos, 45,5% a peces óseos, y un 3 % a equinodermos. En el caso de la raya espinosa, se observó preferentemente a peces óseos y crustáceos, de las cuales la presa con mayor preferencia fue el camarón nailon *Heterocarpus reedi*, y en los peces fue *Sebastes oculatus*. Se identificaron 58 presas en total, de las cuales el 70% de los individuos correspondieron a crustáceos, 25% a peces óseos y 1,8% a equinodermos.
- Para la caracterización y variación de la carga parasitaria de ambas especies, se obtuvo 48 ejemplares revisados, de los cuales 9 presentaron parásitos (2 *Z. chilensis* y 7 *D. trachyderma*). Se encontraron 25 parásitos en el estómago de 5 rayas y 48 parásitos en la válvula espiral de 4 rayas, todos de la clase Nematoda de los géneros *Pseudoterranova*, *Anisakis* y *Raphidascaris*.
- En la caracterización de los patrones de historia de vida se determinó frecuencia de tallas y la proporción sexual para ambas especies. Solo en

individuos machos de *Z. chilensis* se pudo determinar talla de madurez. Tanto la frecuencia de tallas como la talla de madurez aumentan con la latitud.

- Para estimar el número de orígenes (zonas de desove y/o crianza). Los resultados del análisis provenientes de STRUCTURE HARVESTER, indica una mayor probabilidad cuando $K = 5$ en todas las localidades para *Z. chilensis*. La probabilidad de que un individuo de *Z. chilensis* pertenezca a cualquiera de las cinco localidades es idéntica en todos los casos (20%), lo que soporta la ausencia de estructura poblacional inferida desde los loci de microsatélites. El análisis de DAPC, considerando los nueve microsatélites, agrupa las localidades bajo un solo clúster. A pesar de esto, se puede observar una ligera separación entre Aisén y Puerto Montt, y las restantes ubicaciones, las que se observan sobrepuestas y sin límites discretos. En el caso de *D. trachyderma*, los resultados de los análisis, indican que la mayor probabilidad de valores cuando $K = 3$ para todas las localidades. Para esta especie, la probabilidad de que los individuos pertenezcan a cualquiera de los cinco grupos es idéntico en todos los casos (valores cercanos al 20%) lo que apoya la información sugerida por los loci de microsatélites. El análisis DAPC, basado en los siete loci de microsatélites, agrupa las muestras provenientes de las cinco localidades bajo un solo clúster sin diferenciación o límites notorios.

8. REFERENCIAS

- Abaunza, P. (2007). Foreword. Horse mackerel: identification of stocks. *Fisheries Research* 89, 101–103.
- Abaunza, P., Gordo, L., Karlou-Riga, C., Murta, A., Eltink, A.T.G.W., García Santamaría, M.T., Zimmermann, C., Hammer, C., Lucio, P., Iversen, S.A., Molloy, J., Gallo, E. (2003). Growth and reproduction of horse mackerel, *Trachurus trachurus* (Carangidae). *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 13, 27–61.
- Abercrombie, D.L. (2004). *Efficient PCR-based identification of shark products in global trade: applications for the management and conservation of commercially important mackerel sharks (Family Lamnidae), thresher sharks (Family Alopiidae) and hammerhead sharks (Family Sphyrnidae)*. MS Thesis, Nova Southeastern University Oceanography Center, Dania Beach, FL, USA.
- Abercrombie, D.L., Clarke, S.C., Shivji, M.S. (2005). Global-scale genetic identification of hammerhead sharks: application to assessment of the international fin trade and law enforcement. *Conservation Genetics* 6, 775–788.
- Aburto, N., Torres, P., Lamilla, J. (2008) Infection of the yellownose skate, *Dipturus chilensis*, by *Otodistomum cestoides* (Trematoda, Digenea) in three coastal localities of southern Chile. *Comparative Parasitology* 75, 150–152
- Acuña, E., Villarroel, J.C., Cortés, A., Andrade, M. (2005) Fauna acompañante en pesquerías de arrastre de crustáceos de Chile: implicancias y desafíos desde la perspectiva de la biodiversidad. In *Biodiversidad Marina: Valoración, Usos y Perspectivas* (Figueroa, E., ed.), pp. 395–425. Santiago de Chile: Editorial Universitaria.
- Adnet, S., Cappetta, H. (2001) A palaeontological and phylogenetical analysis of squaliform sharks (Chondrichthyes: Squaliformes) based on dental characters. *Lethaia* 34, 234–248.
- Agnew, D.J., Nolan, C.P., Beddington, J.R., Baranowski, R. (2000). Approaches to the assessment and management of multispecies skate and ray fisheries using the Falkland Islands fishery as an example. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 57, 429–440.
- Agurto, C. (2007). Assessing mesozooplankton trophic levels in the Baltic Sea and North Sea: a stable isotope study. Dissertation Thesis, University of Kiel, German.
- Ahonen, H., Harcourt, R.G., Stow, A.J. (2009). Nuclear and mitochondrial DNA reveals isolation of imperilled grey nurse shark populations (*Carcharias taurus*). *Molecular Ecology* 18, 4409–4421.
- Ahonen, H., Stow, A.J. (2009). Population size and structure of grey nurse shark off east and west Australia. Report to Department of Environment, Water, Heritage and the Arts, Canberra. Available at <http://www.environment.gov.au/coast/species/sharks/publications/size-structure-grey-nurse>
- Ainsley, S.M., Ebert, D.A., Natanson, L.J., Cailliet, G.M. (2014). A comparison of age and growth of the Bering skate, *Bathyraja interrupta*, from two Alaskan large marine ecosystems. *Fisheries Research* 154, 17–25.
- Allendorf, F.W., England, P.R., Luikart, G., Ritchie, P. A., Ryman, N. (2008). Genetic effects of harvest on wild animal populations. *Trends in Ecology and Evolution* 23, 327–337.

- Allendorf, F.W., Hohenlohe, P.A., Luikart, G. (2010). Genomics and the future of conservation genetics. *Nature Reviews Genetics* 11, 697–709.
- Allendorf, F.W., Luikart, G. (2007). *Conservation and the Genetics of Populations*. Malden: Blackwell Publishing.
- Anderson, R.C. (2000). Nematodes parasites of vertebrates: Their development and transmission. 2nd ed. CABI Publishing: Wallingford UK.
- Andrade, I., Pequeño, G. (2008). Mesobathic chondrichthyes of the Juan Fernández seamounts: are they different from those of the central Chilean continental slope? *Revista de Biología Tropical* 56, 181–190.
- Angelescu, V., Gneri, F.S., Nani, A. (1958). La merluza del mar argentino (biología y taxonomía). *Secretaria Marina del Servicio de Hidrografía Naval Publico* 1004, 1-224.
- Anon (1998). *Report of the FAO Technical Working Group on the Conservation and Management of Sharks*. Tokyo: Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- Antao, T., Perez-Figueroa, A., Luikart, G. (2011). Early detection of population declines: high power of genetic monitoring using effective population size estimators. *Evolutionary Applications* 4, 144–154.
- April, J., Mayden, R.L., Hanner, R.H., Bernatchez, L. (2011) Genetic calibration of species diversity among North America's freshwater fishes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 108, 10602–10607.
- Aranis, A., Meléndez, R., Pequeño, G., Cerna, F., 2007. *Sprattus fuegensis* en aguas interiores de Chiloé, Chile (Osteichthyes: Clupeiformes: Clupeidae). *Gayana* 71, 102–113.
- Araya, M., Cubillos, L.A. (2006). Evidence of two-phase growth in elasmobranchs. *Environmental Biology of Fishes* 77, 293–300.
- Ardren, W.R., Kapuscinski, A.R. (2003). Demographic and genetic estimates of effective population size (N-e) reveals genetic compensation in steelhead trout. *Molecular Ecology* 12, 35–49.
- Arkhipkin, A., Brickle, P., Laptikhovskiy, V., Pompert, J., Winter, A. (2012). Skate assemblage on the eastern Patagonian Shelf and Slope: structure, diversity and abundance. *Journal of Fish Biology* 80, 1704–1726.
- Arkhipkin, A.I., Baumgartner, N., Brickle, P., Laptikhovskiy, V.V., Pompert, J.H.W., Shcherbich, Z.N. (2008). Biology of the skates *Bathyraja brachyurops* and *B. griseocauda* in waters around the Falkland Islands, Southwest Atlantic. *ICES Journal of Marine Science* 65, 560–570.
- Arthur, J.R. (1997). Recent advances in the use of parasites as biological tags for marine fish. In *Diseases in Asian Aquaculture III* (Flegel, T.W., MacRae, I.H., eds.), pp. 141–154. Manila: Fish Health Section, Asian Fisheries Society.
- Arya, M., Shergill, I.S., Williamson, M., Gommersall, L., Arya, N., Patel, H.R.H. (2005). Basic principles of real-time quantitative PCR. *Expert Review of Molecular Diagnostics* 5, 209–219.
- Atías, A. (1991). Difilobotriasis. *En Parasitología Clínica* (Carvajal J, Torres y Pérez. C., eds), pp. 190–193. Mediterráneo: Chile.
- Aversa, M.I., Dans, S.L., Garcia, N.A., Crespo, E.A. (2011). Growth models fitted to *Dipturus chilensis* length-at-age data support a two-phase growth. *Revista Chilena de Historia Natural* 84, 33–49.

- Avise, J.C. (1989) A role for molecular genetics in the recognition and conservation of endangered species. *Trends in Ecology and Evolution* 4, 279–281.
- Avise, J.C. (2010). Perspective: conservation genetics enters the genomics era. *Conservation Genetics* 11, 665–669.
- Avise, J.C., Arnold, J., Ball, R.M., Bermingham, E., Lamb, T., Neigel, J.E., Reeb, C.A., Saunders, N.C. (1987). Intraspecific phylogeography – the mitochondrial DNA bridge between population-genetics and systematics. *Annual Review of Ecology and Systematics* 18, 489–522.
- Bahamonde, F., Ojeda, G., Leiva, B., Muñoz, L., Rojas, M., Donoso, M., Céspedes, R., Gili, R. (1996). *Pesca exploratoria de raya volantín en la zona sur-austral*. Instituto de Fomento Pesquero Informe Técnico No. 96–26. Valparaíso: IFOP.
- Bahamonde, F.R., Correa, V., Leiva, B., Donoso, M., Gili, R. (1994). *Pesca exploratoria de Raya volantín*. Instituto de Fomento Pesquero Informe Técnico 94–11. Valparaíso: IFOP.
- Bahamonde, N. (1953) Alimentación de la raya (*Raja flavirostris*) Philippi, 1892. *Investigaciones Zoológicas Chilenas* 2, 7–8.
- Bahamonde, N., Pequeño, G. (1975). Peces de Chile: lista sistemática. *Museo Nacional de Historia Natural* 21, 3–20.
- Baker, R.J., Bradley, R.D. (2006) Speciation in mammals and the genetic species concept. *Journal of Mammalogy* 87, 643–62.
- Balech, E., Ehrlich, M.D. (2008). Esquema biogeográfico del mar Argentino. *Revista de Investigación y Desarrollo Pesquero* 19, 45–75.
- Bandelt, H.J., Forster, P., Röhl, A. (1999). Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular Biology and Evolution* 16, 37–48.
- Barbuto, M., Galimberti, A., Ferri, E., Labra, M., Malandra, R., Galli, P., Casiraghi, M. (2010). DNA barcoding reveals fraudulent substitutions in shark seafood products: the Italian case of “palombo” (*Mustelus* spp.). *Food Research International* 43, 376–381.
- Baum, J.K., Myers, R.A., Kehler, D.G., Worm, B., Harley, S.J., Doherty, P.A. (2003). Collapse and conservation of shark populations in the northwest Atlantic. *Science* 299, 389–392.
- Beentjes, M.P., Bull, B., Hurst, R.J., Bagley, N.W. (2002), Demersal fish assemblages along the continental shelf and upper slope of the east coast of the South Island, New Zealand. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research* 36, 197–223.
- Begg, G.A. (2005). Life history parameters. In *Stock Identification Methods. Applications in Fishery Science* (Cadrin, S.X., Friedland, K.D., Waldman, J.R., eds.), pp. 119–150. Amsterdam: Elsevier.
- Begg, G.A., Waldman, J.R. (1999). A holistic approach to fish stock identification. *Fisheries Research* 43, 35–44.
- Beheregaray, L.B. (2008). Twenty years of phylogeography: the state of the field and the challenges for the Southern Hemisphere. *Molecular Ecology* 17, 3754–3774.
- Benavides, M T., Feldheim, K.A., Duffy, C.A., Wintner, S., Braccini, J.M., Boomer, J., Huvneers, C., Rogers, P., Mangel, J.C., Alfaro-Shigueto, J., Cartamil, D.P., Chapman D.D. (2011a). Phylogeography of the copper shark (*Carcharhinus brachyurus*) in the southern hemisphere:

- implications for the conservation of a coastal apex predator. *Marine and Freshwater Research* 62, 861–869.
- Benavides, M.T., Horn, R.L., Feldheim, K.A., Shivji, M.S., Clarke, S.C., Wintner, S., Natanson, L., Braccini, M., Boomer, J.J., Gulak, S.J.B., Chapman, D.D. (2011b). Global phylogeography of the dusky shark *Carcharhinus obscurus*: implications for fisheries management and monitoring the shark fin trade. *Endangered Species Research* 14, 13–22.
- Benson, D.A., Cavanaugh, M., Clark, K., Karsch-Mizrachi, I., Lipman, D.J., et al. (2013). GenBank. *Nucleic Acids Research* 41, D36–D42.
- Benz, G.W., Hoffmayer, E.R., Driggers, W.B., Allen, D., Bishop, L.E., Brown, D.A. (2007). First record of a sleeper shark in the western Gulf of Mexico and comments on taxonomic uncertainty within *Somniosus* (*Somniosus*). *Bulletin of Marine Science* 80, 343–351.
- Bernardi, G., Powers, D.A. (1992). Molecular phylogeny of the prickly shark, *Echinorhinus cookei*, based on a nuclear (18S rRNA) and a mitochondrial (cytochrome b) gene. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 1, 161–167.
- Berry, O., Sarre, S.D. (2006) Gel-free species identification using melt-curve analysis. *Molecular Ecology Notes* 7, 1–4.
- Bigelow, H.B., Schroeder, W.C. (1953). Fishes of the Western North Atlantic. Sawfishes, guitarfishes, skates and rays, chimaeroides. *Memoirs of the Sears Foundation for Marine Research* 1, 1–588.
- Bigelow, H.B., Schroeder, W.C. (1958). Four new rajids from the Gulf of Mexico. *Bulletin of the Museum of Comparative Zoology* 119, 201–233.
- Birky, C.W., Maruyama, T., Fuerst, P. (1983). An approach to population and evolutionary genetic theory for genes in mitochondria and chloroplasts, and some results. *Genetics* 103, 513–527.
- Bizikov, V., Arkhipkin, A., Laptikhovskiy, V., Pompert, J. (2004). *Identification guide and biology of the Falkland skates*. Fisheries Department, Falkland Island Government, Stanley, Falkland Islands.
- Blanco, M., Perez-Martin, R.I, Sotelo, C.G. (2008). Identification of shark species in seafood products by forensically informative nucleotide sequencing (FINS). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56, 9868–9874.
- Blower, D.C., Pandolfi, J.M., Gomez-Cabrera, M.D.C., Bruce, B.D., Ovenden, J.R. (2012). Population genetics of Australian white sharks reveals fine-scale spatial structure, transoceanic dispersal events and low effective population sizes. *Marine Ecology Progress Series* 455, 229–244.
- Bonfil, R., Meyer, M., Scholl, M.C., Johnson, R., O'Brien, S., Oosthuizen, H., Swanson, S., Kotze, D., Paterson, M. (2005). Transoceanic migration, spatial dynamics, and population linkages of white sharks. *Science* 310, 100–103.
- Bonsall, M.B., Jansen, V.A.A., Hasell, M.P. (2004). Life history trade-offs assemble ecological guilds. *Science* 306, 111–114.
- Bookstein, F.L. (1996). Biometrics, biomathematics and the morphometric synthesis. *Bulletin of Mathematical Biology* 58, 313–365.
- Bovcon, N., Cochia, P. (2007). *Guía para el reconocimiento de peces capturados por buques pesqueros monitoreados con observadores a bordo*. Publicación especial de la Secretaria de Pesca de la Provincia del Chubut, Rawson. Gobierno de la Provincia del Chubut. Secretaría de Pesca.

- Bovcon, N.D., Góngora, M.E., Marinao, C., González-Zevallos, D. (2013). Composición de las capturas y descartes generados en la pesca de merluza común *Merluccius hubbsi* y langostino patagónico *Pleoticus muelleri*: un caso de estudio en la flota fresquera de altura del Golfo San Jorge, Chubut, Argentina. *Revista de Biología Marina y Oceanografía* 48, 303–319.
- Braccini, J.M., Chiaramonte, G.E. (2002). Intraspecific variation in the external morphology of the sand skate. *Journal of Fish Biology* 61, 959–972.
- Braga, F.M. De S., Braga, M.S. (1987). Estudio do hábito alimentar de *Prionotus punstatus* (Bloch, 1797) (Teleostei, Triglidae), na regio da ilha Anchieta, Sao Paulo, Brasil. *Revista Brasileira de Biología* 47, 31–36.
- Brander, K. (1981). Disappearance of common Skate *Raia batis* from Irish Sea. *Nature* 290, 48–49.
- Briggs, J. C. (1974). *Marine Zoogeography*. New York, NY: McGraw-Hill.
- Briggs, J.C. (1995). *Global biogeography: developments in palaeontology and stratigraphy*. Elsevier: Arnoldsville.
- Brown, W., George, M.J., & Wilson, A. (1979) Rapid evolution of animal mitochondrial DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 76, 1967–1971.
- Brown-Peterson, N.J., Peterson, M.S., Nieland, D.L., Murphy, M.D., Taylor, R.G., Warren, J.R. (2002). Reproductive biology of female spotted seatrout, *Cynoscion nebulosus*, in the Gulf of Mexico: differences among estuaries? *Environmental Biology of Fishes* 63, 405–415.
- Brownstein, M.J., Carpten, J.D., Smith, J.R. (1996). Modulation of nontemplated nucleotide addition by Taq DNA polymerase: primer modifications that facilitate genotyping. *Biotechniques* 20, 1004–1010.
- Bruce, B.D., Bradford, R.W. (2012). Habitat use and spatial dynamics of juvenile white sharks, *Carcharodon carcharias*, in eastern Australia. In *Global Perspectives on the Biology and Life History of the Great White Shark* (Domeier, M.L., Ed.). Boca Raton, FL: CRC Press.
- Buren, A.D. (2004) *Dieta de la raya picuda, Dipturus chilensis, en aguas del norte y centro de Patagonia durante el período 2000—2001*. Comodoro Rivadavia, Argentina: Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco.
- Buschmann, A.H., Pérez, A., Cortes, C. (2005). Bycatch en Chile: Amenaza a la biodiversidad marina. *Oceana* 11, 1–16.
- Bush, A., Holmes, J. (1986). Intestinal helminths of lesser scaup ducks: patterns of association. *Canadian Journal of Zoology* 64, 132–141.
- Bush, A.O., Lafferty, K.D., Lotz, J.M., Shostak, A.W. (1997). Parasitology meets ecology in its own terms: Margolis et al. revisited. *Journal of Parasitology* 83, 575–583.
- Bushnell, D.M. (1991). Drag reduction in nature. *Annual Review of Fluid Mechanics* 23, 65–79.
- Bustamante, C., Flores, H., Saldivia, R., Alarcón, M.A., Lamilla, J. (2009). *Manual del observador científico para las pesquerías de descarte de condriictios: Procedimientos e instrucciones para el monitoreo biológico y estimación de la captura incidental de condriictios en las pesquerías artesanales de Chile*. Valdivia: Programa de Conservación de Tiburones, Universidad Austral de Chile y Subsecretaría de Pesca.

- Bustamante, C., Vargas-Caro, C., Bennett, M.B. (2014a). Biogeographic patterns in the cartilaginous fauna (Pisces: Elasmobranchii and Holocephali) in the southeast Pacific Ocean. *PeerJ* 2, e416.
- Bustamante, C., Vargas-Caro, C., Bennett, M.B. (2014b). Not all fish are equal: functional biodiversity of cartilaginous fishes (Elasmobranchii and Holocephali) in Chile. *Journal of Fish Biology* 85, 1617–1633.
- Bustamante, C., Vargas-Caro, C., Oddone, M.C., Concha, F., Flores, H., Lamilla, J., Bennett, M.B. (2012). Reproductive biology of *Zearaja chilensis* (Guichenot 1848) (Chondrichthyes: Rajidae) in the southeast Pacific Ocean. *Journal of Fish Biology* 80, 1213–1226.
- Caballero, S., Cardeñosa, D., Soler, G., Hyde, J. (2012). Application of multiplex PCR approaches for shark molecular identification: feasibility and applications for fisheries management and conservation in the Eastern Tropical Pacific. *Molecular Ecology Resources* 12, 233–237.
- Cadrin, S.X., Friedland, K.D. (2005). Morphometric outlines. In *Stock Identification Methods: Applications in Fishery Science* (Cadrin, S.X., Friedland, K.D., Waldman, J., eds), pp. 173–184. Elsevier: Amsterdam.
- Cadrin, S.X., Friedland, K.D., Waldman, J. (2005). *Stock Identification Methods: Applications in Fishery Science*. Amsterdam: Elsevier.
- Cailliet, G.M., Goldman, K.J. (2004). Age determination and validation in chondrichthyan fishes. In *Biology of Sharks and their relatives II: Biodiversity, Adaptive Physiology, and Conservation* (Carrier, J.C., Musick, J.A., Heithaus, M.R., eds.), pp. 399–447. Boca Raton, FL: CRC Press.
- Cailliet, G.M., Radtke, R.L., Welden, B.A. (1986). Elasmobranch age determination and verification: a review. In *Indo-Pacific Fish Biology: Proceedings of the Second International Conference on Indo-Pacific Fishes* (Uyeno, T., Arai, R., Taniuchi, T., Matsuura, K., eds.), pp. 345–359. Tokyo: Ichthyological Society of Japan.
- Cailliet, G.M., Smith, W.D., Mollet, H.F., Goldman, K.J. (2006). Age and growth studies of chondrichthyan fishes: the need for consistency in terminology, verification, validation, and growth function fitting. *Environmental Biology of Fishes* 77, 211–228.
- Caira, J. N. (1990). Metazoan parasites as indicators of elasmobranch biology. In *Elasmobranchs as living resources: Advances in the biology, Ecology, Systematics, and the Status of the fisheries*. (Pratt, H.L.Jr., Gruber, S.H. & Taniuchi, T., Eds.). pp. 71–96. NOAA Technical report 90.
- Calderón, F., Lamilla, J., Pequeño, G. (2003). *Hábitos tróficos de "Raya Volantín" Dipturus chilensis Guichenot, 1848 en la Costa Centro Sur de Chile*. Valdivia: Universidad Austral de Chile.
- Campana, S.E. (2005). Otolith science entering the 21st century. *Marine and Freshwater Research* 56, 485–495.
- Campana, S.E., Jones, C., McFarlane, G.A., Myklevoll, S. (2006). Bomb dating and age validation using the spines of spiny dogfish (*Squalus acanthias*). *Environmental Biology of Fishes* 25, 327–336.
- Camus, P.A. (2001). Biogeografía marina de Chile continental. *Revista Chilena de Historia Natural* 74, 587–617.
- Cannas, R., Follesa, M.C., Cabiddu, S., Porcu, C., Salvadori, S., Iglésias, S.P., Deiana, A.M., Cau, A. (2010). Molecular and morphological evidence of the occurrence of the Norwegian skate *Dipturus nidarosiensis* (Storm, 1881) in the Mediterranean Sea. *Marine Biology Research* 6, 341–350.

- Cao, Y., Waddell, P.J., Okada, N., Hasegawa, M. (1998). The complete mitochondrial DNA sequence of the shark, *Mustelus manazo*: evaluating rooting contradictions to the living vertebrates. *Molecular Biology and Evolution* 15, 1637–1646.
- Carrier, J.C., Pratt, Jr., H.L., Castro, J.I. (2004). Reproductive biology of elasmobranchs. In *Biology of Sharks and Their Relatives* (Carrier, J.C., Musick, J.A., Heithaus, M.R., eds.), pp. 269–286. Boca Raton, FL: CRC Press.
- Carvajal, J., Barros, C., Whittaker, F.H. (1985). Scanning electron microscopy of scolices of some tetraphyllidean cestodes in Chilean skates. *Microscopía Electrónica y Biología Celular* 9, 23–33.
- Carvajal, J., Dailey, M.D. (1975). Three new species of *Echeneibothrium* (Cestoda: Tetraphyllidea) from the skate, *Raja chilensis* Guichenot, 1848, with comments on mode of attachment and host specificity. *The Journal of Parasitology* 61, 89–94.
- Carvajal, J., Goldstein, R.J. (1971). *Acanthobothrium annapinkiensis* sp. n. (Cestoda: Tetraphyllidea: Onchobothriidae) from the skate *Raja chilensis* (Chondrichthyes: Rajiidae) from Chile. *Zoologischer Anzeiger* 186, 158–162.
- Carvalho, G.R., Hauser, L. (1994). Molecular genetics and the stock concept in fisheries. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 4, 326–350.
- Carvalho, M., Nascimento dos Santos, J., Guerreiro, E., Nunes dos Santos, G., Portes Santos, C. (2011). *Raphidascaris (Sprentascaris) lanfrediae* sp. nov. (Nematoda: Anisakidae) from the fish *Satanoperca jurupari* (Osteichthyes: Cichlidae). *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro* 106, 553–556.
- Casey, J.M., Myers, R.A. (1998). Near extinction of a large, widely distributed fish. *Science* 281, 690–692.
- Castello, H.P., Vera, F.T. (1973). Sobre la captura de *Brama brama* (Bonaterre, 1788) en el mar argentino. *Neotropica* 19, 31–37.
- Castillo-Sánchez, E., García L., Pérez-Ponce de León, G. (1997). Helmintofauna de (Perciformes: Scombridae) en Jalisco, México. *Revista de Biología Tropical* 45, 1251–1254.
- Castillo-Sánchez, E., Rosales, A., Pérez-Ponce de León, G. (1998). Helminos parásitos de (Osteichthyes: Paralichthyidae) en el estero de Punta Banda, bahía de Todos Santos y bahía de San Quintín, Baja California, México. *Ciencias Marinas* 24, 443–462.
- Castoe, T.A., Poole, A.W., Gu, W.J., de Koning, A.P.J., Daza, J.M., Smith, E.N., Pollock, D.D. (2010). Rapid identification of thousands of copperhead snake (*Agkistrodon contortrix*) microsatellite loci from modest amounts of 454 shotgun genome sequence. *Molecular Ecology Resources* 10, 341–347.
- Castro, A.L.F., Stewart, B.S., Wilson, S.G., Hueter, R.E., Meekan, M.G., Motta, P.J., Bowen, B.W., Karl, S.A. (2007). Population genetic structure of Earth's largest fish, the whale shark (*Rhincodon typus*). *Molecular Ecology* 16, 5183–5192.
- Cedrola, P.V., González, A.M., Pettovello, A.D. (2005). Bycatch of skates (Elasmobranchii: Arhynchobatidae, Rajidae) in the Patagonian red shrimp fishery. *Fisheries Research* 71, 141–150.

- Cerutti-Pereyra, F., Meekan, M.G., Wei, N.-W.V., O'Shea, O., Bradshaw, C.J.A., Austin, C.M. (2012). Identification of Rays through DNA Barcoding: An Application for Ecologists. *PloS One* 7, e36479.
- Céspedes, R., Licandeo, R., Toledo, C., Cerna, F., Donoso, M., Adasme, L. (2005). *Estudio biológico pesquero y estado de situación del recurso raya volantín, en aguas interiores de la X a XII Regiones*. Informe Técnico FIP 2003-12. IFOP: Concepción. Available at <http://www.fip.cl/Proyectos.aspx> (accessed 25 Sep 2014).
- Chabot, C. (2012). Characterization of 11 microsatellite loci for the brown smooth-hound shark, *Mustelus henlei* (Triakidae), discovered with next-generation sequencing. *Conservation Genetics Resources* 4, 23–25.
- Chabot, C.L., Allen, L.G. (2009). Global population structure of the tope (*Galeorhinus galeus*) inferred by mitochondrial control region sequence data. *Molecular Ecology* 18, 545–552.
- Chabot, C.L., Nigenda, S. (2011). Characterization of 13 microsatellite loci for the tope shark, *Galeorhinus galeus*, discovered with next-generation sequencing and their utility for eastern Pacific smooth-hound sharks (*Mustelus*). *Conservation Genetics Resources* 3, 553–555.
- Chapman, D.D., Pinhal, D., Shivji, M.S. (2009). Tracking the fin trade: genetic stock identification in western Atlantic scalloped hammerhead sharks *Sphyrna lewini*. *Endangered Species Research* 9, 221–228.
- Chapman, D.D., Abercrombie, D.L., Douady, C. J., Pikitch, E.K., Stanhope, M.J., Shivji, M.S. (2003). A streamlined, bi-organelle, multiplex PCR approach to species identification: application to global conservation and trade monitoring of the great white shark, *Carcharodon carcharias*. *Conservation Genetics* 4, 415–425.
- Chapman, D.D., Simpfendorfer, C. A., Wiley, T.R., Poulakis, G.R., Curtis, C., Tringali, M., Carlson, J.K., Feldheim, K.A. (2011). Genetic diversity despite population collapse in a critically endangered marine fish: the smalltooth sawfish (*Pristis pectinata*). *Journal of Heredity* 102, 643–652.
- Charlesworth, B. (2009). Effective population size and patterns of molecular evolution and variation. *Nature Reviews Genetics* 10, 195–205.
- Chevolot, M., Hoarau, G., Rijnsdorp, A.D., Stam, W.T., Olsen, J.L. (2006). Phylogeography and population structure of thornback rays (*Raja clavata* L., Rajidae). *Molecular Ecology* 15, 3693–3705.
- Chevolot, M., Reusch, T.B.H., Boele-Bos, S., Stam, W.T., Olsen, J.L. (2005). Characterization and isolation of DNA microsatellite primers in *Raja clavata* L. (thornback ray, Rajidae). *Molecular Ecology Notes* 5, 427–429.
- Chevolot, M., Wolfs, P., Palsson, J., Rijnsdorp, A., Stam, W., Olsen, J. (2007). Population structure and historical demography of the thorny skate (*Amblyraja radiata*, Rajidae) in the North Atlantic. *Marine Biology* 151, 1275 – 1286.
- Chistiakov, D.A., Hellemans, B., Volckaert, F.A.M. (2006). Microsatellites and their genomic distribution, evolution, function and applications: A review with special reference to fish genetics. *Aquaculture* 255, 1 – 29.

- Chow, S., Suzuki, N., Imai, H., Yoshimura, T. (2006) Molecular species identification of spiny lobster phyllosoma larvae of the genus *Panulirus* from the northwestern Pacific. *Marine Biotechnology* 8, 260-267.
- Clarke, K.R., Gorley, R.N. (2006). *PRIMER v6: user manual/tutorial*. PRIMER-E, Ltd: Plymouth.
- Clarke, S.C., Magnussen, J.E., Abercrombie, D.L., McAllister, M.K., Shivji, M.S. (2006). Identification of shark species composition and proportion in the Hong Kong shark fin market based on molecular genetics and trade records. *Conservation Biology* 20, 201–211.
- Colonello, J., Cortes, F. (2013). Parámetros reproductivos de la raya hocicuda-picuda *Dipturus chilensis* en el Atlántico sudoccidental (34°-48° S). *INIDEP* 19, 2–16.
- Compagno, L.J.V. (1973). Interrelationship of living elasmobranchs. In *Interrelationships of Fishes* (Greenwood, P.H., Miles, R.S., Patterson, C., Eds). *Zoological Journal of the Linnaean Society* 53, 15-98.
- Compagno, L.J.V. (1977). Phyletic relationships of living sharks and rays. *American Zoologist* 17, 303–322.
- Compagno, L.J.V. (1988). *Sharks of the Order Carcharhiniformes*. Princeton, NJ: Princeton University Press.
- Compagno, L.J.V. (1990). Alternative life history styles of cartilaginous fishes in time and space. *Environ. Biol. Fish.* 28:33-75
- Compagno, L.J.V. (1999). Checklist of living elasmobranchs. In *Sharks, skates, and rays: the biology of elasmobranch fishes* (Hamlett, W.C., ed.), pp. 471–498. Baltimore: Johns Hopkins University Press.
- Compagno, L.J.V. (2005a). Global checklist of living chondrichthyan fishes. In *Sharks, rays and chimaeras: the status of chondrichthyan fishes* (Fowler, S.L., Cavanagh, R.D., Camhi, M. et al., Eds), pp 401–423. Gland, Switzerland, and Cambridge, UK: IUCN/SSC Shark Specialist Group, IUCN.
- Compagno, L.J.V. (2005b). Global checklist of living chondrichthyan fishes. In *Reproductive Biology and Phylogeny of Chondrichthyes: Sharks, batoids and chimaeras* (Hamlett, W.C., Ed.), pp. 503–548. Enfield, NH: Science Publishers.
- Concha, F. (2007) *Estructuras de talla, sexo y estados de madurez gonadal de las capturas de raya volantín, Dipturus chilensis (Guichenot, 1848), y caracterización del esfuerzo de pesca artesanal, aplicado en aguas interiores de la XI Región*. Informe Técnico (P. Inv.) 031-2006. Valparaiso: Universidad de Valparaiso.
- Concha, F., Oddone, M.C., Bustamante, C., Morales, N. (2012). Egg capsules of the yellownose skate *Zearaja chilensis* (Guichenot 1848) and the roughskin skate *Dipturus trachyderma* (Kreff and Stehmann 1974) (Rajiformes: Rajidae) from the south-eastern Pacific Ocean. *Ichthyological Research* 59, 323–327.
- Conrath, C.L., Musick, J.A. (2012) Reproductive biology of elasmobranchs. In *Biology of Sharks and their Relatives*, 2nd edition (Carrier, J.C., Musick, J.A., Heithaus, M.R., Eds.), pp. 291–312. Boca Raton, FL: CRC Press.

- Corrigan, S., Huvneers, C., Schwartz, T.S., Harcourt, R.G., Beheregaray, L.B. (2008). Genetic and reproductive evidence for two species of ornate wobbegong shark *Orectolobus* spp. on the Australian east coast. *Journal of Fish Biology* 73, 1662–1675.
- Cortés, E. (1997). A critical review of methods of studying fish feeding based on analysis of stomach contents: application to elasmobranch fishes. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 54, 726-738.
- Cortés, E. (1999). Standardized diet compositions and trophic levels of sharks. *ICES. J. Mar. Sci.* 56, 707-717.
- Cortés, E. (2000). Life history patterns and correlations in sharks. *Rev. Fish. Sci.* 8:299-344.
- Cortés, F., Cueto, S. (2012). Análisis demográfico y vulnerabilidad a la explotación de la raya hocicuda *Dipturus chilensis*, en la plataforma continental Argentina. *INIDEP* 101, 2–12.
- Coulson, M.W., Denti, D., van Guelpen, L., Miri, C., Kenchington, E., Bentzen, P. (2011). DNA barcoding of Canada's skates. *Molecular Ecology Resources* 11, 968–978.
- Cousseau, M.B., Figueroa, D.E., Díaz de Astarloa, J.M. (2000). *Clave de identificación de las rayas del litoral marítimo de Argentina y Uruguay (Chondrichthyes, Familia Rajidae)*. Mar del Plata, Argentina: Instituto Nacional de Investigación y Desarrollo Pesquero INIDEP.
- Cousseau, M.B., Figueroa, D.E., Díaz de Astarloa, J.M., Mabragaña, E., Lucífora, L.O. (2007). *Rayas, chuchos y otros batoideos del Atlántico Sudoccidental (34° S – 55° S)*. Mar del Plata, Argentina: Instituto Nacional de Investigación y Desarrollo Pesquero INIDEP.
- Cousseau, M.B., Perrota, R.G. (2000). *Peces Marinos de Argentina: Biología, Distribución y Pesca*. Mar del Plata, Argentina: Instituto Nacional de Investigación y Desarrollo Pesquero INIDEP.
- Crandall, K.A., Bininda-Emonds, O.R.P., Mace, G.M., Wayne, R.K. (2000). Considering evolutionary processes in conservation biology. *Trends in Ecology and Evolution* 15, 290–295.
- Crandall, K.A., Posada, D., Vasco, D. (1999). Effective population sizes: missing measures and missing concepts. *Animal Conservation* 2, 317–319.
- Cronin, T.M., Dowsett, H.F. (1996). Biotic and oceanographic response to the Pliocene closing of the Central American Isthmus. *In Evolution and Environment in Tropical America* (Jackson, J. B. C., Budd, A. F., Coates, A. G., Eds), pp. 76–104. Chicago, IL: The University of Chicago Press.
- Cruz-Reyes, A., Camargo-Camargo, B. (2001). *Glosario de términos en parasitología y ciencias afines*. Instituto de Biología, Programa Universitario de Investigación en Salud, Universidad Nacional Autónoma de México, y Plaza y Valdés Editores: México, D.F.
- Cushing, D. (1995). *Population production and regulation in the sea. A fisheries perspective*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Davis, C.D., Cailliet, G.M., Ebert, D.A. (2007). Age and growth of the rougthead skate *Bathyraja trachura* (Gilbert 1892) from the eastern North Pacific. *Environmental Biology of Fishes* 80, 325–336.
- De Buen, F. (1957). Preliminary list of Chilean fishes and their vernacular names. *In Proceedings Eighth Pacific Science Congress* 3, 166–279.
- De Buen, F. (1959). Notas preliminares sobre la fauna marina preabismal de Chile, con descripción de una familia de rayas, dos géneros y siete especies nuevas. *Boletín del Museo de Historia Natural, Chile* 27, 171–202.

- De Buen, F. (1960). Tiburones, rayas y quimeras en la Estación de Biología Marina de Montemar, Chile. *Revista de Biología Marina* 10, 1–50.
- DEEDI (2009). *Annual Status Report for the East Coast Inshore Fin Fish Fishery* 2009. Brisbane: DEEDI.
- Delarbre, C., Spruyt, N., Delmarre, C., Gallut, C., Barriol, V., Janvier, P., Laudet, V., Gachelin, G. (1998). The complete nucleotide sequence of the mitochondrial DNA of the dogfish, *Scyliorhinus canicula*. *Genetics* 150, 331–344.
- Delfin, F.T. (1900). Catálogo de los peces de Chile. *Revista Chilena de Historia Natural* 4, 129–131.
- Delfin, F.T. (1902). Nuevas Especies de la Familia Rajidae. *Revista Chilena de Historia Natural* 6, 262–270.
- Deli Antoni, M.Y., Delpiani, G.E., Delpiani, S.M., Mabragaña, E., Díaz de Astarloa, J.M. (2012). An aberrant extra fin in *Zearaja chilensis* (Chondrichthyes: Rajidae). *Cybium* 36, 403–405.
- Delpiani, G., Figueroa, D.E., Mabragaña, E. (2012). Dental abnormalities of the southern thorny skate *Amblyraja doellojuradoi* (Chondrichthyes, Rajidae). *Revista de Biología Marina y Oceanografía* 47, 131–140.
- Deynat, P.P. (1998). Le revêtement cutané des raies (Chondrichthyes, Elasmobranchii, Batoidea). II. Morphologie et arrangement des tubercules cutanés. *Annales des Sciences Naturelles* 19, 155–172.
- Deynat, P.P. (2000a). Les denticules myrmécoïdes, un nouveau caractère diagnostique pour les Rajidae (Chondrichthyes, Batoidea). *Annales des Sciences Naturelles* 21, 65–80.
- Deynat, P.P. (2000b). Dermal denticle morphology within batoid rays: a review. In *Proceedings 3rd European Elasmobranch Association Meeting* (Séret, B., Sire, J.Y., Eds), pp. 15–27. Paris: Société Française d'Ichtyologie & IRD.
- Deynat, P.P., Séret, B. (1996). Le revêtement cutané des raies (Chondrichthyes, Elasmobranchii, Batoidea). I.—Morphologie et arrangement des denticules cutanés. *Annales des Sciences Naturelles* 17, 65–83.
- Díaz de Astarloa, J.M., Mabragaña, E., Hanner, R., Figueroa, D.E. (2008). Morphological and molecular evidence for a new species of longnose skate (Rajiformes: Rajidae: *Dipturus*) from Argentinean waters based on DNA barcoding. *Zootaxa* 1921, 35–46.
- Dichmont, C.M., Ovenden, J.R., Berry, O., Welch, D.J., Buckworth, R.C. (2012). *Scoping current and future genetic tools, their limitations and their applications for wild fisheries management*. Final Report. Australian Fisheries Research, Development Corporation Project 2011/035. CSIRO, Brisbane.
- Didier, D.A. (2004). Phylogeny and classification of extant Holocephali. In *Biology of Sharks and their Relatives* (Carrier, J. C., Musick, J. A., Heithaus, M. R., Eds), pp. 115–135. Boca Raton, FL: CRC Press.
- Dimmick, W.W., Ghedotti, M.J., Grose, M.J., Maglia, A.M., Meinhardt, D.J. & Pennock, D.S. (1999). The importance of systematic biology in defining units of conservation. *Conservation Biology* 13, 653–660.
- Dobson, A.P., Lovejoy, T. E. (1996). *Conservation and biodiversity*. New York: Scientific American Library.

- Dodson, J.J. (1997). Fish migration: an evolutionary perspective. In *Behavioural Ecology of Teleost Fishes* (Godin, J.-G.J., Ed.), pp. 10–36. New York: Oxford University Press,
- Dolgov, A.V., Grekov, A.A., Shestopal, I.P., Sokolov, K.M. (2005). By-catch of skates in trawl and long-line fisheries in the Barents Sea. *Journal of Northwest Atlantic Fishery Science* 35, 357–366.
- Domingo, A., Forselledo, R., Miller, P., Passadore, C. (2008). *Plan de acción nacional para la conservación de los condricios en las pesquerías uruguayas*. DINARA: Montevideo.
- Douady, C.J., Dosay, M., Shivji, M.S., Stanhope, M.J. (2003). Molecular phylogenetic evidence refuting the hypothesis of Batoidea (rays and skates) as derived sharks. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 26, 215–221.
- Doukakis, P., Hanner, R., Shivji, M., Bartholomew, C., Chapman, D., Wong, E., Amato, G. (2011). Applying genetic techniques to study remote shark fisheries in northeastern Madagascar. *Mitochondrial DNA* 22, 15–20.
- Du Buit, M.H. (1968). Les raies (genre *Raja*) de la pêche française: écologie et morphométrie des principales espèces atlantiques. *Travaux de la Faculté des Sciences, Université de Rennes, Série Océanographie Biologique* 1, 19–117.
- Du Buit, M.H. (1972). Age et croissance de *Raja batis* et de *Raja naevus* en Mer Celtique. *Journal du Conseil International pour l'Exploration de la Mer* 37, 261–265
- Du Buit, M.H. (1978). Remarques sur la denture des rajés et sur leur alimentation. *Vie Milieu Ser AB* 28–29, 165–174.
- Dudgeon, C L., Blower, D.C., Broderick, D., Giles, J.L., Holmes, B.J., Kashiwagi, T., Kruck, N.C., Morgan, J.A.T., Tillett, B.J., Ovenden, J.R. (2012). A review of the application of genetics for fisheries management and conservation of sharks and rays. *Journal of Fish Biology* 80, 1789–1843.
- Dudgeon, C.L., Broderick, D., Ovenden, J.R. (2009). IUCN classification zones concord with, but underestimate, the population genetic structure of the zebra shark *Stegostoma fasciatum* in the Indo-West Pacific. *Molecular Ecology* 18, 248–261.
- Dulvy N.K., Metcalfe J.D., Glanville J., Pawson M.G., Reynolds J.D. (2000). Fishery stability, local extinctions, and shifts in community structure in skates. *Conservation Biology* 14, 283–293.
- Dulvy, N.K., Baum, J.K., Clarke, S., Compagno, L.J.V., Cortés, E., Domingo, A., Fordham, S., Fowler, S., Francis, M.P., Gibson, C., Martinez, J., Musick, J.A., Soldo, A., Stevens, J.D., Valenti, S. (2008). You can swim but you can't hide: the global status and conservation of oceanic pelagic sharks and rays. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems* 18, 459–482.
- Dulvy, N.K., Forrest, R.E. (2010). Life histories, population dynamics, and extinction risks in Chondrichthyans. In *Sharks and Their Relatives II: Biodiversity, Adaptive Physiology and Conservation* (Carrier, J.C., Musick, J.A., Heithaus, M.R., Eds), pp. 639–680. Boca Raton, FL: CRC Press.
- Dulvy, N.K., Fowler, S.L., Musick, J.A., Cavanagh, R.D., Kyne, P.M., Harrison, L.R., et al. (2014) Extinction risk and conservation of the world's sharks and rays. *eLife* 3, e00590.
- Dulvy, N.K., Reynolds, J.D. (1997). Evolutionary transitions among egg-laying, live bearing and maternal inputs in sharks and rays. *Proceedings of the Royal Society B* 264, 1309–1315.
- Dulvy, N.K., Reynolds, J.D. (2002). Predicting extinction vulnerability in skates. *Conservation Biology* 16, 440–450.

- Dulvy, N.K., Sadovy, I., Reynolds, D. (2003). Extinctions vulnerability in marine populations. *Fish and Fisheries* 4, 25–64
- Duncan, K.M., Martin, A.P., Bowen, B.W., De Couet, H.G. (2006). Global phylogeography of the scalloped hammerhead shark (*Sphyrna lewini*). *Molecular Ecology* 15, 2239–2251.
- Earl, D.A., VonHoldt, B.M. (2012). STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conservation Genetics Resources* 4, 359–361.
- Ebert, D.A., Bizarro, J.J. (2007). Standardized diet compositions and trophic levels of skates (Chondrichthyes: Rajiformes: Rajoidei). *Environmental Biology of Fishes* 80, 221–237.
- Ebert, D.A. (2005). Reproductive biology of skates, *Bathyraja* (Ishiyama), along the eastern Bering Sea continental slope. *Journal of Fish Biology* 66, 618–649.
- Ebert, D.A., Compagno, L.J.V. (2007). Biodiversity and systematics of skates (Chondrichthyes : Rajiformes : Rajoidei). *Environmental Biology of Fishes* 80, 111–124
- Ebert, D.A., Compagno, L.J.V., Cowley, P.D. (2006). Reproductive biology of catsharks (Chondrichthyes: Scyliorhinidae) off the west coast of southern Africa. *ICES Journal of Marine Science* 63, 1053–1065.
- Ebert, D.A., Cowley, P.D., Compagno, L.J.V. (1991). A preliminary investigation of the feeding ecology of skates (Batoidea: Rajidae) off the west coast of southern Africa. *South African Journal of Marine Science* 10, 71–81.
- Ebert, D.A., Davis, C.D. (2007). Descriptions of skate egg cases (Chondrichthyes: Rajiformes: Rajoidei) from the eastern North Pacific. *Zootaxa* 1393, 1–18.
- Ebert, D.A., Ho, H.C., White, W.T., De Carvalho, M.R. (2013). Introduction to the systematics and biodiversity of sharks, rays, and chimaeras (Chondrichthyes) of Taiwan. *Zootaxa* 3752:5–19.
- Ebert, D.A., White, W.T., Goldman, K.J., Compagno, L.J.V., Daly-Engel, T.S., Ward, R.D. (2010). Resurrection and redescription of *Squalus suckleyi* (Girard, 1854) from the North Pacific, with comments on the *Squalus acanthias* subgroup (Squaliformes: Squalidae). *Zootaxa* 2612, 22–40.
- Ebert, D.A., Winton, M.V. (2010). Chondrichthyans of high latitude seas. In *Biology of Sharks and their relatives II: Biodiversity, Adaptive Physiology, and Conservation* (Carrier, J.C., Musick, J.A., Heithaus, M.R., eds.), pp. 115–158. Boca Raton, FL: CRC Press.
- Ekblom, R., Galindo, J. (2010). Applications of next generation sequencing in molecular ecology of non-model organisms. *Heredity* 107, 1–15.
- El Nagar, A., McHugh, M., Rapp, T., Sims, D.W., Genner, M.J. (2010). Characterisation of polymorphic microsatellite markers for skates (Elasmobranchii: Rajidae) from expressed sequence tags. *Conservation Genetics* 11, 1203–1206
- Ellis, J.R., Cruz-Martínez, A., Rackham, B.D., Rogers, S.I. (2005a). The Distribution of Chondrichthyan Fishes around the British Isles and Implications for Conservation. *Journal of Northwest Atlantic Fishery Science* 37, 195–213.
- Ellis, J.R., Dulvy, N.K., Jennings, S., Parker-Humphreys, M., Rogers, S.I. (2005b). Assessing the status of demersal elasmobranchs in UK waters: a review. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 85, 1025–1047.

- Ellis, J.R., McCully, S.R., Brown, M.J. (2012). An overview of the biology and status of undulate ray *Raja undulata* in the north-east Atlantic Ocean. *Journal of Fish Biology* 80, 1057–1074.
- Eschmeyer, W.N., Fong, J.D. (2011). Pisces. In *Animal biodiversity: An outline of higher-level classification and survey of taxonomic richness* (Zhang, Z.-Q., Ed.) *Zootaxa* 3148, 26–38.
- Estalles, M., Coller, N.M., Perier, M.R., Di Giacomo, E.E. (2011). Skates in the demersal trawl fishery of San Matías Gulf, Patagonia : species composition, relative abundance and maturity stages. *Aquatic Living Resources* 24, 193–199.
- Evanno, G., Regnaut, S., Goudet, J. (2005). Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Molecular Ecology* 14, 2611–2620.
- Excoffier, L., Lischer, H.E.L. (2010). Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources* 10, 564–567.
- Faccenda, F., Lunelli, F. (2011). Geometric morphometrics: a method for rainbow trout stocks identification in aquaculture. *Italian Journal of Animal Science* 10, 112.
- Falabella, F. Meléndez, R.C., Vargas, L. (1995). Clave osteológicas para peces de Chile central. Artegrama: Santiago.
- Falkland Islands Government (2013). *Fisheries Department Fisheries Statistics 17* Stanley: Fisheries Department.
- Falkland Islands Government (2014). *Fisheries Department Fisheries Statistics 18* Stanley: Fisheries Department.
- Falush, D., Stephens, M., Pritchard, J.K. (2007). Inference of population structure using multilocus genotype data: linked loci and correlated allele frequencies. *Genetics* 164, 1567.
- FAO (1999). *International Plan of Action for the Conservation and Management of Sharks*. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- FAO (2000). *FAO Technical Guidelines for Responsible Fisheries*. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- FAO (2005). FAO expert consultation on the implementation of the FAO international plan of action for the conservation and management of sharks. In *FAO Fisheries Report* 295.
- Feduccia, A., Slaughter, B. (1974). Sexual dimorphism in skates (Rajidae) and its possible role in differential niche utilization. *Evolution* 28: 164–168.
- Feldheim, K.A., Gruber, S.H., Ashley, M.V. (2001). Multiple paternity of a lemon shark litter (Chondrichthyes: Carcharhinidae). *Copeia* 2001, 781–786.
- Feldheim, K.A., Gruber, S.H., Ashley, M.V. (2004). Reconstruction of parental microsatellite genotypes reveals female polyandry and philopatry in the lemon shark, *Negaprion brevirostris*. *Evolution* 58, 2332–2342.
- Fernández, J., Villalba, C. (1985). *Proleptus carvajali* n. sp. (Nematoda: Spiruroidea), nuevos registros y lista sistemática de los nemátodos de peces de aguas chilenas. *Revista Chilena de Historia Natural* 58, 109–120.
- Ferretti, F., Myers, R.A., Serena, F., Lotze, H.K. (2008). Loss of large predatory sharks from the Mediterranean Sea. *Conservation Biology* 22, 952–964.

- Ferretti, F., Worm, B., Britten, G.L., Heithaus, M.R., Lotze, H.K. (2010). Patterns and ecosystem consequences of shark declines in the ocean. *Ecology letters* 13, 1055–1071.
- Fleischmann, R.D., Adams, M.D., White, O., Clayton, R.A., Kirkness, E.F., Kerlavage, A.R., Bult, C.J., *et al.* (1995). Whole-genome random sequencing and assembly of *Haemophilus influenzae* Rd. *Science* 269, 496–512.
- Forman, J.S., Dunn, M.R. (2012). Diet and scavenging habits of the smooth skate *Dipturus innominatus*. *Journal of Fish Biology* 80, 1546–1562.
- Fowler, H.W. (1916). Notes on Some Fishes from Chile. *Copeia* 34, 64–65.
- Fowler, H.W. (1926). Fishes from Florida, Brazil, Bolivia, Argentina, and Chile. *Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia* 78, 249–285.
- Fowler, H.W. (1943). *Fishes of Chile. Systematic Catalog*. Santiago de Chile: Revista Chilena de Historia Natural.
- Fowler, H.W. (1945). Fishes of Chile. Systematic Catalog. *Revista Chilena de Historia Natural* 1–206.
- Fowler, H.W. (1951). *Fishes of Chile. Systematic Catalog*. Santiago de Chile: Revista Chilena de Historia Natural.
- Fowler, S.L., Cavanagh, R.D., Camhi, M., Burgess, G.H., Cailliet, G.M., Fordham, S.V., Simpfendorfer, C.A., Musick J.A. (2005). *Sharks, rays and chimaeras: the status of the chondrichthyan fishes*. IUCN: Gland, Switzerland and Cambridge, UK.
- Fox, C., Taylor, M., Pereyra, R., Villasana, M., Rico, C. (2005) TaqMan DNA technology confirms likely overestimation of cod (*Gadus morhua* L.) egg abundance in the Irish Sea: implications for the assessment of the cod stock and mapping of spawning areas using egg-based methods. *Molecular Ecology* 14, 879–884.
- Francis, M.P. (2006). Morphometric minefields—towards a measurement standard for chondrichthyan fishes. *Environmental Biology of Fishes* 77, 407–421.
- Francis, M.P., Gallagher, M.J. (2009). Revised age and growth estimates for antarctic starry skate (*Amblyraja georgiana*) from the Ross Sea. *CCAMLR Science* 16, 211–220.
- Francis, M.P., Ó Maolagáin, C. (2005). Age and growth of the Antarctic skate (*Amblyraja georgiana*) in the Ross Sea. *CCAMLR Science* 12, 183–194.
- Francis, M.P., Ó. Maolagáin, C., Stevens, D. (2001). Age, growth, and sexual maturity of two New Zealand endemic skates, *Dipturus nasutus* and *D. innominatus*. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research* 35, 831–842.
- Frank, K.H., Brickman, D. (2000). Allee effects and compensatory population dynamics within a stock complex. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 57, 513–517.
- Frankham, R. (1995). Effective population-size adult-population size ratios in wildlife – a review. *Genetical Research* 66, 95–107.
- Frankham, R., Ballou, J.D., Briscoe, D.A. (2002). *Introduction to Conservation Genetics* 1st Ed. Cambridge: Cambridge University Press.
- Frankham, R., Ballou, J.D., Briscoe, D.A. (2004). *A primer of conservation genetics*. Cambridge: Cambridge University Press.

- Frankham, R., Ballou, J.D., Briscoe, D.A. (2010). *Introduction to Conservation Genetics* 2nd Ed. Cambridge: Cambridge University Press.
- Franklin, I.R. (1980). Evolutionary change in small populations. In *Conservation Biology: An Evolutionary–Ecological Perspective* (Soule, M.E., Wilcox, B.A., Eds.), pp. 135–150. Sunderland, MA: Sinauer Associates.
- Franks, J.H. (2006). Phylogeography and population genetics of spiny dogfish (*Squalus acanthias*). *MSc Thesis*, University of Washington, Seattle, WA, USA.
- Fraser, D.J., Bernatchez, L. (2001) Adaptive evolutionary conservation: towards a unified concept for defining conservation units. *Molecular Ecology* 10, 2741–2752.
- Freon, P., Misund, O.A. (1999). *Dynamics of pelagic fish distribution and behaviour: effects on fisheries and stock assessment*. Oxford: Fishing News Books.
- Frisk, M.G. (2010). Life History Strategies of Batoids. In *Biology of Sharks and their Relatives II: Biodiversity, Adaptive Physiology, and Conservation* (Carrier, J.C., Musick, J.A., Heithaus, M.R., Eds.), pp. 283–318. Boca Raton, FL: CRC Press.
- Frisk, M.G., Miller, T.J., Forgarty, M.J. (2001). Estimation and analysis of biological parameters in elasmobranch fishes: a comparative life history study. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 58, 969–981.
- Fu, Y.X. (1997). Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection. *Genetics* 147, 915–925.
- Fuentealba, M. (1989). Aspectos biológicos de *Raja (Dipturus) flavirostris*, Philippi, 1892 en el litoral de la zona central chilena (Elasmobranchii, Rajiformes, Rajidae). Tesis Departamento de Biología y Tecnología del Mar. Pontificia Universidad Católica de Chile. Sede Talcahuano.
- Fuentealba, M., Leible, M. (1990). Perspectivas de la pesquería de la raya volantín *Raja (Dipturus) flavirostris*: Estudio de edad, crecimiento y algunos aspectos reproductivos. In *Perspectivas de la actividad pesquera en Chile* (Barbieri, M.A., ed.), pp. 227–236. Valparaíso: Escuela de Ciencias del Mar, Universidad Católica de Valparaíso.
- Fuentealba, M., Leible, M., Morillas, J. (1990). Histología gonádica de *Raja (Dipturus) flavirostris* Philippi 1892 (Pisces: Chondrichthyes). *Estudios Oceanológicos* 9, 57–62.
- Gaida, I.H. (1997). Population structure of the Pacific angel shark, *Squatina californica* (Squatiniformes: Squatinidae), around the California Channel Island. *Copeia* 1997, 738–744.
- Gallagher, M., Nolan, C.P. (1999). A novel method for the estimation of age and growth in rajids using caudal thorns. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 56, 1590–1599.
- Gallagher, M.J., Green, M.J., Nolan, C.P. (2006). The potential use of caudal thorns as a non-invasive ageing structure in the thorny skate (*Amblyraja radiata*) Donovan, 1808. *Environmental Biology of Fishes* 77, 265–272.
- Gálvez, M., Sepúlveda, A., Díaz, C., Miranda, L., Rebolledo, H., Cuevas, C. (1998). Biomasa estacional de merluza común por área barrida por la flota industrial pesquera en la zona centro-sur. *Instituto de Investigación Pesquera VIII Región Informe técnico* No. 96–33, Concepción: INPESCA.
- García de La Rosa, S.B. (1998). *Estudio de la interrelaciones tróficas de dos elasmobranquios del Mar Argentino, en relación con las variaciones espacio-temporales y ambientales* *Squalus acanthias*

- (*Squalidae*) y *Raja flavirostris* (= *Dipturus chilensis*) (*Rajidae*). Mar del Plata, Argentina: Universidad Nacional de Mar del Plata.
- García de la Rosa, S.B., Sánchez, F., Prenski, L.B. (2004). Caracterización biológica y estado de explotación de la raya (*Dipturus chilensis*). In *El Mar Argentino y sus recursos pesqueros. Tomo 4. Los peces marinos de interés pesquero. Caracterización biológica y evaluación del estado de explotación* (Sánchez, R.P., Bezzi, S.I., eds.), pp. 53–66. Mar del Plata, Argentina: Publicaciones Especiales INIDEP.
- García, V.B., Lucifora, L.O., Myers, R.A. (2008). The importance of habitat and life history to extinction risk in sharks, skates, rays and chimaeras. *Proceedings of the Royal Society Biological Sciences* 275, 83–89.
- Gardner, M.G., Ward, R. D. (1998). Population structure of the Australian gummy shark (*Mustelus antarcticus* Gunther) inferred from allozymes, mitochondrial DNA and vertebrae counts. *Marine and Freshwater Research* 49, 733–745.
- Gardner, M.G., Ward, R.D. (2002). Taxonomic affinities within Australian and New Zealand *Mustelus* sharks (Chondrichthyes: Triakidae) inferred from allozymes, mitochondrial DNA and precaudal vertebrae counts. *Copeia* 2002, 356–363.
- Garman, S. (1913). The Plagiostomia (sharks, skates and rays). *Memoirs of the Museum of Comparative Zoology at Harvard College* 36, 1–528.
- Garrick, R.C., Caccone, A., Sunnucks, P. (2010). Inference of population history by coupling exploratory and model-driven phylogeographic analyses. *International Journal of Molecular Sciences* 11, 1190–1227.
- Garvin, M.R., Saitoh, K., Gharrett, A.J. (2010). Application of single nucleotide polymorphisms to non-model species: a technical review. *Molecular Ecology Resources* 10, 915–934.
- Gauldie, R.W. (1988). Tagging and genetically isolated stocks of fish: a test of one stock hypothesis and the development of another. *Journal of Applied Ichthyology* 4, 168–173.
- Gedamke, T., DuPaul, W.D., Musick, J.A. (2005). Observations on the Life History of the Barndoor Skate, *Dipturus laevis*, on Georges Bank (Western North Atlantic). *Journal of Northwest Atlantic Fishery Science* 37, 67–78.
- George-Nascimento, M., Arancibia, H. (1994). La fauna parasitaria y la morfometría de la merluza austral *Merluccius australis* (Hutton) como indicadores de unidades de stock. *Biología Pesquera* 23, 31-47.
- George-Nascimento, M., Urrutia, X. (2000). *Pseudoterranova cattani* sp. nov. (Ascaridoidea: Anisakidae), a parasite of the south american sea lion *Otaria byronia* de Blainville from Chile. *Revista Chilena de Historia Natural* 73, 93-98.
- Gili, R., Donoso, M., Ojeda, V., López, A., Miranda, H. (1999). *Parámetros poblacionales de raya volantín VIII a X Regiones y métodos de asignación de edades*. Informe Técnico FIP 97-20. IFOP: Concepción. Available at <http://www.fip.cl/Proyectos.aspx> (accessed 25 Sep 2014).
- Goldman, K.J. (2004). Age and growth of elasmobranch fishes. In *Elasmobranch Fisheries Management Techniques* (Musick, J.A., Bonfil, R., Eds.), pp. 97–132. Singapore: Asia Pacific Economic Cooperation.

- Goldstein, P.Z., DeSalle, R., Amato, G., Vogler, A.P. (2000) Conservation genetics at the species boundary. *Conservation Biology* 14, 120–131.
- Gomes, U.L., Picado, S. (2001). Distribution of the species of *Dipturus* Rafinesque (Rajidae, Rajinae, Rajini) off Brazil and first record of the Caribbean skate *D. teevani* (Bigelow & Schroeder), in the Western South Atlantic. *Revista Brasileira de Zoologia* 18, 171–185.
- Góngora, M.E., Bovcon, N.D., Cochia, P.D. (2009). Ictiofauna capturada incidentalmente en la pesquería de langostino patagónico *Pleoticus muelleri* Bate 1888. *Revista de Biología Marina y Oceanografía* 44, 583–593.
- González, M.T., Acuña, E.H., Oliva, M.E. (2001). Metazoan parasite fauna of the bigeye flounder, *Hippoglossina macrops*, from northern Chile: Influence of host age and sex. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* 96, 1049-1054.
- Gosztanyi, A. (1979). Peces. In *Tierra del Fuego* (Goodall, N.P., ed.), pp. 71–74. Buenos Aires, Argentina: Shanamaim.
- Gosztanyi, A. (1981). Resultados de las investigaciones ictiológicas de la campaña del B/I “Shinkai Maru” en el Mar Argentino (10.04-09.05.1978). In *Campañas de Investigación Pesquera realizadas en el Mar Argentino por los B/I “Shinkai Maru”, “Walther Herwig” y el B/P “Marburg, años 1978 y 1979. Resultados de la parte Argentina.* *INIDEP* 383, 254–266.
- Gotschlich, B. (1913). Llanquihue y Valdivia. *Boletín del Museo Nacional de Chile* 4, 7–626.
- Grant, W.S., García-Marín, J.L., Utter, J.M. (1999). Defining population boundaries for fishery management. In *Genetics in Sustainable Fisheries Management* (Mustafa, S., ed.), pp. 27–72. Oxford: Fishing News Books.
- Gravendeel, R., Neer, W.V., Brinkhuizen, D. (2002). An identification key for dermal denticles of Rajidae from North Sea. *International Journal of Osteoarchaeology* 12, 420–441.
- Gregory, T.R. (2011). *Animal Genome Size Database*. Available at <http://www.genomesize.com/>
- Griffiths, A., Sims, D., Johnson, A., Lynghammar, A., McHugh, M., Bakken, T., Genner, M. (2011). Levels of connectivity between longnose skate (*Dipturus oxyrinchus*) in the Mediterranean Sea and the north-eastern Atlantic Ocean. *Conservation Genetics* 12, 577–582.
- Griffiths, A.M., Sims, D.W., Cotterell, S. P., El Nagar, A., Ellis, J. R., Lynghammar, A., McHugh, M., Neat, F. C., Pade, N. G., Queiroz, N., Serra-Pereira, B., Rapp, T., Wearmouth, V.J., Genner, M.J. (2010). Molecular markers reveal spatially segregated cryptic species in a critically endangered fish, the common skate (*Dipturus batis*). *Proceedings of the Royal Society B* 277, 1497–1503.
- Gubili, C., Bilgin, R., Kalkan, E., Karhan, S.U., Jones, C.S., Sims, D.W., Kabasakal, H., Martin, A.P., Noble, L.R. (2011). Antipodean white sharks on a Mediterranean walkabout? Historical dispersal leads to genetic discontinuity and an endangered anomalous population. *Proceedings of the Royal Society B* 278, 1679–1686.
- Guichenot, A. (1848). Fauna Chilena, Peces. *En Historia física y política de Chile II* (Gay, C., Ed.), pp. 137–370. Santiago: Museo de Historia Natural de Chile.
- Gulland, J. (1971). Ecological aspects of fishery research. *Advances in Ecological Research* 7, 115–176.

- Gunderson, D.R. (1977). Population biology of Pacific Ocean perch, *Sebastes alutus*, stocks in the Washington-Queen Charlotte Sound region, and their response to fishing. *Fishery Bulletin* 75, 369–403.
- Gundry, C.N., Vandersteen, J.G., Reed, G.H., Pryor, R.J., Chen, J., Wittwer, C.T. (2003). Amplicon melting analysis with labeled primers: a closed-tube method for differentiating homozygotes and heterozygotes. *Clinical Chemistry* 49, 396–406.
- Gubanov, Y.P. (1978) The reproduction of some species of pelagic sharks from the equatorial zone of the Indian Ocean. *Journal of Ichthyology* 15, 37–43.
- Hamlett, W.C. (2005). *Reproductive Biology and Phylogeny of Chondrichthyes: Sharks, Batoids and Chimaeras*. Enfield, NH: Science Publishers.
- Hamlett, W.C., Koob, T.J. (1999). Female reproductive system. In *Sharks, Skates and Rays: Biology of Elasmobranch Fishes* (Hamlett, W.C., Ed.), pp. 398–443. Baltimore, MD: The John Hopkins University Press.
- Hansen, M. M., Hemmer-Hansen, J. (2007). Landscape genetics goes to sea. *Journal of Biology* 6, 6.
- Hare, M.P., Nunney, L., Schwartz, M.K., Ruzzante, D.E., Burford, M., Waples, R.S., Ruegg, K., Palstra, F. (2011). Understanding and estimating effective population size for practical application in marine species management. *Conservation Biology* 25, 438–449.
- Harismendy, O., Ng, P.C., Strausberg, R.L., Wang, X.Y., Stockwell, T.B., Beeson, K.Y., Schork, N.J., Murray, S.S., Topol, E.J., Levy, S., Frazer, K.A. (2009). Evaluation of next generation sequencing platforms for population targeted sequencing studies. *Genome Biology* 10, R32.
- Hart, T.J. (1947). Report on trawling surveys on the Patagonian continental shelf. *Discovery Reports* 23, 226–408.
- Hauser, L. (2009). The molecular ecology of dogfish sharks. In *Biology and Management of Dogfish Sharks* (Gallucci, V.F., McFarlane, G.A., Bargmann, G.G., Eds), pp. 229–252. Bethesda, MD: American Fisheries Society.
- Hauser, L., Adcock, G.J., Smith, P.J., Ramirez, J.H.B., Carvalho, G.R. (2002). Loss of microsatellite diversity and low effective population size in an overexploited population of New Zealand snapper (*Pagrus auratus*). *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 99, 11742–11747.
- Hauser, L., Carvalho, G.R. (2008). Paradigm shifts in marine fisheries genetics: ugly hypotheses slain by beautiful facts. *Fish and Fisheries* 9, 333–362.
- Hauser, L., Seeb, J.E. (2008). Advances in molecular technology and their impact on fisheries genetics. *Fish and Fisheries* 9, 473–486.
- Hauser, L., Ward, R.D. (1998) Population identification in pelagic fish: the limits of molecular markers. In *Advances in Molecular Ecology*. (Carvahlo, GR., Ed), pp. 191–224. Amsterdam: IOS Press.
- Hawkins, R.D., Hon, G.C., Ren, B. (2010). Next-generation genomics: an integrative approach. *Nature Reviews Genetics* 11, 476–486.
- Hazkani-Covo, E., Zeller, R.M., Martin, W. (2010). Molecular poltergeists: mitochondrial DNA copies (numts) in sequenced nuclear genomes. *PLoS Genetics* 6, e1000834.

- Hebert, P.D.N., Cywinska, A., Ball, S.L., DeWaard, J.R. (2003). Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society B* 270, 313–321.
- Hedrick, P.W. (1999). Perspective: highly variable loci and their interpretation in evolution and conservation. *Evolution* 53, 313–318.
- Heid, C.A., Stevens, J., Livak, K.J., Williams, P.M. (1996). Real time quantitative PCR. *Genome Research* 6, 986–994.
- Heist, E.J. (2004a). Genetics of sharks, skates and rays. *In* Biology of Sharks and Their Relatives (Carrier, J.C., Musick, J.A., Heithaus, M.R., Eds.), pp. 471–485. Boca Raton, FL: CRC Press.
- Heist, E.J. (2004b) Genetics: stock identification. *In* Elasmobranch Fisheries Management Techniques (Musick, J. A. & Bonfil, R., Eds.), pp. 79–96. Singapore: Asia-Pacific Economic Cooperation.
- Heist, E.J., Gold, J.R. (1999). Genetic identification of sharks in the US Atlantic large coastal shark fishery. *Fishery Bulletin* 97, 53–61.
- Heist, E.J., Graves, J.E., Musick, J.A. (1995). Population genetics of the sandbar shark (*Carcharhinus plumbeus*) in the Gulf of Mexico and Mid-Atlantic Bight. *Copeia* 1995, 555–562.
- Heist, E.J., Musick, J.A., Graves, J.E. (1996). Genetic population structure of shortfin mako (*Isurus oxyrinchus*) inferred from restriction fragment length polymorphism analysis of mitochondrial DNA. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 53, 583–588.
- Heller, M.J. (2002). DNA microarray technology: devices, systems, and applications. *Annual Review of Biomedical Engineering* 4, 129 – 153.
- Helyar, S.J., Hemmer-Hansen, J., Bekkevold, D., Taylor, M.I., Ogden, R., Limborg, M.T., Cariani, A., Maes, G.E., Diopere, E., Carvalho, G.R., Nielsen, E.E. (2011). Application of SNPs for population genetics of nonmodel organisms: new opportunities and challenges. *Molecular Ecology Resources* 11, 123–136.
- Hemmer-Hansen, J., Nielsen, E.E., Frydenberg, J., Loeschcke, V. (2007). Adaptive divergence in a high gene flow environment: Hsc70 variation in the European flounder (*Platichthys flesus* L.). *Heredity* 99, 592–600.
- Henderson, A.C., Arkhipkin, A.I., Chtcherbich, J.N. (2004). Distribution, growth and reproduction of the white-spotted skate *Bathyraja albomaculata* (Norman, 1937) around the Falkland Islands. *Journal of Northwest Atlantic Fishery Science* 35, 79–87.
- Herman, J., Hovestadt-Euler, M., Hovestadt, D.C., Stehmann, M. (1994) Contributions to the study of the comparative morphology of teeth and other relevant ichthyodorulites in living supra-specific taxa of chondrichthyans fishes Part B: Batomorphii N° 1a: Order Rajiformes- Suborder Rajoidei- Family: Rajidae-Genera and subgenera: *Anacanthobatis* (*Schroederobatis*), *Anacanthobatis* (*Springeria*), *Breviraja*, *Dactylobatus*, *Gurgesiella* (*Gurgesiella*), *Gurgesiella* (*Fenestrija*), *Malacoraja*, *Neoraja* and *Pavoraja*. *Bulletin de L'Institut Royal des Sciences Naturelles de Belgique, Biologie* 64, 165–207.
- Herman, J., Hovestadt-Euler, M., Hovestadt, D.C., Stehmann, M. (1995). Contributions to the study of the comparative morphology of teeth and other relevant ichthyodorulites in living supraspecific taxa of chondrichthyans fishes Part B: Batomorphii N° 1b: Order Rajiformes- Suborder Rajoidei- Family: Rajidae-Genera and subgenera: *Bathyraja* (with a deep-water, shallow-water and

transitional morphotype), *Psammobatis*, *Raja (Amblyraja)*, *Raja (Dipturus)*, *Raja (Leucoraja)*, *Raja (Raja)*, *Raja (Rajella)* (with two morphotypes), *Raja (Rioraja)*, *Raja (Rostroraja)*, *Raja lineata* and *Sympterygia*. *Bulletin de L'Institut Royal des Sciences Naturelles de Belgique, Biologie* 65, 237–307.

- Herman, J., Hovestadt-Euler, M., Hovestadt, D.C., Stehmann, M. (1996). Contributions to the study of the comparative morphology of teeth and other relevant ichthyodorulites in living supra-specific taxa of chondrichthyans fishes Part B: Batomorphii N° 1c: Order Rajiformes- Suborder Rajoidei- Family: Rajidae-Genera and subgenera: *Arhynchobatis*, *Bathyraja richardsoni*-type, *Cruriraja*, *Irolita*, *Notoraja*, *Pavoraja (Insentiraja)*, *Pavoraja (Pavoraja)*, *Pseudoraja*, *Raja (Atlantoraja)*, *Raja (Okajamei)* and *Rhinoraja*. *Bulletin de L'Institut Royal des Sciences Naturelles de Belgique, Biologie* 66, 179–236.
- Heupel, M.R., Simpfendorfer, C.A., Collins, A.B., Tyminski, J.P. (2006). Residency and movement patterns of bonnethead sharks, *Sphyrna tiburo*, in a large Florida estuary. *Environmental Biology of Fishes* 76, 47–67.
- Hey, J. (2010). Isolation with migration models for more than two populations. *Molecular Biology and Evolution* 27, 905–920.
- Hey, J., Waples, R.S., Arnold, M.L., Butlin, R.K., Harrison, R.G. (2003). Understanding and confronting species uncertainty in biology and conservation. *Trends in Ecology and Evolution* 18, 597–603.
- Hilbish, T.I. (1996). Population genetics of marine species: the interaction of natural selection and historically differentiated populations. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 200, 67–83.
- Hilborn, R., Walters, C.J. (1992). *Quantitative Fisheries Stock Assessment. Choice, Dynamics & Uncertainty*. New York: Chapman and Hall.
- Hoban, S., Bertorelle, G., Gaggiotti, O.E. (2012). Computer simulations: tools for population and evolutionary genetics. *Nature Reviews Genetics* 13, 110–122.
- Hobbs, R.J., Mooney, H.A. (1998) Broadening the extinction debate: population deletions and additions in California and Western Australia. *Conservation Biology* 12, 271–283.
- Hoening, J.M. & Gruber, S.H. (1990) Life-history patterns in the elasmobranchs: implications for fisheries management. In *Elasmobranchs as living resources: advances in the biology, ecology, systematics and the status of the fisheries* (Pratt Jr, H.L., Gruber, S.H. & Taniuchi, T., eds.), pp. 1–16. U.S. Department of Commerce, NOAA Technical Report NMFS (National Marine Fisheries Service) 90.
- Hoelzel, A. (2001). Shark fishing in fin soup. *Conservation Genetics* 2, 69–72.
- Hoelzel, A.R., Shivji, M.S., Magnussen, J., Francis, M.P. (2006). Low worldwide genetic diversity in the basking shark (*Cetorhinus maximus*). *Biology Letters* 2, 639–642.
- Hoheisel, J.D. (2006). Microarray technology: beyond transcript profiling and genotype analysis. *Nature Reviews Genetics* 7, 200–210.
- Holden, M.J. (1977) Elasmobranchs. In *Fish Population Dynamics* (Gulland, J. A., Ed.), pp. 187–216. London: John Wiley Press.
- Holmes, B.H., Steinke, D., Ward, R.D. (2009). Identification of shark and ray fins using DNA barcoding. *Fisheries Research* 95, 280–288.

- Horn, H.S. (1966). Measurement of "Overlap" in comparative ecological studies. *The American Naturalist* 100, 419-424.
- Hubbs, C.L., Ishiyama, R. (1968). Methods for the taxonomic study and description of skates (Rajidae). *Copeia* 1968, 483-491.
- Hubisz, M. J., Falush, D., Stephens, M., Pritchard, J. K. (2009). Inferring weak population structure with the assistance of sample group information. *Molecular Ecology Resources* 9, 1322-1332.
- Hudson, M.E. (2008). Sequencing breakthroughs for genomic ecology and evolutionary biology. *Molecular Ecology Resources* 8, 3-17.
- Hueter, R.E., Heupel, M.R., Heist, E.J., Keeney, D.B. (2005). Evidence of philopatry in sharks and implications for the management of shark fisheries. *Journal of Northwest Atlantic Fishery Science* 35, 239-247.
- Hughes, J.B., Daily, G.C., Ehrlich, P.R. (1997) Population diversity: its extent and extinction. *Science* 278, 689-692.
- Hulley, P.A. (1966). The validity of *Raja rhizacanthus* Regan and *Raja pullopunctata* Smith based on a study of the clasper. *Annals of the South African Museum* 48, 497-514.
- Hulley, P.A. (1970). An investigation of the Rajidae of the west and south coasts of southern Africa. *Annals of the South African Museum* 55, 151-220.
- Hulley, P.A. (1972). The origin, interrelationships and distribution of South African Rajidae (Chondrichthyes, Batoidei). *Annale Van Die SuidAfrikaanse Museum* 60, 1-103.
- Hussey, N.E., MacNeil, M.A., Fisk, A.T. (2010). The requirement for accurate diet-tissue discrimination factors for interpreting stable isotopes in sharks; Comment on: stable isotope dynamics in elasmobranch fishes. *Hydrobiologia* 654, 1-5.
- Hyslop, E.J. (1980). Stomach contents analysis-a review of methods and their application. *Journal of Fish Biology* 17, 411-429.
- ICES (1999). *Report of the Working Group on the Assessment of Mackerel, Horse Mackerel, Sardine and Anchovy*. ICES C.M. 1999/Assess: 6.
- Iglesias, S.P., Toulhoat, L., Sellos, D.Y. (2009). Taxonomic confusion and market mislabelling of threatened skates: important consequences for their conservation status. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems* 20, 319-333.
- Ihssen, P.E., Booke, H.E., Casselman, J.M., McGlade, J.M., Payne, N.R., Utter, F.M. (1981). Stock identification: materials and methods. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 38, 1838-1855.
- Ishihara, H. (1987). Revision of the western North Pacific species of the genus *Raja*. *Japanese Journal of Ichthyology* 34, 241-285.
- Ishihara, H. (1990). *Study on the systematics and fishery resources of the skates inhabiting the North Pacific*. Japan: University of Tokyo.
- Ishihara, H., Ishiyama, R. (1986). Systematics and distribution of the skates of the North Pacific (Chondrichthyes, Rajoidei). *In Indo-Pacific Fish Biology: Proceedings of the Second International Conference on Indo-Pacific Fishes* (Uyeno, T., Arai, R., Taniuchi, T., Matsuura, K., Eds.), pp. 269-280. Tokyo: Ichthyological Society of Japan.

- Ishihara, H., Treloar, M., Bor, P., Senou, H., Jeong, C. (2012). The comparative morphology of skate egg capsules (Chondrichthyes: Elasmobranchii: Rajiformes). *Bulletin of The Kanagawa Prefectural Museum Natural Science (Nat Sci)* 41, 9–25.
- Ishiyama, R. (1950). Studies on the rays and skates belonging to the family Rajidae, found in Japan and adjacent regions. 1. Egg-capsule of ten species. *Japanese Journal of Ichthyology* 1, 30–36.
- Ishiyama, R. (1958a). Observations on the egg-capsules of the skates of the Family Rajidae, found in Japan and its adjacent waters. *Bulletin of the Museum of Comparative Zoology Harvard College* 118, 1–24.
- Ishiyama, R. (1958b). Studies on the rajid fishes (Rajidae) found in the waters around Japan. *Journal of the Shimonoseki University of Fisheries* 7, 1–394.
- Ishiyama, R., Hubbs, C.L. (1968). *Bathyraja* a genus of Pacific skates (Rajidae) regarded as phylogenetically distinct from the Atlantic genus *Breviraja*. *Copeia* 1968, 407–410.
- Iwasaki, W., Fukunaga, T., Isagozawa, R., Yamada, K., Maeda, Y., *et al.* (2013). MitoFish and MitoAnnotator: A mitochondrial genome database of fish with an accurate and automatic annotation pipeline. *Molecular Biology and Evolution* 30, 2531–2540.
- Jacob, B.A., McEachran, J.D. (1994)/ Status of two species of skates, *Raja (Dipturus) teevani* and *R. (D.) floridana* (Chondrichthyes: Rajoidei), from the western North Atlantic. *Copeia* 1994, 433–445.
- Jennings, S., Greenstreet, S.P.R., Reynolds, J.D. (1999). Structural change in an exploited fish community: a consequence of differential fishing effects on species with contrasting life histories. *Journal of Animal Ecology* 68, 617–627.
- Jensen, J.L., Bohonak, A.J., Kelley, S.T. (2005). Isolation by distance, web service. *BMC Genetics* 6, 13.
- Jeong, C.H., Nakabo, T. (2008). *Dipturus wuhanlingi*, a new species of skates (Elasmobranchii: Rajidae) from China. *Ichthyological Research* 55, 183–190.
- Jeong, D., Lee, Y.H. (2014). Complete mitochondrial genome of the Yellownose skate: *Zearaja chilensis* (Rajiformes, Rajidae). *Mitochondrial DNA* (Early Online), 1–2.
- Jo, J.H., Park, D.C., Do, J.R., Kim, Y.M., Kim, D.S., Park, Y.K., Lee, T.K., Cho, S.M. (2004). Optimization of skate (*Raja flavirostris*) cartilage hydrolysis for the preparation of chondroitin sulfate. *Food Science and Biotechnology* 13, 622–626.
- Jombart, T. (2008). Adegnet: an R package for the multivariate analysis of genetic markers. *Bioinformatics* 24, 1403–1405.
- Jombart, T. (2014). An introduction to adegenet 1.4-0. Disponible en: <http://adegenet.r-forge.r-project.org/files/tutorial-basics.pdf>
- Jombart, T., Ahmed, I. (2011). Adegnet 1.3-1: new tools for the analysis of genome-wide SNP data. *Bioinformatics* 27, 3070–3071.
- Jombart, T., Devillard, S., Balloux, F. (2010). Discriminant analysis of principal components: a new method for the analysis of genetically structured populations. *BMC Genetics* 11, 94.
- Jordan, C. F. (1995). *Conservation: replacing quantity with quality as a goal for global management*. New York: John Wiley and Sons.

- Jorde, P.E., Ryman, N. (1995). Temporal allele frequency change and estimation of effective size in populations with overlapping generations. *Genetics* 139, 1077–1090.
- Jorgensen, S.J., Reeb, C.A., Chapple, T.K., Anderson, S., Perle, C., Van Sommeran, S.R., Fritz-Cope, C., Brown, A.C., Klimley, A.P., Block, B.A. (2009). *Philopatry and migration of Pacific white sharks. Proceedings of the Royal Society B* 277, 679–688.
- Kabata, Z. (1963). Parasites as biological tags. *ICNAF Special Publication* 4, 31–37.
- Kajiura, M.S., Tricas, T.C. (1996). Seasonal dynamics of dental dimorphism in the Atlantic stingray *Dasyatis sabina*. *The Journal of Experimental Biology* 199, 2297–2306.
- Kang, J.-H., Park, J.-Y., Jo, H.-S. (2012). Rapid Development of Microsatellite Markers with 454 Pyrosequencing in a Vulnerable Fish, the Mottled Skate, *Raja pulchra*. *International Journal of Molecular Sciences* 13, 7199–211.
- Karl, S., Castro, A., Lopez, J., Charvet, P., Burgess, G. (2011). Phylogeography and conservation of the bull shark (*Carcharhinus leucas*) inferred from mitochondrial and microsatellite DNA. *Conservation Genetics* 12, 371–382.
- Karl, S.A., Bowen, B.W. (1999) Evolutionary significant units versus geopolitical taxonomy: molecular systematics of an endangered species. *Conservation Biology* 13, 990–999.
- Keeney, D.B., Heist, E.J. (2006). Worldwide phylogeography of the blacktip shark (*Carcharhinus limbatus*) inferred from mitochondrial DNA reveals isolation of western Atlantic populations coupled with recent Pacific dispersal. *Molecular Ecology* 15, 3669–3679.
- Keeney, D.B., Heupel, M., Hueter, R.E., Heist, E.J. (2003). Genetic heterogeneity among blacktip shark, *Carcharhinus limbatus*, continental nurseries along the US Atlantic and Gulf of Mexico. *Marine Biology* 143, 1039–1046.
- Kelly, J.T., Hanson, J.M. (2013). Abundance, distribution and habitat characteristics of winter skate *Leucoraja ocellata* in the southern Gulf of St Lawrence: a population on the brink of extirpation? *Journal of Fish Biology* 82, 877–892
- Kemp, N.E. (1999). Integumentary system and teeth. In *Sharks, skates, and rays: the biology of elasmobranch fishes* (Hamlett, W.C., ed.), pp. 43–68. Baltimore: Johns Hopkins University Press.
- Kenchington, E., Heino, M., Nielsen, E.E. (2003) Managing marine genetic diversity: time for action? *ICES Journal of Marine Science* 60, 1172–1176.
- Keogh, J.S. (1999) Evolutionary implications of hemipenal morphology in the terrestrial Australian elapid snakes. *Zoological Journal of the Linnean Society* 125, 239–278.
- King, J.R., McFarlane, G.A. (2003). Marine life history strategies: applications to fishery management. *Fisheries Management and Ecology* 10, 249–264.
- King, M. (2007). *Fisheries Biology, Assessment and Management* 2nd edn. Oxford, UK: Blackwell.
- Kingsford, M.J., Battershill, C.N., Walls, K. (1998). Introduction to ecological assessments. In *Studying temperate marine environments. A handbook for ecologists* (Kingsford, M. Battershill, C., Eds), pp. 17–28. Canterbury University Press.
- Klimley, A.P. (1987). The determinants of sexual segregation in the scalloped hammerhead shark, *Sphyrna lewini*. *Environmental Biology of Fishes* 18, 27–40.

- Klingenberg, C.P. (2009). Morphometric integration and modularity in configurations of landmarks: tools for evaluating a-priori hypotheses. *Evolution & Development* 11, 405–421.
- Klingenberg, C.P., Monteiro, L.R. (2005). Distances and directions in multidimensional shape spaces: implications for morphometric applications. *Systematic Biology* 54, 678–688.
- Knip, D.M., Heupel, M.R., Simpfendorfer, C.A. (2010). Sharks in nearshore environments: models, importance, and consequences. *Marine Ecology Progress Series* 402, 1–11.
- Knoff, M., Carmona De Sao Clemente, S., Magalhães Pinto, R., Corrêa Gomes, D. (2002). Prevalência e intensidade de infecção de cestóides Trypanorhyncha de elasmobrânquios nos estados do Paraná e Santa Catarina, Brasil. *Parasitología Latinoamericana* 57, 149–157.
- Knoff, M., Carmona De Sao Clemente, S., Magalhães Pinto, R., Corrêa Gomes, D. (2004). Registros taxonômicos de cestóides Trypanorhyncha/Homeacanthoidea em elasmobrânquios coletados na costa do Estado do Paraná, Brasil. *Parasitología Latinoamericana* 59, 31–36.
- Knoff, M., Carmona De Sao Clemente, S., Magalhães Pinto, R., Corrêa Gomes, D. (2002). Prevalência e intensidade de infecção de cestóides Trypanorhyncha de elasmobrânquios nos estados do Paraná e Santa Catarina, Brasil. *Parasitología Latinoamericana* 57, 149–157
- Knoff, M., Carmona De Sao Clemente, S., Magalhães Pinto, R., Corrêa Gomes, D. (2004). Registros taxonômicos de cestóides Trypanorhyncha/Homeacanthoidea em elasmobrânquios coletados na costa do Estado do Paraná, Brasil. *Parasitología Latinoamericana* 59, 31–36.
- Knoff, M., São Clemente, S.C.D., Pinto, R.M., Gomes, D.C. (2001a). Nematodes of elasmobranch fishes from the southern coast of Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 96, 81–87.
- Knoff, M., São Clemente, S.C.D., Pinto, R.M., Gomes, D.C. (2001a). Nematodes of elasmobranch fishes from the southern coast of Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 96, 81–87.
- Knoff, M., São Clemente, S.C.D., Pinto, R.M., Gomes, D.C. (2001b). Digenea and Acanthocephala of elasmobranch fishes from the southern coast of Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 96, 1095–1101.
- Knoff, M., São Clemente, S.C.D., Pinto, R.M., Gomes, D.C. (2001b). Digenea and Acanthocephala of elasmobranch fishes from the southern coast of Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 96, 1095–1101.
- Knowles, L. (2004). The burgeoning field of statistical phylogeography. *Journal of Evolutionary Biology* 17, 1–10.
- Kochzius, M., Seidel, C., Antoniou, A., Botla, S.K., Campo, D., Cariani, A., Vazquez, E.G., Hauschild, J., et al. (2010). Identifying fishes through DNA barcodes and microarrays. *PLoS One* 5, e12620.
- Koen Alonso, M., Crespo, E.A., García, N.A., Pedraza, S.N., Mariotti, P.A., Berón Vera, B., Mora, N.J. (2001). Food habits of *Dipturus chilensis* (Pisces: Rajidae) off Patagonia, Argentina. *ICES Journal of Marine Science* 58, 288–297.
- Kohn, A., Fernandes, B.M.M., Cohen, S.C. (2007). *South American trematodes parasites of fishes*. Rio de Janeiro: Imprinta Express.
- Kohn, A., Fernandes, B.M.M., Cohen, S.C. (2007). *South American trematodes parasites of fishes*. Rio de Janeiro: Imprinta Express.

- Køie, M. (1983). Digenetic trematodes from *Limanda limanda* (L.) (Osteichthyes, Pleuronectidae) from Danish and adjacent waters, with special reference to their life histories. *Ophelia* 22, 201–228
- Kopelman, N.M., Mayzel, J., Jakobsson, M., Rosenberg, N.A., Mayrose, I. (2015). CLUMPAK: a program for identifying clustering modes and packaging population structure inferences across K. *Molecular Ecology Resources* 15, 1179–1191.
- Krebs, C. 1989. *Ecological methodology*. Harper & Row: Nueva York.
- Krebs, C. J., Hickman, G. C., Hickman, S. M. (1994). *Ecology: the experimental analysis of distribution and abundance* (Vol. 4). New York: HarperCollins College Publishers.
- Krefft, G. (1978). Distribution patterns of oceanic fishes in the Atlantic Ocean. Selected problems. *Revue des Travaux de l'Institut des Pêches Maritimes* 40, 439-460.
- Krefft, G., Stehmann, M. (1975). Ergebnisse der Forschungsreisen des FFS "Walther Herwig" nach Südamerika. XXXVI. Zwei weitere neue Rochenarten aus dem Südwestatlantik: *Raja* (*Dipturus*) *leptocauda* und *Raja* (*Dipturus*) *trachyderma* spec. nov. (Chondrichthyes, Rajidae). *Archiv für Fischereiwissenschaft* 25, 77–97.
- Kreiner, A., Van del Lingen, C.D., Fréon, P. (2001). A comparison of condition factor and gonadosomatic index of sardine *Sardinops sagax* stocks in the northern and southern Benguela upwelling ecosystems, 1984-1999. *South African Journal of Marine Science* 23, 123–134.
- Kyne, P.M., Courtney, A.J., Bennett, M.B. (2008). Aspects of reproduction and diet of the Australian endemic skate *Dipturus polyommata* (Ogilby) (Elasmobranchii: Rajidae), by-catch of a commercial prawn trawl fishery. *Journal of Fish Biology* 72, 61–77.
- Kyne, P.M., Lamilla, J., Licandeo, R.R., San Martín, M.J., Stehmann, M.F.W., McCormack, C. (2007). *Zearaja chilensis*. The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2014.2. Available at www.iucnredlist.org (Accessed 25 Sep 2014).
- Kyne, P.M., Simpfendorfer, C.A. (2007). *A collation and summarization of available data on deepwater Chondrichthyans: biodiversity, life history and fisheries*. IUCN Shark Specialist Group. Available at <http://www.flmnh.ufl.edu/fish/organizations/ssg/deepchondreport.pdf> (accessed 25 Sep 2014).
- Kyne, P.M., Simpfendorfer, C.A. (2010). Deepwater chondrichthyans. In *Biology of Sharks and their relatives II: Biodiversity, Adaptive Physiology, and Conservation* (Carrier, J.C., Musick, J.A., Heithaus, M.R., eds.), pp. 37–113. Boca Raton, FL: CRC Press.
- Labropoulou, M., Eleftheriou, A. (1997). The foraging ecology of two pairs of congeneric demersal fish species: importance of morphological characteristics in prey selection. *Journal of Fish Biology* 50, 324-340.
- Lamilla, J. (1986). *Bathyraja albomaculata* (Norman, 1937). Primer registro para las costas de Chile (Chondrichthyes, Rajidae). *Boletín de la Sociedad de Biología de Concepción* 57, 177–182.
- Lamilla, J. (2005). *Monitoreo de los patrones reproductivos de Dipturus chilensis y Dipturus trachyderma en la zona de Valdivia*. Informe Técnico (P. Inv.) 256-05. Valdivia: Universidad Austral de Chile.
- Lamilla, J., Bustamante, C. (2005) Guía para el reconocimiento de tiburones, rayas y quimeras de Chile. *Oceana* 17, 1–80.

- Lamilla, J., Flores, H. (2011). *Prospección de los recursos Zearaja chilensis, Dipturus trachyderma y Bathyraja albomaculata y el marcaje como una herramienta de estudio de la distribución espacial en el litoral de la Región de Los Ríos*. Informe Técnico (P. Inv.). Valdivia: Universidad Austral de Chile.
- Lamilla, J., Massa, A. (2007). *Dipturus trachydermus*. The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2014.2 Available at www.iucnredlist.org (Accessed 25 Sep 2014).
- Lamilla, J., Meléndez, R.C. (1989). Primer registro de *Dasyatis violacea* (Bonaparte, 1832) (Myliobatiformes: Dasyatidae), en las cercanías de Isla de Pascua. *Estudios Oceanológicos*. 8, 45–50.
- Lamilla, J., Sáez, S. (2003) Clave taxonómica para el reconocimiento de especies de rayas chilenas (Chondrichthyes, Batoidei). *Investigaciones Marinas, Valparaíso* 31, 3–16.
- Lamilla, J., Pequeño, G., Kong, I. (1995). *Dasyatis brevis* (Garman, 1880) segunda especie de Dasyatidae registrada para Chile (Chondrichthyes, Myliobatiformes). *Estudios Oceanológicos* 14, 23–27.
- Lamilla, J., Calderon, F., Gaete, F., Licandeo, R., Perez, J., Olivares, E., Sanhueza, E., CurihuaL, T. (2002). *Áreas de pesca, alimentación, biología reproductiva de Dipturus chilensis (Guichenot, 1848) y descripción de la flota artesanal de Queule, Bahía Mansa, y Valdivia*. Informe Técnico (P. Inv.) Valdivia: Universidad Austral de Chile.
- Lamilla, J., Bustamante, C., Concha, F. (2006). *Monitoreo de los parámetros reproductivos de Dipturus chilensis Guichenot, 1848 y Dipturus trachyderma Krefft & Stehmann, 1974 en la zona de Valdivia*. Informe Técnico (P. Inv.). Valdivia: Universidad Austral de Chile.
- Lamilla, J., Bustamante, C., Flores, H., Roa, R. (2009). *Estimación del descarte en la pesquería artesanal de Raya volantín Dipturus (Zearaja) chilensis (Guichenot, 1848) en el litoral de la Región de Los Ríos*. Informe Técnico (P. Inv.) 1368-09. Valdivia: Universidad Austral de Chile.
- Lamilla, J., Acuña, E., Araya, M., Oliva, M., Kong, I., Villaroel, J.C., Hernández, S., Concha, F., Vögler, R., Bustamante, C., Mutchke, E. (2005). *Lineamientos básicos para desarrollar el Plan de Acción Nacional de Tiburones*. Proyecto del Fondo de Investigación Pesquera (F.I.P.) N° 2004-18. Valparaíso: Subsecretaría de Pesca.
- Lamilla, J., Roa, R., Barría, P., Bustamante, C., Concha, F., Cortes, E., Acuña, E., Balbontín, F., Oliva, M., Araya, M., Meléndez, R. (2008). *Desarrollo metodológico para la estimación del descarte de Condrictios en las pesquerías artesanales*. Informe Técnico FIP 2006-31. UACH: Valdivia. Available at <http://www.fip.cl/Proyectos.aspx> (accessed 25 Sep 2014).
- Lamilla, J., Bustamante C., Roa R., Acuña E., Concha F., Meléndez R., López, S., Aedo G., Flores H., Vargas-Caro C. (2010). *Estimación del descarte de condrictios en pesquerías artesanales*. Informe Técnico FIP 2008-60. UACH: Valdivia. Available at <http://www.fip.cl/Proyectos.aspx> (accessed 25 Sep 2014).
- Lamilla, J., Barría, C., Flores, H. (2011). *Monitoreo biológico de los recursos raya volantín Zearaja chilensis y raya espinosa Dipturus trachyderma en el litoral de la región de Los Ríos*. Informe Técnico (P. Inv.) 318-11. Valdivia: Universidad Austral de Chile.
- Lamilla, J., Flores, H., Garcés, E., Miranda, M. (2012a). *Patrones de distribución espacio temporal de Zearaja chilensis y Dipturus trachyderma en el área marítima de la región de Magallanes y la Antártica chilena*. Informe Técnico (P. Inv.) 2597-12. Valdivia: Universidad Austral de Chile.

- Lamilla, J., Flores, H., Miranda, M., Garcés, E. (2012b). *Patrones de distribución espacio-temporal de Zearaja chilensis y Dipturus trachyderma en el área marítima de la Región de Aysén del General Carlos Ibáñez del Campo*. Informe Técnico (P. Inv.) 2876-12. Valdivia: Universidad Austral de Chile.
- Lande, R. (1995). Mutation and conservation. *Conservation Biology* 9, 782–791.
- Lang, A., Habegger, M., Motta, P. (2012). Shark skin drag reduction. In *Encyclopedia of Nanotechnology* Vol. 19 (Bhushan, B., ed.), pp. 2394–2400. Berlin: Springer.
- Langton, R.W. (1982). Diet overlap between the Atlantic cod *Gadus Morta*, silver hake *Merluccius bilinearis* and fifteenth other northwest Atlantic finfish. *Fishery Bulletin* 80, 745-759
- Last, P.R. (2007). The state of chondrichthyan taxonomy and systematics. *Marine and Freshwater Research* 58, 7–9.
- Last, P.R. (2008). New short-snout members of the skate genus *Dipturus* (Rajoidei: Rajidae) from Australian seas. In *Descriptions of New Australian Skates (Batoidea: Rajoidei)* (Last, P.R., White, W.T., Pogonoski, J.J., Gledhill, D.C., Eds.). pp. 53–98. Hobart: CSIRO Marine & Atmospheric Research Paper.
- Last, P.R., Alava, M. (2013). *Dipturus amphispinus* sp. nov., a new longsnout skate (Rajoidei: Rajidae) from the Philippines. *Zootaxa*, 3752, 214–227.
- Last, P.R., Gledhill, D. (2007). The Maugean skate, *Zearaja maugeana* sp. nov. (Rajiformes: Rajidae)– a micro endemic Gondwanan relict from Tasmanian estuaries. *Zootaxa* 1494, 45–65.
- Last, P.R., Stevens, J.D. (2009). *Sharks and Rays of Australia*, 2nd edn. Collingwood: CSIRO Publishing.
- Last, P.R., White, W.T. (2008). Resurrection of the genus *Neotrygon castelnaui* (Myliobatoidei: Dasyatidae) with the description of *Neotrygon picta* sp. nov., a new species from Northern Australia. In *Descriptions of new Australian skates (Batoidea: Rajoidea)* (Last, P.R., White, W.T., Pogonoski, J., Gledhill, D.C., Eds.), pp. 315–325. CSIRO Marine and Atmospheric Research: Hobart, Australia.
- Last, P.R., White, W.T., Caira, J.N., Dharmadi, Fahmi, Jensen, K., Lim, A.P.K., Manjaji-Matsumoto, M.B., Naylor, G.J.P., Pogonoski, J.J., Stevens, J.D., Yearsley, G.K. (2010). *Sharks and Rays of Borneo*. Collingwood: CSIRO Publishing.
- Last, P.R., White, W.T., Pogonoski, J.J., Gledhill, D.C. (2008a). *Descriptions of new Australian skates (Batoidea: Rajoidei)*. Hobart: CSIRO Marine & Atmospheric Research Paper.
- Last, P.R., White, W.T., Pogonoski, J.J., Gledhill, D.C. (2008b). New Australian skates (Batoidea: Rajoidei): background and methodology. In *Descriptions of New Australian Skates (Batoidea: Rajoidei)* (Last, P.R., White, W.T., Pogonoski, J.J., Gledhill, D.C., Eds). pp. 1–8. Hobart: CSIRO Marine & Atmospheric Research Paper.
- Last, P.R., Yearsley, G.K. (2002). Zoogeography and relationships of Australasian skates (Chondrichthyes: Rajidae). *Journal of Biogeography* 29, 1627–1641.
- Lavery, S. (1992). Electrophoretic analysis of phylogenetic relationships among Australian Carcharhinid sharks. *Australian Journal of Marine and Freshwater Research* 43, 97–108.

- Lavery, S., Shaklee, J.B. (1989). Population genetics of two tropical sharks, *Carcharhinus tilstoni* and *C. sorrah*, in Northern Australia. *Australian Journal of Marine and Freshwater Research* 40, 541–557.
- Lavery, S., Shaklee, J.B. (1991). Genetic evidence for separation of two sharks, *Carcharhinus limbatus* and *C. tilstoni*, from Northern Australia. *Marine Biology* 108, 1–4.
- Le, H.L.V., Lecointre, G., Perasso, R. (1993). A 28S rRNA-based phylogeny of the gnathostomes: first steps in the analysis of conflict and congruence with morphologically based cladograms. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 2, 31–51.
- Legget, W.C., Carscadden, J.E. (1978). Latitudinal variation in reproductive characteristics of American shad (*Alosa spidissima*): evidence for population specific life history strategies in fish. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada* 35, 1469–1478.
- Lehodey, P., Grandperrin, R., Marchal, P (1997). Reproduction biology and ecology of a deep-demersal fish, alfonsino *Beryx splendens*, over the seamunts off New Caledonia. *Marine Biology* 128, 17–27.
- Leible, M.D. (1984). *Taxonomía de las rayas (Chondrichthyes, Rajiformes, Rajidae) del Pacífico suroriental, que habitan aguas entre los paralelos 33 y 41° de latitud sur*. Barcelona: Universitat de Barcelona.
- Leible, M.D. (1987). Descripción taxonómica de juveniles y adultos de *Raja (Dipturus) flavirostris* Philippi, 1892 (Rajiformes, Rajidae), capturados frente a la costa de Chile Central. *Gayana, Zoología* 51, 131–176.
- Leible, M.D. (1988). Revisión de métodos para estudios taxonómicos de rayas (Rajiformes, Rajidae). *Gayana, Zoología* 52, 15–93.
- Leible, M.D., Carvajal, J., Fuentealba, M. (1990). Polimorfismo en *Raja (Dipturus) flavirostris* Philippi 1892: Análisis morfológico y parasitario. *Boletín de la Sociedad de Biología de Concepción* 61, 93–102.
- Leible, M.D., Stehmann, M. (1987). First records of *Raja (Dipturus) trachyderma* Krefft and Stehmann, 1975 from the southeastern Pacific off Chile, with first descriptions of its clasper characters and additional skeletal and morphological details (Pisces, Rajiformes, Rajidae). *Studies on Neotropical Fauna and Environment* 22, 169–188.
- Lepais, O., Bacles, C.F.E. (2011). Comparison of random and SSR-enriched shotgun pyrosequencing for microsatellite discovery and single multiplex PCR optimization in *Acacia harpophylla* F. Muell. Ex Benth. *Molecular Ecology Resources* 11, 711–724.
- Lester, R.J.G. (1990). Reappraisal of the use of parasites for fish stock identification. *Marine and Freshwater Research* 41, 855–864.
- Li, Y.-C., Korol, A.B., Fahima, T., Beiles, A., Nevo, E. (2002). Microsatellites: genomic distribution, putative functions and mutational mechanisms: a review. *Molecular Ecology* 11, 2453–2465.
- Librado, P., Rozas, J. (2009). DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics* 25, 1451–1452.
- Licandeo, R., Cerna, F.T. (2007). Geographic variation in life-history traits of the endemic kite skate *Dipturus chilensis* (Batoidea: Rajidae), along its distribution in the fjords and channels of southern Chile. *Journal of Fish Biology* 71, 421–440.

- Licandeo, R., Cerna, F., Céspedes, R. (2007). Age, growth, and reproduction of the roughskin skate, *Dipturus trachyderma*, from the southeastern Pacific. *ICES Journal of Marine Science* 64,141–148.
- Licandeo, R., Lamilla, J., Rubilar, P.G., Vega, R. (2006). Age, growth, and sexual maturity of the yellownose skate *Dipturus chilensis* in the south-eastern Pacific. *Journal of Fish Biology* 68, 488–506.
- Liu, N.J., Chen, L., Wang, S., Oh, C.G., Zhao, H.Y. (2005). Comparison of single nucleotide polymorphisms and microsatellites in inference of population structure. *BMC Genetics* 6(Suppl. 1), S26.
- Lloris, D., Rucabado, J. (1991). Ictiofauna del Canal Beagle (Tierra de Fuego): aspectos ecológicos y análisis biogeográfico. *Publicaciones especiales Instituto Español de Oceanografía* 8, 1–182.
- Lönnberg, E. (1907). Ergebnisse der Hamburger Magalhaensischen Sammelreise 1892/93. *Fische I*: 1–16.
- López, H.L., García, M.L., San Román, N.A. (1989). Ictiofauna del canal Beagle (Sector Argentino). *Neotropica* 35, 1–50.
- López, H.L., García, M.L., San Román, N.A. (1996). Lista comentada de la ictiofauna del Canal Beagle, Tierra del Fuego, Argentina. *Publicación Especial, CADIC, Contribución Científica* 23, 1–84.
- López, J.A., Ryburn, J.A., Fedrigo, O., Naylor, G.J.P. (2006). Phylogeny of sharks of the family Triakidae (Carcharhiniformes) and its implications for the evolution of carcharhiniform placental viviparity. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 40, 50–60.
- López, J.V., Yuhki, N., Masuda, R., Modi, W., O'Brien, S.J. (1994). Numt, a recent transfer and tandem amplification of mitochondrial DNA to the nuclear genome of the domestic cat. *Journal of Molecular Evolution* 39, 174–190.
- López, R.B. (1963a). Problemas sobre la distribución geográfica de los peces marinos sudamericanos. *Revista del Museo Argentino de Ciencias Naturales* 1, 109–135.
- López, R.B. (1963b). *Recursos acuáticos vivos: peces marinos de la República Argentina*. Buenos Aires: CFI.
- Lowe, W.H., Allendorf, F.W. (2010). What can genetics tell us about population connectivity? *Molecular Ecology* 19, 3038–3051.
- Lucifora, L.O., Valero, J.L., Bremec, C.S., Lasta, M.L. (2000). Feeding habits and prey selection by the skate *Dipturus chilensis* (Elasmobranchii: Rajidae) from the south-western Atlantic. *Journal of the Marine Biological Association of the UK* 80, 953–954.
- Luer, C.A. (Ed.) (1989). *Elasmobranchs (Sharks, Skates, and Rays) as Animal Models for Biomedical Research*. Boca Raton, FL: CRC Press, Inc.
- Luikart, G., England, P.R., Tallmon, D., Jordan, S., Taberlet, P. (2003). The power and promise of population genomics: from genotyping to genome typing. *Nature Reviews Genetics* 4, 981–994.
- Luikart, G., Ryman, N., Tallmon, D.A., Schwartz, M.K., Allendorf, F.W. (2010). Estimation of census and effective population sizes: the increasing usefulness of DNA-based approaches. *Conservation Genetics* 11, 355–373.
- Luikart, G., Sherwin, W.B., Steele, B.M., Allendorf, F.W. (1998). Usefulness of molecular markers for detecting population bottlenecks via monitoring genetic change. *Molecular Ecology* 7, 963–974.

- Mabragaña, E., Díaz de Astarloa, J.M., Hanner, R., Zhang, J., González-Castro, M. (2011a). DNA barcoding identifies Argentine fishes from marine and brackish waters. *PLoS One* 6, e28655.
- Mabragaña, E., Figueroa, D.E., Scenna, L.B., Díaz de Astarloa, J.M., Colonello, J.H., Massa, A.M. (2009). *Clave de identificación de cápsulas de huevos de condriictios del Mar Argentino*. Mar del Plata, Argentina: INIDEP.
- Mabragaña, E., Figueroa, D.E., Scenna, L.B., Díaz de Astarloa, J.M., Colonello, J.H., Delpiani, G. (2011b). Chondrichthyan egg cases from the south-west Atlantic Ocean. *Journal of Fish Biology* 79, 1261–90.
- MacDonald, C.M. (1988). Genetic variation breeding structure and taxonomic status of the gummy shark *Mustelus antarcticus* in southern Australian waters. *Australian Journal of Marine and Freshwater Research* 39, 641–648.
- Mace, P.M. (2004). In defence of fisheries scientists, single species models and other scapegoats: confronting the real problems. *Marine Ecology Progress Series* 274, 285–291.
- MacKenzie, K. (1983). Parasites as biological tags in fish population studies. *Advances in Applied Biology* 7, 251–331.
- MacKenzie, K. (1987). Relationships between the herring, *Clupea harengus* L., and its parasites. *Advances in Marine Biology* 24, 263–319.
- MacKenzie, K. (2002). Parasites as biological tags in population studies of marine organisms: an update. *Parasitology* 124, 153–163.
- MacKenzie, K., Abaunza, P. (1998). Parasites as biological tags for stock discrimination of marine fish: a guide to procedures and methods. *Fishery Research* 38, 45–56.
- MacKenzie, K., Abaunza, P. (2013). Parasites as Biological Tags. In *Stock identification methods: applications in fishery science* (Cadrin, S.X., Kerr, L.A., Mariani, S., Eds.), pp 185–203. US: Academic Press.
- Madirolas, A., Hansen, J.E. (2000). Sardina fueguina (*Sprattus fuegensis*). En *Síntesis del estado de las pesquerías marítimas argentinas y de la Cuenca del Plata, años 1997- 1998, con una actualización de 1999* (Bezzi, S., Akselman, R., Boschi, E., Eds.). Instituto Nacional de Investigación y Desarrollo Pesquero, Mar del Plata, Argentina
- Magnussen, J.E., Pikitch, E.K., Clarke, S.C., Nicholson, C., Hoelzel, A.R., Shivji, M.S. (2007). Genetic tracking of basking shark products in international trade. *Animal Conservation* 10, 199–207.
- Magoč, T., Salzberg, S.L. (2011). FLASH : fast length adjustment of short reads to improve genome assemblies. *Bioinformatics* 27, 2957–2963.
- Manel, S., Schwartz, M.K., Luikart, G., Taberlet, P. (2003). Landscape genetics: combining landscape ecology and population genetics. *Trends in Ecology & Evolution* 18, 189–197.
- Mann, G. (1954). *La vida de los peces en aguas chilenas*. Santiago: Instituto de Investigaciones Veterinarias y Universidad de Chile.
- Mardis, E.R. (2008). The impact of next-generation sequencing technology on genetics. *Trends in Genetics* 24, 133–141.
- Mardis, E.R. (2011). A decade's perspective on DNA sequencing technology. *Nature* 470, 198 – 203.

- Margulies, M., Egholm, M., Altman, W.E., Attiya, S., Bader, J.S., Bemben, L.A., Berka, J., Braverman, et al. (2005). Genome sequencing in microfabricated high-density picolitre reactors. *Nature* 437, 376–380.
- Marini, T.L. (1933). Rectificando errores ictiológicos. *Physis* 11, 328–332.
- Martin, A.P., Naylor, G.J.P., Palumbi, S.R. (1992). Rates of mitochondrial DNA evolution in sharks are slow compared with mammals. *Nature* 357, 153–155.
- Massa, A.M., Hozbor, N.M. (2003). Peces cartilagosos de la plataforma Argentina: explotación, situación y necesidades para un manejo pesquero adecuado. *Revista del Frente Marítimo* 19, 199–206.
- Massa, A.M., Lucífora, L.O., Hozbor, N.M., Sánchez, R., Bezzi, S. (2004). Condrictios de la región costera bonaerense y uruguaya. *El Mar Argentino y sus recursos pesqueros* 4, 85–100.
- Matta, M.E., Gunderson, D.R. (2007) .Age, growth, maturity, and mortality of the Alaska skate, *Bathyraja parmifera*, in the eastern Bering Sea. *Environmental Biology of Fishes* 80, 309–323.
- Mayr, E. (1970). *Populations, Species and Evolution*. Cambridge, MA: Harvard Univeristy Press.
- Mayr, E. (2000). A critique from the Biological Species Concept Perspective: What Is a Species, and What Is Not? *In Species Concepts and Phylogenetic Theory* (Wheeler, Q.D., Meier, R., Eds.), pp. 133-145. New York: Columbia University Press.
- McCallum, H. (2000). *Population Parameters. Estimation for Ecological Models*. Blackwell Science.
- McEachran, J.D. (1977). Reply to 'Sexual dimorphism in skates (Rajidae)'. *Evolution* 31, 218–220.
- McEachran, J.D. (1982). Revision of the South American skate genus *Sympterigia* (Elasmobranchii, Rajiformes). *Copeia* 1982, 867–890.
- McEachran, J.D. (1983). Results of the research cruises of FRV "Walther Herwig" to South America. LXI. Revision of the South American skate genus *Psammobatis* Günther, 1870 (Elasmobranchii: Rajiformes, Rajidae). *Archiv für Fischereiwissenschaft* 34, 23–80.
- McEachran, J.D., Aschliman, N. (2004). Phylogeny of Batoidea. *In Biology of Sharks and Their Relatives* (Carrier, J.C., Musick, J.A. & Heithaus, M.R., Eds.), pp. 79–114. Boca Raton, FL: CRC Press.
- McEachran, J.D., Carvalho, M.D. (2002). *Batoid fishes. The living marine resources of the Western Central Atlantic*. Rome: FAO Species identification guide for fishery purposes and American Society of Ichthyologists and Herpetologists Special Publication.
- McEachran, J.D., Dunn, K.A. (1998). Phylogenetic analysis of skates, a morphologically conservative clade of elasmobranchs (Chondrichthyes: Rajidae). *Copeia* 271–290.
- McEachran, J.D., Konstantinou, H. (1996). Survey of the variation in alar and malar thorns in skates: phylogenetic implications (Chondrichthyes: Rajoidei). *Journal of Morphology* 228, 165–178.
- McEachran, J.D., Miyake, T. (1990). Phylogenetic interrelationships of skates: A working hypothesis (Chondrichthyes, Rajoidei). *In Elasmobranchs as living resources: advances in the biology, ecology, systematics, and the status of fisheries* (Pratt, Jr., H. L., Gruber, S. H., Taniuchi, T., eds.) pp. 285–304. U.S. Department of Commerce: NOAA Technical Report NMFS 90.
- McFarlane, G.A., King, J.R. (2006). Age and growth of big skate (*Raja binoculata*) and longnose skate (*Raja rhina*) in British Columbia waters. *Fisheries Research* 78, 169–178

- Megléczy, E., Pech, N., Gilles, A., Dubut, V., Hingamp, P., Trilles, A., Grenier, R., Martin, J.F. (2014) QDD version 3.1: a user-friendly computer program for microsatellite selection and primer design revisited: experimental validation of variables determining genotyping success rate. *Molecular Ecology Resources* 14, 1302–1313.
- Melo, T., Silva, N., Muñoz, P., Díaz-Naveas, J., Sellanes, J., Bravo, A., Lamilla, J., Sepúlveda, J., Vögler, R., Guerrero, Y., Bustamante, C., et al. (2007). *Caracterización del fondo marino entre la III y X Regiones*. PUCV: Valparaíso. Informe Técnico FIP 2005-61. Available at <http://www.fip.cl/Proyectos.aspx> (accessed 25 Sep 2014).
- Mendonça, F.F., Hashimoto, D.T., Porto-Foresti, F., Oliveira, C., Gadig, O.B.F, Foresti, F. (2009). Identification of the shark species *Rhizoprionodon lalandii* and *R. porosus* (Elasmobranchii, Carcharhinidae) by multiplex PCR and PCR-RFLP techniques. *Molecular Ecology Resources* 9, 771–773.
- Meneses, P., Paesch, L. (1999). Características de las especies obtenidas como captura incidental en las campañas de evaluación dirigidas a merluza, corvina y pescadilla. En Estudios realizados sobre los elasmobranchios dentro del Río de la Plata y la zona común de pesca Argentino-Uruguay en el marco del "Plan de Investigación pesquera" (Arena, G., Rey, M., Eds.), pp. 23–61. Montevideo: INAPE; PNUD. URU/92/003.
- Meneses, P., Paesch, L. (2003). Guía de campo para la identificación de peces cartilaginosos en el Río de la Plata y su Frente Oceanico. *Frente Marítimo* 19, 145–193.
- Menni, R.C. (1971), Anatomía del mixoptergio y posición sistemática de *Raja (Dipturus) flavirostris* Phillipi, 1892. *Neotropica*, 17, 39–43.
- Menni, R.C. (1972). "*Raja*" ("*Atlantoraja*") subgen. nov. y lista crítica de los "Rajidae" argentinos (Chondrichthyes, Rajiformes). *Revista del Museo de La Plata. Sección Zoología* 11, 165–173.
- Menni, R.C. (1973). Rajidae del litoral bonaerense. I. Especies de los géneros *Raja*, *Bathyraja* y *Sympterygia* (Chondrichthyes). *Physis, Sección A* 32, 413–439.
- Menni, R.C. (1981). Sobre la distribución de los peces marinos de la Argentina. In *Symposia, VI Jornadas Argentinas de Zoología*, pp. 57-73. La Plata: Ramos Editorial.
- Menni, R.C., Gosztonyi, A.E. (1977). Nuevas localidades para *Raja trachyderma* y *Lamna nasus* (Chondrichthyes, Rajidae y Lamnidae). *Neotropica* 28, 65–68.
- Menni, R.C., Gosztonyi, A.E. (1982). Benthic and semidemersal fish associations in the Argentine Sea. *Studies on Neotropical Fauna and Environment* 17, 1–29.
- Menni, R.C., Jaureguizar, A.J., Stehmann, M.F., Lucifora, L.O. (2010). Marine biodiversity at the community level: zoogeography of sharks, skates, rays and chimaeras in the southwestern Atlantic. *Biodiversity and Conservation* 19, 775–796.
- Menni, R.C., López, H.L. (1979). Biological data and Otolith (Sagitta) morphology of *Polyprion americanus* and *Schedophilus griseolineatus* (Osteichthyes, Serranidae and Centrolophidae) 1. *Studies on Neotropical Fauna and Environment* 14, 17–32.
- Menni, R.C., López, H.L. (1984). Distributional patterns of Argentine marine fishes. *Physis (Buenos Aires)* 42, 71–85.
- Menni, R.C., López, H.L., García, M.L. (1981). Lista comentada de las especies de peces colectadas durante la campaña V del B/I 'Shinkai Marú' en el Mar Argentino (25/8–15/9/1978). In

Campañas de Investigación Pesquera Realizadas en el Mar Argentino por los B/I 'Shinkai Marú y el B/P "Marburg", Años 1978 y 1979. Resultados de la parte Argentina (Angelescu, V., ed.), pp. 267–280. Montevideo: INIDEP 383.

Menni, R.C., Lucífora, L. (2007). *Condrictios de la Argentina y Uruguay*. ProBiota: La Plata, Argentina.

Menni, R.C., Ringuet, R.A., Arámburu, R.H. (1984). *Peces marinos de la Argentina y Uruguay. Reseña histórica. Clave de familias, géneros y especies. Catálogo crítico*. Buenos Aires: Hemisferio Sur.

Menni, R.C., Stehmann, M.F. (2000). Distribution, environment and biology of batoid fishes off Argentina, Uruguay and Brazil. A review. *Revista del Museo Argentino de Ciencias Naturales* 2, 69–109.

Metzker, M.L. (2010). Sequencing technologies-the next generation. *Nature Reviews Genetics* 11, 31–46.

Miller, C.R., Waits, L.P. (2003). The history of effective population size and genetic diversity in the Yellowstone grizzly (*Ursus arctos*): implications for conservation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 100, 4334–4339.

Miller, S.A., Dykes, D.D. & Polesky, H.F.R.N. (1988). A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Research* 16, 1215.

Mills, L.S., Allendorf, F.W. (1996). The one migrant per generation rule in conservation and management. *Conservation Biology* 10, 1509–1518.

Mindell, D.P., Sorenson, M.D., Huddleston, C.J., Miranda, H.C., Knight, A., *et al.* (1997) Phylogenetic relationships among and within select avian orders based on mitochondrial DNA. *In Avian Molecular Evolution and Systematics* (Mindell, D.P., Ed), pp. 213–247. San Diego, CA: Academic Press.

Miracle, A.L., Anderson, M.K., Litman, R.T., Walsh, C.J., Luer, C.A., Rothenberg, E.V., Litman, G.W. (2001). Complex expression patterns of lymphocyte-specific genes during the development of cartilaginous fish implicate unique lymphoid tissues in generating an immune repertoire. *International Immunology* 13, 567–580.

Miyake, T. (1988). *The systematics of the stingrays genus Urotrygon with comments on the interrelationship within Urolophidae (Chondrichthyes, Myliobatiformes)*. Texas A&M University, College Station. Texas: US.

Miyake, T., McEachran, J.D. (1991). The morphology and evolution of the ventral gill arch skeleton in batoid fishes (Chondrichthyes: Batoidea). *Zoological Journal of Linnean Society* 102, 75–100.

Moore, A. (2001). Metazoan parasites of the lesser-spotted dogfish *Scyliorhinus canicula* and their potential as stock discrimination tools. *Journal of the Marine Biological Association of the UK* 81, 1009–1013.

Moore, W.S. (1995) Inferring phylogenies from mtDNA variation: mitochondrial genes versus nuclear-gene trees. *Evolution* 49, 718–26.

Moreira, R.A., Gomes, U.L., Carvalho, M.R.D. (2011). Morphological description of *Dipturus mennii* (Chondrichthyes: Elasmobranchii: Rajidae) and its differentiation from *Dipturus trachyderma*. *Zoologia (Curitiba, Impresso)* 28, 97–111.

- Morey, J.S., Ryan, J.C., Van Dolah, F.M. (2006). Microarray validation: factors influencing correlation between oligonucleotide microarrays and real-time PCR. *Biological Procedures Online* 8, 175–193.
- Morgan, J., Harry, A., Welch, D., Street, R., White, J., Geraghty, P.T., Macbeth, W.G., Broderick, D., Tobin, A., Simpfendorfer, C.A., Ovenden, J.R. (2012). Detection of interspecies hybridisation in Chondrichthyes: hybrids and hybrid offspring between Australian (*Carcharhinus tilstoni*) and Common (*C. limbatus*) blacktip shark found in an Australian fishery. *Conservation Genetics* 13, 455–463.
- Morgan, J.A.T., Macbeth, G.M., Broderick, D., Whatmore, P., Street, R., Welch, D.J., Ovenden, J.R. (2013). Hybridisation, paternal leakage and mitochondrial DNA linearization in three anomalous fish (Scombridae). *Mitochondrion* (in press) doi: 10.1016/j.mito.2013.06.002.
- Morgan, J.A.T., Welch, D., Harry, A., Street, R., Broderick, D., Ovenden, J.R. (2011). Species-identification assay for Australian blacktip sharks, *Carcharhinus tilstoni*, *C. limbatus* and *C. amblyrhynchoides*, using real-time PCR and high-resolution melt analysis. *Molecular Ecology Resources* 11, 813–819.
- Morin, P.A., Luikart, G., Wayne, R.K., Grp, S.W. (2004). SNPs in ecology, evolution and conservation. *Trends in Ecology & Evolution* 19, 208–216.
- Morin, P.A., McCarthy, M. (2007). Highly accurate SNP genotyping from historical and low-quality samples. *Molecular Ecology Notes* 7, 937–946.
- Moritz, C. (1994) Defining 'evolutionary significant units' for conservation. *Trends in Ecology and Evolution* 9, 373–375.
- Moritz, C. (1995) Uses of molecular phylogenies for conservation. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B* 349, 113–118.
- Moritz, C. (1999) Conservation units and translocations: strategies for conserving evolutionary processes. *Hereditas* 130, 217–228.
- Moritz, C., Cicero, C. (2004). DNA barcoding: promises and pitfalls. *PLoS Biology* 2, e354.
- Moser, M. (1991). Parasites as biological tags. *Parasitology Today* 7, 182–185.
- Mosquera, J., de Castro, M., Gómez-Gesteira, M. (2003). Parasites as biological tags of fish populations: Advantages and limitations. *Comments on Theoretical Biology* 8, 69–91.
- Motta, P.J. (2004). Prey capture behavior and feeding mechanics of elasmobranchs. In *Biology of Sharks and Their Relatives* (Carrier, J.C., Musick, J.A., Heithaus, M.R., Eds.), pp. 165–202. Boca Raton, FL: CRC Press.
- Mould, B. (1997). *Classification of the Recent Elasmobranchii: a classification of the living sharks and rays of the world*. Available at: <http://ibis.nott.ac.uk/elasmobranch.html> (accessed 25 Sep 2013).
- Moulton, M.J., Song, H.J., Whiting, M.F. (2010). Assessing the effects of primer specificity on eliminating numt coamplification in DNA barcoding: a case study from Orthoptera (Arthropoda: Insecta). *Molecular Ecology Resources* 10, 615–627.
- Moura, T., Figueiredo, I., Farias, I., Serra-Pereira, B., Coelho, R., Erzini, K., Neves, A., Gordo, L.S. (2007). The use of caudal thorns for ageing *Raja undulata* from the Portuguese continental shelf, with comments on its reproductive cycle. *Marine and Freshwater Research* 58, 983–992.

- Moura, T., Figueiredo, I., Machado, P.B., Gordo, L.S. (2004). Growth pattern and reproductive strategy of the holocephalan *Chimaera monstrosa* along the Portuguese continental slope. *Journal of the Marine Biological Association of the UK* 84, 801–804.
- Muniz-Pereira, L.C., Vieira, F.M., Luque, J.L. (2009). Checklist of helminth parasites of threatened vertebrate species from Brazil. *Zootaxa* 2123, 1–45.
- Muñoz, G., Olmos V. (2008). Revisión bibliográfica de especies endoparásitas y hospedadoras de sistemas acuáticos de Chile. *Revista de Biología Marina y Oceanografía* 43, 173-245.
- Murray, B.W., Wang, J.Y., Yang, S.C., Stevens, J.D., Fisk, A., Svavarsson, J. (2008). Mitochondrial cytochrome b variation in sleeper sharks (Squaliformes: Somniosidae). *Marine Biology* 153, 1015–1022.
- Murua, H., Kraus, G., Saborido-Rey, F., Witthames, P.R., Thorsen, A., Junquera, S. (2003). Procedures to estimate fecundity of marine fish species in relation to their reproductive strategy. *Journal of Northwest Atlantic Fishery Science* 33, 33–54.
- Musick, J.A., Harbin, M.M., Compagno, L.J.V. (2004). Historical zoogeography of the Selachii. In *Biology of Sharks and Their Relatives* (Carrier, J. C., Musick, J. A., Heithaus, M.R., Eds.), pp. 33–78. Boca Raton, FL: CRC Press.
- Mustafa, S., (1999). *Genetics in Sustainable Fisheries Management*. Oxford: Fishing News Books.
- Myers, R.A., Baum, J.K., Shepherd, T.D., Powers, S.P., Peterson, C.H. (2007). Cascading effects of the loss of apex predatory sharks from a coastal ocean. *Science* 315, 1846–1850.
- Myers, R.A., Worm, B. (2005). Extinction, survival or recovery of large predatory fishes. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 360, 13-20.
- Natanson, L.J., Gervelis, B.J., Winton, M.V., Hamady, L.L., Gulak, S.J., Carlson, J.K. (2014). Validated age and growth estimates for *Carcharhinus obscurus* in the northwestern Atlantic Ocean, with pre-and post-management growth comparisons. *Environmental Biology of Fishes* 97, 881–896.
- Naylor, G. J. P., Ryburn, J. A., Fedrigo, O., Lopez, J. A. (2005). Phylogenetic relationships among the major lineages of modern elasmobranchs. In *Reproductive Biology and the Phylogeny of Chondrichthyes: Sharks, Batoids and Chimeras* (Hamlett, W. C., Ed.), pp. 1–25. Enfield, NH: Science Publishers.
- Naylor, G.J.P., Caira, J.N., Jensen, K., Rosana, K A.M., White, W.T., Last, P.R. (2012). A DNA sequence-based approach to the identification of shark and ray Species and its implications for global elasmobranch diversity and parasitology. *Bulletin of the American Museum of Natural History* 367, 1–262.
- Naylor, G.J.P., Martin, A.P., Mattison, E.G., Brown, W.M. (1997). Interrelationships of Lamniform sharks: testing phylogenetic hypotheses with sequence data. In *Molecular Systematics of Fishes* (Kocher, T.D., Stepien, C. A., Eds), pp. 199–218. San Diego, CA: Academic Press.
- Nielsen, E. E., Hemmer-Hansen, J., Poulsen, N. A., Loeschcke, V., Moen, T., Johansen, T., Mittelholzer, C., Taranger, G. L., Ogden, R., Carvalho, G. R. (2009c). Genomic signatures of local directional selection in a high gene flow marine organism; the Atlantic cod (*Gadus morhua*). *BMC Evolutionary Biology* 9, 276.

- Nielsen, E.E., Hemmer-Hansen, J., Larsen, P.F., Bekkevold, D. (2009b). Population genomics of marine fishes: identifying adaptive variation in space and time. *Molecular Ecology* 18, 3128–3150.
- Nielsen, E.E., Nielsen, P.H., Meldrup, D., Hansen, M.M. (2004). Genetic population structure of turbot (*Scophthalmus maximus* L.) supports the presence of multiple hybrid zones for marine fishes in the transition zone between the Baltic Sea and the North Sea. *Molecular Ecology* 13, 585–595.
- Nielsen, E.E., Wright, P.J., Hemmer-Hansen, J., Poulsen, N.A., Gibb, L.M., Meldrup, D. (2009a). Micro geographical population structure of cod *Gadus morhua* in the North Sea and west of Scotland: the role of sampling loci and individuals. *Marine Ecology Progress Series* 376, 213–225.
- Nielsen, R., Beaumont, M.A. (2009). Statistical inferences in phylogeography. *Molecular Ecology* 18, 1034–1047.
- Nikolsky, G.V. (1936). *The ecology of fishes*. Academic Press: London and New York.
- Nion, H., Ríos, C., Meneses, P. (2002). *Peces del Uruguay. Lista sistemática y nombres comunes*. Montevideo: Dirección Nacional de Recursos Acuáticos INFOPECA.
- Noble, E.R., Noble, G.A., Schad, G.A., MacInnes, A.J. (1989). *Parasitology. The Biology of Animal Parasites*. Sixth Edition. Philadelphia: Lea & Febiger.
- Nomura, T. (2008). Estimation of effective number of breeders from molecular coancestry of single cohort sample. *Evolutionary Applications* 1, 462–474.
- Norman, J.R. (1937). Coast fishes. Part II. The patagonian region. *Discovery reports* 16, 1–150.
- NRC, National Research Council (1998). *Improving Fish Stock Assessment*. Washington: National Academy Press.
- Oddone, M. C., Paesch, L., Norbis, W. (2005). Size at first sexual maturity of two species of rajoid skates, genera *Atlantoraja* and *Dipturus* (Pisces, Elasmobranchii, Rajidae), from the south-western Atlantic Ocean. *Journal of Applied Ichthyology* 21, 70–72.
- Ojeda, P. (1983). Distribución latitudinal y batimétrica de la ictiofauna demersal del extremo austral de Chile. *Revista Chilena de Historia Natural* 56, 61–70.
- Oliva, M.E., Castro, R.E., Burgos, R. (1996). Parasites of the flatfish *Paralichthys adspersus* (Steindachner, 1867) (Pleuronectiformes) from northern Chile. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* 91, 301-306.
- Oliver, C. (1943). Catálogo de los peces marinos del litoral de Concepción y Arauco. *Boletín de la Sociedad de Biología de Concepción*, 17, 75–126.
- Olivier, S.R., Bastida, R.O., Torti, M.R. (1968). Sobre el ecosistema de las aguas litorales de Mar del Plata. Niveles tróficos y cadenas alimentarias pelágicos demersales y bentónicos-demersales. Buenos Aires: Servicio de Hidrografía Naval.
- Orlov, A.M. (1998). The diet and feeding habits of some deep-water benthic skates (Rajidae) in the Pacific waters off the Northern Kuril Islands southeastern Kamchatka. *Alaska Fish. Res. Bull.* 5, 1-17.
- Otway, N.M., Burke, A.L. (2004). Mark-recapture population estimate and movements of grey nurse sharks. *NSW Fisheries Final Report Series* 63. Nelson Bay: NSW Fisheries Office of Conservation.

- Ouborg, N.J., Pertoldi, C., Loeschcke, V., Bijlsma, R., Hedrick, P. W. (2010). Conservation genetics in transition to conservation genomics. *Trends in Genetics* 26, 177–187.
- Ovenden, J.R., Kashiwagi, T., Broderick, D., Giles, J., Salini, J. (2009). The extent of population genetic subdivision differs among four co-distributed shark species in the Indo-Australian archipelago. *BMC Evolutionary Biology* 9, 40.
- Ovenden, J.R. (2013). Crinkles in connectivity: combining genetics and other types of data to estimate movement and interbreeding between populations. *Marine and Freshwater Research* 64, 201–207.
- Ovenden, J.R., Berry, O., Welch, D.J., Buckworth, R.C., Dichmont, C.M. (2013). Ocean's eleven: a critical evaluation of the role of population, evolutionary and molecular genetics in the management of wild fisheries. *Fish and Fisheries*. DOI: 10.1111/faf.12052
- Ovenden, J.R., Morgan, J., Kashiwagi, T., Broderick, D., Salini, J. (2010). Towards better management of Australia's shark fishery: genetic analyses reveal unexpected ratios of cryptic blacktip species *Carcharhinus tilstoni* and *C. limbatus*. *Marine and Freshwater Research* 61, 253–262.
- Ovenden, J.R., Morgan, J., Street, R., Tobin, A., Simpfendorfer, C.A., Macbeth, W., Welch, D. (2011). Negligible evidence for regional genetic population structure for two shark species (*Rhizoprionodon acutus*, Ruppell, 1837 and *Sphyrna lewini*, Grifflit & Smith, 1834) with contrasting biology. *Marine Biology* 158, 1497–1509.
- Oyarzún, C., Gacitúa, S., Araya, M., Cubillos, L., Galleguillos, R., Pino, C., Aedo, G., Salamanca, M., Pedraza, M., Lamilla, J. (2003). *Monitoreo de la pesquería artesanal de bacalao de profundidad entre la VIII y XI regiones*. Informe Técnico FIP 2001-16. UdeC: Concepción. Available at <http://www.fip.cl/Proyectos.aspx> (accessed 25 Sep 2014).
- Paesch, L. (1999). Biomasa y rendimientos de los elasmobranquios: estructura de la población de *Squalus acanthias*, *Squalus mitsukurii*, *Dipturus chilensis* y *Sympterygia bonapartii*. In *Estudios realizados sobre los elasmobranquios dentro del Río de la Plata y la zona común de pesca Argentino-Uruguay en el marco del "Plan de Investigación pesquera"* (Arena, G., Rey, M., eds.), pp. 122–143. Montevideo: INAPE; PNUD. URU/92/003.
- Paesch, L., Meneses, P. (1999). La pesquería de elasmobranquios en la Zona Común de Pesca Argentino-Uruguay. In *Estudios realizados sobre los elasmobranquios dentro del Río de la Plata y la zona común de pesca Argentino-Uruguay en el marco del "Plan de Investigación pesquera"* (Arena, G., Rey, M., eds.), pp. 62–121. Montevideo: INAPE; PNUD. URU/92/003.
- Paesch, L., Oddone, M.C. (2008). Change in size-at-maturity of the yellownose skate *Dipturus chilensis* (Guichenot, 1848) (Elasmobranchii: Rajidae) in the SW Atlantic. *Neotropical Ichthyology* 6, 223–230.
- Paetkau, D. (1999) Using genetics to identify intraspecific conservation units: A critique of current methods. *Conservation Biology* 13, 1507–1509.
- Palsbøll, P.J., Berube, M., Allendorf, F.W. (2007) Identification of management units using population genetic data. *Trends in Ecology & Evolution* 22, 11–16.
- Palstra, F.P., Ruzzante, D.E. (2008). Genetic estimates of contemporary effective population size: what can they tell us about the importance of genetic stochasticity for wild population persistence? *Molecular Ecology* 17, 3428–3447.

- Palumbi, S.R. (1996). Nucleic acids II: the polymerase chain reaction. *In* Molecular Systematics (Hillis, M., Moritz, C., Aable, B.K., eds.), pp. 205–247. Sunderland, Massachusetts: Sinauer.
- Pank, M., Stanhope, M., Natanson, L., Kohler, N., Shivji, M. (2001). Rapid and simultaneous identification of body parts from the morphologically similar sharks *Carcharhinus obscurus* and *Carcharhinus plumbeus* (Carcharhinidae) using multiplex PCR. *Marine Biotechnology* 3, 231–240.
- Pardini, A.T., Jones, C.S., Noble, L.R., Kreiser, B., Malcolm, H., Bruce, B.D., Stevens, J.D., Cliff, G., Scholl, M.C., Francis, M., Duffy, C.A.J., Martin, A.P. (2001). Sex-biased dispersal of great white sharks-in some respects, these sharks behave more like whales and dolphins than other fish. *Nature* 412, 139–140.
- Pasolini, P., Ragazzini, C., Zaccaro, Z., Cariani, A., Ferrara, G., Gonzalez, E., Landi, M., Milano, I., Stagioni, M., Guarniero, I., Tinti, F. (2011). Quaternary geographical sibling speciation and population structuring in the Eastern Atlantic skates (suborder Rajoidea) *Raja clavata* and *R. straeleni*. *Marine Biology* 158, 2173–2186.
- Pauly D., Christensen V., Guénette S., Pitcher T.J., Sumaila R., Walters C.J., Watson R., Zeller D. (2002). Towards sustainability in world fisheries. *Nature* 418, 689–695.
- Pawson, M.G., Jennings, S. (1996). A critique of methods for stock identification in marine capture fisheries. *Fisheries Research* 25, 203–217.
- Peakall, R., Smouse, P.E. (2006). GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes* 6, 288–295.
- Peakall, R., Smouse, P.E. (2012). GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research – an update. *Bioinformatics* 28, 2537–2539
- Pedersen, S.A. (1995). Feeding habits of starry ray (*Raja radiata*) in west Greenland waters. *ICES J. Mar. Sci.* 52, 43-53.
- Peeters, F.J.C., Acheson, R., Brummer, G.J.A., de Ruijter, W.P.M., Schneider, R.R., Ganssen, G.M., Ufkes, E., Kroon, D. (2004). Vigorous exchange between the Indian and Atlantic oceans at the end of the past five glacial periods. *Nature* 430, 661–665.
- Peters, M.B., Ovenden, J.R., Broderick, D., Lance, S. L., Hagen, C., Glenn, T. C. (2009). Fifteen microsatellite loci for the jungle perch, *Kuhlia rupestris*. *Molecular Ecology Resources* 9, 1467–1469.
- Pella, J., Masuda, M. (2001). Bayesian methods for analysis of stock-mixtures from genetic characters. *Fishery Bulletin* 99, 151–167.
- Pequeño, G. (1975). Nuevo registro de *Myliobatis chilensis* Philippi (Elasmobranchii: Myliobatidae). *Boletín de la Sociedad de Biología de Concepción* 49, 157–160.
- Pequeño, G. (1977). Colecciones chilenas de peces. I Catálogo de los peces marinos de la Universidad Austral de Chile. *Anales del Museo de Historia Natural de Valparaíso* 10, 75–94.
- Pequeño, G. (1989). Peces de Chile. *Revista de Biología Marina* 24, 1–132.
- Pequeño, G., Lamilla, J. (1979). Primer hallazgo de una hembra de *Gurgesiella furvescens* De Buen 1959 (Elasmobranchii, Gurgesiellidae). *Anales del Museo de Historia Natural de Valparaíso* 12, 233–237.

- Pequeño, G., Lamilla, J. (1985). Estudio sobre una colección de rayas del sur de Chile (Chondrichthyes, Rajidae). *Revista de Biología Marina, Valparaíso* 21, 225–271.
- Pequeño, G., Lamilla, J. (1993). Batoideos comunes a las costas de Chile y Argentina-Uruguay (Pisces: Chondrichthyes). *Revista de Biología Marina, Valparaíso* 28, 203–217.
- Pérez-Ponce de León, G., García-Prieto, L., Mendoza Garfias, B., León, V., Púlido-Flores, G., Aranda-Cruz, C., García-Vargas, F. (1999). *Listados Faunísticos de México IX. Biodiversidad de helmintos parásitos de peces marinos y estuarinos de la bahía de Chamela, Jalisco*. Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México.
- Pérez-Ponce de León, G., García-Prieto, L., Osorio-Sarabia, D., León, V. (1996). *Listados faunísticos de México VI. Helmintos parásitos de peces de aguas continentales de México*. Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México.
- Peric, I. (2011). Solapamiento y hábitos tróficos de raya volantín *Zearaja chilensis* (Guichenot, 1848) y raya espinosa *Dipturus trachyderma* (Kreff & Stehmann, 1975) dentro de la zona Valdiviana (Región de los Ríos, Chile). Tesis de pregrado, Universidad de Concepcion.
- Perier, M.R., Estalles, M., Coller, N.M., Suarez, M.N., Mora, G.J., Giacomo, E.E.D.I. (2011). Chondrichthyans of the San Matías Gulf, Patagonia, Argentina. *Revista del Museo Argentino de Ciencias Naturales* 13, 213–220.
- Pettovello, A.D. (1999). By-catch in the Patagonian red shrimp (*Pleoticus muelleri*) fishery. *Marine and Freshwater Research* 50, 123–127.
- Philippi, R.A. (1892). Algunos peces de Chile: Las rayas, *Callorhynchus* i *Orthogoriscus* chilenos. *Anales del Museo Nacional de Chile* 3, 1–16.
- Phillips, N., Chaplin, J., Morgan, D., Peverell, S. (2011). Population genetic structure and genetic diversity of three critically endangered *Pristis* sawfishes in Australian waters. *Marine Biology* 158, 903–915.
- Pianka, E. R. (2000). *Evolutionary ecology*. New York: Harper and Row.
- Pierce, S.J., Bennett, M.B. (2010). Destined to decline? Intrinsic susceptibility of the threatened estuary stingray to anthropogenic impacts. *Marine and Freshwater Research* 61, 1468–1481.
- Pimm, S.L. (2002). *Food webs*. The University of Chicago Press. London. 219 p.
- Pineda, J. (2007). Larval transport and Dispersal in the Coastal Ocean and Consequences for Population Connectivity. *Oceanography* 20, 22–39.
- Pinkas, L., Oliphant, S., Iverson, I. (1971). Food habits of albacore, blue tuna, and bonito in California waters. *Fishery Bulletin* 152, 105-110.
- Plank, S.M., Lowe, C.G., Feldheim, K. A., Wilson, R.R., Brusslan, J.A. (2010). Population genetic structure of the round stingray *Urobatis halleri* (Elasmobranchii: Rajiformes) in southern California and the Gulf of California. *Journal of Fish Biology* 77, 329–340.
- Portnoy, D.S. (2010). Molecular insights into elasmobranch reproductive behavior for conservation and management. *In Sharks and Their Relatives*, Vol. II (Carrier, J.C., Musick, J.A., Heithaus, M.R., Eds), pp. 435–457. Boca Raton, FL: CRC Press.

- Portnoy, D.S., McDowell, J.R., Heist, E.J., Musick, J.A., Graves, J.E. (2010). World phylogeography and male-mediated gene flow in the sandbar shark, *Carcharhinus plumbeus*. *Molecular Ecology* 19, 1994–2010.
- Portnoy, D.S., McDowell, J.R., McCandless, C.T., Musick, J.A., Graves, J.E. (2009). Effective size closely approximates the census size in the heavily exploited western Atlantic population of the sandbar shark, *Carcharhinus plumbeus*. *Conservation Genetics* 10, 1697–1705.
- Portnoy, D.S., McDowell, J.R., Thompson, K., Musick, J.A., Graves, J.E. (2006). Isolation and characterization of five dinucleotide microsatellite loci in the sandbar shark, *Carcharhinus plumbeus*. *Molecular Ecology Notes* 6, 431–433.
- Pratt Jr H.L. & Casey, J.G. (1990) Shark reproductive strategies as limiting factors in directed fisheries, with a review of Holden's method of estimating growth parameters. In *Elasmobranchs as living resources: advances in the biology, ecology, systematics and the status of the fisheries* (Pratt Jr, H.L., Gruber, S.H. & Taniuchi, T., eds.), pp. 97–111. U.S. Department of Commerce, NOAA Technical Report NMFS (National Marine Fisheries Service) 90.
- Prenski, L.B., Sánchez, F. (1988). Estudio preliminar sobre asociaciones ícticas en la Zona Común de Pesca Argentino-Uruguaya. *Publicaciones Comisión Técnica Mixta Frente Marítimo (Uruguay)* 4, 75–87.
- Pritchard, J.K., Stephens, M., Donnelly, P. (2000). Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155, 945–959.
- Puse-Fernández, E. (2012). *Guía modelo para la identificación de otolitos*. Museo Nacional Sicán.
- Quattro, J.M., Stoner, D.S., Driggers, W.B., Anderson, C.A., Priede, K.A., Hoppmann, E.C., Campbell, N.H., Duncan, K.M., Grady, J.M. (2006). Genetic evidence of cryptic speciation within hammerhead sharks (Genus *Sphyrna*). *Marine Biology* 148, 1143–1155.
- Queirolo, D., Erzini, K., Hurtado, C.F., Ahumada, M., Soriguer, M.C. (2011). Alternative codends to reduce bycatch in Chilean crustacean trawl fisheries. *Fisheries Research* 110, 18–28.
- Quijada, B. (1913). Catálogo ilustrado y descriptivo de la colección de peces chilenos y extranjeros. *Boletín del Museo Nacional* 5, 7–129
- Quiroga, E., Sellanes, J., Arntz, W.E., Gerdes, D., Gallardo, V.A., Hebbeln, D. (2009). Benthic megafaunal and demersal fish assemblages on the Chilean continental margin: the influence of the oxygen minimum zone on bathymetric distribution. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography* 56, 1112–1123.
- Quiroz, J.C., Wiff, R. (2005). Demographic analysis and exploitation vulnerability of beaked skate (*Dipturus chilensis*) off the Chilean austral zone. *Conference Paper ICES CM* 19, 12.
- Quiroz, J.C., Wiff, R., Caneco, B. (2010). Incorporating uncertainty into estimation of natural mortality for two species of Rajidae fished in Chile. *Fisheries Research* 102, 297–304.
- Quiroz, J.C., Wiff, R., Céspedes, R. (2009). Reproduction and population aspects of the yellownose skate, *Dipturus chilensis* (Pisces, Elasmobranchii: Rajidae), from southern Chile. *Journal of Applied Ichthyology* 25, 72–77.

- Quiroz, J.C., Wiff, R., Cubillos, L.A., Barrientos, M.A. (2011). Vulnerability to exploitation of the yellownose skate (*Dipturus chilensis*) off southern Chile. *Fisheries Research* 109, 225–233.
- Quiroz, J.C., Wiff, R., Gatica, C., Leal, E. (2008). Composición de especies, tasas de captura y estructura de tamaño de peces capturados en la pesquería espinelera artesanal de rayas en la zona sur-austral de Chile. *Latin American Journal of Aquatic Research* 36, 15–24.
- Radtkey, R., Feng, L., Muralhidar, M., Duhon, M., Canter, D., DiPierro, D., Fallon, S., Tu, E., McElfresh, K., Nerenberg, M., Sosnowski, R. (2000). Rapid, high fidelity analysis of simple sequence repeats on an electronically active DNA microchip. *Nucleic Acids Research* 28, e17.
- Ragoussis, J. (2009). Genotyping technologies for genetic research. *Annual Review of Genomics and Human Genetics* 10, 117–133.
- Raschi, W. (1986). A morphological analysis of the ampullae of Lorenzini in selected skates (Pisces, Rajoidei). *Journal of Morphology* 189, 225–247.
- Raschi, W., Tabit, C. (1992). Functional aspects of placoid scales: a review and update. *Marine and Freshwater Research* 43, 123–147.
- Rasmussen, A.S., Hellberg, R.S., Morrissey, M.T. (2011). Advances in DNA-based techniques for the detection of seafood species substitution on the commercial market. *Journal of Laboratory Automation* 16, 308–321.
- Ratnasingham, S., Hebert, P.D.N. (2007) BOLD: The Barcode of Life Data System (<http://www.barcodinglife.org>). *Molecular Ecology Notes* 7, 355–364.
- Raymond, M., Rousset, F. (1995). GENEPOP (version 1.2): population genetics software for exact tests and ecumenicism. *Journal of Heredity* 86, 248–249.
- Reed, D.H., Frankham, R. (2003). Correlation between fitness and genetic diversity. *Conservation Biology* 17, 230–237.
- Reed, G.H., Kent, J.O., Wittwer, C.T. (2007). High-resolution DNA melting analysis for simple and efficient molecular diagnostics. *Pharmacogenomics* 8, 597–608.
- Reif, W.E. (1985). Squamation and ecology of sharks. *Courier Forschungsinstitut Senckenberg* 78, 1–255.
- Retamal M. (1981). Catálogo ilustrado de los crustáceos decápodos de Chile. *Gayana Zool.* 44, 1–110.
- Reyes, P.R., Torres-Florez, J.P. (2008). Presencia de *Bathyraja cousseauae* (Batoidea; Rajiformes) en el Cabo de Hornos e islas Diego Ramírez, Chile. *Latin American Journal of Aquatic Research* 36, 309–314.
- Richards, S.W., Merriman, D., Calhoun, L.H. (1963). Studies on the marine resources of southern New England, IX. The biology of the little skate, *Raja erinacea* Mitchill. *Bulletin of Bingham Oceanographic Collection* 18, 5–67.
- Richards, V.P., Henning, M., Witzell, W., Shivji, M.S. (2009). Species delineation and evolutionary history of the globally distributed spotted eagle ray (*Aetobatus narinari*). *Journal of Heredity* 100, 273–283.
- Ricker, W.E. (1975). Computation and interpretation of biological statistics of fish populations. *Bulletin of Fisheries Research Board of Canada* 191, 1–382.

- Ricou, L.E. (1987). The Tethyan oceanic gates: a tectonic approach to major sedimentary changes within Tethys. *Geodinamica Acta* 1, 225–232.
- Ringuelet, R.A., Arámburu, R.H. (1960). Peces marinos de la Argentina. Clave de familias y géneros y catálogo crítico abreviado. *Agro* 2, 1–141.
- Ringuelet, R.A., Arámburu, R.H. (1971). Sistemática y biología de los peces marinos de la plataforma continental argentina. *Boletín-Ministerio de Asuntos Agrarios Direccion de Recursos Pesqueros (Argentina)* 12, 5–16.
- Roa, R., Ernst, B. (2000). *Informe Final del Proyecto Investigación CTP de raya volantín entre la VIII y X Regiones*. Valparaíso: Subsecretaría de Pesca.
- Roberts, C.M., Hawkins, J.P. (1999). Extinction risk in the sea. *Trends in Ecology and Evolution* 14, 241–246.
- Rodrigues-Filho, L.F.d.S., da Rocha, T.C., do Rego, P.S., Schneider, H., Sampaio, I., Vallinoto, M. (2009). Identification and phylogenetic inferences on stocks of sharks affected by the fishing industry off the Northern coast of Brazil. *Genetics and Molecular Biology* 32, 405–413.
- Rodríguez-Grana, L., Calliari, D., Conde, D., Sellanes, J., Urrutia, R. (2008). Food-web of a SW Atlantic shallow coastal lagoon: spatial environmental variability does not impose substantial changes in the trophic structure. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 362, 69– 83.
- Ronquist, F., Huelsenbeck, J.P. (2003). MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics*, 12: 1572–1574.
- Rosenblum, E.B., Novembre, J. (2007). Ascertainment bias in spatially structured populations: a case study in the eastern fence lizard. *Journal of Heredity* 98, 331–336.
- Rousset, F. (2008). Genepop'007: a complete reimplementation of the Genepop software for Windows and Linux. *Molecular Ecology Resources* 8, 103–106.
- Rozen, S., Skaletsky, H.J. (2000) PRIMER3 on the WWW for general users and for biologist programmers. In *Bioinformatics methods and protocols: methods in molecular biology* (Krawetz, S., Misener, S., eds.), pp. 365–386. Totowa: Humana Press.
- Ruarte, C.O., Rico, M.R., Lucifora, L. (2009). Inventario ictico del litoral costero Bonaerense y Uruguayo. *INIDEP Informe Tecnico* 69, 1–29.
- Ruttenberg, B.I., Haupt, A.J., Chiriboga, A.I., Warner, R.R. (2005). Patterns, causes and consequences of regional variation in the ecology and life history of a reef fish. *Oecologia* 145, 394–403.
- Ryder, O.A. (1986). Species conservation and systematics: the dilemma of subspecies. *Trends in Ecology and Evolution* 1, 9–10.
- Ryman, N., Utter, F.M. (1987) *Population Genetics and Fishery Management*. Seattle: University of Washington Press.
- Ryman, N., Palm, S. (2006). POWSIM: a computer program for assessing statistical power when testing for genetic differentiation. *Molecular Ecology Notes* 6, 600–602.
- Rytkönen, K.T., Renshaw, G.M.C., Ashton, K.J., Williams-Pritchard, G., Leder, E.H., Nikinmaa, M. (2010). Elasmobranch qPCR reference genes: a case study of hypoxia preconditioned epaulette sharks. *BMC Molecular Biology* 11, 27.

- Saad, C.D.R., Vieira, F.M., Luque, J.L. (2012). Larvae of Anisakidae Skrjabin & Karokhin, 1945 (Nematoda, Ascaridoidea) in *Lophius gastrophysus* Miranda-Ribeiro, 1915 (Actinopterygii, Lophiidae) from the coastal zone of the state of Rio de Janeiro, Brazil. *Neotropical Helminthology* 6, 159-177.
- Sadowsky, V. (1973). Relação dos peixes cartilagosos. In *GEDIP- Grupo Executivo do Desenvolvimento da Indústria da Pesca & Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo. Relatório sobre a segunda pesquisa oceanográfica e pesqueira do Atlântico Sul, entre Torres e Maldonado (Lat. 29°S-35°S), Programa Rio Grande do Sul II. Parte I*, pp. 483-488. São Paulo: GEDIP/IOUSP.
- Sáez, S., Lamilla, J. (1997). Morfología y disposición de los dientes en una especie con heterodontía sexual: *Raja (Dipturus) chilensis* Guichenot, 1848. *Biología Pesquera* 26, 25-41.
- Sáez, S., Lamilla, J. (2004). Sexual homodonty in *Bathyraja griseocauda* (Norman 1937) from the Southern Eastern Pacific (Chile) (Chondrichthyes, Rajidae: Arhynchobatidae). *Journal of Applied Ichthyology* 20, 189-193.
- Sáez, S., Lamilla, J. (2012) Taxonomic dental keys for the Chilean taxa of the superorder Rajomorphii (Chondrichthyes, Batoidea). *Latin American Journal of Aquatic Research* 40, 282-291.
- Sáez, S., Lamilla, J., Pequeño, G. (2014). Morfología del sistema mecanosensorial de la línea lateral de *Zearaja chilensis* (Batoidea: Rajidae). *Revista de Biología Marina y Oceanografía* 49, 55-59.
- Saiki, R.K., Stephen, S., Faloona, F., Mullis, K.B., Horn, G.T., Henry, A.E., Arnheim, N. (1985). Enzymatic amplification of β -globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. *Science* 230, 1350-1354.
- Salini, J.P., Giles, J., Holmes, B., Last, P.R., Marshall, L., Meekan, M.G., Ovenden, J.R., Pillans, R., Stevens, J.D., Ward, R. (2007). *Species identification from shark fins - phase 1*. Australian Fisheries Management Authority R05/0538. Cleveland: CSIRO Marine and Atmospheric Research.
- San Martín, M.J., Trucco, M.I. (2012). Identificación genética de las especies del género *Dipturus* mediante la técnica del ADN mitocondrial: comparación de métodos de extracción de ADN. *INIDEP Informe Técnico* 46, 2-8.
- Sánchez, F., Mabrugaña, E. (2002). Características biológicas de algunas rayas de la región sud patagónica. *INIDEP Informe Técnico* 48, 1-15.
- Sánchez, F., Prenski, L.B (1996). Ecología trófica de peces demersales en el Golfo San Jorge. *Revista de Investigación y Desarrollo pesquero* 10, 57-71.
- Sánchez, R., Navarro, G., Rozycki, V. (2012). Estadísticas de la Pesca Marina en la Argentina: Evolución de los desembarques 1898-2010. Buenos Aires, Argentina: Ministerio de Agricultura, ganadería y Pesca de la Nación.
- Sandoval-Castillo, J., Rocha-Olivares, A. (2011). Deep mitochondrial divergence in Baja California populations of an aquilopelagic elasmobranch: the golden cownose ray. *Journal of Heredity* 102, 269 - 274.

- Sandoval-Castillo, J., Rocha-Olivares, A., Villavicencio-Garayzar, C., Balart, E. (2004). Cryptic isolation of Gulf of California shovelnose guitarfish evidenced by mitochondrial DNA. *Marine Biology* 145, 983–988.
- Sanger, F., Air, G.M., Barrell, B.G., Brown, N.L., Coulson, A.R., Fiddes, J.C., Hutchison, C.A., Slocombe, P. M., Smith, M. (1977a). Nucleotide sequence of bacteriophage phi chi 174 DNA. *Nature* 265, 687–695.
- Sanger, F., Nicklen, S., Coulson, A.R. (1977b). DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 74, 5463–5467.
- Santana, Q.C., Coetzee, M.P.A., Steenkamp, E.T., Mlonyeni, O.X., Hammond, G.N.A., Wingfield, M.J., Wingfield, B.D. (2009). Microsatellite discovery by deep sequencing of enriched genomic libraries. *Biotechniques* 46, 217– 23.
- Santos, C.P., Gibson, D.I., Tavares, L.E.R., Luque, J.L. (2008). Checklist of Acanthocephala associated with the fishes of Brazil. *Zootaxa* 1938, 1–22.
- Santos, C.P., Gibson, D.I., Tavares, L.E.R., Luque, J.L. (2008). Checklist of Acanthocephala associated with the fishes of Brazil. *Zootaxa* 1938, 1–22.
- Schena, M., Shalon, D., Davis, R.W., Brown, P.O. (1995). Quantitative monitoring of gene-expression patterns with a complementary-DNA microarray. *Science* 270, 467 – 470.
- Schindler, D.E., Essington, T.E., Kitchell, J.F., Boggs, C., Hilborn, R. (2002). Sharks and tunas: fisheries impacts on predators with constraining life histories. *Ecol. Appl.* 12, 735-748.
- Schluessel, V., Broderick, D., Collin, S.P., Ovenden, J.R. (2010). Evidence for extensive population structure in the white spotted eagle ray within the Indo-Pacific inferred from mitochondrial gene sequences. *Journal of Zoology* 281, 46–55.
- Schneider, C.A., Rasband, W.S., Eliceiri, K.W. (2012). NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nature Methods* 9, 671–675.
- Schrey, A.W., Heist, E.J. (2003). Microsatellite analysis of population structure in the shortfin mako (*Isurus oxyrinchus*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 60, 670–675.
- Schultz, J.K., Feldheim, K.A., Gruber, S.H., Ashley, M.V., McGovern, T.M., Bowen, B.W. (2008). Global phylogeography and seascape genetics of the lemon sharks (genus *Negaprion*). *Molecular Ecology* 17, 5336–5348.
- Schuster, S.C. (2008). Next-generation sequencing transforms today's biology. *Nature Methods* 5, 16–18.
- Schwartz, F.J. (2012). Occurrence of *Dipturus teevani*, a deep-water skate in North Carolina. *Journal of the North Carolina Academy of Science* 128, 23–24.
- Schwartz, M.K., Luikart, G., Waples, R.S. (2007). Genetic monitoring as a promising tool for conservation and management. *Trends in Ecology & Evolution* 22, 25–33.
- Schwartz, M.K., McKelvey, K.S., Cushman, S.A., Luikart, G. (2009). Landscape genomics: a brief perspective. In *Spatial Complexity, Informatics, and Wildlife Conservation* (Cushman, S. A., Huettmann, F., Eds), pp. 164–174. Tokyo: Springer.

- Seeb, J.E., Carvalho, G., Hauser, L., Naish, K., Roberts, S., Seeb, L.W. (2011). Single nucleotide polymorphism (SNP) discovery and applications of SNP genotyping in non-model organisms. *Molecular Ecology Resources* 11, 1–8.
- Segelbacher, G., Cushman, S.A., Epperson, B.K., Fortin, M.J., Francois, O., Hardy, O.J., Holderegger, R., Taberlet, P., Waits, L.P., Manel, S. (2010). Applications of landscape genetics in conservation biology: concepts and challenges. *Conservation Genetics* 11, 375–385.
- Selkoe, K.A., Henzler, C.M., Gaines, S.D. (2008). Seascape genetics and the spatial ecology of marine populations. *Fish and Fisheries* 9, 363–377.
- Séret, B. (1989). Deep water skates of Madagascar. Part 3. Rajidae (Pisces, Chondrichthyes, Batoidea). *Raja (Dipturus) crosnieri*. *Cybium* 13, 115–130.
- Séret, B., Last, P.R. (2008). A new Australian skate of the genus *Dipturus* (Rajoidei: Rajidae). In *Descriptions of New Australian Skates (Batoidea: Rajoidei)* (Last, P.R., White, W.T., Pogonoski, J.J., Gledhill, D.C., Eds). pp. 99–108. Hobart: CSIRO Marine & Atmospheric Research Paper.
- SERNAP. (2010). *Anuario Estadístico de Pesca. Servicio Nacional de Pesca*. Ministerio de Economía, Fomento y Reconstrucción, Santiago.
- SERNAP. (2012). *Anuario Estadístico de Pesca. Servicio Nacional de Pesca*. Ministerio de Economía, Fomento y Reconstrucción, Santiago.
- Serra-Pereira, B., Figueiredo, I., Farias, I., Moura, T., Gordo, L.S. (2008). Description of dermal denticles from the caudal region of *Raja clavata* and their use for the estimation of age and growth. *ICES Journal of Marine Science* 65, 1701–1709.
- Shaklee, J.B., Currens, K. (2003). Genetic Stock Identification and Risk Assessment. In *Population genetics: principles and applications for fisheries scientists* (Hallerman, E.M., ed.), pp. 291–328. Bethesda: American Fisheries Society.
- Shendure, J., Porreca, G. J., Reppas, N. B., Lin, X. X., McCutcheon, J. P., Rosenbaum, A. M., Wang, M. D., Zhang, K., Mitra, R. D., Church, G. M. (2005). Accurate multiplex polony sequencing of an evolved bacterial genome. *Science* 309, 1728–1732.
- Shendure, J., Ji, H.L. (2008). Next-generation DNA sequencing. *Nature Biotechnology* 26, 1135–1145.
- Shivji, M., Clarke, S., Pank, M., Natanson, L., Kohler, N., Stanhope, M. (2002). Genetic identification of pelagic shark body parts for conservation and trade monitoring. *Conservation Biology* 16, 1036–1047.
- Shivji, M.S., Chapman, D.D., Pikitch, E.K., Raymond, P.W. (2005). Genetic profiling reveals illegal international trade in fins of the great white shark, *Carcharodon carcharias*. *Conservation Genetics* 6, 1035–1039.
- Sielfeld, W., Vargas, M. (1992). *Tiburones y Rayas del Pacífico Sur Oriental*. Iquique: Imprenta UNAP.
- Sielfeld, W., Vargas, M. (1999). Review of marine fish zoogeography of Chilean Patagonia (42°–57° S). *Scientia Marina* 63, 451–463.
- Silveira, S., Paesch, I., Norbis, W. (2014). Estructura poblacional de *Dipturus chilensis* (Chondrichthyes, Rajidae) en el atlántico sudoccidental 34°30′–39°30′S. *Boletim do Instituto de Pesca, São Paulo* 40, 377–387.

- Simon, J.E., Cook, A., Rowe, S., Simpson, M. (2009). *Pre-COSEWIC review of barndoor skate *Dipturus laevis* in the Canadian Atlantic*. Ontario: Canadian Science Advisory Secretariat 84.
- Simpfendorfer, C.A., Milward, N.E. (1993). Utilization of a tropical bay as a nursery area by sharks of the families Carcharhinidae and Sphyrnidae. *Environmental Biology of Fishes* 37, 337–345.
- Simpson, G.G. (1961) *Principles of animal taxonomy*. Columbia University Press: New York.
- Sinclair, M.M., Smith, T.D. (2002). The notion that fish species form stocks. *ICES Marine Science Symposium* 215, 297–304.
- Sindermann, C.J. (1961). Parasite tags for marine fish. *Journal of Wildlife Management* 25, 41–47.
- Sindermann, C.J. (1983). Parasites as natural tags for marine fish: a review. *NAFO Science Council Studies* 6, 63–71.
- Smith P.E., Zaret, M.T. (1982). Bias in estimating niche overlap. *Ecol.* 65, 1248–1253.
- Smith, J.W., Wootten, R. (1978). Anisakis and anisakiasis. *Advances in Parasitology* 16, 92–163.
- Smith, M.F.L., Warmolts, D., Thonet, D., Hueter, R.E. (2004). *The Elasmobranch Husbandry Manual: Captive Care of Sharks, Rays, and Their Relatives*. Columbus: Ohio Biological Survey.
- Smith, P.J. (1986). Low genetic variation in sharks (Chondrichthyes). *Copeia* 1986, 202–207.
- Smith, P.J., Steinke, D., McMillan, P.J., *et al.* (2011) DNA barcoding highlights a cryptic species of grenadier *Macrourus* in the Southern Ocean. *Journal of Fish Biology* 78, 355–365.
- Smith, P.J., Steinke, D., McVeagh, S.M., Stewart, A.L., Struthers, C.D., Roberts, C.D. (2008). Molecular analysis of southern ocean skates (*Bathyraja*) reveals a new species of Antarctic skate. *Journal of Fish Biology* 73, 1170–1182.
- Smith, W.D., Bizzarro, J.J., Richards, V.P., Nielsen, J., Marquez-Farías, F., Shivji, M.S. (2009). Morphometric convergence and molecular divergence: the taxonomic status and evolutionary history of *Gymnura crebripunctata* and *Gymnura marmorata* in the eastern Pacific Ocean. *Journal of Fish Biology* 75, 761–783.
- Soto, J.M., Mincarone, M.M. (2001). *Dipturus diehli* sp. nov., a new species of skate (Chondrichthyes, Rajidae) from southern Brazil. *Mare Magnum* 1, 3–6.
- Spies, I.B., Gaichas, S., Stevenson, D.E., Orr, J.W., Canino, M.F. (2006). DNA-based identification of Alaska skates (*Amblyraja*, *Bathyraja* and *Raja*: Rajidae) using cytochrome c oxidase subunit I (COI) variation. *Journal of Fish Biology* 69, 283–292.
- Stapley, J., Reger, J., Feulner, P.G.D., Smadja, C., Galindo, J., Ekblom, R., Bennison, C., Ball, A.D., Beckerman, A.P., Slate, J. (2010). Adaptation genomics: the next generation. *Trends in Ecology & Evolution* 25, 705–712.
- Stearns, S.C. (1992). *The evolution of Life Histories*. Oxford University Press, Oxford.
- Stehmann, M.F.W. (1970). Vergleichend morphologische und anatomische Untersuchungen zur Neuordnung der Systematik der nordostatlantischen Rajidae (Chondrichthyes, Batoidei). *Archiv für Fischereiwissenschaft* 21, 73–164.
- Stehmann, M.F.W. (1973). Rajidae. In Check-List of the fishes of the Northeastern Atlantic and of the Mediterranean (CLOFNAM) (Hureau, J.C., Monod, T., Eds), pp. 58–69. Paris: UNESCO.

- Stehmann, M.F.W. (1978). *Illustrated field guide to abundant marine fish species in Argentine waters*. Berlin: Institut für Seefischerei der Bundesforschungsanstalt für Fischerei.
- Stehmann, M.F.W. (1990). Rajidae. In *Check-list of the Fishes of the Eastern Tropical Atlantic I* (Quero, J.C., Hureau, J.-C., Karrer, C., Post A., Saldanha, L., Eds.), pp. 29–50. Paris: UNESCO.
- Stehmann, M.F.W., Bürkel, D.L. (1984). Rajidae. In *Fishes of the North-eastern Atlantic and the Mediterranean* (Whitehead, P.J.P., Bauchot, M.L., Hureau, J.C., Nielsen, J., Tortonese, E., Eds), pp. 163–196. Paris: UNESCO.
- Stephenson, R.L. (1999). Stock complexity in fisheries management: a perspective of emerging issues related to population sub-units. *Fisheries Research* 43, 247–249.
- Stevens, J.D., Bonfil, R., Dulvy, N.K., Walker, P.A. (2000). The effects of fishing on shark, rays, and chimaeras (Chondrichthyans), and the implications for marine ecosystems. *ICES Journal of Marine Sciences* 57, 476–494.
- Stingo, V., Rocco, L. (2001). Selachian cytogenetics: a review. *Genetica* 111, 329–347.
- Stock, D. (1992). *A Molecular Phylogeny of Fishes*. Urbana-Champaign, IL: University of Illinois.
- Stokstad, E. (2010). To fight illegal fishing, forensic DNA gets local. *Science* 330, 1468–1469.
- Straube, N., Kriwet, J., Schliewen, U.K. (2011). Cryptic diversity and species assignment of large lantern sharks of the *Etmopterus spinax* clade from the Southern Hemisphere (Squaliformes, Etmopteridae). *Zoologica Scripta* 40, 61–75.
- Sulikowski, J.A., Kneebone, J., Elzey, S., Jurek, J., Danley, P.D., Howell, W.H., Tsang, P.C. (2005). The reproductive cycle of the thorny skate (*Amblyraja radiata*) in the western Gulf of Maine. *Fishery Bulletin* 103, 536–543.
- Swain, D.P., Hutchings, J.A., Foote, C.J. (2005). Environmental and genetic influences on stock identification characters. In *Stock Identification Methods. Applications in Fishery Science* (Cadrin, S.X., Friedland, K.D., Waldman, J.R., Eds.), pp. 45–85. Amsterdam: Elsevier.
- Taberlet, P., Camarra, J.-J., Griffin, S. Uhrès, E., Hanotte, O., Waits, L.P., Dubois-Paganon, C., Burke, T., Bouvet, J. (1997) Non-invasive genetic tracking of the endangered Pyrenean brown bear population. *Molecular Ecology*, 6, 869–876.
- Takechi, M., Takeuchi, M., Ota, K.G., Nishimura, O., Mochii, M., Itomi, K., Adachi, N., Takahashi, M., Fujimoto, S., Tarui, H., Okabe, M., Aizawa, S., Kuratani, S. (2011). Overview of the transcriptome profiles identified in hagfish, shark, and bichir: current issues arising from some non-model vertebrate taxa. *Journal of Experimental Zoology B* 316, 526–546.
- Tajima, F. (1989). Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics* 123, 585–595.
- Tajima, F. (1993). Measurement of DNA polymorphism. In *Mechanisms of molecular evolution. Introduction to molecular paleopopulation biology* (Takahata, A.G., Takahata, N., Eds), pp. 37–59. Japan Scientific Societies Press, Sinauer Associates: Sunderland, MA.
- Tajima, F. (1996). The amount of DNA polymorphism maintained in a finite population when the neutral mutation rate varies among sites. *Genetics* 143, 1457–1465.

- Tamura, K., Nei, M. (1993). Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. *Molecular Biology and Evolution* 10, 512–526.
- Tautz, D., Ellegren, H., Weigel, D. (2010). Next generation molecular ecology. *Molecular Ecology* 19, 1–3.
- Taylor, B.L., Dizon, E. (1999). First policy then science: why a management unit based solely on genetic criteria cannot work. *Molecular Ecology* 8, 11–16.
- Templeman, W. (1973). First records, description, distribution, and notes on the biology of *Bathyraja richardsoni* (Garrick) from the Northwest Atlantic. *Journal of the Fisheries Board of Canada* 30, 1831–1840.
- Templeman, W. (1982). Stomach contents of the thorny skate, *Raja radiata*, from the northwest Atlantic. *Journal of Northwest Atlantic Fishery Science* 3, 123–126
- Templeman, W. (1987). Length-weight relationships, morphometric characteristics and thorniness of thorny skate (*Raja radiata*) from the Northwest Atlantic. *Journal of Northwest Atlantic Fishery Science* 7, 89–98.
- Thiel, R., Eidus, I., Neumann, R. (2009). The Zoological Museum Hamburg (ZMH) fish collection as a global biodiversity archive for elasmobranchs and actinopterygians as well as other fish taxa. *Journal of Applied Ichthyology* 25, 9–32.
- Threlfall W., Carvajal, J. (1986). *Otodistomum cestoides* (van Beneden, 1871) from two species of skates taken in Chilean waters. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 81, 341–342.
- Threlfall, W., Carvajal, G. (1986). *Otodistomum cestoides* (van Beneden, 1871) from two species of skates taken in Chilean waters. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 81, 341–342.
- Tillett, B. J., Meekan, M. G., Field, I. C., Thorburn, D. C. & Ovenden, J. R. (2012c). Evidence for reproductive philopatry in the bull shark, *Carcharhinus leucas* in northern Australia. *Journal of Fish Biology* 80, 2140–2158.
- Tillett, B.J., Field, I. C., Johnson, G., Buckworth, R., Meekan, M.G., Bradshaw, C., Ovenden, J.R. (2012a). Accuracy of species identification by fisheries observers in a north Australian shark fishery. *Fisheries Research* 127–128, 109–115.
- Tillett, B.J., Meekan, M.G., Broderick, D., Field, I. C., Cliff, G., Ovenden, J. (2012b). Pleistocene isolation, secondary introgression and restricted contemporary gene flow in the pigeye shark, *Carcharhinus amboinensis* across northern Australia. *Conservation Genetics* 13, 99–115.
- Tinti, F., Ungaro, N., Pasolini, P., De Panfilis, M., Garoia, F., Guarniero, I., Sabelli, B., Marano, G., Piccinetti, C. (2003). Development of molecular and morphological markers to improve species-specific monitoring and systematics of Northeast Atlantic and Mediterranean skates (Rajiformes). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 288, 149–165.
- Toffoli, D., Hrbek, T., de Araujo, M.L.G., de Almeida, M.P., Charvet-Almeida, P., Farias, I.P. (2008). A test of the utility of DNA barcoding in the radiation of the freshwater stingray genus *Potamotrygon* (Potamotrygonidae, Myliobatiformes). *Genetics and Molecular Biology* 31, 324–336.
- Traxler, B., Brem, G., Müller, M., Achmann, R. (2000). Polymorphic DNA microsatellites in the domestic pigeon, *Columba livia* var. *domestica*. *Molecular Ecology* 9, 365–378.

- Treloar, M.A., Laurenson, L.J., Stevens, J.D. (2007). Dietary comparisons of six skate species (Rajidae) in south-eastern Australian waters. *Environmental Biology of Fishes* 80, 181–196.
- Van Oosterhout, C., Hutchinson, W.F., Wills, D.P.M., Shipley, P. (2004). MICRO-CHECKER: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Molecular Ecology Notes* 4, 535–538.
- VanGuilder, H.D., Vrana, K.E., Freeman, W.M. (2008). Twenty-five years of quantitative PCR for gene expression analysis. *Biotechniques* 44, 619–626.
- Vargas-Caro, C. (2010). *Captura incidental y descarte de peces cartilaginosos (Pisces: Chondrichthyes) en la pesquería artesanal de raya volantín Zearaja chilensis (Guichenot, 1848)*. Valdivia: Universidad Austral de Chile.
- Vargas-Caro, C., Bustamante, C., Bennett, M.B., Ovenden, J.R. (2014). The complete validated mitochondrial genome of the yellownose skate *Zearaja chilensis* (Guichenoti 1848) (Rajiformes, Rajidae). *Mitochondrial DNA* (Early Online): 1–2.
- Vargas-Caro, C., Bustamante, C., Lamilla, J., Bennett, M.B. (2015a). A review of longnose skates *Zearaja chilensis* and *Dipturus trachyderma* (Rajiformes: Rajidae). *Universitas Scientiarum* 20, 305–312.
- Vargas-Caro, C., Bustamante, C., Lamilla, J., Bennett, M.B., Ovenden, J.R. (2015b). The phylogenetic position of the roughskin skate *Dipturus trachyderma* (Krefft & Stehmann, 1975) (Rajiformes, Rajidae) inferred from the mitochondrial genome. *Mitochondrial DNA* [early online], DOI: 10.3109/19401736.2015.1060462.
- Vélez-Zuazo, X., Argnarsson, I. (2011). Shark tales: a molecular species-level phylogeny of sharks (Selachimorpha, Chondrichthyes). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 58, 207–217.
- Venkatesh, B., Kirkness, E.F., Loh, Y.-H., Halpern, A.L., Lee, A.P., Johnson, J., Dandona, N., Viswanathan, L.D., Tay, A., Venter, J.C., Strausberg, R.L., Brenner, S. (2007). Survey sequencing and comparative analysis of the elephant shark (*Callorhinchus milii*) genome. *PLoS Biology* 5, 101.
- Venkatesh, B., Tay, A., Dandona, N., Patil, J. G., Brenner, S. (2005). A compact cartilaginous fish model genome. *Current Biology* 15, R82–R83.
- Venter, J.C., Adams, M.D., Myers, E.W., Li, P.W., Mural, R.J., Sutton, G.G., Smith, H.O., Yandell, M., Evans, C.A., Holt, R.A., et al. 264 (2001). The sequence of the human genome. *Science* 291, 1304.
- Veríssimo, A., McDowell, J.R., Graves, J.E. (2010). Global population structure of the spiny dogfish *Squalus acanthias*, a temperate shark with an antitropical distribution. *Molecular Ecology* 19, 1651–1662.
- Veríssimo, A., McDowell, J.R., Graves, J.E. (2011). Population structure of a deep-water squaloid shark, the Portuguese dogfish (*Centroscymnus coelolepis*). *ICES Journal of Marine Science* 68, 555–563.
- Vignal, A., Milan, D., San Cristobal, M., Eggen, A. (2002). A review on SNP and other types of molecular markers and their use in animal genetics. *Genetics Selection Evolution* 34, 275–305.
- Villalba, C., Fernández, J. (1985). Contribución al conocimiento de la familia Chondracanthidae en Chile (Copepoda: Poecilostomatoida). *Gayana Zoología* 49, 31–58.

- Von Ihering, H. (1891). On the ancient relations between New Zealand and South America. *Transactions and Proceedings of the New Zealand Institute* 24, 431-445.
- Voris, H.K. (2000). Maps of Pleistocene sea levels in Southeast Asia: shorelines, river systems and time durations. *Journal of Biogeography* 27, 1153-1167.
- Waits, L.P., Luikart, G., Taberlet, P. (2001). Estimating the probability of identity among genotypes in natural populations: cautions and guidelines. *Molecular ecology* 10, 249-256.
- Wakeford, R.C., Agnew, D.J., Middleton, D.A.J., Pompert, J.H.W., Laptikhovsky, V.V. (2005). Management of the Falkland Islands multispecies ray fishery: is species-specific management required. *Journal of Northwest Atlantic Fisheries Science* 35, 309-324.
- Waldman, J.R. (2005). Definition of Stocks: An Evolving Concept. In *Stock Identification Methods. Applications in Fishery Science* (Cadrian, S.X., Friedland, K.D., Waldman, J.R., Eds.), pp. 7-16. Amsterdam: Elsevier.
- Waldman, J.R., Richards, R.A., Schill, W.B., Wirgin, I., Fabrizio, M.C. (1997). An empirical comparison of stock identification techniques applied to striped bass. *Transactions of the American Fisheries Society* 126, 369-385.
- Walker, M.M., Diebel, C.E., Kirschvink, J.L. (1997). Magnetoreception. In *Sensory Systems Neuroscience: Fish Physiology* (Haraand, T., Zielinski, B., Eds.), pp. 335-374. Elsevier
- Walker, P.A., Hislop, J.R.G. 1998. Sensitive skates or resilient rays? Spatial and temporal shifts in ray species composition in the central and north-western North Sea between 1930 and the present day. *ICES Journal of Marine Science* 55, 392-402.
- Wang, J.L., Brekke, P., Huchard, E., Knapp, L.A., Cowlshaw, G. (2010). Estimation of parameters of inbreeding and genetic drift in populations with overlapping generations. *Evolution* 64, 1704-1718.
- Wang, J.L., Whitlock, M.C. (2003). Estimating effective population size and migration rates from genetic samples over space and time. *Genetics* 163, 429-446.
- Waples, R.S. (1989). A generalized approach for estimating effective population size from temporal changes in allele frequency. *Genetics* 121, 379-391.
- Waples, R.S. (1990a). Conservation genetics of Pacific salmon II. Effective population size and the rate of loss of genetic variability. *Journal of Heredity* 81, 267-276.
- Waples, R.S. (1990b). Conservation genetics of Pacific salmon III. Estimating effective population size. *Journal of Heredity* 81, 277-289.
- Waples, R.S. (2010). Spatial-temporal stratifications in natural populations and how they affect understanding and estimation of effective population size. *Molecular Ecology Resources* 10, 785-796.
- Waples, R.S., Do, C. (2010). Linkage disequilibrium estimates of contemporary N_e using highly variable genetic markers: a largely untapped resource for applied conservation and evolution. *Evolutionary Applications* 3, 244-262.
- Waples, R.S., England P.R. (2011). Estimating contemporary effective population size based on linkage disequilibrium in the face of migration. *Genetics* 189, 633-644.

- 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.
- Waples, R.S., Yokota, M. (2007). Temporal estimates of effective population size in species with overlapping generations. *Genetics* 175, 219–233.
- Ward, R.D. (2000). Genetics in fisheries management. *Hydrobiologia*, 420, 191–201.
- Ward, R.D., Holmes, B.H., White, W.T., Last, P.R. (2008). DNA barcoding Australasian chondrichthyans: results and potential uses in conservation. *Marine and Freshwater Research* 59, 57–71.
- Ward, R.D., Holmes, B.H., Zemlak, T.S., Smith, P.J. (2007). DNA barcoding discriminates spurdogs of the genus *Squalus*. In *Descriptions of New Dogfishes of the Genus Squalus (Squaloidea: Squalidae)* (Last, P.R., White, W.T., Pogonoski, J.J., Eds), pp. 117–130. Hobart: CSIRO.
- Ward, R.D., Zemlak, T.S., Innes, B.H., Last, P.R., Hebert, P.D.N. (2005). DNA barcoding Australia's fish species. *Philosophical Transactions of the Royal Society B* 360, 1847–1857.
- Waters, W.E., Erman, D.C. (1990). Research methods: concepts and design. In *Methods for Fish Biology* (Schreck, C.B. Moyle, P.B., Eds.), pp. 1-34. American Fisheries Society.
- West, G. (1990). Methods of assessing ovarian development in fishes: a review. *Australian Journal of Marine and Freshwater Research* 41, 199–222.
- Wetherbee, B.M., Cortés, E. (2004). Food consumption and feeding habits, 223-244. In *Biology of Sharks and Their Relatives* (Carrier, J.C., Musick, J.A., Heithaus, M.R., eds.), pp. 223–244. Boca Raton, FL: CRC Press.
- White, W., Platell, M., Potter, I. (2001). Relationship between reproductive biology and age composition and growth in *Urolophus lobatus* (Batoidea: Urolophidae). *Marine Biology* 138, 135–147.
- White, W.T., Last, P.R. (2006). Description of two new species of smooth-hounds *Mustelus widodoi* and *M. ravidus* (Charcharhiniformes; Triakidae) from the Western Central Pacific. *Cybium* 30, 235–246.
- White, W.T., Last, P.R. (2008). Description of two new species of gummy sharks, genus *Mustelus* (Carcharhiniformes: Triakidae), from Australian waters. In *Descriptions of New Australian Chondrichthyans* (Last, P. R., White, W.T., Pogonoski, J.J., Eds), pp. 189–202. Hobart: CSIRO Marine and Atmospheric Research.
- White, W.T., Last, P.R. (2012). A review of the taxonomy of chondrichthyan fishes: a modern perspective. *Journal of Fish Biology* 80, 901–17.
- White, W.T., Last, P.R., Compagno, L.J.V. (2005). Description of a new species of weasel shark, *Hemigaleus australiensis* n. sp. (Carcharhiniformes: Hemigaleidae) from Australian waters. *Zootaxa* 1077, 37–49.
- White, W.T., Last, P.R., Naylor, G.J.P. (2010). *Scoliodon macrorhynchus* (Bleeker, 1852), a second species of spadenose shark from the Western Pacific (Carcharhiniformes: Carcharhinidae) In *Descriptions of New Sharks and Rays from Borneo* (Last, P. R., White, W. T., Pogonoski, J. J., Eds), pp. 61 – 76. Hobart: CSIRO Marine and Atmospheric Research.

- Williams, H.H., MacKenzie, K. McCarthy, A.M. (1992). Parasites as biological indicators of the population biology, migrations, diet and phylogenetics of fish. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 2, 144–176.
- Williams. S.T., Shameemullah, M., Watson, E.T., Mayfield, C.I. (1972). Studies on the ecology of actinomycetes in soil. VI: The influence of moisture tension on growth and survival. *Soil Biol. Biochem.* 3, 187-195.
- Wood, C.C., Rutherford, D.T., McKinnell, S. (1989). Identification of sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*) stocks in mixed-stock fisheries in British Columbia and southeast Alaska using biological markers. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 46, 2108–2120.
- Wootton, R.J. (1998). Ecology of Teleost Fishes. Second Edition. Fish and Fisheries Series 24. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers.
- Worm B., Barbier E.B., Beaumont N., Duffy J.E., Folke C., Halpern B.S., Jackson J.B.C., Lotze H.K., Micheli F., Palumbi S.R. et al. (2006). Impacts of biodiversity loss on ocean ecosystem services. *Science* 314, 787–790.
- Wourms, J.P. (1977). Reproduction and development in chondrichthyan fishes. *American Zoologist* 17, 379–410.
- Wourms, J.P., Demski, L.S. (1993). The reproduction and development of sharks, skates, rays and ratfishes - introduction, history, overview, and future-prospects. *Environmental Biology of Fishes* 38, 7–21.
- Wright, S. (1931). Evolution in Mendelian populations. *Genetics* 16, 97–159.
- Yamaguchi, A., Taniuchi, T., Shimizu, M. (2000). Geographic variations in reproductive parameters of the star-spotted dogfish, *Mustelus manazo*, from five localities in Japan and in Taiwan. *Environmental Biology of Fishes* 57, 221–233.
- Yigin, C., Ismen, A. (2010). Age, growth, reproduction and feed of long-nosed skate, *Dipturus oxyrinchus* (Linnaeus, 1758) in Saros Bay, the north Aegean Sea. *Journal of Applied Ichthyology* 26, 913–919.
- Yoneda, M., Wright, P.J. (2004). Temporal and spatial variation in reproductive investment of Atlantic cod *Gadus morhua* in the northern North Sea and Scottish west coast. *Marine Ecology Progress Series* 276, 237–248.
- Yoon, H.K., Jeong, D., Chung, I.H., Jung, J.W., Oh, M.J., Kim, S., Lee, Y.-H., Kim, C.-G., Hwang, S.Y. (2009). Rapid species identification of elasmobranch fish (skates and rays) using oligonucleotide microarray. *Biochip Journal* 3, 87–96.
- Zavatteri, A. (2010). Age and Growth of Yellownose, *Dipturus chilensis* (Guichenot, 1848), in the Southwestern Atlantic (34°- 55°S). Mar del Plata: Universidad Nacional de Mar del Plata.
- Zelditch, M.L., Swiderski, D.L., Sheets, H.D., Fink, W.L. (2004). *Geometric Morphometrics for Biologists: A Primer*. Elsevier: San Diego, CA.
- Zenger, K.R., Stow, A.J., Peddemors, V., Briscoe, D.A., Harcourt, R.G. (2006). Widespread utility of highly informative AFLP molecular markers across divergent shark species. *Journal of Heredity* 97, 607–611.

Zorzi, G.D., Anderson, M.E. (1988). Records of the deep-sea skates, *Raja (Amblyraja) badia* Garman, 1899 and *Bathyraja abyssicola* (Gilbert, 1896) in the eastern north Pacific, with a new key to California skates. *California Fish and Game* 74, 87–105.

Zúñiga, O. (2002). Guía de Biodiversidad N°2. Crustáceos. Centro Regional de Estudios y Educación Ambiental. Universidad de Antofagasta: Chile.

ANEXOS

1. Presentación de autores por objetivo específico

OBJETIVO ESPECIFICO 1: *Realizar una revisión bibliográfica del estado del arte referente a la identificación de unidades evolutivas y demográficas en peces cartilagosos*

- Dr. Jennifer Ovenden (UQ): Avances científicos y tecnológicos en la determinación genotípica de peces cartilagosos
- Julio Lamilla (UACH): Avances científicos y tecnológicos en la determinación demográfica de peces cartilagosos

OBJETIVO ESPECIFICO 2: *Diseñar, aplicar y evaluar un plan de muestreo, temporal y geográficamente adecuado para alcanzar los restantes objetivos del proyecto*

- Julio Lamilla (UACH), Dr. Carlos Bustamante (UQ)

OBJETIVO ESPECIFICO 3: *Identificar y caracterizar genéticamente la(s) principal(es) unidad(es) evolutiva(s) de raya volantín y raya espinosa en la costa chilena*

- Carolina Vargas-Caro (UQ), Dr. Michael B. Bennett (UQ): Una revisión sobre la biología, pesquería y conservación de las rayas *Zearaja chilensis* y *Dipturus trachyderma*
- Carolina Vargas-Caro (UQ), Dr. Jennifer Ovenden (UQ): Uso de marcadores moleculares mitocondriales para la identificación de raya volantín *Zearaja chilensis* y raya espinosa *Dipturus trachyderma*

- Carolina Vargas-Caro (UQ), Dr. Jennifer Ovenden (UQ): Identificación de unidades poblacionales de la raya volantín *Zearaja chilensis* y raya espinosa *Dipturus trachyderma* en aguas chilenas, a través de microsatélites y ADN mitocondrial

OBJETIVO ESPECIFICO 4: *Identificar y caracterizar la(s) principal(es) unidad(es) demográfica(s) de raya volantín y raya espinosa presentes en la costa chilena*

- Dr. Carlos Bustamante (UQ): Caracterización y variación morfométrica en la raya volantín *Zearaja chilensis* y raya espinosa *Dipturus trachyderma*, en aguas chilenas
- Tania Ponce (UACH): Caracterización y variación de la dieta y nivel trófico de *Zearaja chilensis* y *Dipturus trachyderma* en aguas chilenas
- Tania Ponce (UACH): Caracterización y variación de la carga parasitaria de *Zearaja chilensis* y *Dipturus trachyderma* en aguas chilenas
- Astrid Isla (UACH): Caracterización y variación de la historia de vida de *Zearaja chilensis* y *Dipturus trachyderma* en aguas chilenas

OBJETIVO ESPECIFICO 5: *Estimar el número de orígenes (zonas de desove y/o crianza) y su contribución relativa a cada unidad demográfica identificada y zona principal de captura*

- Dr. Jennifer Ovenden (UQ), Dr. Carlos Bustamante (UQ), Carolina Vargas-Caro (UQ): Identificación de poblaciones natales

- Julio Lamilla (UACH), Claudio Barría (UACH): Contribución relativa a la pesquería

ANEXOS

2. Conclusiones del Taller de Resultados del Proyecto FIP 2013-29

PTO.MONTT 19 DE ENERO 2016

LUGAR: CONSEJO ZONAL DE PESCA REGION DE LOS LAGOS. HORA: DE 10 A 13 HORAS

En vista a la extensión del Informe y del público participante, los resultados se resumieron en dos presentaciones tituladas:

- Identificación y caracterización de las principales unidades demográficas de raya volantín y raya espinosa presentes en la costa chilena, correspondiente al objetivo 4
- Uso de marcadores moleculares mitocondriales para la identificación de raya volantín *Zearaja chilensis* y raya espinosa *Dipturus trachyderma* y Estimación del número de orígenes (zonas de desove y/o crianza) y su contribución relativa a cada unidad demográfica identificada y zona principal de captura, corresponden a los objetivos 5 y 6.

Posterior a ambas presentaciones, se ofreció la palabra sobre estas, lo que generó un abundante y constructivo debate, que dio lugar a las siguientes conclusiones:

- SERNAPESCA solicitó capacitación en la identificación de ambas especies de rayas (*chilensis* y *trachyderma*) con fines de mejorar la fiscalización.
- El dirigente de Hualaihue manifestó que si se quiere evaluar la veda reproductiva había que considerar los sitios de desove, como el lugar llamado

Piedra Azul, como un área reconocida por los pescadores como sitio con presencia de huevos encapsulados enterrados en la época de verano.

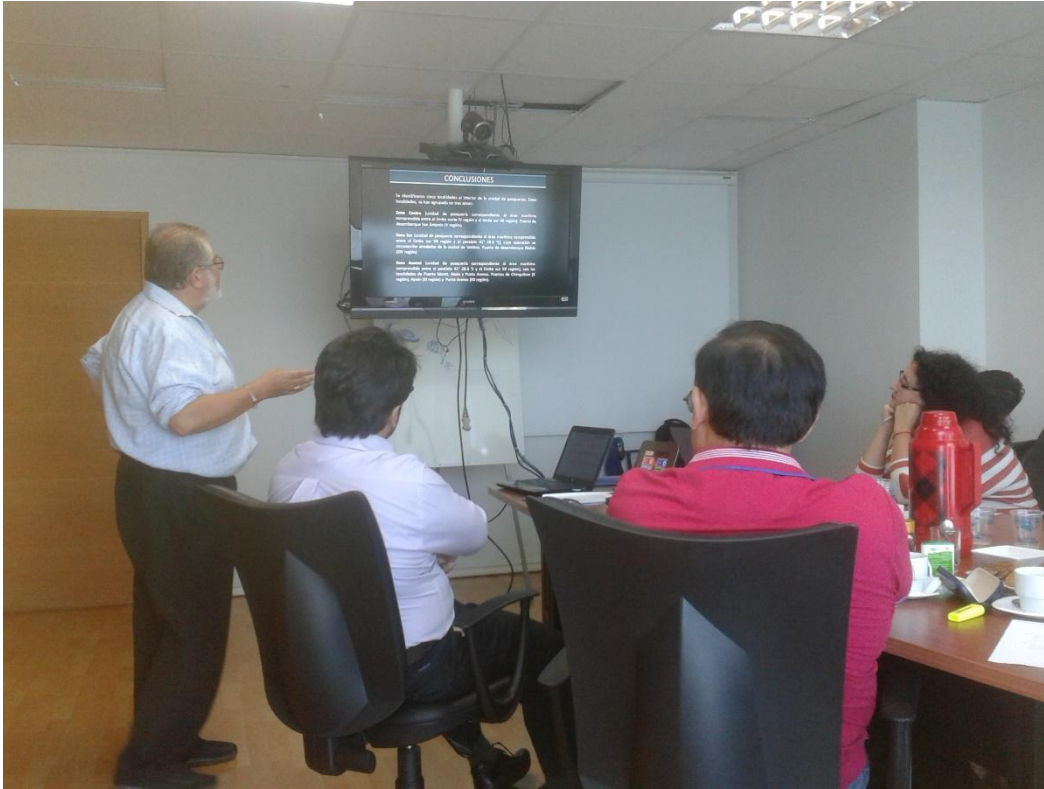
- La Dra. María Angela Barbieri compromete su apoyo en la evaluación de estos recursos en proyectos independientes de la pesquería, de manera de evaluar las zonas de mayor profundidad y la zona costera, donde la pesquería no se realiza.
- Es necesario prospeccionar, independientemente de la pesquería, el lugar donde se encuentran las hembras maduras, tanto para *Zearaja chilensis*, como para *D. trachyderma*.
- Se concluyó que la mejor medida de manejo para este recurso es la protección de hembras ovígeras, las que deben ser liberadas, idealmente marcadas.
- Se acordó, mediante un futuro proyecto, el uso en forma experimental de un ecógrafo portátil, para evidenciar que la presencia de hembras con huevos encapsulados en su interior y también madurez gonadal. El estudio a través de técnicas no letales permitirá estudiar las hembras y liberarlas con el menor daño posible, asegurando su potencial reproductivo.
- El dirigente de Hualaihue se comprometió a invitar al Jefe de Proyecto y parte del equipo a exponer los resultados de este proyecto en un ampliado de pescadores de esa Federación, para lo cual la Subsecretaría de Pesca ofrece su apoyo y colaboración.
- Se acordó solicitar al IFOP que en su programa de seguimiento, la obtención de trozos de tejido con un sacabocado de cada uno de los ejemplares

desembarcados y su fijación en alcohol absoluto con fines de tener una genoteca que pueda analizarse posteriormente.

- La Dra. Barbieri manifiesta su satisfacción por los resultados del proyecto, que si bien no son totalmente concluyentes, significan un gran avance en el estudio genético poblacional de las rayas en estudio. Futuros proyectos en este tema permitirán avanzar con una base sólida y con metodologías probadas en este estudio.

FOTOGRAFIAS TALLER DE RESULTADOS 2013-29





Valdivia, 21 de enero 2016