

**PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATOLICA DE VALPARAISO
FACULTAD DE RECURSOS NATURALES
ESCUELA DE CIENCIAS DEL MAR**



PROYECTO FIP N° 2014-31

**“REVISIÓN EXPERTA DE LA ESTIMACIÓN Y ASIGNACIÓN DE EDAD DE LA ANCHOVETA XV-II
REGIÓN”**

INFORME FINAL

Valparaíso, Febrero 2017



REQUIRENTE

FONDO DE INVESTIGACIÓN PESQUERA

Presidente Consejo de Investigación Pesquera:
Raúl Súnico Galdames

EJECUTOR

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATOLICA DE VALPARAISO

Investigador Responsable

Guido Plaza Pastén

COLABORADORES PUCV

Mauricio Landaeta Díaz
Alejandra Hernández Saso
Jorge Contreras Herrera
Camilo Rodríguez Valentino
José Merino Díaz
Dante Queirolo Palma

JEFE SUBCONTRATO IFOP

Francisco Cerna Troncoso

COLABORADORES IFOP

Mackarena Gómez Beltrán
Cecilia Machuca Rodríguez
Fernando Espíndola



RESUMEN EJECUTIVO

La determinación de edad para las especies de anchovetas se ha evaluado tradicionalmente mediante el recuento de ámulos, ya sea utilizando escamas u otolitos. Hasta la fecha, la información recogida en la estructura de edad de las anchovetas, asociadas a los sistemas de alta productividad, ha demostrado que estas especies parecen vivir por un máximo de 4 a 5 años y crecer a longitudes asintóticas de entre 16 y 20 cm de longitud total. Sin embargo, estudios recientes, utilizando análisis de microestructura de los otolitos, han reportado un crecimiento muy acelerado en la fase juvenil en algunas especies, incluido *Engraulidos*, lo que parece ser indicativo que estas especies alcanzan una porción significativa de sus longitudes asintóticas al finalizar su primer año de vida. En este contexto, la Subsecretaría Pesca y Acuicultura licitó el proyecto de investigación "FIP 2009-17", que fue adjudicado por el Instituto de Fomento Pesquero y la Pontificia Universidad Católica de Valparaíso. Dicho proyecto buscaba ajustar la asignación de edad anual, desde el análisis de microestructura de otolitos, que permitiera consignar la edad correcta de ejemplares que son producto de un reclutamiento prolongado en la zona norte de Chile.

Durante el desarrollo del proyecto FIP 2009-17 se determinó el crecimiento diario en juveniles y adultos de la anchoveta (*Engraulis ringens*) en el norte de Chile, mediante el análisis de micro-incrementos diarios de los otolitos sagitales, durante los años 2009 y 2010. Se concluyó que los juveniles de esta especie crecieron a tasas de crecimiento muy elevadas, donde los reclutas de entre 11 y 12 cm de longitud total tenían entre 4 y 5 meses de edad. También se pudo determinar la edad diaria en ejemplares mayores a 12 cm de LT, reportándose que ejemplares de entre 15 y 16 cm no tenían más de 400 días de vida. Sin embargo, durante el proceso de evaluación interna de esta investigación surgieron dudas sobre la influencia potencial que podría tener en los resultados obtenidos, tanto los procedimientos metodológicos de preparación de otolitos como los criterios de interpretación de micro-incrementos. Para abordar esta problemática un segundo proyecto de investigación fue ejecutado (SUBPESCA N° 4728-31 LP 11), el cual permitió validar la periodicidad diaria de formación de los micro-incrementos primarios en juveniles y adultos de esta especie en condiciones de confinamiento, lo que ratificaba los resultados del FIP 2009-17. Debido a la trascendencia de los nuevos hallazgos se licitó el proyecto FIP 2014-31 "Revisión experta de la estimación y asignación de edad de la anchoveta XV-II región", cuyo objetivo fue "confirmar la determinación y asignación de edad de la anchoveta de la XV-II Región". A continuación se resumen los principales hallazgos derivados de su ejecución.

Una de las principales actividades desarrolladas para dar cumplimiento al primer objetivo específico del proyecto fue la realización de un Taller Internacional, para revisar, analizar y discutir los criterios de identificación de los micro-incrementos diarios en los otolitos de juveniles y adultos de la anchoveta, utilizados en los proyectos "FIP 2009-17" y "SUBPESCA 4728-31 LP 11". El Taller Internacional fue liderado por dos expertos internacionales, el Dr. **Steven Campana**, de la Universidad de Islandia, líder en la disciplina de



análisis de micro-estructura de otolitos y el Dr. **Akinori Taksuka** del Instituto Nacional de Investigación Pesquera de Japón, quien posee una gran experiencia en la ecología de los estadios tempranos de peces pelágicos pequeños. Los expertos concluyeron que en la determinación de edad de la anchoveta, llevada a cabo en los proyectos “FIP 2009-16” y “SUBPESCA 4728-31 LP 11” se utilizaron procedimientos metodológicos comparables con los estándares internacionales. Consecuentemente concluyeron que la determinación de edad a nivel diario es altamente confiable para la anchoveta *E. ringens* en la zona norte de Chile.

Durante el desarrollo del Taller Internacional se demostró que los experimentos de producción de juveniles en confinamiento, llevados a cabo durante el desarrollo del proyecto SUBPESCA 4728-31 LP 11, permitieron validar la periodicidad de formación de los micro-incrementos con confiabilidad y elevados niveles de reproducibilidad. Consecuentemente se demostró que las conclusiones sobre el crecimiento acelerado de juveniles silvestres reportados en los proyectos anteriormente realizados son confiables. En este mismo contexto, se demostró que el criterio de bandas (GBR) es el que recoge de mejor forma el proceso de formación diaria de micro-incrementos en otolitos en esta especie.

El proceso de formación diaria de los micro-incrementos en juveniles fue validado también mediante un análisis de las fechas de nacimiento, llevado a cabo por el Dr. Steven Campana. Mediante este análisis se demostró que la distribución de frecuencia de las fechas de nacimiento de los juveniles coincidieron con el patrón de variación histórica del IGS promedio de esta especie en la zona norte de Chile. El experto destacó que este resultado es una evidencia adicional, que confirma la precisión en la determinación de edad a nivel diario en juveniles de esta especie. Por su parte la distribución de frecuencia de las fechas de nacimientos de adultos también mostró un patrón bimodal (mayo; julio-septiembre), aunque menos conspicuo que en juveniles. Se concluyó que el hecho que la distribución no fuera uniformemente distribuida en el ciclo anual, también demuestra que hay información confiable en la determinación de edad diaria en adultos de esta especie. Se señala que el desfase en la distribución entre juveniles y adultos pudo haberse visto afectada por un problema de precisión y/o ser producto de un efecto distorsionador originado por la mezcla de clases anuales en los análisis.

Durante el desarrollo del Taller Internacional se concluyó que no fue posible evaluar con plena exactitud la determinación de edad anual en adultos, ya sea usando el recuento de ámulos y/o a través del recuento de micro-incrementos diarios, debido a la ausencia de un experimento de largo término que permita mantener en confinamiento ejemplares adultos por un periodo equivalente a la edad que está siendo cuestionada. Sin embargo, la evidencia disponible hasta la fecha sugiere que la secuencia de micro-incrementos primarios provee un indicador más confiable de edad que los presunto ámulos y que los adultos presentes en la pesquería tendrían edades de alrededor de 1 año de vida. Sin embargo, los expertos consideran que investigación adicional todavía es necesaria para confirmar definitivamente estos hallazgos.



El desarrollo del resto de los objetivos específicos del proyecto requirió un esfuerzo de muestreo para recolectar larvas, pre-reclutas, reclutas y adultos con el fin de obtener una mejor representación de la relación talla-edad, y obtener consecuentemente parámetros de crecimiento confiables para propósitos de evaluación de stock. El proceso de muestreo llevado a cabo durante el desarrollo del proyecto FIP 2014-31 permitió obtener ejemplares silvestres en un amplio rango de longitud, desde 0,65 a 15 cm de LT, cubriendo las fases larval, juvenil temprana (pre-reclutas), juvenil tardía (reclutas) y adultos, lo que permitió ajustar modelos talla-edad a la fecha de captura para cada estado ontogenético por separado y de forma global. Se concluyó que en su mayoría el crecimiento tendió a ser alométrico a nivel de cada fase, siendo explicado significativamente por modelos Laird-Gompertz que estimaron tasas máximas de crecimiento diario de $\sim 0,6$; $\sim 0,9$; y $\sim 1,2$ para la fase larval, pre-recluta y recluta, respectivamente, estimaciones que fueron similares cuando se analizaron ejemplares nacidos en la misma cohorte de invierno y primavera. Consecuentemente estos resultados confirman los resultados de crecimiento acelerado estimados para los años 2009 y 2010 en proyectos anteriores.

Cuando se integró toda la historia de vida, ya sea a nivel global como separados por estación de nacimiento (invierno y primavera), los modelos Laird Gompertz y von Bertalanffy tradicional fueron los que mejor recogieron la variabilidad de la relación talla-edad a la fecha de captura, a pesar de la aparente alometría que fue evidente en cada estado ontogenético. El ajuste de dichos modelos permitieron concluir que la especie creció a tasas de crecimiento máximas de alrededor de 1 mmd^{-1} al segundo mes de vida en caso de Laird-Gompertz. No obstante, en el caso de los modelos de von Bertalanffy se estimaron coeficientes de crecimiento (K) $\sim 2-4 \text{ año}^{-1}$ muy superiores a los registrados hasta la fecha para la especie. Por otra parte, las longitudes asintóticas estimadas por ambos modelos fluctuaron entre 14 y 16 cm LT, sub-estimación que pareció estar asociada a la ausencia de ejemplares mayores a 15 cm en los análisis.

La relación entre el tamaño del otolito (radio) y el tamaño del pez de *E. ringens* fue significativamente descrita por un modelo logarítmico para el estado larval temprano (pre-flexión y flexión), mientras que la relación se tornó lineal para ejemplares pre-reclutas y reclutas. Por lo tanto, el retro-cálculo para esta especie se puede efectuar de forma confiable a partir de ejemplares más viejos, hasta incluso los primeros 30 días de vida. Mediante este procedimiento se estimaron tasas de crecimiento diaria retro-calculadas y tasas máximas al punto de inflexión de modelos Laird-Gompertz, las cuales fueron similares a la tasas de crecimiento derivadas de modelos talla-edad a la fecha de captura para cada estado ontogénico, a saber $\sim 0,5$; $\sim 1,0$ & $\sim 1,3 \text{ mmd}^{-1}$ para la fase larval, pre-recluta y recluta, respectivamente. Estos resultados otorgan evidencias adicionales que confirman la hipótesis de crecimiento rápido en esta especie en la zona norte de Chile, incluso en una situación ambiental particular como fue la ocurrencia de un evento El Niño en el océano Pacífico Sur.



El perfil del grosor de los micro-incrementos de los sobrevivientes definitivos (reclutas), como proxy del crecimiento, alcanzaron un máximo cercano a los 20 μm , entre los 30 y 50 días dependiendo de la cohorte, para luego descender hasta alcanzar aproximadamente los 2 μm a los 200 días aproximadamente. Este patrón de perfil ontogenético de crecimiento, sumado a los resultados derivados de los modelos de talla-edad, demuestran que el segundo mes de vida parece ser fundamental en términos de crecimiento somático para esta especie. Estos resultados son promisorios en caso de querer buscar indicadores biológicos que permitan otorgar una alerta temprana sobre la fuerza de la clase anual resultante. Para ello es necesario evaluar la relación entre crecimiento temprano e indicadores de reclutamiento y/o biomasa del stock. Para este propósito se cuenta hasta la fecha con una serie de tiempo de 6 años (1972; 1982; 2009, 2010; 2014 & 2015) que han sido obtenidas durante el desarrollo de los proyectos de edad y crecimiento diario en esta especie en la zona norte de Chile.

Una de las características de la relación talla-edad, que resultó del aumento de información a nivel diario en diferentes estados, fue un aumento sustantivo del coeficiente de crecimiento (K), debido a la influencia que tiene el parámetro t_0 y su ajuste hacia el origen, además de la aparente subestimación del L_{∞} , distante de la longitud máxima (19 cm LT) observada para este recurso en la zona norte. El uso de estos parámetros en la evaluación de las implicancias en el actual modelo de evaluación se consideró inadecuado. Para ello se utilizaron los parámetros de crecimiento del modelo de von Bertalanffy reportados por Cerna & Plaza (2016). El análisis demostró que los parámetros de crecimiento y mortalidad natural producen una disminución del 56% (± 17 d.e) de la biomasa desovante y un aumento del reclutamiento en un 52% (± 40 d.e). Sin embargo, para algunos años la nueva serie de reclutamientos presenta valores hasta seis veces más que los estimados para la serie original. Se concluyó que el nuevo patrón de crecimiento y la mortalidad natural de la anchoveta del sur del Perú y norte de Chile, hacen necesario evaluar modificaciones en la configuración del modelo (*i.e.*, selectividad, ojiva de madurez a la talla o edad, etc.) o analizar el uso de un enfoque de modelación alternativo para especies de vida corta. Esto podría ser discutido y analizado en el marco de un estudio complementario por un grupo de expertos en dinámica de poblaciones y consensuado en el ámbito de los Comité Científico Técnico de Pelágicos Pequeños y de los Comités de Manejo.



EXECUTIVE SUMMARY

Age determination for anchovy species has traditionally been performed by counting *annuli*, either using scales or otoliths. To date, the information gathered in the age structure of anchovies associated with high productivity systems has shown that these species seem to live for a maximum of 4 to 5 years and grow to asymptotic lengths between 16 and 20 cm in total length. However, recent studies, using microstructure analysis of otoliths, have reported a very rapid growth in the juvenile phase in some species, including Engraulids, which seems to be indicative that these species reach a significant portion of their asymptotic lengths at the end of their first year of life. In this context, the Undersecretariat of Fisheries and Aquaculture of Chile tendered the research project "FIP 2009-17", which was awarded by the Instituto de Fomento Pesquero and the Pontificia Universidad Católica de Valparaíso. This project aimed to adjust the annual age assignment, using otolith microstructure analysis to record the correct age of specimens that are the product of a protracted recruitment in northern Chile.

During the development of the research project FIP 2009-17 the daily growth in juveniles and adults of anchovy (*Engraulis ringens*) in northern Chile was determined by the analysis of daily micro-increments of sagittal otoliths during 2009 and 2010. A distinctive finding showed that juveniles of this species grew at very high growth rates, where recruits between 11 and 12 cm in total length were between 4 and 5 months of age. It was also possible to determine the daily age in specimens larger than 12 cm LT, with specimens between 15 and 16 cm being no more than 400 days old. However, during the internal evaluation process of this research, doubts arose on the potential influence that could have on the results both the methodological methods of preparation of otoliths and the criteria of interpretation of micro-increments. In order to address this problem, a second research project was carried out (SUBPESCA No. 4728-31 LP 11), which allowed the validation of the daily periodicity of formation of primary micro-increments in juveniles and adults of this species under reared conditions, confirming as well the results of the FIP 2009-17 project. Due to the importance of the new findings, the FIP 2014-31 projects a new research was tendered called "Expert review of the estimation and age assignment of the anchovy in XV-II regions" The main findings derived from its execution are summarized below.

One of the main activities developed to fulfill the first specific objective of the FIP 2014-31 project was the development of an International Workshop to review, analyze and discuss the criteria for identifying daily micro-increments in the otoliths of juveniles and adults of anchovy, used in the projects "FIP 2009-17" and "SUBPESCA 4728-31 LP 11". The International Workshop was led by two international experts, Dr. Steven Campana of the University of Iceland, a leader in the discipline of otolith microstructure analysis and Dr. Akinori Taksuka of the National Fisheries Research Institute of Japan, who has extensive experience in the ecology of the early stages of small pelagic fishes. The experts concluded that methodological procedures



used by the Chilean researchers used in age determination of anchovy carried out in the researchers "FIP 2009-16" and "SUBPESCA 4728-31 LP 11" is comparable to international standards. Consequently they concluded that age determination at a daily level for the juvenile phase is highly reliable for the *E. ringens* in the northern Chile.

During the development of the International Workshop, it was demonstrated that experiments in reared juveniles carried out during the development of the research SUBPESCA 4728-31 LP 11, allowed to validate the periodicity of formation of the micro-increments with reliability and high levels of reproducibility. Consequently it was shown that the conclusions about the accelerated growth of wild juveniles reported in the projects previously performed are reliable. In this same context, it was demonstrated that the band criterion (GBR) is the one that better reflects the process of daily formation of micro-increments in otoliths in this species.

The validation of the daily periodicity of formation micro-increments in juveniles of *E. ringens* was also carried out by hatch date analysis, performed by Dr. Steven Campana, during the development of the International Workshop. This analysis showed that the frequency distribution of hatch dates matched with the historical variation pattern of the mean IGS of this species in northern Chile. The expert pointed out that this result is additional evidence, confirming the accuracy in the determination of age at daily level in juveniles of this species. The frequency distribution of adult hatch dates also showed a bimodal pattern (May, July-September), although less conspicuous than in juveniles. Due to the distribution was not uniformly distributed through the entire annual cycle it mean there somewhat reliable information in the determination of daily age in adults of this species. In addition it was pointed out that the distribution gap between juveniles and adults may have been affected by an either a precision problem or be the product of a distorting effect caused by the mixture of annual classes in the analyses.

During the development of the International Workshop it was not possible to fully assess the annual age determination in adults, either by using the count of annuli or by counting the daily micro-increments, due to the absence of a long term experiment to maintain in under rearing conditions adult specimens for a period equivalent to the age that is being questioned. The available evidence suggested that the daily increment sequence provides a more reliable indicator of age than do the presumed annuli, and that the adults are mainly about one year old. Hatch date distributions of the adults were broadly consistent with that of the juveniles and GSI, but were not sufficiently close to confirm that the daily ages were accurate. However, the evidence available to date suggests that the sequence of primary micro-increments provides a more reliable indicator of age than the presumed annuli and that adult present in the fishery would have ages of about 1 year of life. However, experts believe that further research is still needed to definitively confirm lifespan and age composition of the adults in this species.



The development of the remaining specific objectives of the current research required a sampling effort to collect larvae, pre-recruits, recruits and adults in order to obtain a better representation of the length-age relationship, and consequently obtain reliable growth parameters for stock assessment. The sampling process carried out during the development of the FIP 2014-31 project allowed to obtain wild specimens in a wide range of length, from 0.65 to 15 cm of LT, covering larval, early juvenile (pre-recruited) phases, (recruits) and adults, allowing fitting age-at-length models at the catch date (*i.e.*, cross-sectional data) for each ontogenetic state separately and globally. The most common pattern was the presence of allometric growth in each stage, which were explained significantly by a Laird-Gompertz models that estimated maximum daily growth rates at the inflexion point of ~ 0.6 ; ~ 0.9 ; and ~ 1.2 for the larval phase, pre-recruits and recruits, respectively, estimates that were similar when individuals born in the same winter and spring cohorts were analyzed. Consequently, these results confirmed the estimations of an accelerated growth reported in previous researchers for the years 2009 and 2010.

When the whole life story was integrated, either globally or separated by birth season (winter and spring), the traditional Laird Gompertz and von Bertalanffy models were the ones that best accounted for the variability of the age-size relationship at catch date, despite the apparent allometry observed in each ontogenetic stage. The fit of these models showed this species grew at maximum growth rates of around 1 mmd^{-1} at the second month of life in the case of Laird-Gompertz. However, in the case of the von Bertalanffy models, growth coefficients (K) $\sim 2-4 \text{ year}^{-1}$ were much higher than those recorded to date for the species. On the other hand, the asymptotic lengths estimated by both models fluctuated between 14 and 16 cm LT, an underestimation that seemed to be associated with the absence of individuals larger than 15 cm in the analyzes.

The relationship between otolith size (radius) fish of *E. ringens* size was significantly described by a logarithmic model for the early larval stage (pre-flexion and flexion), while the relationship became linear for pre-recruits and recruits. Therefore, back-calculation for this species can be reliably performed from older specimens, up to even the first 30 days of life. Using this procedure, we estimated the retro-calculated daily growth rates and maximum inflexion rates of Laird-Gompertz models, which were similar to the growth rates derived from size-age models at the capture date for each ontogenetic stage, *i.e.*, ~ 0.5 ; ~ 1.0 & $\sim 1.3 \text{ mmd}^{-1}$ for the larval stage, pre-recruit and recruit, respectively. These results provided additional evidence confirming the hypothesis of fast growth in this species in northern Chile, even in a particular environmental situation such as the occurrence of El Niño event in the South Pacific Ocean.

The micro-increment width profiles of the definitive survivors (recruits), as a proxy for growth, reached a maximum close to $20 \mu\text{m}$, between 30 and 50 days depending on the cohort, before descending to approximately $2 \mu\text{m}$ at approximately 200 days. This pattern of ontogenetic growth profile, coupled with the results derived from length-at-age models, showed that the second month of life seems to be fundamental in



terms of somatic growth for this species. These results are promising in case of searching for biological indicators as an early warning on the subsequent year-class strength. For this purpose it is necessary to evaluate the relationship between early growth and indicators of recruitment strength and/ or stock biomass. To date 6-year time series (1972, 1982, 2009, 2010, 2014 & 2015) has been obtained from the development of the research projects of age and daily growth in this species in the area north of Chile.

One of the characteristics of the length-at-age relationship, which provided an increase in insight at the daily level in different ontogenetic stages, was a substantive increase in the growth coefficient (K), due to the influence of the t_0 parameter due it passing close to the origin. In addition there was an apparent underestimation of L_{∞} , distant from the maximum length (19 cm LT) observed for this resource in northern Chile. The use of these parameters in the stock assessment process was not considered inadequate. For this purpose, the growth parameters of the von Bertalanffy model reported by Cerna & Plaza (2016) were used. The analysis showed that natural growth and mortality parameters triggered a decrease of 56% (± 17 s.d) in spawning biomass and an increase in recruitment by 52% (± 40 s.d). However, for some years the new series of recruitments presented values up to six times more than those estimated for the original series. As a corollary it was concluded that the new scenario of fast growth and the natural mortality of anchovy in southern Peru and northern Chile would demand changes in the model configuration (*i.e.*, selectivity, age-maturity, etc.). Alternatively, the use of creating an alternative modeling approach for short-lived species is also encouraged. This could be discussed and analyzed in the framework of a complementary study by a group of experts on stock assessment and population dynamic of fishes, in close agreement with the Scientific Technical Committee of Pelagic Fishes (CCT-PP) of the Undersecretariat of Fisheries and Aquaculture of Chile.



LISTA DE CONTENIDOS

1 INDICE DE FIGURAS Y TABLAS.....	3
1.2 TABLAS	8
2 INTRODUCCION	11
2.1 Objetivo General.....	12
2.2 Objetivos Específicos	12
3 ANTECEDENTES ADICIONALES.....	13
3.1 Evidencias de crecimiento rápido en pequeños pelágicos	13
3.2 Criterios de interpretación de micro-incrementos primarios en Engraulidos	15
3.3 Relación edad y crecimiento en los estadios tempranos de clupeoideos	16
4 METODOLOGIA	18
4.1 Objetivo específico 3.1	18
4.1.1 Estructura y modalidad del Taller Internacional.....	18
4.2 Objetivo específico 3.2.....	19
4.2.1 Recolección de ejemplares a partir de cruceros-hidro-acústicos y del monitoreo de la pesquería	20
4.2.2 Muestreo larval en el sector Coloso, Antofagasta, Chile	20
4.2.3 Preparación de otolitos para análisis micro-estructural	22
4.2.4 Protocolo de extracción y almacenamiento de otolitos lapillus y astericus de anchoveta	23
4.2.5 Preparación de otolitos para análisis micro-estructural	26
4.2.6 Procedimiento de lectura de micro-incrementos	27
4.2.7 Ejercicios de reproducibilidad	28
4.2.8 Procedimiento de medición de radios	28
4.2.9 Identificación de la cohortes de nacimiento	29
4.2.10 Determinación de los parámetros de crecimiento	29
4.2.11 Tasas de crecimiento individual obtenidas del retro-cálculo	32
4.2.11 Tasas de crecimiento global.....	33
4.2.12 Comparación de los modelos de crecimiento entre cohortes	33
4.3 Objetivo específico 3.3.....	33
4.4 Objetivo Específico 3.4	34
4.5 Objetivo Específico 3.5	35
4.5.1 Fundamentación.....	35
4.3.1 Aspectos metodológicos.....	36
5. RESULTADOS.....	44
5.1 Objetivos Específico 3.1.....	44
5.1.1 Taller Internacional.....	44
5.1.2 Preparación de otolitos para análisis micro-estructural	45
5.1.3 Interpretación e identificación de micro-incrementos primarios	46
5.1.4 Revisión de muestras de otolitos de edad conocida	47
5.1.5 Fuente de subestimación	50
5.1.6 Caso de estudio	52
5.1.7 Revisión de muestra de juvenil silvestre	55
5.1.8 Revisión de muestras de otolitos de adultos	55
5.1.9 Extrapolación del grosor de los micro-incrementos	56
5.1.10 Análisis de las fechas de nacimiento.....	57
5.1.11 Análisis de las fechas de nacimiento en juveniles silvestres.....	57
5.1.12 Análisis de las fechas de nacimiento en ejemplares adultos	59
5.1.13 Conclusiones del Taller Internacional.....	60
5.1.14 Consideraciones finales	62



5.2 Objetivo Especifico 3.2	64
5.2.1 Caracterización de la micro-estructura de otolitos	64
5.2.2 Reproducibilidad de las lecturas	70
5.2.3 Aspectos de historia de vida	74
5.2.4 Patrones de historia de vida de larvas de <i>E. ringens</i>	76
5.2.5 Patrones de historia de vida pre-reclutas de <i>E. ringens</i>	78
5.2.6 Patrones de historia de vida de reclutas de <i>E. ringens</i>	79
5.2.7 Tasa de crecimiento Global (TCG)	81
5.2.8 Perfiles del grosor de micro-incrementos	82
5.2.9 Reconstrucción de los patrones de edad y crecimiento usando retro-cálculo	84
5.3 Objetivo Especifico 3.3	87
5.3.1. Ajuste de modelos talla-edad integrando la información	87
5.3.3 Ajuste de modelos talla-edad integrando información histórica	91
5.4 Objetivo Especifico 3.4	94
5.5. Objetivo Especifico 3.5	94
6 DISCUSION	97
6.1 Rasgos micro-estructurales de los otolitos	97
6.2 Relación talla-edad a la fecha de captura	99
6.3 Aspectos de historia de vida de reclutas	101
6.4 Validación de los macro-anillos	102
6.5 Implicancias del crecimiento en la modelación poblacional del recurso	103
7 CONCLUSIONES	105
8 REFERENCIAS	108
9 ANEXOS	115
9.1 Captura de pre-reclutas de anchoveta	115
9.2 Programa del workshop internacional	115
9.3 Reporte del experto	115
9.4 Taller de implicancias	115
9.5 Taller de difusión de resultados	115
9.6 Respuesta al evaluador	115



1 INDICE DE FIGURAS Y TABLAS

1.1 FIGURAS

Figura 1 Fotografías tomadas bajo microscopía de luz que muestra la existencia de incrementos diarios en la región antistrostral de un otolito sagital, de un ejemplar de 14 cm LT de la anchoveta (<i>Engraulis ringens</i>), recolectado en junio de 2010. (a) 100X; (b) 400X y (c) aumento de 1000X.....	13
Figura 2 Fotografías extraídas de Plaza & Cerna (2015) ilustrando: (a) otolito sagital de un juvenil de 4,54 cm LT <i>Engraulis ringens</i> sacrificado el 10 de octubre de 2011, que muestra las tres zonas características de cuando los jóvenes fueron criados en un sistema enriquecido con nutrientes artificiales (ANES: Zona A & B) y luego transferidos a tanques de cultivo. (b) Imagen cerca del primordio (pr) e identificación de la marca de eclosión (hc). (c) Ilustración de los dos criterios utilizados para identificar micro incrementos primarios en la zona de transición (Zona B); línea azul: Criterio de banda (GBR); línea de negro: criterio de lectura individual (IMR); tm: marca la transición asociada al cambio de ambos sistemas.....	14
Figura 3 Fotografía reproducida del estudio de Cermeño et al. (2008), ilustrando los criterios IMR y GBR de identificación de micro-incrementos primarios de otolitos sagitales de la anchoveta del mediterráneo <i>Engraulis encrasicolus</i>	16
Figura 4 Ilustración de de un crecimiento larval tipo alométrico de un clupeoídeo típico, donde tanto la relación edad-talla a la fecha de captura (observaciones independientes, círculos rojos) como la relación edad-longitud retro-calculada (rectángulos blancos) se ajustan significativamente a un modelo Laird-Gompertz, donde G_{x_0} es la máxima tasa de crecimiento absoluta al punto de inflexión L_{x_0} . TC= tasa de crecimiento. Extraído de Plaza <i>et al.</i> (2008).	17
Figura 5 Ilustración de probables escenarios que definen la relación talla edad a nivel poblacional cuando es posible agregar ejemplares que comparten historia de vida similar. Hipótesis 1 El crecimiento a nivel diario intra-cohorte muestra periodos ontogenéticos bien definidos, los que recogen la variabilidad cuando se integra toda la historia de vida (Fig. 5a); Hipótesis 2 : El crecimiento a nivel diario es altamente variable incluso intra-cohorte que no permite recoger la variabilidad ontogenética cuando se integra toda la historia de vida. (Fig. 5b); Hipótesis 3 : El crecimiento de esta especie sigue un patrón compensatorio al final de su ciclo vida, debido a que los controladores del crecimiento que varían estacionalmente impactan de forma diferenciada las cohortes de ejemplares nacidos en estaciones opuestas (Fig. 5ab).....	19
Figura 6 Fotografía ilustrativa de una larva en “flexión” de anchoveta <i>Engraulis ringens</i> de 4,5 mm de LN, recolectada en sector de Coloso, Antofagasta, Chile, durante la estación invernal de 2014.....	23
Figura 7 Fotografía ilustrativa de los tres pares de otolitos de un ejemplar de 11 cm LT de anchoveta <i>Engraulis ringens</i> . (a) Sagitta; (b) asteriscus y (c) lapillus: A: Anterior; P: Posterior; V: Ventral; D: Dorsal.	24
Figura 8 Fotografías ilustrativas del protocolo de extracción y montaje de otolitos de <i>Engraulis ringens</i>	26
Figura 9 Fotografías bajo luz transmitida de otolitos pulidos en posición sagital de un juvenil de <i>E. ringens</i> de 10 cm LT. (a) 100X; (b) Zona del primordio a 400X; (c) Zona media a 200X; (d) Borde del otolito a 200X.....	27



Figura 10 Ilustración de un proceso de lectura en un juvenil de <i>E. ringens</i> , utilizando la herramienta "Tag" del programa IMAGE-pro-plus. La flecha amarilla denota el radio máximo (RM).	29
Figura 11 Fotografías bajo luz transmitida de análisis micro-estructural para ilustrar el proceso de lectura de micro-incrementos primarios en adultos de <i>Engraulis ringens</i> , recolectados en la zona norte de Chile.	34
Figura 12 Fotografía ilustrativa del trabajo de laboratorio y análisis de determinación de edad diaria de la anchoveta, realizada dentro del marco del desarrollo del Taller Internacional, realizado entre el 7 y 11 de diciembre de 2015, en la ciudad de Valparaíso	45
Figura 13 Fotografía ilustrativa del trabajo evaluación de los procedimientos de montaje y preparación de otolitos, de la anchoveta, realizados dentro del marco del desarrollo del Taller Internacional.	46
Figura 14 Fotografías de un otolito sagital de un juvenil de <i>E. ringens</i> de 4,54 cm LT sacrificado el 10 de octubre de 2011, ilustrando las tres zonas micro-estructurales características. La zonas A & B fueron formadas mientras el ejemplar se mantuvo en un sistema artificial con nutrientes que simulaban las condiciones naturales. La Zona B se formó una vez que los ejemplares fueron transferidos a un sistema de cultivo con alimentación artificial. Pr: Primordio. Imagen reproducida de Plaza & Cerna (2015).	47
Figura 15 Relación entre el periodo conocido después de la marca de transferencia y el número de micro-incrementos en otolitos sagitales de juveniles <i>E. ringens</i> , contados por distintos lectores. La línea sólida representa el ajuste teórico 1:1 entre ambas variables.	48
Figura 16 Relación entre el número de días transcurridos a partir de la eclosión (edad conocida) y el número de micro-incrementos en otolitos sagitales de juveniles <i>E. ringens</i> , contados por distintos lectores. La línea sólida representa el ajuste teórico 1:1 entre ambas variables. La mayoría de los lectores subestimó la edad verdadera por alrededor de 8-15 días.	50
Figura 17 (a) Otolito sagital de larvas de la anchoveta <i>E. ringens</i> ilustrando la presencia de numerosos micro-incrementos primarios. (b) otolito sagital de un juvenil <i>E. ringens</i> , ilustrando un área con un diámetro similar (línea blanca) al de la larva, donde no se aprecian micro-incrementos visibles.	51
Figura 18 Relación entre el radio del otolito sagital y la edad en días en larvas de anchoveta <i>Engraulis ringens</i> .	52
Figura 19 Figura ilustrativa de una trayectoria de lectura de micro-incrementos diarios de un juvenil de anchoveta <i>E. ringens</i> de edad conocida y su correspondiente corrección usando la relación radio vs edad a nivel larval.	53
Figura 20 Figura ilustrativa de una trayectoria de lectura de micro-incrementos diarios de un juvenil de anchoveta <i>E. ringens</i> de edad conocida (96 días) y su correspondiente corrección usando la relación radio vs edad a nivel larval.	54
Figura 21 Fotografías ilustrativas de secciones de un otolito sagital de un juvenil de la anchoveta <i>E. ringens</i> , recolectado durante el proyecto FIP 2009-16 en la zona norte de Chile. La edad del juvenil fue de alrededor de 136 días.	55



Figura 22 Distribuciones de frecuencias de fechas de nacimiento (DFFN) derivadas de la lectura de micro-incrementos diarios de otolitos de juveniles de la anchoveta <i>E. ringens</i> en la zona norte de Chile: (a) DFFN no corregidas; (b) DFFN corregidas por mortalidad diferencial y (c) DFFN expandidas a la captura comercial.	58
Figura 23 Cambios mensuales en el IGS medio de la anchoveta <i>E. ringens</i> en la zona norte de Chile extraído de Bohm et al 2010.	59
Figura 24 Distribuciones de frecuencias de fechas de nacimiento (DFFN) derivadas de la lectura de micro-incrementos diarios de otolitos de ejemplares adultos de la anchoveta <i>E. ringens</i> en la zona norte de Chile. Las DFFN no fueron corregidas por el efecto de mortalidad diferencial pero fueron estandarizadas con datos de captura.	60
Figura 25 Ilustración del proceso de difusión de la actividad del Taller Internacional en el Boletín Electrónico de la sección de Historia de Vida Temprana de la Sociedad de Pesquerías de Estados Unidos.	63
Figura 26 Fotografía ilustrativa de un otolito sagitta de una larva de 12,3 mm LT de <i>E. ringens</i> recolectada en invierno de 2014 en la zona de Antofagasta. ME: marca de eclosión; PR: Primordio. Las flechas negras indican micro-anillos que bifurcan parcialmente un micro-incremento primario.	65
Figura 27 Fotografía de la región central de otolitos <i>lapillus</i> (ab) y <i>sagitta</i> (cd), a 400 X (ac) y 1000X (bc), ilustrando la presencia de anillos diarios muy finos factibles de cuantificar de forma más confiable a aumentos máximos. Flechas: primordio (blancas); marca de eclosión (negras); marca de transición (verdes)	66
Figura 28 Fotografías ilustrativas de un otolito <i>asteriscus</i> izquierdo, extraído de un ejemplar pre-recluta de anchoveta de 4,8 cm LT, recolectado en una zona somera de Arica en Marzo de 2014. PR: primordio bien definido; PD: primordio difuso: (1): Check pretuberante. MA: margen anterior; MP: Margen posterior; MD: Margen dorsal; MV: margen ventral. (a): 100X; (b) 400X; (c) 1000X.	67
Figura 29 Ilustración del grosor medio de los patrones de micro-incrementos en 5 otolitos <i>asteriscus</i> de pre-reclutas <i>E. ringens</i> de entre 4 y 4,5 cm LT., recolectados en marzo de 2015 en la zona de Arica.	68
Figura 30 Fotografía ilustrativa de un otolito sagital proveniente de un pre-recluta de 3.1 cm LT. (a) 100X; (b & c)=400X. afi : anillos finos irregulares; ad : anillos dobles; pr : primordio; me : marca de eclosión.	68
Figura 31 Fotografía ilustrativa de un otolito <i>lapillus</i> izquierdo de un ejemplar pre-recluta de <i>E. ringens</i> de 3.7 cm LT. recolectado en marzo de 2015 en la zona de Arica. AFI: anillos finos e irregulares; MA: margen anterior; MP: margen posterior; PR: primordio. Magnificación: 400X.	69
Figura 32 Área de lectura del otolito de anchoveta en plano sagital. El otolito corresponde a un pez de 10 cm LT y 105 días de edad. La foto A) muestra la zona del primordio con 1000X. La foto B, C y D muestran la secuencia de anillos hasta el borde dorsal.	70
Figura 33 Ilustración del grado de dispersión de las lecturas en función de la edad número de micro-incrementos primarios y los profesionales involucrados en los ejercicios de reproducibilidad de larvas de anchoveta <i>E. ringens</i> , recolectas en la zona norte de Chile en invierno de 2014: LP : Lector principiante; LE : lector experimentado.	72



Figura 34	Ilustración del grado de dispersión de las lecturas en función de la edad número de micro-incrementos primarios y los profesionales involucrados en los ejercicios de reproducibilidad de otolitos <i>lapillus</i> de reclutas de anchoveta. LP: Lector principiante; LE: lector experimentado.....	73
Figura 35	Ilustración del grado de dispersión de las lecturas en función de la edad número de micro-incrementos primarios y los profesionales involucrados en los ejercicios de reproducibilidad de otolitos <i>Sagitta</i> de reclutas de anchoveta. LP: Lector principiante; LE: lector experimentado.	74
Figura 36	Relación longitud-edad al momento de la captura de ejemplares en diferentes estados ontogenéticos de la anchoveta <i>Engraulis ringens</i> , recolectados entre 2014 y 2015 en la zona norte de Chile.....	75
Figura 37	Distribución de frecuencia de las fechas de nacimiento de larvas <i>E. ringens</i> recolectadas en invierno de 2014, en el sector de Coloso, Antofagasta.....	76
Figura 38	Modelos Laird-Gompertz y lineales para cuatro cohortes de nacimiento de larvas de la anchoveta <i>E. ringens</i> , recolectadas en la zona de Antofagasta, en invierno de 2014.....	77
Figura 39	Distribución de fechas de nacimiento para pre-reclutas de la anchoveta <i>E. ringens</i> recolectados en diciembre de 2014, marzo de 2015 y diciembre 2015.....	78
Figura 40	Modelos Laird-Gompertz y lineales para cuatro cohortes de nacimiento de larvas de la anchoveta <i>E. ringens</i> , recolectadas en la zona de Antofagasta, en invierno de 2014.....	79
Figura 41	Distribución de fechas de nacimiento para pre-reclutas de la anchoveta <i>E. ringens</i> recolectados en diciembre de 2014, marzo de 2015 y diciembre 2015.....	80
Figura 42	Modelos Laird-Gompertz y lineales para dos cohortes de nacimiento estacionales de reclutas de la anchoveta <i>E. ringens</i> , recolectadas en la zona norte de Chile.....	81
Figura 43	Perfiles de grosor medio de micro-incrementos diarios con su error estándar en otolitos de anchoveta presentados por estado ontogenético y cohorte estacional.....	83
Figura 44	Relación entre Longitud total–Radio otolito de anchoveta por estado ontogenético de (a) larvas; (c) pre-reclutas y (c) reclutas de la anchoveta <i>E. ringens</i> recolectadas en la zona norte de Chile durante los años 2014 y 2015. Se muestran las ecuaciones, sus parámetros y el coeficiente de determinación para cada estado.....	85
Figura 45	Perfil de la media de la tasa de crecimiento individual por cohorte estacional de larvas, pre reclutas y reclutas de anchoveta de la zona norte. La línea punteada indica el límite entre el tiempo de vida con crecimiento alométrico (<30 días) y el con crecimiento isométrico entre el otolito y la longitud del pez.	86
Figura 46	Relación longitud-edad al momento de la captura de las cohortes 2014-2015 de larvas, peces juveniles (pre-reclutas y reclutas) y adultos de anchoveta de la zona norte de Chile. Se presentan la curva ajustada con los modelos de von Bertalanffy tradicional (A) Laird-Gompertz (B) y von Bertalanffy estacional (C).	89
Figura 47	Relación longitud-edad al momento de la captura de las cohortes de invierno y primavera de 2014 de anchoveta de la zona norte de Chile. Se presenta la curva ajustada con los modelos de von Bertalanffy tradicional (A) y Laird-Gompertz (B).	91



Figura 48 Curvas de crecimiento estacional de la relación longitud-edad al momento de la captura para la serie de datos históricos (1973,1982, 2009, 2010, 2014, 2015) de larvas, peces juveniles (pre-reclutas y reclutas) y adultos de anchoveta de la zona norte de Chile. Se presenta la curva ajustada con los modelos de von Bertalanffy estacional de: A) toda la serie; B) cohortes de otoño-invierno; C) cohortes primavera-verano.93

Figura 49 Trayectorias de las diferentes variables de estado, a) biomasa desovante, b) biomasa total, c) RPR largo plazo y d) reclutamientos para el stock de anchoveta del sur del Perú y norte de Chile. La línea continua representa el actual enfoque de modelación y la línea segmentada a la que incorpora los nuevos parámetros de crecimiento y de mortalidad natural.96



1.2 TABLAS

Tabla 1	Estadísticas básicas de la longitud de ejemplares de anchoveta recolectados en la zona norte de Chile. *: Lance positivo de pre-reclutas en la zona de Antofagasta.	21
Tabla 2	Larvas de anchoveta recolectadas en invierno de 2014 en un área somera de Antofagasta..	22
Tabla 3	Coefficientes de variación (CV) de la función objetivo para los desembarques e índices de biomasa de anchoveta.	42
Tabla 4	Tamaño de muestra para cada serie de estructuras de tallas de la evaluación de anchoveta.	42
Tabla 5	Resumen del ejercicio de reproducibilidad entre lectores para identificar micro-incrementos primarios en la Zona C, de otolitos sagitales de juveniles de la anchoveta <i>Engraulis ringens</i> , producidos en condiciones de confinamiento durante el desarrollo del proyecto SUBPESCA ID 4728-31 LP 11. FE: fecha de eclosión, FC: fecha de captura; DDM: días transcurridos después de transferencia a un sistema de cultivo con alimentación artificial; DE= 1 desviación estándar; APE=Porcentaje de Error Promedio; CV: Coeficiente de variación. Los nombres de los lectores asociados a las iniciales se presentan en el ANEXO 3.	48
Tabla 6	Resumen del ejercicio de reproducibilidad entre lectores para identificar micro-incrementos primarios en las Zonas A & B, de otolitos sagitales de juveniles de la anchoveta <i>Engraulis ringens</i> , producidos en condiciones de confinamiento durante el desarrollo del proyecto SUBPESCA ID4728-31 LP 11. FE: fecha de eclosión, FC: fecha de captura; DIAS: días transcurridos conocidos desde la eclosión hasta la fecha de traspaso a sistema de cultivo con alimentación artificial; DE= 1 desviación estándar; APE=Porcentaje de Error Promedio; CV: Coeficiente de variación. Los nombres de los lectores asociados a las iniciales se presentan en el ANEXO 3.	49
Tabla 7	Resumen del ejercicio de reproducibilidad entre lectores para identificar micro-incrementos primarios en las Zona A, B & C , de otolitos sagitales de juveniles de la anchoveta <i>Engraulis ringens</i> , producidos en condiciones de confinamiento durante el desarrollo del proyecto SUBPESCA ID 4728-31 LP 11; FE: fecha de eclosión, FC: fecha de captura; EDAD: días transcurridos conocidos desde la eclosión hasta la fecha de sacrificio; DE= 1 desviación estándar; APE=Porcentaje de Error Promedio; CV: Coeficiente de variación. Los nombres de los lectores asociados a las iniciales se presentan en el ANEXO 3.	49
Tabla 8	Recuento del número de incrementos en 5 juveniles de la anchoveta <i>E. ringens</i> de edad conocida, realizados por el Dr. Steven Campana (SC) en lectura directa bajo un microscopio óptico y sobre fotografías digitales obtenidas usando un analizador de imágenes. Los días estimados a través de la función radio vs edad se adicionaron para corregir la determinación de la edad.	52
Tabla 9	Estadísticas de valores medios y sus respectivas desviaciones (DE) del diámetro del primordio, radio a la marca de eclosión (ME), para los tres pares de otolitos, en 10 pre-reclutas de anchoveta de entre 3 y 7 cm LT, recolectados en la zona norte de Chile. Se indican también los radios medios a la segunda marca de transición (MT) y el número medio de micro-incrementos entre ambas marcas (NM).	57



Tabla 10	Resumen del ejercicio de reproducibilidad entre lectores para identificar micro-incrementos primarios, en otolitos sagitales de juveniles de larvas de la anchoveta <i>Engraulis ringens</i> , recolectados en invierno de 2014, en la zona norte de Chile. DE= 1 desviación estándar; APE=Porcentaje de Error Promedio; APE_LE: APE considerando lectores experimentados; CV: Coeficiente de variación.	71
Tabla 11	Resumen del ejercicio de reproducibilidad entre lectores para identificar micro-incrementos primarios, en otolitos <i>lapillus</i> de reclutas de la anchoveta <i>Engraulis ringens</i> , recolectados en la zona norte de Chile. DE= 1 desviación estándar; APE=Porcentaje de Error Promedio; APE_LE: APE considerando lectores experimentados; CV: Coeficiente de variación.	72
Tabla 12	Resumen del ejercicio de reproducibilidad entre lectores para identificar micro-incrementos primarios, en otolitos sagitales de reclutas de la anchoveta <i>Engraulis ringens</i> , recolectados en la zona norte de Chile. DE= 1 desviación estándar; APE=Porcentaje de Error Promedio; APE_LE: APE considerando lectores experimentados; CV: Coeficiente de variación.	73
Tabla 13	Estadísticas generales de edad y longitud a la fecha de captura para cuatro estados ontogenéticos (EO), año y cohorte estacional de nacimiento de la anchoveta <i>Engraulis ringens</i> en la zona norte de Chile. DE: 1 desviación estándar; CV: coeficiente de variación y número de ejemplares en cada ítem (n).	75
Tabla 14	Parámetros estimados de modelos Laird-Gompertz, para cuatro cohortes de nacimiento de larvas de anchoveta <i>E. ringens</i> , recolectadas en la zona de Antofagasta, en invierno de 2014. L_{∞} , Longitud asintótica; X_0 : Edad al punto de inflexión; TCApi; Tasa de crecimiento absoluta a X_0 . TC_{17} : Tasas de crecimiento diarias promedios derivadas del modelo hasta el día 17 después de la eclosión.	77
Tabla 15	Parámetros estimados de modelos Laird-Gompertz, para dos clases anules de nacimiento de pre-reclutas de anchoveta <i>E. ringens</i> , recolectados en la zona norte de Chile. L_{∞} , Longitud asintótica; X_0 : Edad al punto de inflexión; TCApi; Tasa de crecimiento absoluta a X_0 .	77
Tabla 16	Parámetros estimados de modelos Laird-Gompertz, para dos clases anules de nacimiento de reclutas de anchoveta <i>E. ringens</i> , recolectados en la zona norte de Chile. L_{∞} , Longitud asintótica; X_0 : Edad al punto de inflexión; TCApi; Tasa de crecimiento absoluta a X_0 .	81
Tabla 17	Estadísticas generales de la tasa de crecimiento global para cuatro estados ontogenéticos (EO), año y cohorte estacional de nacimiento de la anchoveta <i>Engraulis ringens</i> en la zona norte de Chile. DE: 1 desviación estándar; CV: coeficiente de variación y número de ejemplares en cada ítem (n). Las letras y/o símbolos diferentes denotan diferencias significativas ($p < 0,05$) a nivel global y entre estaciones de nacimiento dentro de un mismo estado ontogenético..	82
Tabla 18	Estadística general del ancho de los micro-incrementos y las tasas de crecimiento diaria retro-calculadas, determinadas por estado ontogenético y cohorte estacional de anchoveta de la zona norte para el 2014 y 2015. DE: desviación estándar; N: al número de peces analizados.	84
Tabla 19	Parámetros de crecimiento derivados del modelo Laird Gompertz para el ajuste de la relación edad-longitud retro-calculada de anchoveta <i>E. ringens</i> , por estado ontogenético y cohortes estacionales de anchoveta de la zona norte. Se indica la longitud (LT a X_0) y la tasa de crecimiento al punto de inflexión (TCDI a X_0), además del coeficiente de determinación (r^2).	87



Tabla 20	Estadísticas generales de edad y longitud a la fecha de captura para cuatro estados ontogenéticos (EO), año y cohorte estacional de nacimiento de la anchoveta <i>E. ringens</i> en la zona norte de Chile. DE: 1 desviación estándar; CV: coeficiente de variación y número de ejemplares en cada ítem (n).	88
Tabla 21	Parámetros estimados de modelos de crecimiento a la edad de captura, Lird-Gompertz (a) y Von Bertalanffy (b), para las cohortes de invierno y primavera de anchoveta <i>E. ringens</i> , recolectadas en la zona norte de Chile. L_{∞} : Longitud asintótica; X_0 : Edad al punto de inflexión; G: Tasa instantánea a X_0 ; TCApi; Tasa de crecimiento absoluta a X_0 . K: Coeficiente de crecimiento; ES: Error estándar. Se presenta también el coeficiente de determinación, el -logaritmo de la verosimilitud (-logLike) con los grados de libertad (df) y el criterio de información de Akaike (AIC).	90
Tabla 22	Comparación entre cohortes de invierno (1) y primavera (2) de los parámetros de crecimiento definidos en la Tabla 21, para anchovetas recolectadas en la zona norte de Chile. L_{∞} : Longitud asintótica; X_0 : Edad al punto de inflexión; G: Tasa instantánea a X_0 ; absoluta a X_0 . K: Coeficiente de crecimiento. El contraste de los parámetros se llevó, usando "Contrast Statement" de PROC NLMIXED de SAS.Inc.	9
Tabla 23	Parámetros de crecimiento a la edad de captura de anchoveta de la zona norte, considerando los datos globales históricos (1973, 1982, 2009, 2010, 2014, 2015), donde se incluye el error estándar, el estadístico de contraste (t) y la probabilidad de contraste (P valor), obtenidos a partir del modelo de vB estacional. Se presenta también el coeficiente de determinación, el -logaritmo de la verosimilitud (-logLike) con los grados de libertad (df), test de normalidad Shapiro wilk y número de muestra (n).	92
Tabla 24	Resultados de lectura de la macro-estructura y micro-estructura de ejemplares juveniles de anchoveta de la zona norte	94
Tabla 25	Resumen del porcentaje de variación en las variables de estado para el último año de la evaluación del stock de anchoveta del sur del Perú y norte de Chile.	96



2 INTRODUCCION

La anchoveta de la zona norte es un recurso compartido con el Perú puesto que constituye una unidad de stock que se distribuye entre 16°S y 24°S, zona geográfica que contiene las pesquerías del sur del Perú y del norte de Chile. La pesquería pelágica de la zona norte de Chile (18°21'S – 24°S) se inició a principio de la década de 1960 sobre la base del recurso anchoveta con destino de las capturas a la reducción a harina y aceite. A comienzos de la década de 1970 este recurso disminuyó de manera importante, mientras que la abundancia de la sardina aumentó, constituyéndose en el principal recurso de esta pesquería desde mediados de los setenta. La anchoveta permanece en un régimen de baja abundancia hasta 1985, cuando la situación se invierte nuevamente y esta especie vuelve a constituirse en el recurso pesquero principal de la zona norte. Esta alternancia entre ambas especies se produce debido a cambios ambientales inter-decadales, que provocan su cambio de régimen de abundancia. Antecedentes detallados sobre la variabilidad inter-decadal de los recursos de peces pelágicos se encuentra bien descritos por Serra (1983 & 1991), Lluch-Belda *et al.* (1992), Schwarzlose *et al.* (1999) y Yáñez *et al.* (2001).

La evaluación de los recursos pesqueros requiere de un correcto conocimiento de la estructura de edad para poder realizar un manejo pesquero efectivo. En el caso de la de anchoveta del norte el manejo se realiza sobre la base de capturas totales permisibles y vedas reproductivas y de reclutamiento. La captura total permisible se estima de los resultados de un modelo de evaluación de stock estructurado por edades y en base semestral. Ello exige una determinación de la edad fidedigna o exacta, lo que requiere que se establezca una metodología adecuada y criterios de lectura debidamente validados. Como ocurre con un número significativo de especies de peces, la determinación de la edad de la anchoveta está basada en el análisis de la estructura del otolito.

Debido que surgieron dudas sobre la estimación de la edad de la anchoveta del norte de Chile (XV-II regiones) se han realizado durante los últimos años dos proyectos de investigación orientados a la revisión de los criterios para la determinación y asignación de la edad. Para ello y para validar la determinación de la edad se utilizó el método de lecturas de micro-incrementos diarios. Los resultados obtenidos en el primer proyecto mostraron una alta tasa de crecimiento en juveniles usando esta metodolgia. En un segundo proyecto quedó demostrada la periodicidad diaria de los micro-incrementos primarios empleados en el proyecto inicial, confirmando además la elevada tasa de crecimiento de juveniles (< 11,5 cm LT), la cual se mantiene en ejemplares adultos ($\geq 11,5$ cm LT). Utilizando estos resultados se obtuvieron nuevas estimaciones para la tasa de crecimiento la que alcanza un valor de K del orden de 1,3 (año⁻¹) que es extraordinariamente alto. Por otra parte, estudios previos han demostrado que la longitud media de madurez



es de 11,5 cm LT para la anchoveta del norte, tamaño que coincide con especies del género *Engraulis* en otras regiones del mundo y que correspondería al primer año de vida, según estudios realizados sobre estas otras especies (Butler 1989; Waldron *et al.* 1992), validados también con la técnica de anillos diarios y no entre los primeros 5 y 6 meses de vida, que se desprende del estudio en discusión actual para la anchoveta del norte de Chile. Esta inconsistencia entre fuentes de información y el impacto que las nuevas estimaciones de K tienen en los niveles de mortalidad natural y en la dinámica del recurso, crea la necesidad de llevar a cabo una revisión que busque la consistencia entre distintas piezas de información biológicas y de esta forma tender a clarificar la dinámica de la anchoveta de la XV-II Regiones.

En este contexto, el presente proyecto recoge las recomendaciones emanadas de los Términos Básicos de Referencia y desarrolla las metodologías correspondientes para dar respuestas a los objetivos del proyecto FIP 2014-31 "**Revisión experta de la estimación y asignación de edad de la anchoveta XV-II región**".

2.1 Objetivo General

Confirmar la determinación y asignación de edad de la anchoveta de la XV-II Región.

2.2 Objetivos Específicos

- ❖ Comprobar los criterios de identificación y lectura de micro-incrementos diarios y de los macro anillos
- ❖ Definir un modelo de crecimiento mediante micro-incrementos diarios sobre la base del seguimiento de cohortes de nacimiento mensual en un ciclo anual
- ❖ Determinar la edad anual de anchoveta mediante micro-incrementos diarios
- ❖ Revisar los criterios de asignación de grupos de edad de anchoveta mediante la formación de macro-anillos
- ❖ Evaluar las implicancias del crecimiento en la modelación poblacional del recurso

A continuación se entregan los principales resultados que se han logrado recabar en el desarrollo del proyecto. Previo a ello y para comprender de mejor forma el alcance del proyecto se considera oportuno considerar algunos aspectos sobre la historia de vida de pelágicos pequeños, de manera de contribuir a la comprensión de los aspectos metodológicos y los resultados informados.



3 ANTECEDENTES ADICIONALES

3.1 Evidencias de crecimiento rápido en pequeños pelágicos

En un estudio reciente llevado a cabo por Namiki *et al.* (2010) fue posible determinar la edad de los peces adultos de la anchoveta japonesa (*E. japonicus*), contando los incrementos diarios en una muestra de ejemplares de entre 8 y 14 cm de longitud estándar (LE). Todos los ejemplares analizados tuvieron edades <365 días, donde el ejemplar más longevo alcanzó los 329 días. Otra prueba de crecimiento rápido proviene de dos estudios recientes utilizando análisis de la micro-estructura en *E. encrasicolus* en el Golfo de Vizcaya (Aldanondo *et al.* 2011) y en el Mar Adriático (La Mesa *et al.* 2009; Durovic *et al.* 2012). Estos estudios han demostrado que los juveniles pueden alcanzar 6-8 cm en aproximadamente 70-90 días. En el estudio de Aldanondo *et al.* (2011) en el Golfo de Vizcaya, el pez más grande datado (~ 14 cm LE) fue < de 1 año de vida. Estos resultados de rápido crecimiento coinciden con los hallazgos en *E. ringens* en el norte de Chile, donde se reportaron tasas de crecimiento diarias absolutas de 1,2-1,3 mmd-1 para juveniles <12 cm TL (Cerna *et al.* 2011), donde los ejemplares alcanzaron 12 cm TL en aproximadamente cuatro meses de la vida. En este estudio se pudo datar peces adultos de tamaños que fluctuaron entre 13 y 17,5 cm de longitud total, con la misma metodología. El hallazgo más distintivo, en este caso, fue la presencia de micro-incrementos de hacia los bordes de la otolitos, claramente identificable en 400X y 1000X de aumento (**Fig. 1**).

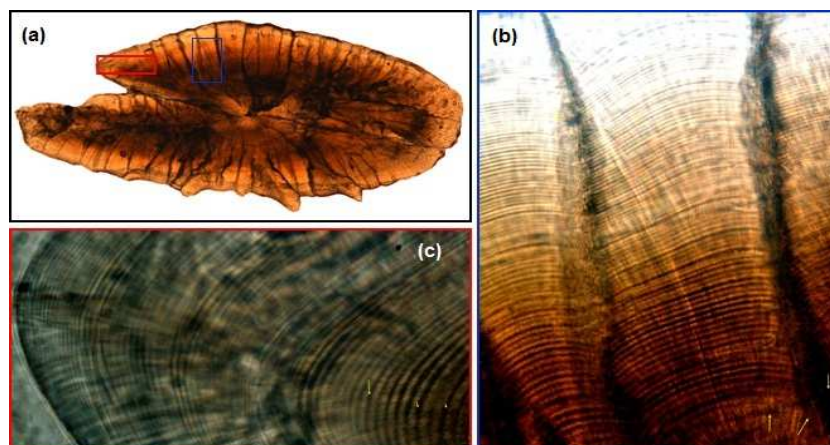


Figura 1 Fotografías tomadas bajo microscopía de luz que muestra la existencia de incrementos diarios en la región antistrostral de un otolito sagital, de un ejemplar de 14 cm LT de la anchoveta (*Engraulis ringens*), recolectado en junio de 2010. (a) 100X; (b) 400X y (c) aumento de 1000X.

Cabe destacar que el grosor de los micro-incrementos en la región antistrostral osciló entre 1,5 y 3 micrones, los cuales se ubican muy por encima del límite inferior de la resolución de la microscopía óptica, lo que le



otorga confiabilidad a las conclusiones. En este estudio, la edad total de ejemplares adultos varió entre 122 y 378 días.

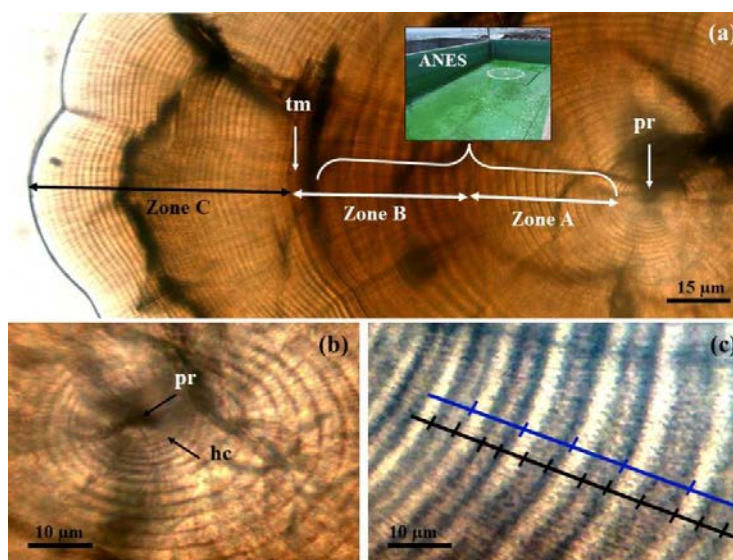


Figura 2 Fotografías extraídas de Plaza & Cerna (2015) ilustrando: (a) otolito sagital de un juvenil de 4,54 cm LT *Engraulis ringens* sacrificado el 10 de octubre de 2011, que muestra las tres zonas características de cuando los jóvenes fueron criados en un sistema enriquecido con nutrientes artificiales (ANES: Zona A & B) y luego transferidos a tanques de cultivo. (b) Imagen cerca del primordio (**pr**) e identificación de la marca de eclosión (**hc**). (c) Ilustración de los dos criterios utilizados para identificar micro incrementos primarios en la zona de transición (Zona B); línea azul: Criterio de banda (GBR); línea de negro: criterio de lectura individual (IMR); tm: marca la transición asociada al cambio de ambos sistemas.

De los hallazgos descritos previamente se deduce que *E. ringens*, parece maximizar todo su potencial para lograr su longitud asintótica en el primer año de vida, para posteriormente reducir drásticamente su crecimiento para maximizar quizás la reproducción. En este contexto, es importante subrayar que las especies de peces pelágicos pequeños tienden a compartir ciertos rasgos de la historia de vida, como por ejemplo: (i) una tendencia a maximizar el crecimiento durante los primeros años de vida, alcanzando una gran fracción de la longitud asintótica durante dicho período; (ii) un reclutamiento muy variables tanto en una escala espacial como temporal (Shannon *et al.* 1996; Borja *et al.* 1998; Cahuín *et al.* 2009; Cochrane *et al.* 2008; Oliveros-Ramos & Peña 2011), (iii) una temporada reproductiva prolongada asociada a una estrategia de desove parcial, que proporcionan múltiples cohortes que reclutan a la pesquería (Ribeiro *et al.* 1996, Richardson *et al.* 1998; Funamoto *et al.* 2004; Claramunt *et al.* 2012), y (iv) altas tasas de mortalidad durante las etapas larval y juvenil (Anderson 1988).



3.2 Criterios de interpretación de micro-incrementos primarios en Engraúlidos

Anteriormente se hizo alusión a la existencia de una controversia sobre el crecimiento de algunas especies de anchovetas, donde algunos estudios recientes han reportado elevadas tasas de crecimiento durante la etapa juvenil, utilizando análisis de la micro-estructura de sus otolitos. A partir de estos hallazgos se ha inferido que gran parte del crecimiento de estas especies se alcanza al finalizar el primer año de vida. Hallazgos similares fueron reportados en el proyecto FIP 2009-17 para la anchoveta en la zona norte, los que fueron corroborados con el estudio de validación de la periodicidad diaria de formación de los micro-incrementos llevadas a cabo bajo condiciones experimentales (Plaza & Cerna 2015).

Es importante destacar que en el estudio de validación se reportó la existencia de micro-incrementos dobles en ciertas regiones de los otolitos sagitales, que también fueron reportados para peces silvestres en el proyecto FIP 2009-17 (**Fig. 2**). Es importante destacar que dichas estructuras de apariencia concéntrica han sido también descritas para otolitos sagitales de peces juveniles de *E. encrasicolus* (Cermeño *et al.* 2006; Cermeño *et al.* 2008). Estos autores han descrito dos criterios para su cuantificación: IMR (individual mark reading method), donde cada micro-incremento presente en estas estructuras es cuantificado de forma independiente y GBR (growth band reading method) donde sólo el patrón concéntrico de bandas que constituyen estas estructuras es cuantificado como un micro-incremento primario (**Fig. 3**). El patrón de bandas (GBR) puede ser identificado con mucha más nitidez a menor magnificación (10X) mientras que el IMR debe ser aplicado a magnificaciones de 40X. Cuando se utiliza el criterio IMR las estimaciones de tasas de crecimiento son sustantivamente más bajas que cuando se utiliza el GBR. Actualmente esta disyuntiva es parte de un profundo debate en el hemisferio norte (Arneri *et al.* 2011), debido al potencial impacto que puede tener para el proceso de evaluación de stock de este recurso.

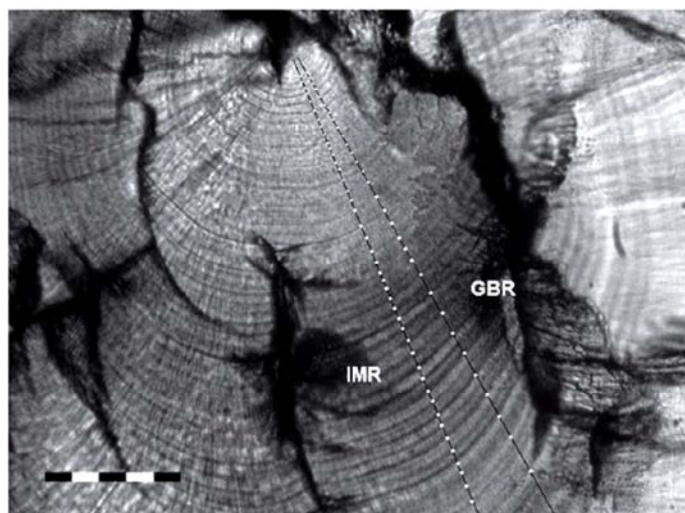


Figura 3 Fotografía reproducida del estudio de Cermeño et al. (2008), ilustrando los criterios IMR y GBR de identificación de micro-incrementos primarios de otolitos sagitales de la anchoveta del mediterráneo *Engraulis encrasicolus*.

En la anchoveta de la zona norte de Chile los anillos dobles han estado restringidos sólo a una región de los otolitos sagitales, particularmente entre los 30 y 50 días, periodo presumiblemente asociado al proceso de metamorfosis (Fig. 2). Esta zona de transición micro-estructural con presencia de anillos dobles fue reportada tanto en peces silvestres como aquellos producidos en condiciones de cautiverio (Cerna *et al.* 2012; Plaza *et al.* 2012; Plaza & Cerna 2015). En estos últimos se confirmó una correspondencia entre el número de anillos y los días transcurridos después de su nacimiento cuando los anillos dobles presentes en la zona de transición fueron contados de forma separada (Fig. 2). Además, es importante destacar la existencia de micro-incrementos dobles y/o bandas de crecimiento también en los otolitos de otros peces, lo cuales han sido asociados con la transición de larva a juvenil (Morales-Nin & Aldbert 1997, Thomas & Panfili 2000), migración vertical y/o ciclos de mareas (Strong & Ward 2009), aunque se desconoce las causas definitivas de su formación.

3.3 Relación edad y crecimiento en los estadios tempranos de clupeoideos

Es importante señalar que el crecimiento somático en longitud a lo largo de la historia de clupeoideos (*i.e.*, engraulidos y clupeidos) pasa a través de principalmente cuatro etapas: la etapa larval, la metamorfosis, el periodo juvenil y la etapa adulta. La mayor cantidad de investigación ha estado restringida a larvas y post-larvas en este grupo taxonómico, donde se ha demostrado que la relación edad-longitud es mayoritariamente asintótica, hacia el periodo de transición de larva a juvenil, etapa que involucra cambios sustanciales en morfología, fisiología y procesos ecológicos asociados al uso de áreas de crianza ventajosas para su crecimiento y sobrevivencia (Blaxter & Hunter 1982; Watanabe & Saito 1998; Takahashi *et al.* 2001; Plaza *et*



al. 2008) (Fig. 4). Es importante mencionar, sin embargo, el estudio reciente de Moreno *et al.* (2013) que reportó la existencia que un segundo periodo de crecimiento asintótico entre el segundo y cuarto mes de vida de *E. ringens* en condiciones experimentales. El conocimiento que se tiene sobre el periodo juvenil después de la transición y el periodo en que estos ejemplares aparecen en la pesquería es más escaso. En estos ejemplares la relación edad-longitud ha demostrado ser lineal en las especies en que ha sido estudiada, presumiblemente vinculada a una menor influencia de cambios ontogénicos y fisiológicos, sumado a su mayor capacidad para soslayar el impacto de los dos mayores controladores ambientales del crecimiento en clupeoideos, la temperatura y la productividad (Plaza *et al.* 2006).

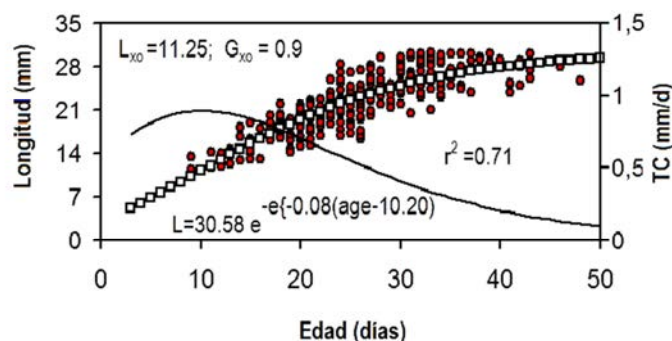


Figura 4 Ilustración de de un crecimiento larval tipo alométrico de un clupeoideo típico, donde tanto la relación edad-talla a la fecha de captura (observaciones independientes, círculos rojos) como la relación edad-longitud retro-calculada (rectángulos blancos) se ajustan significativamente a un modelo Laird-Gompertz, donde G_{x_0} es la máxima tasa de crecimiento absoluta al punto de inflexión L_{x_0} . TC= tasa de crecimiento. Extraído de Plaza *et al.* (2008).

Además de la variabilidad del crecimiento individual en función de la ontogenia se ha demostrado también que el crecimiento somático en clupeoideos es altamente influenciado por la variabilidad estacional, debido precisamente a que los controladores ambientales del crecimiento muestran fluctuaciones significativas a través del año y por consiguiente impactan de forma variable en el crecimiento de la cohorte de nacimiento (diarias, semanales y/o mensuales) (Cubillos *et al.* 2001). Por consiguiente, en estos recursos toda esta variabilidad queda integrada cuando se pretende modelar el crecimiento somático promedio poblacional para propósitos de evaluación y manejo. Cuando se integra toda la historia de vida, el crecimiento en clupeoideos ha mostrado un patrón sinusoidal, ajustando bien a modelos de crecimiento de tipo estacional.

En el caso de la especie objetivo, se le suma una nueva fuente de incertidumbre, debido a las elevadas tasas de crecimiento que fueron reportadas por Cerna *et al.* (2012) para juveniles silvestres, mediante el uso de micro-incrementos diarios de sus otolitos. En un escenario de crecimiento rápido, probablemente una gran fracción de la longitud asintótica podría alcanzarse en sólo unos pocos meses de vida y la fuerza de la clase



anual sería el resultado de la supervivencia acumulativa hasta unos pocos meses antes de la época de pesca, dificultando el proceso de evaluación de stock con procedimientos tradicionales (Stige *et al.* 2013). En este escenario, la evaluación de estas poblaciones debe incorporar indicadores alternativos, que podrían ser utilizados como señal para anticipar la condición de la pesquería en la temporada posterior (Anderson 1988, Leggett & DeBlois 1994, Hare & Cowen 1997, Takasuka *et al.* 2008).

4 METODOLOGIA

A continuación se describen los procedimientos metodológicos que fueron utilizados en el desarrollo de los objetivos específicos del proyecto.

4.1 Objetivo específico 3.1

“Comprobar los criterios de identificación y lectura de micro-incrementos diarios y de los macro anillos”

4.1.1 Estructura y modalidad del Taller Internacional

Reconociendo que existe cierta incertidumbre asociada a la interpretación de los micro-incrementos primarios en engraulidos y en la especie objetivo (*E. ringens*), el presente proyecto desarrolló un Taller Internacional con la participación de dos expertos de la disciplina, a fin de generar un protocolo definitivo de interpretación de micro-incrementos primarios de esta especie. Para ello, se puso a disposición de los expertos muestras de otolitos preparadas dentro del marco del proyecto FIP 2009-17 y del proyecto “Validación de la formación de anillos primarios y macro-anillos de crecimiento de Anchoveta de la Zona Norte de Chile” licitado por Subsecretaría de Pesca y Acuicultura.

Originalmente el Taller Internacional estaba planeado para ser ejecutado en el quinto mes de iniciado el proyecto a fin de garantizar una adecuada planificación y coordinación para la participación de los expertos internacionales. No obstante, debido a complicaciones de agenda fue re-agendado, llevándose a cabo entre el lunes 7 y viernes 14 de diciembre de 2015. Esta nueva planificación fue debidamente autorizada por Consejo del Fondo de Investigación Pesquera (Ver ANEXO 1). Los detalles de la estructura del taller, conjuntamente con las principales conclusiones del mismo se resumen en la sección “RESULTADOS”.



4.2 Objetivo específico 3.2

“Definir un modelo de crecimiento mediante micro-incrementos diarios sobre la base del seguimiento de cohortes de nacimiento mensual en un ciclo anual”

Para dar respuesta a los requerimientos que establecen las bases técnicas, en el presente proyecto se efectuó un estudio de edad y crecimiento de la fracción pre-recluta, juveniles reclutados a la pesquería y ejemplares adultos utilizando análisis de la micro-estructura de sus otolitos. Al determinar la edad en días, de cada ejemplar, obtuvo información de sus fechas de nacimiento. Al tener una recolección continua de ejemplares de diferentes tamaños a medida que la estación transcurre, agrupados en una misma cohorte de nacimiento se modeló la relación edad-longitud para obtener estimaciones confiables del crecimiento de esta especie, debido a que dichos ejemplares comparten una historia de vida cercana. A su vez se logró determinar si la relación edad-longitud varía en ejemplares nacidos en estaciones diferentes (**Fig. 5**). Estrictamente la metodología del uso de micro-incrementos permite efectuar un análisis agrupando ejemplares de un mismo día, semana y/o mes de nacimiento. No obstante, el esfuerzo logístico de muestreo y análisis de laboratorio requerido para lograr este nivel de resolución lo torna impracticable. Por consiguiente, en la presente se propuso agrupar por cohortes estacionales.

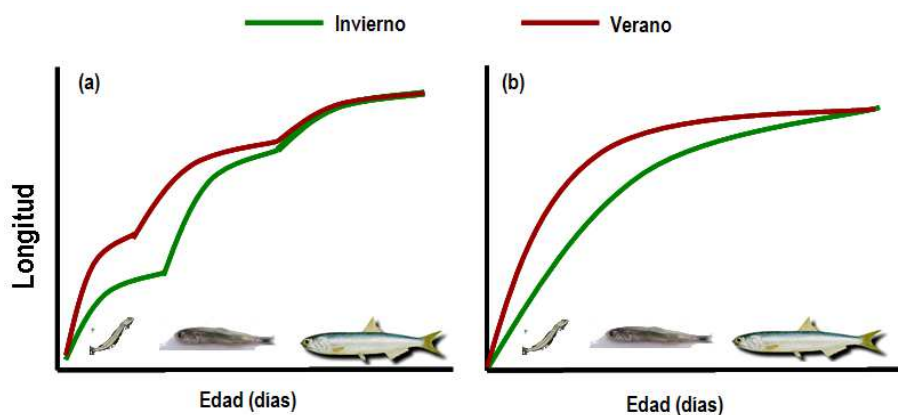


Figura 5 Ilustración de probables escenarios que definen la relación talla edad a nivel poblacional cuando es posible agregar ejemplares que comparten historia de vida similar. **Hipótesis 1** El crecimiento a nivel diario intra-cohorte muestra periodos ontogenéticos bien definidos, los que recogen la variabilidad cuando se integra toda la historia de vida (**Fig. 5a**); **Hipótesis 2:** El crecimiento a nivel diario es altamente variable incluso intra-cohorte que no permite recoger la variabilidad ontogenética cuando se integra toda la historia de vida. (**Fig. 5b**); **Hipótesis 3:** El crecimiento de esta especie sigue un patrón compensatorio al final de su ciclo vida, debido a que los controladores del crecimiento que varían estacionalmente impactan de forma diferenciada las cohortes de ejemplares nacidos en estaciones opuestas (**Fig. 5ab**).

A continuación se describen los procedimientos metodológicos asociados al cumplimiento de este objetivo específico.



4.2.1 Recolección de ejemplares de cruceros-hidro-acústicos y del monitoreo de la pesquería

Para el desarrollo del presente proyecto se dispuso de muestras de pre-reclutas, reclutas y adultos, provenientes de tanto de cruceros hidro-acústicos RECLAN como del monitoreo biológico-pesquero rutinario de la pesquería efectuados entre diciembre de 2014 y marzo de 2016. Se incorporaron también los ejemplares recolectados en áreas someras de la zona de Arica en febrero de 2015. A pesar de varios intentos de muestreo no se lograron recolectar pre-reclutas en áreas de crianza durante el resto del periodo 2015 (**Anexo 1**). Las estadísticas básicas de la longitud de un total de 1881 ejemplares, recolectados entre Arica y Antofagasta, que fluctuaron entre 3 y 17 cm de longitud total se resumen en la **Tabla 1**.

4.2.2 Muestreo larval en el sector Coloso, Antofagasta, Chile

Por primera vez se recolectaron pre-reclutas en un lance de pesca, durante el crucero hidro-acústico RECLAS, llevado a cabo por el buque científico Abate Molina en el área de Antofagasta el 19 de diciembre de 2014. Debido a que estos pre-reclutas provienen de una época de desove previa, se consideró oportuno incorporar al análisis, muestras de larvas de anchoveta recolectadas en 4 cruceros de plancton, llevados a cabo entre Junio y Agosto de 2014 (16-06-14, 29-06-14, 13-07-14, 02-08-14, 13-08-2014, 29-09-2014) (**Tabla 2**), en estaciones localizadas a 1 milla del sector de Coloso, Antofagasta, Chile. Las larvas fueron recolectadas usando una red Bongo (60 cm de diámetro y 300 μ m de apertura de malla), equipado con flujómetro OSK, para cuantificar el volumen de agua filtrada.



Tabla 1. Estadísticas básicas de la longitud de ejemplares de anchoveta recolectados en la zona norte de Chile. *: Lance positivo de pre-reclutas en la zona de Antofagasta.

ZONA	FECHA	N	MEDIA	± DE	RANGO	FUENTE	
Arica	18-nov-14	18	11,1	± 0,60	10 - 12	Monitoreo	
	27-nov-14	154	10,1	± 0,51	9 - 11	Monitoreo	
	05-dic-14	297	10,9	± 0,59	10 - 13	RECLAN	
	09-dic-14	186	12,0	± 8,82	9 - 131	RECLAN	
	10-dic-14	57	11,3	± 0,46	9 - 12	RECLAN	
	12-feb-15	51	11,4	± 0,36	11 - 12	Monitoreo	
	28-feb-15	336	10,5	± 0,47	9 - 12	Monitoreo	
	03-mar-15	44	11,2	± 0,32	10 - 12	Monitoreo	
	04-mar-15	20	11,5	± 0,56	10 - 12	Monitoreo	
	*	09-mar-15	24	6,3	± 3,28	3 - 13	Crianza
		06-abr-15	22	12,0	± 0,46	11 - 13	Monitoreo
		05-may-15	15	11,8	± 0,49	11 - 13	Monitoreo
		11-may-15	6	11,6	± 0,58	11 - 13	Monitoreo
		18-may-15	3	10,0	± 0,00	10 - 10	Monitoreo
	03-feb-16	12	11,6	± 0,38	11 - 12	Monitoreo	
Iquique	05-dic-14	82	11,5	± 0,73	9 - 13	RECLAN	
	26-ene-15	13	12,3	± 0,26	12 - 13	Monitoreo	
	27-feb-15	1	11,5	±	12 - 12	Monitoreo	
	03-mar-15	18	11,5	± 0,18	11 - 12	Monitoreo	
	11-mar-15	78	10,0	± 0,37	9 - 11	Monitoreo	
	09-abr-15	6	12,4	± 0,20	12 - 13	Monitoreo	
	14-abr-15	2	12,5	± 0	13 - 13	Monitoreo	
	27-may-15	12	10,5	± 1,61	9 - 13	Monitoreo	
	10-mar-16	10	13,2	± 0,35	13 - 14	Monitoreo	
Antofagasta	03-dic-14	39	12,2	± 1,12	10 - 14	RECLAN	
	04-dic-14	44	8,9	± 0,53	8 - 10	RECLAN	
	07-dic-14	60	13,2	± 1,43	11 - 15	RECLAN	
	10-dic-14	10	14,8	± 0,23	15 - 15	RECLAN	
	12-dic-14	20	15,6	± 0,31	15 - 16	RECLAN	
	17-dic-14	29	16,4	± 0,46	16 - 17	RECLAN	
	*	19-dic-14	39	5,2	± 0,49	4 - 6	RECLAN
		29-ene-15	10	12,3	± 0,26	12 - 13	Monitoreo
		04-mar-15	13	11,4	± 0,18	11 - 12	Monitoreo
		10-mar-15	5	12,1	± 0,22	12 - 13	Monitoreo
		12-mar-15	1	11,5	±	12 - 12	Monitoreo
		17-mar-15	5	12,5	±	13 - 13	Monitoreo
		06-abr-15	5	12,5	±	13 - 13	Monitoreo
		13-abr-15	2	12,3	± 0,35	12 - 13	Monitoreo
	*	06-dic-15	27	4,1	± 0,19	4 - 5	Monitoreo
	*	07-dic-15	31	4,2	± 0,41	3 - 5	Monitoreo
	*	09-dic-15	29	4,9	± 0,48	4 - 6	Monitoreo
	*	10-dic-15	23	3,4	± 0,34	3 - 4	Monitoreo
*	16-dic-15	15	4,8	± 0,21	4 - 5	Monitoreo	
*	18-dic-15	7	5,0	± 0,09	5 - 5	Monitoreo	



Los arrastres en cada estación se realizaron entre 1 y 2 nudos de velocidad. En cada estación se realizaron muestreos aproximadamente a 20 m desde la superficie durante 15 minutos. Cada muestra se fijó en una solución de formalina al 4%, tamponada con borato de sodio. Inmediatamente transcurridas 24 horas las larvas fueron traspasadas a una solución de etanol al 96% para su almacenamiento definitivo. Este proceso de fijación permitió la extracción de otolitos en condiciones óptimas. Un total de 351 larvas fueron medidas a 0,1 mm de precisión y procesadas para análisis micro-estructural de sus otolitos durante la ejecución del proyecto.

Tabla 2. Larvas de anchoveta recolectadas en invierno de 2014 en un área somera de Antofagasta.

ZONA	FECHA	N	MEDIA	±	DE	RANGO
Antofagasta	16-jun-14	100	0,7	±	0,3	0,3 - 1,3
	29-jun-14	26	1,1	±	0,4	0,5 - 1,6
	13-jul-14	79	0,8	±	0,3	0,3 - 1,6
	02-ago-14	17	0,8	±	0,1	0,6 - 1,0
	13-ago-14	67	0,7	±	0,3	0,2 - 1,1
	29-sep-14	62	0,8	±	0,4	0,3 - 1,7
TOTAL		351	4,8	0	1,8	2,2 - 8,2

4.2.3 Preparación de otolitos para análisis micro-estructural

La preparación de otolitos para análisis microestructura siguió procedimientos específicos para los diferentes estados ontogenéticos.

Larvas

Para cada fecha se analizaron 105 larvas, 35 larvas consideradas grandes, 35 medianas y 35 pequeñas. Se midió a cada individuo la longitud corporal (Lc): la longitud notocordal (desde la punta del hocico hasta la punta del notocordo) en larvas en preflexión, o longitud estándar (desde la punta del hocico hasta la base de los radios hipurales), en larvas en los estados de pre y flexión (**Fig. 6**). Se extrajeron otolitos, sagitta y lapillus, con ayuda de una lupa Olympus SZ61, equipado con un filtro de alta calidad para observar con mayor facilidad los otolitos con respecto al tejido del organismo y posteriormente se fijaron en un portaobjetos con resina epóxica transparente. Cada otolito fijado se observó en un microscopio Motic BA310, equipado con una cámara Moticam 2500 de 5.0mp, conectado a un computador. Se sacaron fotografías a cada otolito a 1000X con ayuda del programa Motic Images Plus 2.0, para obtener la siguiente información:



- ❖ Radio promedio determinado a partir de tres mediciones desde el núcleo al margen posterior del otolito.
- ❖ Perímetro y área de cada otolito.
- ❖ Número de micro-incrementos primarios.



Figura 6 Fotografía ilustrativa de una larva en "flexión" de anchoveta *Engraulis ringens* de 4,5 mm de LN, recolectada en sector de Coloso, Antofagasta, Chile, durante la estación invernal de 2014.

Pre-reclutas y reclutas

Los pre-reclutas y juveniles recolectados en áreas de crianza fueron almacenados en una solución de etanol inmediatamente después de la captura. Los ejemplares derivados de los cruceros hidroacústicos y del seguimiento de la pesquería, fueron congelados para extraer posteriormente los otolitos. Un vez en el laboratorio se registró la longitud total (LT) y longitud estándar (LS) a 0,1 mm de precisión. Es importante destacar que una de las recomendaciones a priori que efectuó el Dr. Steven Campana dentro del marco de su participación en el taller de revisión de criterios fue analizar los tres pares de otolitos de forma simultánea, con el fin de disponer de mayor cantidad de información para generar los criterios de interpretación de micro-incrementos primarios para esta especie. Este requerimiento demandó la generación de un protocolo de extracción y almacenamiento para los tres pares de otolitos de forma simultánea el que a continuación se describe.

4.2.4 Protocolo de extracción y almacenamiento de otolitos lapillus y asteriscus de anchoveta

El presente protocolo pretende describir de forma secuencial los pasos necesarios para extraer y montar otolitos lapillus y asteriscus en ejemplares de entre 3,5 y 14 cm LT de *E. ringens*. Se debe enfatizar que el



protocolo también hace mención a los otolitos sagitales sólo en algunas etapas debido a que para este par de otolitos los procedimientos de extracción y montaje ya han sido descritos en trabajos previos. Es importante destacar que los otolitos lapillus y asteriscus son extremadamente pequeños en miembros de esta familia, representando aproximadamente entre el 10 y 15 % del tamaño de los otolitos sagitales, por lo que se requiere una manipulación muy cuidadosa (**Fig. 7**). A continuación se describen las etapas conjuntamente con ciertos elementos que justifican cada procedimiento del protocolo (**Fig. 8**).

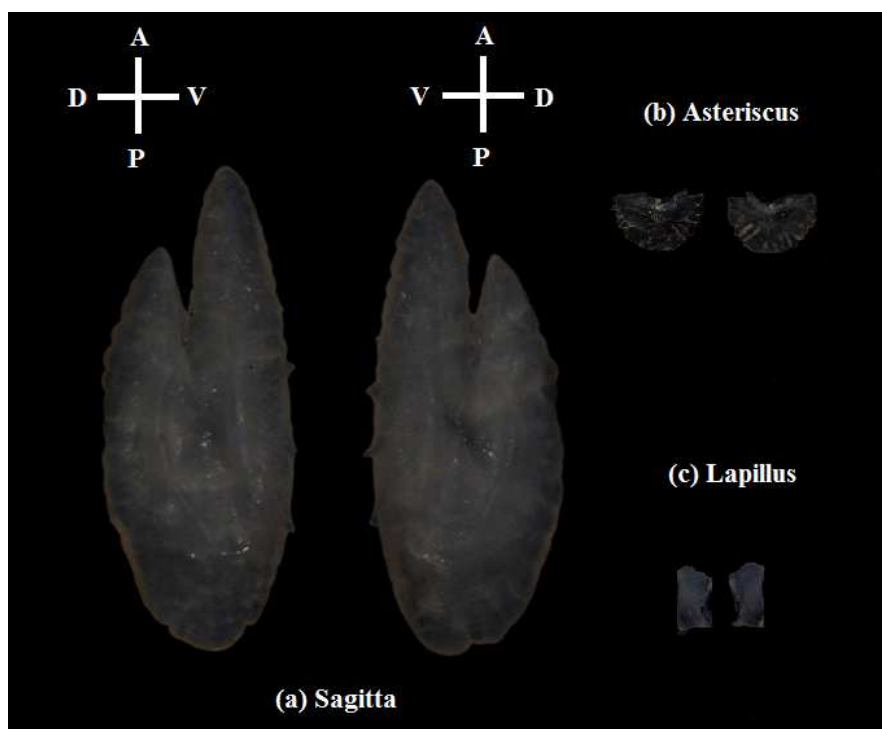


Figura 7 Fotografía ilustrativa de los tres pares de otolitos de un ejemplar de 11 cm LT de anchoveta *Engraulis ringens*. (a) Sagitta; (b) asteriscus y (c) lapillus: A: Anterior; P: Posterior; V: Ventral; D: Dorsal.

1.- Para la extracción de los otolitos se requiere que el ejemplar haya sido fijado en una solución de etanol de entre el 90 a 95%, debido a que la extracción de efectuar necesariamente bajo un estereo-microscopio bajo luz incidente y debe utilizarse un fondo oscuro para generar un mayor contraste al momento de la observación. Se debe destacar que debido al tamaño reducido de los otolitos lapillus y asteriscus se torna impracticable la extracción en muestra frescas y/congeladas incluso bajo estas mismas condiciones. En caso de ejemplares adultos > 12 cm LT se pueden almacenar sólo las cabezas para facilitar el trabajo de extracción, teniendo especial precaución en rotular los registros a fin de garantizar la trazabilidad del ejemplar (**Fig. 8 A-B**).



2.- Para la extracción de los otolitos se debe efectuar una incisión ovalada en la parte dorsal del cráneo utilizando un bisturí. Este corte permite remover con facilidad el cerebro utilizando micro-pinzas y posteriormente extraer de forma cuidadosa los canales semi-circulares para extraer los tres pares de otolitos (**Fig. 8 C-E**).

3.- Los otolitos sagitales que son de mayor tamaño son rápidamente removidos, depositados en una cápsula Petri, en una pequeña fracción de alcohol y limpiados de tejido adherente utilizando finas agujas de disección. Posteriormente son almacenados en micro-tubos de centrifugas debidamente rotulados para análisis posterior. Contrariamente los otolitos lapillus y asteriscos deben ser removidos de los canales semi-circulares de forma muy cuidadosa para remover restos de tejido y debido a su fragilidad esta tarea se facilita utilizando un filtro de luz polarizada (**Fig. 8 H**)

4.- La extrema delgadez y fragilidad de los otolitos lapillus y asteriscus hace imposible generar un sistema de almacenamiento en recipientes individualizados y rotulados, tales como micro-tubos de reducido tamaño. De llevar a cabo este tipo de almacenamiento la probabilidad de pérdida de las estructuras al momento del montaje es demasiado elevada. Para soslayar esta problemática, se recomienda almacenarlos temporalmente en una pequeña fracción de esmalte cosmetológico transparente. Para ello, una vez que los otolitos han sido separados se deben extraer de la placa petri con el extremo de una aguja de disección embebida previamente en esmalte. Esta etapa es crucial para garantizar que el otolito se adhiera fácilmente al extremo de la aguja y sea transferido a una gota de esmalte que se deposita sobre un portaobjeto debidamente rotulado.

5. Para obtener una mayor visibilidad de los micro-incrementos y facilitar los procedimientos posteriores de pulido cuando sean requeridos, se recomienda traspasarlos a una pequeña fracción de resina epóxica de dos componentes y/o alternativamente en una pequeña porción de Cristal Bond. Para remover los otolitos del esmalte se debe utilizar una pequeña alícuota de acetona cosmetológica y desplazarlos con un extremo de una aguja de disección previamente untada en el medio embebedor (**Fig. 8 I-K**).

6.- Para el montaje con resina epóxica, se coloca en un portaobjeto en una placa térmica a una temperatura de 90 a 150 °C, con una pequeña fracción residual de cera termoplástica. En una recipiente distinto se mezclan ambos componentes de la resina en fracciones similares, procurando que la mezcla sea lo más lenta y cuidadosa posible, para así evitar la formación de burbujas. Posteriormente el otolito es embebido en una pequeña fracción de resina depositada sobre el residuo de cera utilizando pequeñas agujas de disección. (**Fig. 8 L-M-N**).



7.- El procedimiento de montaje en resina epóxica y/o Cristal Bond garantiza una resolución satisfactoria tanto de lapillus como asteriscus, donde los micro-incrementos primarios pueden ser identificados y consecuentemente ser sujetos de estudio en un análisis micro-estructural.

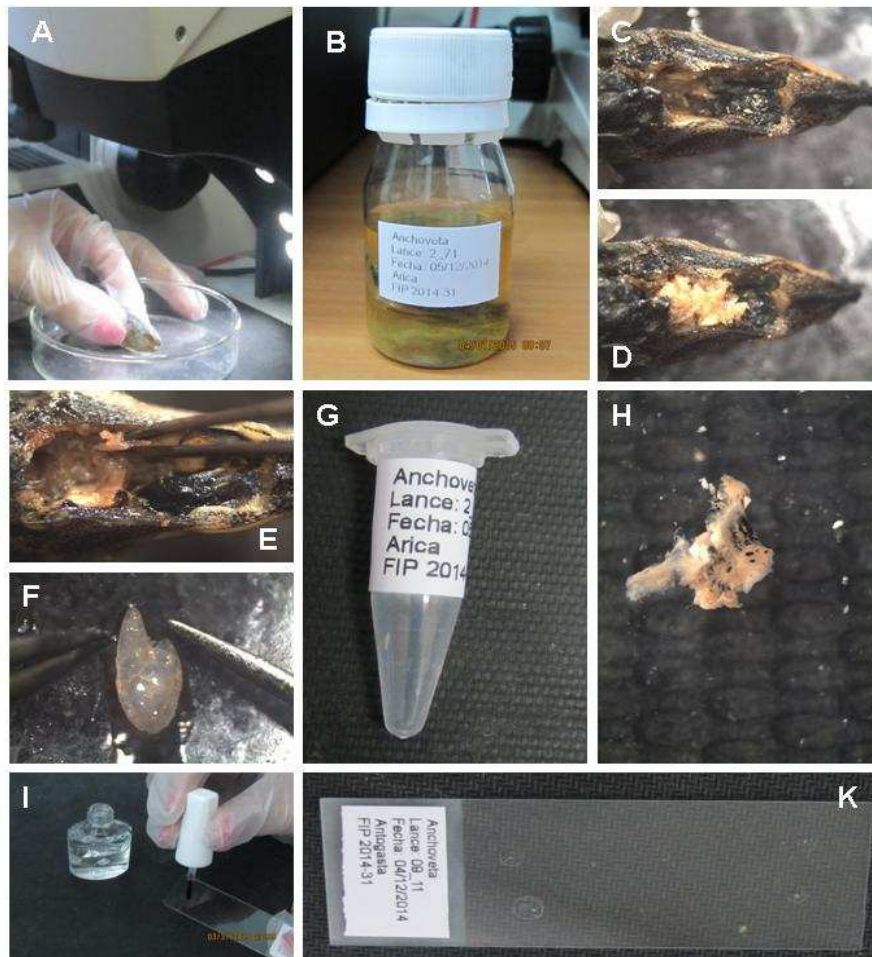


Figura 8 Fotografías ilustrativas del protocolo de extracción y montaje de otolitos de *Engraulis ringens*.

4.2.5 Preparación de otolitos para análisis micro-estructural

Los otolitos "lapillus" y "asteriscus" de pre-reclutas y juveniles fueron embebidos en una pequeña porción de Cristal Bond, después de lo cual no se requirió una preparación adicional para lograr una resolución satisfactoria de los micro-incrementos primarios. En el caso de los otolitos sagitales, se aplicó el mismo procedimiento para ejemplares < 6 cm LT, mientras que para juveniles de mayor tamaño se utilizó el método SGEM descrito por Plaza *et al.* (2005). En este método los otolitos son montados en resina epóxica en portaobjetos (mayores antecedentes son dados en Plaza *et al.* 2005). Para la correcta identificación de los



micro-incrementos, los otolitos embebidos en resina fueron pulidos hasta lograr una resolución adecuada del primordio, utilizando lijas entre 800-1000 de tamaño de grano. Este procedimiento ya ha sido adecuadamente desarrollado para la especie *E. ringens* en el proyecto FIP 2009-17, donde se determinó que un doble pulido sagital es el más adecuado para la identificación de los micro-incrementos en juveniles menores a 12 cm en esta especie (**Fig. 9**).

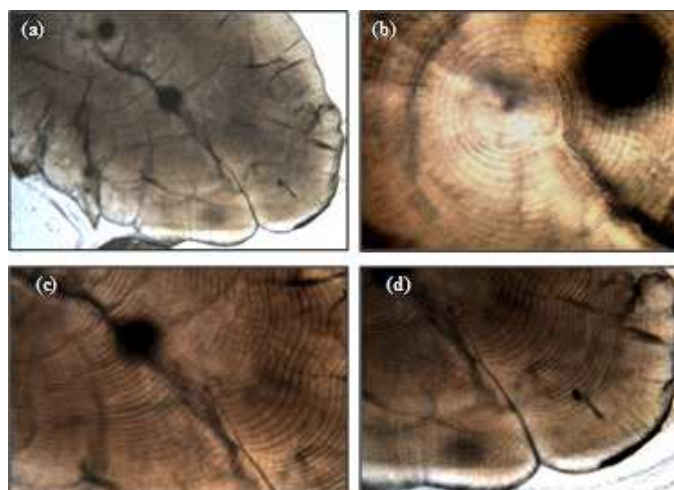


Figura 9 Fotografías bajo luz transmitida de otolitos pulidos en posición sagital de un juvenil de *E. ringens* de 10 cm LT. (a) 100X; (b) Zona del primordio a 400X; (c) Zona media a 200X; (d) Borde del otolito a 200X.

4.2.6 Procedimiento de lectura de micro-incrementos

Después de la obtención de una sección fina en posición sagital y de elevada resolución, los micro-incrementos fueron contados y medidos desde el núcleo hacia la periferia del otolito, utilizando imágenes de las secciones que fueron digitalizadas mediante analizadores de imágenes compuestos por microscopio ópticos, cámaras digitales y programas de captura y análisis, disponibles en la Sección de Edad y Crecimiento del Instituto de Fomento Pesquero y en el Laboratorio de Esclero-cronología de la Escuela de Ciencias del Mar de la Pontificia Universidad Católica de Valparaíso. La lectura de imágenes digitalizadas fue preferida a la lectura tradicional a ojo desnudo bajo microscopio. En la mayoría de los casos varias imágenes fueron necesarias para lograr una secuencia completa de micro-incrementos desde el primordio hasta el borde del otolito, por lo que previo a la lectura las imágenes de las distintas áreas del otolito, obtenidas a 400X de magnificación, fueron debidamente ensambladas. Para asegurar una correcta identificación de los micro-incrementos alrededor del primordio de los otolitos se utilizaron imágenes digitalizadas a 1000X magnificación. Todas las lecturas se realizaron dos veces en cada estructura analizada utilizando la herramienta "Manual Tag" disponible en el analizador de imágenes IMAGE-pro-plus. Se contempló además una tercera lectura en



aquellos casos en que existió una alta diferencia entre la primera y la segunda y en caso de que la tercera lectura no fue coincidente con alguna de las anteriores se procedió a descartar el otolito.

4.2.7 Ejercicios de reproducibilidad

Para evaluar de mejor forma la confiabilidad de las lecturas se efectuó un taller de reproducibilidad interno con la participación de técnicos, asistentes e investigadores, utilizando imágenes digitalizadas de preparaciones de otolitos de elevada resolución y calidad. Para ello se utilizó el criterio de GBR para la interpretación de los micro-incrementos primarios. La lectura se llevó a cabo de forma individualizada en computadores portátiles de cada especialista, utilizando módulos de edición de imágenes. La reproducibilidad fue determinada a través del Índice del Porcentaje de Error Promedio (IAPE por sus siglas en inglés) de acuerdo a la expresión de Beamish & Fournier (1981).

$$IAPE = \frac{100}{N} \sum_{j=1}^N \left[\frac{1}{R} \sum_{i=1}^R \frac{|X_{ij} - X_j|}{X_j} \right]$$

Donde N es el número de peces, R es el número de veces que la muestra fue leída, T_{ij} es la i-ésima determinación de edad del j-ésimo pez, T_j es la edad promedio calculada para el j-ésimo pez.

4.2.8 Procedimiento de medición de radios

El radio máximo (RM), correspondiente a la distancia mayor entre el núcleo y el borde del otolito, fue medido a 10X de magnificación, desde el primordio hasta el borde del otolito en dirección caudal. En ocasiones fue posible lograr ensamblar imágenes que permitió tener una secuencia completa de micro-incrementos por un eje único, requisito indispensable para la medición del radio a la formación de cada anillo. En estos casos las mediciones fueron llevadas a cabo dos veces para cada muestra utilizando la herramienta "Caliper" del analizador de imágenes IMAGE-pro-plus (Fig. 10). La precisión de las lecturas a nivel diario se llevará cabo utilizando el Porcentaje de Error Promedio (APE), descrito por Beamish & Fournier, 1981).

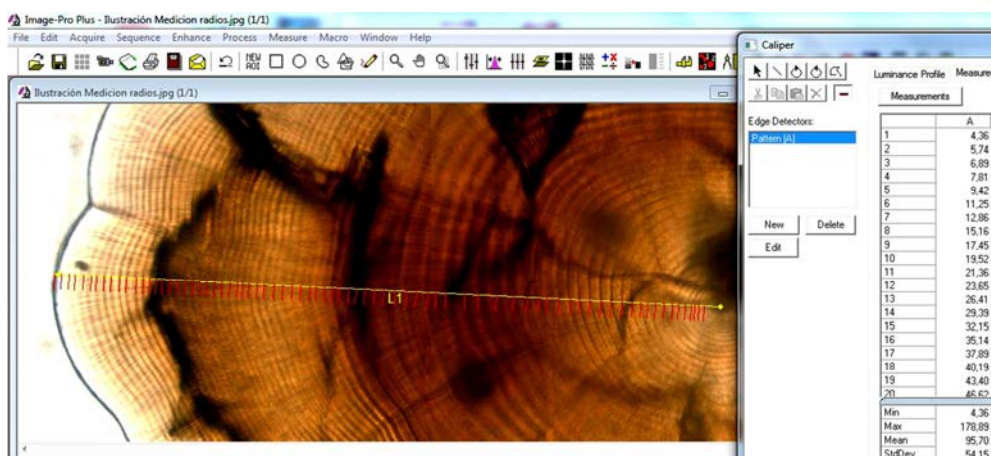


Figura 10 Ilustración de un proceso de lectura en un juvenil de *E. ringens*, utilizando la herramienta "Tag" del programa IMAGE-pro-plus. La flecha amarilla denota el radio máximo (RM).

4.2.9 Identificación de la cohortes de nacimiento

Para la identificación de la cohortes se determinó la fecha de nacimientos (FN) para cada ejemplar analizado, restando el número total de incrementos de la fecha de captura. Al número total de micro-incrementos se le sumaron dos días, debido a que esta especie forma el primer micro-incremento al tercer día posterior a la eclosión. La agrupación de ejemplares recolectados en cohortes de nacimiento estacionales permitió definir el mejor modelo de crecimiento para cada cohorte identificada. Para ello la relación talla-edad fue analizada a través de dos aproximaciones, utilizando modelos talla-edad a la fecha de captura y modelos talla-edad ajustados con información derivada del retro-cálculo.

4.2.10 Determinación de los parámetros de crecimiento

La información de edad diaria obtenida para larvas, pre-reclutas, juveniles y adultos permitió obtener una distribución de puntos de la relación talla-edad que abarcó gran parte de la historia de vida de esta especie. Actualmente no existe un modelo de crecimiento que permita describir el crecimiento en días desde larva a adulto y que explique las alometrías que han sido descritas en las fases tempranas en clupeoideos; por consiguiente, se recurrió a modelos clásicos como el von bertalanffy y el Laird-Gompertz para este propósito. No obstante cuando fue posible, se separó el análisis por estado ontogenético.

Es importante destacar que el modelo de Von Bertalanffy puede ajustarse a cualquier set de datos de tipo alométrico independiente de las dimensiones de las variables, lo que cambia es la interpretación que se hace de ellos. No obstante, en ciencia pesquera el modelo VB ha estado asociado a describir el crecimiento en



años, vinculando sus parámetros a modelos matemáticos usados en la evaluación de stock. Por ejemplo si se ajusta el vB en años, los estimados de K resultan extremadamente bajos, debido a que se interpreta como una especie que tendría aproximadamente 350 años. Por lo tanto, el ajuste de los modelos VB se efectuó en años en el presente estudio, mientras que el ajuste de los modelos Gompertz se efectuó en día, para permitir las comparaciones con otros estudios donde el uso de este tipo de modelo ha estado más restringido a los estadios tempranos de desarrollo de los peces.

A continuación se describen los procedimientos metodológicos y analíticos asociados a los ajuste de modelos para la determinación de parámetros de crecimiento de la anchoveta.

Modelos edad-longitud a la fecha de captura

La relación talla-edad observada para el rango de longitud de los ejemplares recolectados fue explorada a través de un gráfico de dispersión talla edad. Se exploraron modelos lineales del tipo:

$$L_t = \alpha + \beta E + ei$$

donde L_t y E corresponde a la longitud total y edad total (días) de cada ejemplar a la fecha de captura. En dicho modelo el coeficiente β representa una estimación de la tasa instantánea de crecimiento para el rango de longitud y edad de los juveniles recolectados.

Cuando fue posible se ajustaron modelos clásicos de tipo curvilíneos. Es importante subrayar que entre estos tipos de modelos se encuentra el Von Bertalanffy tradicional que ha sido aplicado para describir el crecimiento de anchoveta a nivel anual (Aguayo & Soto 1978; Cerna 2012). Sin embargo, Cubillos & Arancibia (1993a) y Cubillos *et al.* (2001, 2002), en base a edad derivada de progresión modal en tallas, entregan estimaciones de los parámetros de crecimiento del modelo de von Bertalanffy que ajusta una oscilación estacional. Este mismo modelo ha permitido la relación edad en días y la longitud (Plaza *et al.* 2012). Por lo tanto, en primera instancia para la estimación de los parámetros de crecimiento a partir de la información de longitud total y edad derivada de la lectura de micro-incrementos de cada cohorte se aplicaron tres modelos, a saber:

Modelo von Bertalanffy tradicional (Von Bertalanffy, 1938).

$$L_t = L_\infty (1 - \exp^{-K*(t-t_0)})$$



Dónde: L_t = longitud promedio a la edad; L_∞ =longitud asintótica; K =coeficiente de crecimiento; t_0 = es la edad en que el pez tiene longitud cero.

Por otra parte, también se exploró la aplicación el modelo de Laird-Gompertz (Gompertz, 1825; Laird *et al.* 1965).

$$L_t = L_\infty \exp[-\exp(-G\{X - X_0\})]$$

Donde: L_t = longitud promedio a la edad; L_∞ =longitud asintótica; G =la tasa instantánea de crecimiento; X_0 = es el punto de inflexión de la curva

Cuando la relación edad longitud logró reflejar tanto la variabilidad ontogenética como estacional, se exploró la aplicación del modelo de von Bertalanffy estacional (Somers 1988).

$$L_t = L_\infty \left[1 - \exp \left\{ -K(t - t_0) - \frac{CK}{2\pi} [\text{seno}(2\pi(t - t_s)) - \text{seno}(2\pi(t_0 - t_s))] \right\} \right]$$

Donde; L_t = longitud promedio a la edad; L_∞ =longitud asintótica; K =coeficiente de crecimiento; t_0 = es la edad en que el pez tiene longitud cero, C = es la dimensión que expresa la amplitud de la oscilación del crecimiento, t_s = la fase de una oscilación del crecimiento en un año. Los modelos fueron ajustados empleando el paquete no lineal "nls" del software estadístico R (Ihaka & Gentleman 1996). Para la selección del mejor modelo se empleó el criterio de información de Akaike (AIC, Akaike, 1974), cuya ecuación es la siguiente:

$$AIC = -2 (\ln (\text{likelihood})) + 2 K$$

Dónde: likelihood es la probabilidad de los datos entregados por el modelo y K es el número de parámetros libres del modelo. El mejor modelo será aquel que presente un menor AIC. La determinación de las fechas de nacimiento permitirá obtener diferentes estimaciones del crecimiento a través de las siguientes tres procedimientos.

Modelos talla edad ajustados a información derivada del retro-cálculo

La información derivada de la medición de los micro-incrementos permitió obtener una base de datos de tipo longitudinal que permitió calcular las longitudes a edades pretéritas. Este procedimiento permitió obtener



estimaciones de tasas de crecimiento para realizar un enfoque comparativo entre cohortes de nacimiento, a través de las siguientes dos aproximaciones:

- Comparación de tasas de crecimiento individuales estimadas utilizando retro-cálculo para el rango de edad y longitud de los ejemplares recolectados.
- Comparación de los parámetros de crecimientos derivados de los modelos ajustados a la relación edad vs talla retro-calculada para el rango de edad y longitud de los ejemplares recolectados.

Antes de proceder con el análisis de retro-cálculo se procedió a evaluar la relación entre el radio del otolito y la longitud total de los ejemplares, mediante un análisis de regresión para el rango de ejemplares recolectados. Es importante destacar que el retro-cálculo sólo se efectuó hasta el micro-incremento que coincida con el pez de menor edad en el tratamiento analizado (*i.e.*, cohorte). Para retro-calculer las longitudes previas se utilizó el método de intercepto biológico (MIB) Campana, 1990) de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$L_T = L_c + (R_i - R_c)(L_c - L_{T_{2d}})(R_c - R_{2d})^{-1}$$

Donde:

- L_T = Intercepto biológico, longitud de la primera alimentación
 R_{2d} = Radio del otolito del primer anillo diario
 L_c = Tamaño del pez al momento de la captura
 R_c = Radio del otolito al momento de la captura

Se debe subrayar que el MIB ha sido utilizado para *E. ringens* en la zona norte y también en otras especies emparentadas, lo que facilitó la comparación de los resultados las tasas de crecimiento individuales medias que se pueden obtener a través de este método. La longitud que se utilizó como intercepto biológico correspondió al valor reportado por Llanos-Rivera & Castro (2006). Estos autores estimaron $L_{T_{2d}}$ de anchoveta frente a Antofagasta (23°S) en 2,5 mm a una temperatura de 15°C.

4.2.11 Tasas de crecimiento individual obtenidas del retro-cálculo

La tasa de crecimiento diario individual promedio (G_1) corresponderá al promedio de un periodo de 10 días de acuerdo a la ecuación:

$$G_1 = 0,1(L_{T_i} - L_{T_{i-10}}),$$

donde:



L_{Ti} = es la longitud total a la edad i

4.2.11 Tasas de crecimiento global

Se estimó la tasa de crecimiento global (TCG) para cada individuo, empleando la siguiente expresión:

$$TCG = \frac{(LT - L_{ECL0})}{DT}$$

donde L_{ECL0} correspondió a la longitud media a la eclosión (2,5 mm LT), determinada para la anchoveta por Llanos-Rivera & Castro (2004) y " DT " correspondió al número de días transcurridos desde la fecha de eclosión hasta la fecha de captura.

4.2.12 Comparación de los modelos de crecimiento entre cohortes

Los parámetros de crecimiento derivados de los modelos edad-longitud fueron comparados entre cohortes de nacimiento mensual y/o estacional mediante la rutina "Contrast Statement" disponible en el módulo PROC NLMIXED del programa estadístico SAS Inc, en el cual el "Test-F" usa el método "delta" para aproximar una matriz de varianza-covarianza.

4.3 Objetivo específico 3.3

“ Determinar la edad anual de anchoveta mediante micro-incrementos diarios”

El desarrollo de este objetivo se orientó a obtener mayor información de lectura de edad en día para ejemplares adultos mayores de 12 cm de LT, para ampliar el espectro de datos de edad y longitud obtenidos en el desarrollo del Objetivo Específico 3.2 y lograr explorar el ajuste de modelos edad-talla integrando toda la información. A continuación se describen los aspectos metodológicos asociados a la preparación de otolitos para análisis micro-estructural.



Los otolitos de ejemplares adultos fueron embebidos resina epóxica y fueron preparados para análisis micro-estructural utilizando procedimientos similares a los descritos previamente para juveniles. Los otolitos fueron pulidos en forma serial en un plano sagital, evitando sobre-pulir los bordes y tomando fotografías secuenciales con el progreso del pulido. Este proceso permitió obtener una secuencia completa de micro-incrementos. La identificación de los micro-incrementos primarios se efectuó siguiendo una trayectoria curva desde el primordio hacia el anti-rostro, zona en la cual el sobre-pulido se ha demostrado que es menor (**Fig. 11**). El conteo de los micro-incrementos de adultos se llevó a cabo utilizando una la herramienta "Tag" del programa de análisis de imágenes Image-pro plus. La información de registros de edad se incorporaron a la base de datos global de edad diaria a la fecha de captura.



Figura 11 Fotografías bajo luz transmitida de análisis micro-estructural para ilustrar el proceso de lectura de micro-incrementos primarios en adultos de *Engraulis ringens*, recolectados en la zona norte de Chile.

4.4 Objetivo Específico 3.4

“Revisar los criterios de asignación de grupos de edad de anchoveta mediante la formación de macro-anillos”

Es importante destacar que el desarrollo de los objetivos específico 3.3 y 3.4 dependían de los resultados derivados del Taller Internacional. Por consiguiente, la formación de macro-anillos en esta especie aunque pueda tener una temporalidad no debiese ser usada con propósitos de determinación de edad en esta especie; no obstante se efectuó una comparación entre la micro y macro-estructura en este estudio. El análisis comparativo se vio afectado por las características de los otolitos de juveniles y adultos durante el periodo de ejecución del proyecto, debido a que presentaron una estructura calcificada que se fracturaba muy



fácilmente con el pulido, dificultando el análisis micro-estructural. Para validar la periodicidad de formación del primer macro-anillo utilizando micro-incrementos primarios se requiere preparar otolitos de peces adultos (maduros). Para este propósito ya se ha desarrollado la metodología para la anchoveta de la zona norte (Cerna et al. 2011 y Plaza *et al.* 2012). Para la correcta validación del tiempo de formación del primer macro-anillo se efectuó un análisis comparativo entre la micro-estructura y macro-estructura. Para el otolito izquierdo fue analizado macroscópicamente en imágenes digitalizadas antes de ser pulido para análisis de micro-incrementos primarios. Esto permitió mantener la consistencia y reducir la influencia de potencial asimetría que pudiese existir entre el otolito izquierdo y derecho. Posteriormente el otolito fue preparado para análisis micro-estructural, siguiendo los mismos procedimientos descritos en el Objetivo Especifico 3.2.

4.5 Objetivo Específico 3.5

“Evaluar las implicancias del crecimiento en la modelación poblacional del recurso”

4.5.1 Fundamentación

Los resultados derivados del Taller Internacional confirmaron que la anchoveta tiene un crecimiento acelerado lo que gatilla un nuevo escenario para la evaluación de stock de este recurso. El presente escenario amerita el desarrollo de un proceso de análisis profundo que involucre especialistas en biología y ecología pesquera, expertos en evaluación de stock, así como también especialistas en el área de administración de recursos pesqueros.

En una primera aproximación en el presente proyecto se realizó una evaluación del efecto que tienen los nuevos parámetros de crecimiento y la mortalidad natural (M) propuestos en las variables poblacionales, como la biomasa total (BT), la biomasa desovante (BD), la reducción del potencial reproductivo de largo plazo (RPRlp) y los reclutamientos (R), con el fin de establecer un primer diagnóstico sobre el stock de anchoveta del sur del Perú y norte de Chile. Se destaca que el impacto sobre las variables poblacionales es medido exclusivamente en el actual enfoque de modelación usado para describir la dinámica del stock de anchoveta, como se detalla posteriormente (Canales *et al.* 2015). Se utilizó la actual configuración de modelación empleada para el análisis de estatus y recomendación de capturas del stock. Los detalles metodológicos y analíticos de la aproximación se presentan a continuación:

Los resultados de esta aproximación fue presentada también en un Taller que fue realizado en la ciudad de Valparaíso el 17 de junio de 2016 y que contó con la participación de especialistas en edad y crecimiento, en evaluación de recursos y en administración pesquera (**Anexo 1**).



4.3.1 Aspectos metodológicos

El modelo de evaluación de stock de anchoveta del sur de Perú y norte de Chile se basa en el análisis estadístico de la dinámica de estructuras de talla por flotas (Perú y Chile) y crucero de adultos de Perú, de los índices de biomasa (biomasa directa adultos - Perú, biomasa directa reclutas – Chile, biomasa directa reclutas Perú, biomasa desovante – Chile) y los desembarques peruanos y chilenos. El modelo de la anchoveta del sur de Perú y norte de Chile se sustenta en los siguientes supuestos generales:

- La población de anchoveta está distribuida desde el sur de Perú y norte de Chile (16°S-24°S), y constituye una única unidad de stock.
- La población es cerrada por lo tanto las pérdidas ocurren por mortalidad natural y por pesca.
- Se asume la entrada de dos reclutamientos por año y dos desoves.
- Mortalidad natural se asume constante en el tiempo y a través de las edades.
- La mortalidad por pesca es el resultado de la interacción entre la mortalidad por pesca semestral y el patrón de explotación edad y flota (Chile, Perú) específico.
- Se asume que los desembarques en estas pesquerías son un buen *proxi* de la capturas.

El supuesto del desembarque se considera confiable puesto que se registra adecuadamente durante la descarga, y el nivel de mezcla con otras especies se considera bajo. Los supuestos sobre la escala de la dinámica se sustentan sobre el hecho que la anchoveta es una especie de vida corta, que tiene un período de desove prolongado, comenzando durante el invierno y extendiéndose a través de la primavera para comenzar a declinar hacia fines del verano. El máximo de desove frecuentemente se observa en agosto. Consistente con ello el reclutamiento a la pesquería también se observa durante gran parte del año, registrándose por lo general un máximo a comienzo del verano. El período prolongado de desove y reclutamiento ha determinado que la escala de la dinámica poblacional usada sea al menos a nivel de semestre. El modelo asume que el reclutamiento ocurre a comienzo de cada semestre.

Así se tiene que la abundancia ($N_{a,s,t}$) de la anchoveta a la edad a , y a inicios del semestre s y tiempo t , está dada por:

$$N_{a,s,t} = N_{a-1,s-1,t} S_{a-1,s-1,t}$$

Donde $N_{a,s,t}$, depende de la abundancia, $N_{a-1,s-1,t}$ a la edad $a-1$, semestre $s-1$ y tiempo t , y de la sobrevivencia $S_{a-1,s-1,t}$ de la edad $a-1$, del semestre $s-1$ y en el tiempo t . Donde $a=[0.5, 1.5, \dots 4.5]$, $s=[1,2]$ y t es el año. A



su vez la sobrevivencia $S_{a-1,s-1,t}$ es descrita con una función exponencial de la mortalidad total $Z_{a-1,s-1,t}$ a la edad $a-1$, semestre $s-1$ y tiempo t .

$$S_{a-1,s-1,t} = \exp(-Z_{a-1,s-1,t})$$

La mortalidad total, $Z_{a-1,s-1,t}$ se descompone en mortalidad natural (M) y por pesca (F), según:

$$Z_{a-1,s-1,t} = M_s + F_{s,t,f} \zeta_{s,t,f}$$

Donde M , F , s y t han sido previamente definidas, f indexa el tipo de flota (chilena o peruana), y $\zeta_{s,t,f}$ corresponde al patrón de explotación (o selectividad) del semestre s , año t y flota f . La mortalidad natural M se asume igual 0.5 (semestre⁻¹).

El patrón de explotación es edad y flota específico y sigue una función logística del tipo:

$$\zeta_{s,t,f} = \left(1 + \exp \left[-\ln 19 \frac{(a - \alpha_{s,t,f})}{\beta_{s,t,f}} \right] \right)^{-1}$$

Donde, α corresponde a la edad, $\alpha_{s,t,f}$ a la edad del 50% de reclutamiento, y $\beta_{s,t,f}$ representa la diferencia entre la edad al 95% y 50% de reclutamiento a la pesquería. Los índices s,t y f fueron previamente definidos. El reclutamiento semestral se estima como perturbaciones estocásticas tomadas desde un modelo de Beverton y Holt en función de la biomasa desovante del semestre inmediatamente anterior, y siguiendo una distribución de probabilidad lognormal.

La abundancia a la edad $a=0.5$, semestre s y tiempo t son estimados según:

$$N_{a=0.5,s,t} = \frac{\alpha BD_{t-0.5}}{\beta + BD_{t-0.5}} e^{-\delta_{s,t}}$$

$$\alpha = \frac{4hR_0}{5h-1}; \beta = \frac{(1-h)BD_0}{5h-1}$$

donde BD es la biomasa desovante, R_0 corresponde al reclutamiento virginal y es un parámetro a resolver por el modelo dentro de una distribución uniforme (prior), según $\ln R_0 \sim U[a,b]$. $\delta_{s,t}$ corresponde a los desvíos de los reclutamiento al semestre s y tiempo t , los cuales son parámetros también a resolver por el modelo dentro de una distribución normal (prior), según $\delta_{s,t} \sim N(0,0.6^2)$. La biomasa desovante virginal BD_0 se estima en equilibrio desde R_0 sin explotación. Y h es una medida de resiliencia ("steepness") fijada en 0.95. La condición inicial de la abundancia de la población es estimada desde una condición de equilibrio estocástica en torno a la mortalidad total del primer año:



$$N_{a,s=1,t=1} = (N_{a-1,s=1,t=1} e^{-Z_{a-1,s=1,t=1}}) e^{-\rho_a}$$

donde la abundancia inicial $N_{a,s=1,t=1}$ depende de un reclutamiento estimado según se explicó anteriormente, ρ_a también se obtiene como desviaciones resueltas por el modelo dentro de una distribución normal (prior), según $\rho_a \sim N(0,0.6^2)$.

Las expresiones anteriormente descritas definen la dinámica de la población explotada. A continuación se presentan las expresiones que definen las observaciones y que se contrastan estadísticamente con los datos provenientes de las pesquerías y evaluaciones directas. Las capturas predichas, son obtenidas siguiendo la ecuación de captura de Baranov, cuya forma es:

$$\hat{C}_{a,s,t,f} = \frac{F_{a,s,t,f}}{Z_{a,s,t}} N_{a,s,t} (1 - S_{a,s,t,f})$$

donde $\hat{C}_{a,s,t,f}$ representa las capturas estimadas por el modelo de evaluación a la edad a , semestre s , tiempo t y flota f . Las variables F , Z , N y S fueron definidas en la sección anterior. Dado que este modelo utiliza observaciones de estructuras en tallas de las capturas, es necesario transformar las capturas predichas en edades a distribuciones de talla. Esto se resuelve simulando una clave talla-edad, que describe la probabilidad de un individuo de talla l de pertenecer a una cierta edad a . Así se tiene que, la probabilidad $P_{l,a}$ de individuo de pertenecer a la talla l , y edad a , sigue una función de distribución normal, según:

$$P_{l,a} \propto \exp\left\{-\frac{1}{2\sigma_{a,s}^2} (l - L_{a,s})^2\right\}$$

donde $L_{a,s}$ y $\sigma_{a,s}$ corresponde $L_{a,s}$ a la talla media a la edad a y semestre s , y $\sigma_{a,s}$ es la desviación estándar de la talla media para la edad a y semestre s son descritas según:

$$\sigma_{a,s} = \sigma_{a=0.5} + \frac{(L_{a,s} - l_0)}{(l_{a=1.5} - l_{a=1})} \Delta\sigma_{a=1.5-a=1}$$

Donde, $\sigma_{0.5}$ es la desviación de la talla media de la edad $a=0.5$, l_0 corresponde a la talla media de la edad $a=0.5$, $l_{a=1}$ es la talla media de la edad $a=1$ y $l_{a=1.5}$ la talla media a la $a=1.5$. $\Delta\sigma_{a=1.5-a=1}$, corresponde a la



diferencia entre la desviaciones de las tallas medias a la edad $a=1$ y $a=1.5$. La talla media a la edad a , $L_{a,s}$ a su vez es obtenida mediante la siguiente expresión:

$$L_{a,s} = l_0 + (l_{a=1.5} - l_{a=1}) * \frac{(1 - e^{-k(a_{0.5} - a_1)})}{1 - e^{-k(a_{1.5} - a_1)}}$$

Donde, k corresponde a la tasa de crecimiento somático del modelo de crecimiento de von Bertalanffy. La tasa de crecimiento es resuelta por el modelo dentro de una distribución normal (prior) según $k \sim N(k, \sigma_k^2)$. La parametrización del crecimiento somático en la clave talla-edad sigue la aproximación de Schnute y Fournier (1980) la cual toma la estructura de las tallas medias y desviaciones estándar en tallas para varias clases de edades y estima la tasa de crecimiento k , independizándose de la longitud asintótica L_∞ . Es necesario mencionar que hasta mayo de 2013, tanto k como L_∞ eran estimados dentro del modelo. La aproximación de Schnute y Fournier (1980) fue implementada para evitar los efectos de correlación entre k y L_∞ . Las capturas estimadas a la talla l , semestre s , tiempo t y flota f quedan representada entonces por:

$$\hat{C}_{l,s,t,f} = P_{l,a} C_{a,s,t,f}$$

donde $C_{a,s,t,f}$ corresponde a las capturas observadas a la talla provenientes de los monitoreos de la pesquerías pelágicas del sur de Perú y norte de Chile. El desembarque en peso de las capturas de la anchoveta sur de Perú y norte de Chile está dado por:

$$\hat{Y}_{s,t,f} = \sum_l \hat{C}_{l,s,t,f} \bar{w}_l$$

donde $\hat{Y}_{s,t,f}$ corresponde al desembarque predicho en el semestre s , tiempo t y flota f , y \bar{w}_l corresponde al peso teórico de un individuo de talla l . Este peso teórico es obtenido desde la relación longitud-peso $\bar{w}_l = a \bar{L}^b$, con a y b parámetros a estimar desde los muestro biológicos realizado por el programa de monitoreo de la pesquerías pelágicas del norte de Chile. La biomasa total ($BT_{s,t}$) y desovante ($BD_{s,t}$) semestral predicha se obtiene según:

$$BT_{s,t} = \sum_l (P_{l,a} N_{a,s,t}) \bar{w}_l$$



$$BD_{s,t} = \sum_l P_{l,a} \left(N_{a,s,t} e^{-\Delta m Z_{a,s,t}} \right) \bar{w}_l O_l$$

Donde $N_{a,s,t}$ corresponde a la abundancia a inicio de semestre, $P_{l,a}$, \bar{w}_l y $Z_{a,s,t}$ fueron descritas anteriormente.

O_l corresponde a la ojiva de madurez sexual, que describe la probabilidad de que un individuo maduro sexualmente pertenezca a la talla l y que se asume conocida. Δm , corresponde a la fracción del semestre en la cual ocurre del desove. Los índices de biomasa predichos siguen la siguiente forma general:

$$\hat{I}_{s,t}^c = q^c \sum_l P_{l,a} \left(N_{a,s,t} \Gamma_a^c e^{-\Delta^c Z_{a,s,t}} \right) w_l$$

donde $\hat{I}_{s,t}$ puede corresponder a i) la biomasa predicha de adultos del Perú, ii) la biomasa predicha de reclutas de Perú, iii) la biomasa predicha de reclutas de Chile y iv) la biomasa desovante predicha de Chile. La constante, q^c es la capturabilidad y/o disponibilidad al crucero. En esta evaluación se asume $q^c \neq 1$, dado que todos los índices sólo observan una fracción de la distribución del stock, y por tanto q^c es resuelto por el modelo. La variable, Γ^c corresponde a la selectividad o madurez sexual según sea el caso del índice predicho, y Δ^c es la fracción del semestre en la cual se realiza la evaluación directa c . La proporción predichas de la captura ($\hat{P}^{f_{l,s,t}}$) por flota a la talla l , semestre s y tiempo t y la abundancia de las evaluaciones directas, c ($\hat{P}^{c_{l,s,t}}$) a la talla l , semestre s y tiempo t , quedan descritas respectivamente por:

$$\hat{P}^{f_{l,s,t}} = \frac{\hat{C}_{l,s,t}}{\sum_l \hat{C}_{l,s,t}}$$

$$\hat{P}^{c_{l,s,t}} = \frac{P_{l,a} N_{a,s,t} \psi_a^c e^{-\Delta^c Z_{a,s,t}}}{\sum_l P_{l,a} \left(N_{a,s,t} \psi_a^c e^{-\Delta^c Z_{a,s,t}} \right)}$$

Los modelos de los errores para los índices de biomasa y desembarques tanto peruanos como chilenos asumen una distribución lognormal. El estimador de verosimilitud para los índices de biomasa y desembarques es descrito como:



$$-L(I_{s,t}^c) = \frac{1}{2\sigma_{I_{s,t}^c}^2} \sum_{s,t} \left(\frac{\ln \hat{I}_{s,t}^c}{\ln I_{s,t}^c} \right)^2 + C$$

Donde, $\hat{I}_{s,t}^c$ corresponde al índice predicho por la evaluación descrito en el punto (b.2) para cada índice de biomasa directa y desembarque, $I_{s,t}^c$ son los índices estimados por el sistema de monitoreo del stock y las pesquerías de anchoveta del sur de Perú y norte de Chile. El parámetro $\sigma_{I_{s,t}^c}$ corresponde a la desviación estándar del índice biomasa observado y/o desembarque.

El modelo de error para la proporción de individuos en la captura de la flota f y abundancia de la evaluación directa c , a la talla l , semestre s y tiempo t , asumen una distribución multinomial. Su estimador de verosimilitud está dado por:

$$-L(p) = n^{f,c} p_{l,s,t}^{f,c} \ln \hat{p}_{l,s,t}^{f,c}$$

donde p indica proporción y n es el tamaño de muestra efectivo para la flota f y evaluación directa, c .

La función objetivo emerge de la sumas de log-verosimilitud negativas de cada índice de biomasa directa, desembarques y proporción de individuos observados a la talla en las evaluaciones directas y capturas, más el logaritmo de las priors (I) antes mencionadas. Luego la función a minimizar corresponde a:

$$-\ln L(\theta | x) = -\sum L(c) - \sum P(\lambda)$$

Donde, θ corresponde al vector de parámetros a estimar dado los datos observados, x a las observaciones $I_{s,t}^c$ y $P_{l,s,t}^{f,c}$. $L(c)$ es estimador verosímil de cada biomasa directa y desembarques, c y $P(\lambda)$ a las distribuciones de los parámetros con priors.

Los coeficientes de variación (CV) que son asignados a los distintos índices de biomasa miden el nivel de desviación que tienen los datos respecto del valor central verdadero como parte del error de observación. El coeficiente de variación tiene relevancia en las estimaciones pues es inversamente proporcional al peso que tiene una determinada fuente de datos en la verosimilitud total. La **Tabla 3** muestra los CV utilizados en la última actualización de la evaluación de marzo de 2016 (Canales *et al.* 2015).



Tabla 3. Coeficientes de variación (CV) de la función objetivo para los desembarques e índices de biomasa de anchoveta.

Serie de observaciones	c.v.
Desembarques Chile y Perú	0,01
Biomasa desovante por MPH	0,30: 1984-1996; Variable para 1997-2015
Biomasa adulta Perú	0,40
Biomasa reclutas Perú	0,30
Biomasa reclutas Chile	0,30

En la **Tabla 4** muestra el resumen de los valores de tamaños de muestra finales utilizados en la verosimilitud de la estructura de tallas de cada flota y observación directa de Perú. Importante es recordar que estos valores fueron revisados en el Taller de Evaluación de stock (Canales *et al.*, 2014) siguiendo el método de Francis (2011).

Tabla 4. Tamaño de muestra para cada serie de estructuras de tallas de la evaluación de anchoveta.

Composición	Periodo	Tamaño de muestra
Evaluación directa adultos Perú	1984-2011	8
Capturas flota chilena	1984-2000; 2001-2015	4,2; 12,3
Capturas flota peruana	1984-2000; 2001-2011	4,2; 12,3

El vector de parámetros θ a estimar corresponde a:

$$\theta = \{\alpha^f, \beta^f, \alpha^c, \beta^c, \bar{R}_0, \delta_{s,1984} \dots \delta_{s,2013}, N_{a_1}^{t=1} \dots N_{a_9}^{t=1}, F_{s,1984}^f \dots F_{s,2013}^f, q_{AP}^c, q_{RP}^c, q_{RCH}^c, q_{BDCH}^c, k\}$$

Los parámetros resueltos por el modelo corresponden a los parámetros de la selectividad, α^f y β^f para cada de la flota f , esto es la chilena y peruana. Los parámetros α^c y β^c para selectividad de la evaluación acústico adultos del Perú. Las desviaciones de los reclutamientos semestrales $\delta_{s,t}$ desde 1984 al 2016, el reclutamiento virginal R_0 y las abundancias iniciales, $N_a^{t=1}$ con a tomando valores de 0.5 hasta 4.5. Las mortalidades por pesca semestrales $F_{s,1984}^f$ para cada semestre s y para ambas flotas f . El modelo asume



que todos los índices de biomasa son indicadores relativos de la biomasa del reclutamiento de Chile q_{RCH}^c y Perú q_{RP}^c , biomasa desovante de Chile q_{BDCH}^c y biomasa adulta del Perú q_{AP}^c , por tanto se estiman cuatro capturabilidad.

Respecto del crecimiento somático de la anchoveta, el modelo actual de evaluación considera un valor de $k=0,30$, $L_0=6,65$ cm, $L_\infty=23,1$ cm y una mortalidad natural de $1,0$ año⁻¹. De manera de evaluar el impacto que tiene el cambio en los valores de los parámetros de crecimiento en las variables de estado poblacionales, se mantienen las piezas de información iguales al modelo actual y además se mantiene la misma configuración de los coeficientes de variación del modelo. Sólo se cambian los parámetros de crecimiento por los nuevos parámetros estimados por Cerna & Plaza (2016), esto son un valor de $k=1,33$, $L_0=6,65$ cm, $L_\infty=19,31$ y una mortalidad natural de $2,2$ año⁻¹.



5. RESULTADOS

5.1 Objetivos Específico 3.1

“Comprobar los criterios de identificación y lectura de micro-incrementos diarios y de los macro anillos”

5.1.1 Taller Internacional

A continuación se destacan algunos de los principales hitos, actividades y resultados asociados al Taller Internacional “*Otolith microstructure analysis of juveniles and adults of the Peruvian anchovy *Engraulis ringens**” que fue llevado a cabo entre el 7 y 11 de diciembre de 2015, en el Salón Auditorium del Instituto de Fomento Pesquero. El Taller contó con la participación con dos expertos internacionales cuya experticia se resumen brevemente a continuación:



El Dr. **Steven Campana** es un científico senior que trabajó durante 32 años en el Instituto Bedford de Oceanografía de Canadá y actualmente es profesor titular de la Universidad de Islandia. Ha sido pionero y experto mundial en el desarrollo de metodologías para la determinación de edad usando estructuras calcificadas, en determinación de estructura poblacional y en el estudio de procesos migratorios de peces teleósteos. También ha sido uno de los precursores en el desarrollo de protocolos de identificación e interpretación de micro-incrementos diarios en esta disciplina.



El Dr. **Akinori Takasuka** es un científico del Instituto Nacional de Ciencias Pesqueras de Japón, donde ha desarrollado una extensa labor en investigación para contribuir a revelar los mecanismos a la dinámica poblacional de peces pelágicos, desde una perspectiva biológica y ecológica, considerando también aspectos de alternancia poblacional. En los años recientes se ha destacado por liderar estudios asociados al paradigma que relaciona el crecimiento temprano y la sobrevivencia en los estadios tempranos de peces teleósteos.

Objetivo del Taller: El objetivo del taller fue proporcionar una instancia de trabajo de laboratorio, para revisar, analizar y discutir los criterios de identificación e interpretación de los incrementos en otolitos de juveniles y adultos de la anchoveta de la zona norte *Engraulis ringens*, a partir de muestras preparadas y analizadas en el marco del desarrollo de los proyectos "FIP 2009-17" y "Subpesca 4728-31 LP 11" (**Fig. 12**). Durante esta instancia el investigador líder de la disciplina de análisis de la micro-estructura otolitos (Dr. Steven Campana) trabajó en estrecha colaboración con el Dr. Akinori Takasuka, para cumplir con el objetivo establecido. Ambos



investigadores fueron apoyados por los investigadores nacionales Guido Plaza y Francisco Cerna, conjuntamente con técnicos vinculados al proceso de determinación de edad en peces teleósteos, tanto a nivel diario como a nivel anual. El cronograma del taller se detalla en el ANEXO 2, mientras que el Informe Técnico (ANEXO 3) elaborado por el Dr. Steven Campana fue enviado al Fondo de Investigación Pesquera, de acuerdo a lo establecido en la Bases Administrativas del proyecto. Se hace hincapié que en la descripción de los resultados que se efectúa a continuación se ha puesto énfasis en mantener al máximo posible tanto la fiabilidad de los análisis como la opinión expresada por ambos expertos y particularmente por el investigador líder el Dr. Steven Campana.



Figura 12 Fotografía ilustrativa del trabajo de laboratorio y análisis de determinación de edad diaria de la anchoveta, realizada dentro del marco del desarrollo del Taller Internacional, realizado entre el 7 y 11 de diciembre de 2015, en la ciudad de Valparaíso

5.1.2 Preparación de otolitos para análisis micro-estructural

En primera instancia se efectuó una revisión de los protocolos de preparación de otolitos para análisis micro-estructural, revisando los procedimientos metodológicos de embebido, montaje y pulido de muestras, usando el método SGEM (**Fig. 13**). Los expertos destacaron que los métodos utilizados para preparar los otolitos para el examen micro-estructural son equivalentes a los utilizados en los mejores laboratorios de todo el mundo, destacándose también que aspectos de preparación no habrían limitado cualquier interpretación de los micro-incrementos primarios. Se hace hincapié que el método de embebido (SGEM) con uso de dos resinas epóxicas y el uso de cera termoplástica es un procedimiento novedoso que permite aplicar doble pulido y/o



pulido serial con facilidad. En este mismo contexto se destaca que las secciones pulidas fueron de elevada calidad, haciendo especial hincapié en la preparación de las muestras de peces adultos, las cuales fueron equivalentes a las obtenidas en laboratorios internacionales.



Figura 13 Fotografía ilustrativa del trabajo de evaluación de los procedimientos de montaje y preparación de otolitos, de la anchoveta, realizados dentro del marco del desarrollo del Taller Internacional.

5.1.3 Interpretación e identificación de micro-incrementos primarios

Los expertos hicieron hincapié en que la tecnología, tanto en microscopía como en digitalización de imágenes, asociada al proceso de identificación de micro-incrementos primarios fue satisfactoria para una adecuada identificación. Se destaca que algunos micro-incrementos muy finos cercanos al primordio pudieron ser identificados bajo observación directa en microscopio pero no en imágenes digitales, subrayándose que esta dificultad no se soslayaría incluso usando las cámaras digitales de mayor resolución actualmente existentes.

Se destaca que a partir de los 80 μm desde el primordio comienza a observarse una zona de transición, donde se observan secuencias de micro-incrementos, los cuales pueden ser interpretados como micro-incrementos de mayor grosor, conteniendo uno o más micro-incrementos sub-diarios finos (*i.e.*, criterio GBR



de Cermeño et al. 2008) o donde los micro-incrementos más finos son asumidos como de periodicidad diaria de formación (*i.e.*, criterio IMR Cermeño et al. 2008). Se hace hincapié que los investigadores chilenos utilizaron el criterio GBR en la determinación de edad, que es en definitiva el recomendado por la literatura para la mayoría de las especies de peces (Campana & Jones 1992).

5.1.4 Revisión de muestras de otolitos de edad conocida

Los expertos internacionales consideraron que una etapa fundamental para avanzar en la definición de los criterios de interpretación de micro-incrementos diarios en esta especie, es la examinación acuciosa de muestras de otolitos con edad conocida. Por ello, consideraron trascendental las muestras derivadas del proyecto SUBPESCA ID N° 4728-31 LP 11. En dicho proyecto larvas producidas en cautiverio fueron mantenidas en un estanque artificial por 51 días, después del cual fueron transferidas a un sistema de cultivo con alimentación artificial y muestreadas a intervalos regulares para conteo de micro-incrementos. La micro-estructura de los juveniles sacrificados mostró un patrón con tres zona bien definidas (A, B & C) que fueron descritas en el proyecto correspondiente y el manuscrito científico publicado a partir de estos datos (Plaza & Cerna 2014; **Fig. 14**).

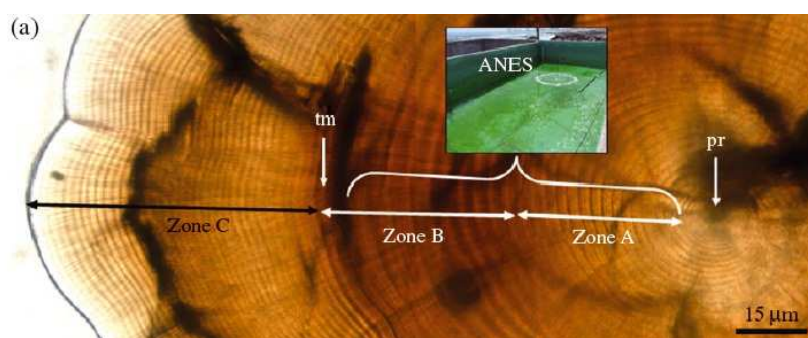


Figura 14 Fotografías de un otolito sagital de un juvenil de *E. ringens* de 4,54 cm LT sacrificado el 10 de octubre de 2011, ilustrando las tres zonas micro-estructurales características. La zonas A & B fueron formadas mientras el ejemplar se mantuvo en un sistema artificial con nutrientes que simularon las condiciones naturales. La Zona B se formó una vez que los ejemplares fueron transferidos a un sistema de cultivo con alimentación artificial. Pr: Primordio. Imagen reproducida de Plaza & Cerna (2015).

Utilizando muestras de este estudio se efectuó un estudio de reproducibilidad sin consensuar a priori un criterio de interpretación de micro-incrementos primarios. La lectura se llevó a cabo de forma individualizada bajo lectura directa bajo microscopio óptico sin conocer la longitud del ejemplar. La reproducibilidad fue determinada a través del Índice del Porcentaje de Error Promedio (IAPE). En primer lugar se procedió al recuento de micro-incrementos en la zona C, debido a su mayor definición. Se observó una elevada reproducibilidad en las lecturas con APE que fluctuaron entre 3 y 7 % con una media 4.9 (IAPE). En



consecuencia se demostró que los lectores interpretaron con exactitud los micro-incrementos diarios para un periodo de entre 16 y 51 días con un error marginal un coeficiente de variación medio de 6 % (Fig. 15; Tabla 5). Estos resultados concuerdan con lo reportado por Plaza & Cerna (2015).

Tabla 5. Resumen del ejercicio de reproducibilidad entre lectores para identificar micro-incrementos primarios en la Zona C, de otolitos sagitales de juveniles de la anchoveta *Engraulis ringens*, producidos en condiciones de confinamiento durante el desarrollo del proyecto SUBPESCA ID 4728-31 LP 11. FE: fecha de eclosión, FC: fecha de captura; DDM: días transcurridos después de transferencia a un sistema de cultivo con alimentación artificial; DE= 1 desviación estándar; APE=Porcentaje de Error Promedio; CV: Coeficiente de variación. Los nombres de los lectores asociados a las iniciales se presentan en el ANEXO 3.

ID	FE	FC	Edad	DDM	LECTORES								ESTADISTICAS			
					SC	AT	GM	GP	MG	CR	FC	JC	Media	DE	CV	APE
10	04-08	11-10	68	16	18	18	17	17	18	19	17	16	17,43	0,93	5,31	4,30
13	04-08	18-10	75	23	25	22	23	26	22	22	22	22	22,71	1,52	6,70	4,91
18	04-08	25-10	82	30	31	28	28	30	28	27	27	28	28,00	1,41	5,03	3,13
23	04-08	01-11	89	37	39	37	36	36	36	35	36	33	35,57	1,69	4,75	3,41
34	04-08	15-11	103	51	46	48	49	49	49	43	41	42	45,86	3,40	7,41	6,54

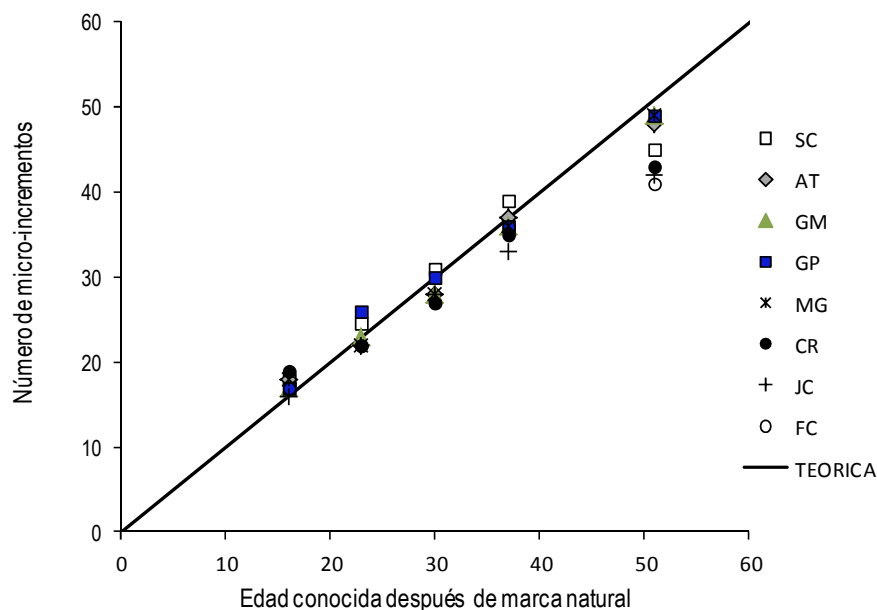


Figura 15 Relación entre el periodo conocido después de la marca de transferencia y el número de micro-incrementos en otolitos sagitales de juveniles *E. ringens*, contados por distintos lectores. La línea sólida representa el ajuste teórico 1:1 entre ambas variables.

En segundo lugar se determinó en número de micro-incrementos en las zonas A & B, consideradas como una zona única debido a que no existió una marca de transición distintiva entre ellas. Se observó reproducibilidad



algo variable con porcentajes de errores promedios de entre 7y 17% (IAPE=11,62), aunque ninguno de los participantes logró determinar correctamente la edad conocida de 52 días, que correspondió al número de días en los ejemplares estuvieron en el sistema cuasi-natural (**Tabla 6**).

Tabla 6. Resumen del ejercicio de reproducibilidad entre lectores para identificar micro-incrementos primarios en las Zonas A & B, de otolitos sagitales de juveniles de la anchoveta *Engraulis ringens*, producidos en condiciones de confinamiento durante el desarrollo del proyecto SUBPESCA ID4728-31 LP 11. FE: fecha de eclosión, FC: fecha de captura; DIAS: días transcurridos conocidos desde la eclosión hasta la fecha de traspaso a sistema de cultivo con alimentación artificial; DE= 1 desviación estándar; APE=Porcentaje de Error Promedio; CV: Coeficiente de variación. Los nombres de los lectores asociados a las iniciales se presentan en el ANEXO 3.

ID	FE	FC	DIAS	LECTORES								ESTADISTICAS			
				SC	AT	GM	GP	MG	FC	JC	MEDIA	DE	CV	Mean	APE
10	04-08	11-10	52	48	41	46	46	48	40	38	46,88	4,10	8,75	0,07	6,83
13	04-08	18-10	52	39	39	36	50	38	40	34	43,88	5,09	11,61	0,12	12,36
18	04-08	25-10	52	43	36	42	43	42	41	40	46,13	2,45	5,31	0,10	9,72
23	04-08	01-11	52	45	37	39	37	39	42	34	45,25	3,61	7,97	0,12	12,09
34	04-08	15-11	52	41	55	38	42	37	40	34	48,75	6,73	13,81	0,17	17,12

Cuando se contrastó el número de incrementos totales (Zonas A+B+C) versus la edad conocida después de la eclosión también se evidenció una sub-estimación de la edad verdadera, con un CV medio de 7% y un IAPE de 5,30 (**Tabla 7 y Fig. 16**). Surgió una discusión entre los participantes para explicar este proceso de sub-estimación debido a que todos los participantes utilizaron el criterio GBR para la identificación de los micro-incrementos primarios en la Zona B de transición (B). Se destaca que al usar el criterio IMT la edad estimada se incrementa en alrededor de 13 días, coincidiendo con la edad conocida. No obstante, el Dr. Campana destaca que esto sólo puede ser correcto si se asume que todos los micro-incrementos diarios pueden ser identificado a partir de peces de mayor edad.

Tabla 7. Resumen del ejercicio de reproducibilidad entre lectores para identificar micro-incrementos primarios en las Zona A, B & C, de otolitos sagitales de juveniles de la anchoveta *Engraulis ringens*, producidos en condiciones de confinamiento durante el desarrollo del proyecto SUBPESCA ID 4728-31 LP 11; FE: fecha de eclosión, FC: fecha de captura; EDAD: días transcurridos conocidos desde la eclosión hasta la fecha de sacrificio; DE= 1 desviación estándar; APE=Porcentaje de Error Promedio; CV: Coeficiente de variación. Los nombres de los lectores asociados a las iniciales se presentan en el ANEXO 3.

ID	FE	FC	EDAD	LECTORES								ESTADISTICAS			
				SC	AT	GM	GP	MG	CR	FC	JC	Media	DE	CV	APE
10	04-08	11-10	68	66	59	63	63	66	65	57	54	61,63	4,47	7,25	6,03
13	04-08	18-10	75	64	62	59	76	60	65	62	56	63,00	5,98	9,49	6,35
18	04-08	25-10	82	74	64	70	73	70	67	68	68	69,25	3,24	4,68	3,61
23	04-08	01-11	89	84	74	75	73	75	79	78	67	75,63	4,96	6,55	4,67
34	04-08	15-11	103	90	83	87	91	86	75	81	76	83,63	6,00	7,17	5,83

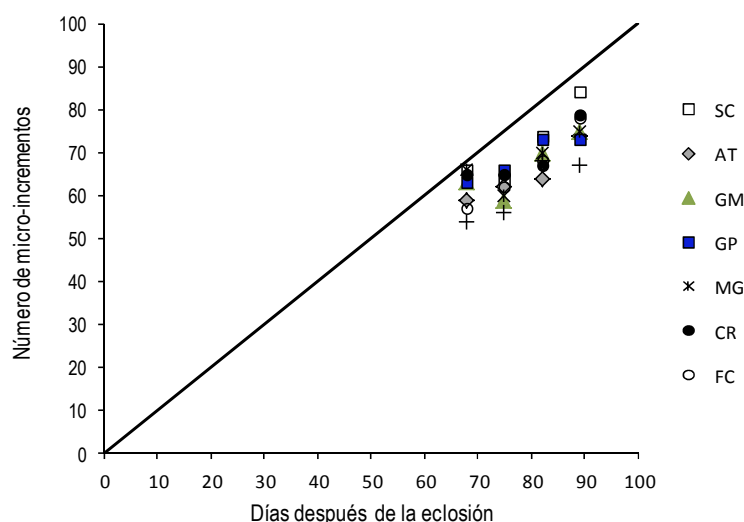


Figura 16 Relación entre el número de días transcurridos a partir de la eclosión (edad conocida) y el número de micro-incrementos en otolitos sagitales de juveniles *E. ringens*, contados por distintos lectores. La línea sólida representa el ajuste teórico 1:1 entre ambas variables. La mayoría de los lectores subestimó la edad verdadera por alrededor de 8-15 días.

5.1.5 Fuente de subestimación

Desde el investigador líder se destaca que en muchos peces pelágicos pequeños, los micro-incrementos diarios parecen formarse después de la eclosión. Se indica por ejemplo que Campana et al. (1987) demostró que el recuento de micro-incrementos sub-estimó la edad verdadera en larvas del arenque (*Clupea harengus*) por 15 a 20 días debido que los primeros micro-incrementos formados tuvieron un grosor que fue más baja que el límite superior del microscopio óptico. Esta dificultad se torna aún más evidente en otolitos de peces más grandes debido a la dificultad de pulir exactamente el plano medio del otolito. Consecuentemente, este fenómeno parece ser también aplicable a larvas de anchoveta. Por ejemplo se subraya que Contreras (datos no publicados) midió el radio en larvas con edad conocida, reportando que aquellas larvas de alrededor de 15 días de vida tenían un radio promedio de 24,74 μm (Fig. 17). Sin embargo, cuando se exploró el mismo radio en otolitos de juveniles sólo se pudieron identificar entre 5 y 8 micro-incrementos. Por lo tanto en el taller, se adoptó la corrección sugerida por Campana et al (1987) y para ello se midió el radio al primer micro-incremento visible en imágenes de otolitos de juveniles, como se muestra en el ejemplo en las imágenes de la derecha en la Figura 17.

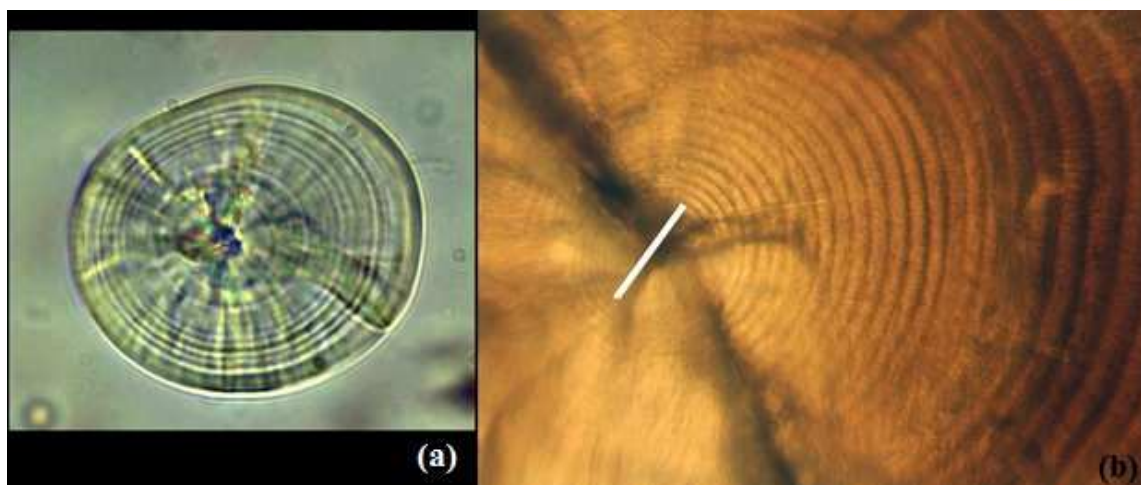


Figura 17 (a) Otolito sagital de larvas de la anchoveta *E. ringens* ilustrando la presencia de numerosos micro-incrementos primarios. (b) otolito sagital de un juvenil *E. ringens*, ilustrando un área con un diámetro similar (línea blanca) al de la larva, donde no se aprecian micro-incrementos visibles.

La ecuación exponencial edad vs radio larval fue usada para estimar el número de potencial de micro-incrementos diarios que no son resolubles en las imágenes de otolitos de juveniles (**Fig. 18**), resultando entre 7 y 15 micro-incrementos. Cuando los micro-incrementos estimados se sumaron a la edad total no se obtuvieron diferencias significativas entre el número de micro-incrementos y la edad conocida (ANOVA $F_{(1,8)} = 1.48$; $p=0,25$; **Tabla 8**). Se subraya también que mientras más lento sea el crecimiento mayor será el número de micro-incrementos potencial no identificados. Sin embargo, un análisis de sensibilidad demostró que una variación de tasa de crecimiento de alrededor de 20% resultó sólo en una diferencia estimada de entre 0-3 días por detectar, lo que demuestra que el proceso de estimación de los micro-incrementos no identificados no es mayormente sensitivo a cambio en la tasa de crecimiento (**Fig. 18**).

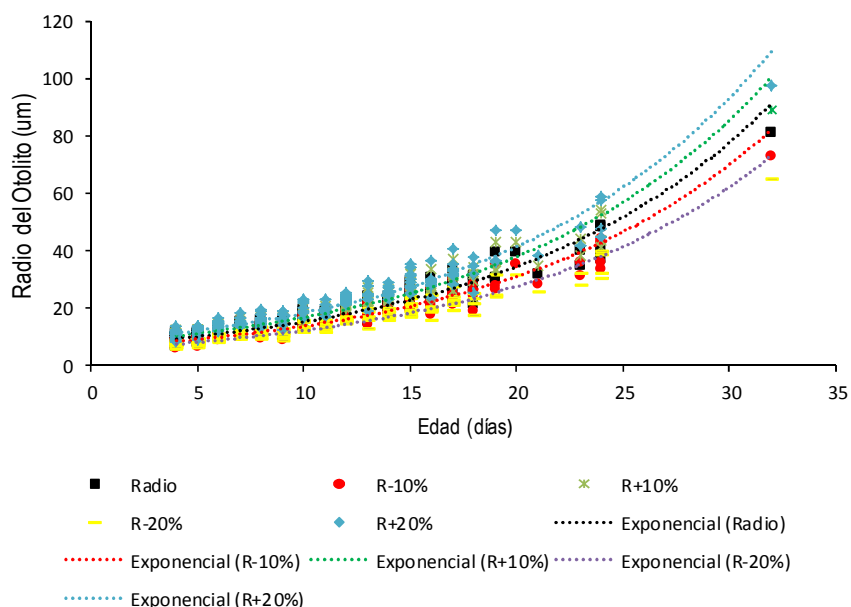


Figura 18 Relación entre el radio del otolito sagital y la edad en días en larvas de anchoveta *Engraulis ringens*.

Tabla 8. Recuento del número de incrementos en 5 juveniles de la anchoveta *E. ringens* de edad conocida, realizados por el Dr. Steven Campana (SC) en lectura directa bajo un microscopio óptico y sobre fotografías digitales obtenidas usando un analizador de imágenes. Los días estimados a través de la función radio vs edad se adicionaron para corregir la determinación de la edad.

ID	Fecha de Eclosión	Fecha de Captura	Edad Conocida	SC Directo	SC Fotografía	Días Estimados	Edad Corregida
10	04-08-2011	11-10-2011	68	66	64	7,5	71,5
13	04-08-2011	18-10-2011	75	64	62	11	73
18	04-08-2011	25-10-2011	82	74	70	9,5	79,5
23	04-08-2011	01-11-2011	89	84	80	7,5	87,5
34	04-08-2011	15-11-2011	103	90	91	15	106

5.1.6 Caso de estudio

Para verificar el proceso de estimación de micro-incrementos potencialmente no identificados se aplicó el ajuste en dos ejemplares juveniles de edad conocida (**Figs. 19 & 20**). Después del ajuste, la edad determinada fue prácticamente idéntica a la edad conocida. Se destaca que al usar el criterio IMR se podría haber sobreestimado la edad real por aproximadamente 15-20% y que una recolección de ejemplares durante la permanencia de los ejemplares en el mesocosmo podría haber ayudado a rechazar el criterio de



interpretación del IMR. En consecuencia, del análisis efectuado en el Taller se desprende que el criterio GBR fue el más correcto.

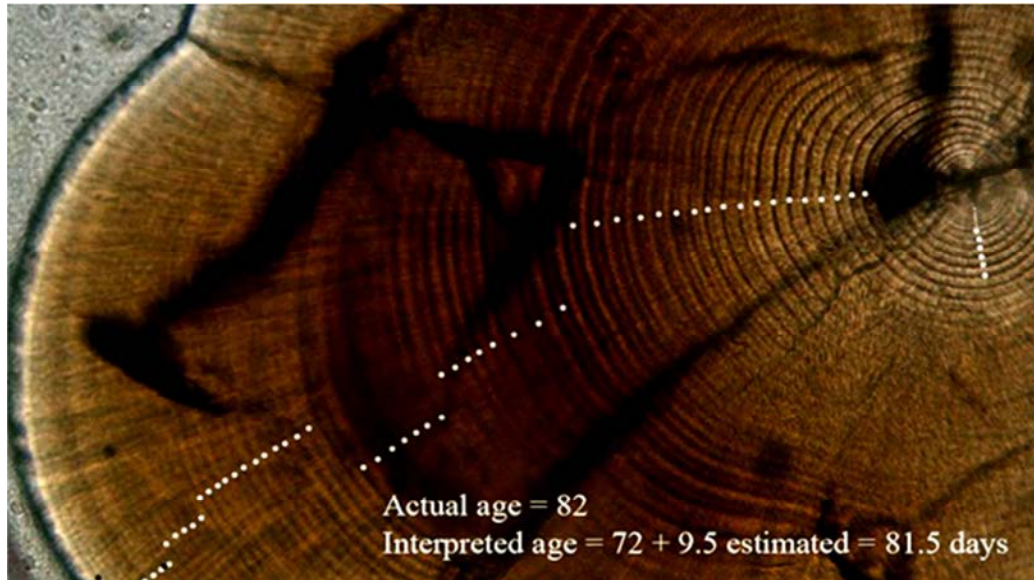


Figura 19 Figura ilustrativa de una trayectoria de lectura de micro-incrementos diarios de un juvenil de anchoveta *E. ringens* de edad conocida y su correspondiente corrección usando la relación radio vs edad a nivel larval.

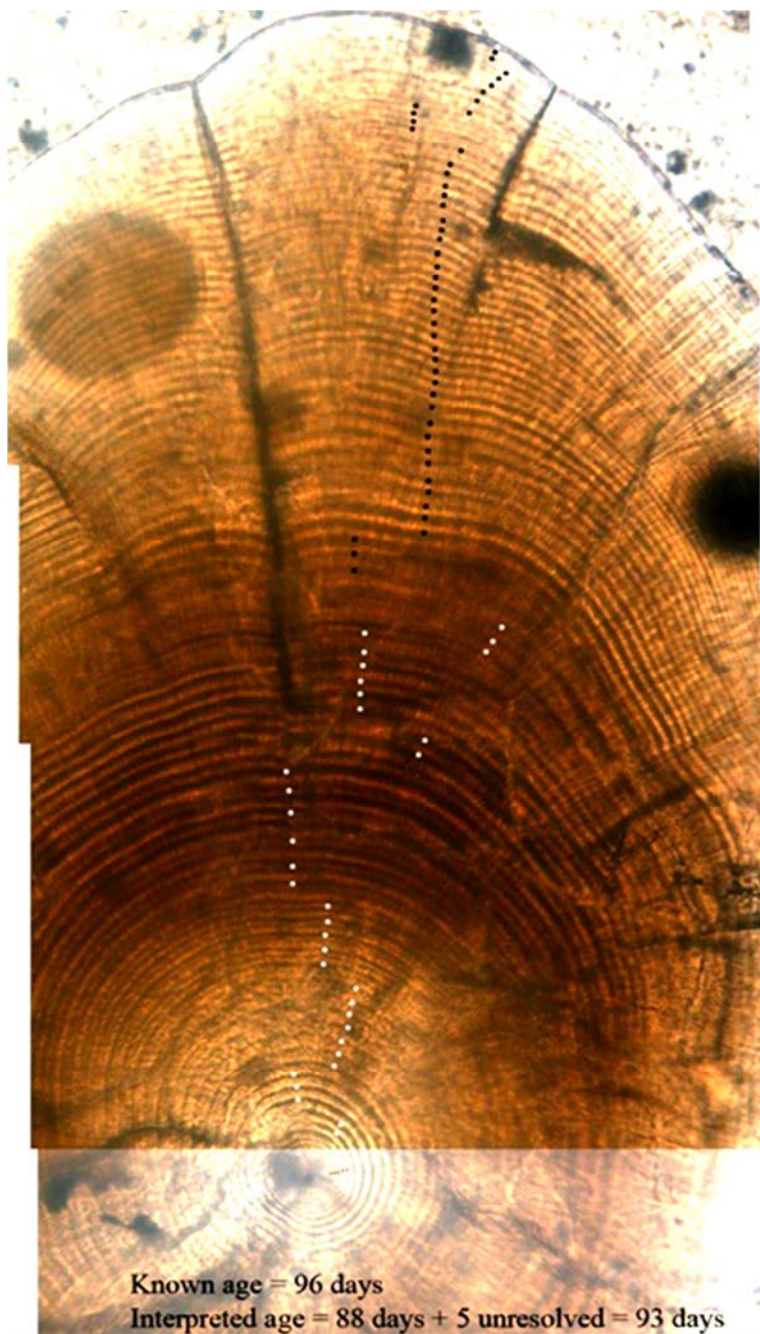


Figura 20 Figura ilustrativa de una trayectoria de lectura de micro-incrementos diarios de un juvenil de anchoveta *E. ringens* de edad conocida (96 días) y su correspondiente corrección usando la relación radio vs edad a nivel larval.



5.1.7 Revisión de muestra de juvenil silvestre

Los expertos consideraron oportuno evaluar la precisión en la determinación de edad en juveniles silvestres provenientes del proyecto FIP 2009-16, debido a las similitudes tanto en la micro-estructura como en las tasas de crecimiento entre los peces silvestres y aquellos de confinamiento. Para ellos se utilizó una muestra aleatoria de un otolito sagital pulido de un juvenil silvestre y se procedió a su datación utilizando el criterio GBR (Fig. 21). La edad media resultante fue de 136 y 151 días sin corrección y con corrección de los potenciales micro-incrementos no identificados, respectivamente, con una precisión en la datación de 7,3% cuando los otolitos fueron interpretados bajo lectura directa en microscopio y de 9,9% cuando la interpretación se efectuó con imágenes. El experto líder destacó que estos niveles de precisión fueron levemente mejores que el promedio descrito para estos casos (Campana 2001).

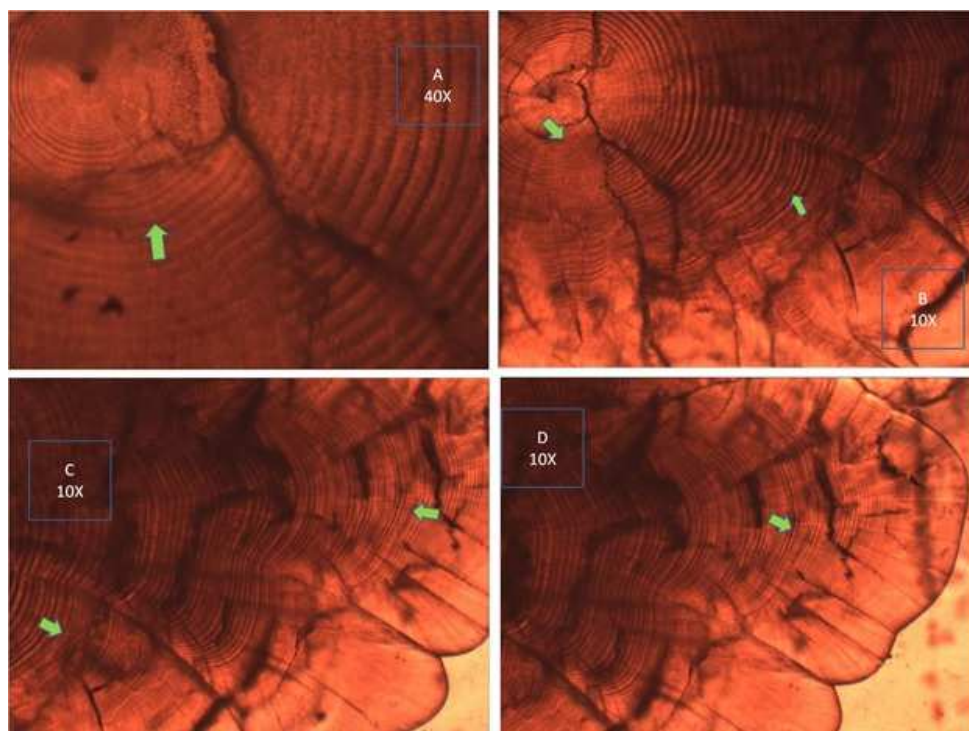


Figura 21 Fotografías ilustrativas de secciones de un otolito sagital de un juvenil de la anchoveta *E. ringens*, recolectado durante el proyecto FIP 2009-16 en la zona norte de Chile. La edad del juvenil fue de alrededor de 136 días.

5.1.8 Revisión de muestras de otolitos de adultos

Una vez finalizado la etapa de verificación de edad en juveniles se procedió a abordar la disyuntiva en la fase adulta de esta especie. En primera instancia los expertos internacionales destacaron que el nivel



interpretación de micro-incrementos a nivel diario en adultos, es un aspecto extremadamente desafiante en todas las especies de peces. Se destacó también que en el caso de la especie objetivo del taller, las preparaciones fueron de un nivel destacado, debido a que se logró observar una secuencia completa de micro-incrementos desde el primordio hasta el borde de los otolitos, donde se apreciaron sólo unas pocas discontinuidades que pudiesen estar indicando un cierto grado de interrupción de su crecimiento. Sin embargo, se subraya que en comparación con otras especies estas discontinuidades no parecen ser muy marcadas. Algunos aspectos que se discutieron entre los participantes se resumen a continuación.

Se señala que una validación definitiva de la edad diaria en adultos de esta especie, debiese considerar mantener en cautiverio ejemplares por extensos periodos de tiempo, particularmente para verificar si el depósito de los micro-incrementos se mantiene de forma secuencial mucho más allá del primer año de vida. Sin embargo, se señala que el “ánulo” macroscópico utilizado para determinación de edad para propósitos de evaluación no es distintivo y no presenta la consistencia de un ánulo verdadero a niveles micro-estructural, reportados en otras especies de pelágicos pequeños, como por ejemplo en la sardina austral. Adicionalmente se destaca que la distribución de frecuencias de longitud derivadas del proceso de monitoreo no muestra registro de clases anuales fuerte en las series anuales, que es lo que debiese esperarse cuando la determinación de edad a nivel anual es precisa.

El investigador líder señala que en ausencia de un método de validación de periodo prolongado, es preferible explorar algunos indicadores alternativos como son: (i) Extrapolación del grosor de los micro-incrementos y (ii) análisis de las fechas de nacimiento. Ambos aspectos se resumen a continuación:

5.1.9 Extrapolación del grosor de los micro-incrementos

Se destaca que Struhsaker & Uchiyama (1976) estimó la edad en adultos de peces hawaianos midiendo el grosor de los micro-incrementos a intervalos distintivos a lo largo del eje de crecimiento del otolito, escalando dichas medidas al radio total para inferir la edad definitiva. Una aproximación comparable se llevó a cabo hacia el eje caudal en un otolito de un ejemplar adulto de 15 cm TL de la anchoveta *E. ringens*, lográndose una edad estimada de 378 días, la cual es similar al rango de edad de entre 200 y 300 días determinados en otros ejemplares de 15 cm de esta especie, en el marco del desarrollo de los proyectos FIP 2009-16 y SUBPESCA ID 4728-31 LP 11. Se destaca, sin embargo, que esta aproximación asume que la secuencia continua de micro-incremento diarios y que el grosor de los micro-incrementos es comparable a aquellos interpolados. Si no se cumple este supuesto la edad podría estar algo sub-estimada.



5.1.10 Análisis de las fechas de nacimiento

Los expertos destacan que si existe un principio fundamental, i.e, si la determinación de edad es razonablemente exacta, la edad total puede restarse a la fecha de captura para calcular la fecha exacta de eclosión. Consecuentemente, la distribución de frecuencia de fechas de nacimiento resultante, debiese reflejar la producción del desove, ya sea la producción estimada a partir de huevos planctónicos o de aquella deriva del análisis de la tendencia de IGS promedio. Sin embargo, se destaca que la distribución de frecuencias de las FN debe ser corregida por el efecto de mortalidad diferencial, debido a que los peces más jóvenes y que nacen primero en la estación tuvieron menor probabilidad de sufrir episodios de mortalidad que aquellos peces más viejos, tal como ha sido sugerido por (Campana & Jones 1992). Se destaca que esta aproximación puede ser usada como un método indirecto de validación, cuando la distribución de frecuencia de las FN derivadas de juveniles sean comparadas con aquellas provenientes de adultos—si la determinación de edad es precisa las distribuciones debiesen coincidir. Contrariamente, si las distribución de frecuencia de FN derivadas de ejemplares adultos se muestra uniforme y plana, sería una evidencia de que la determinación de edad en el este estado ontogenético estudiado no sería correcta.

A continuación se describen los principales resultados del Análisis de frecuencias de nacimiento FN que realizó el Dr. Steven Campana, tanto en ejemplares juveniles como en adulto de *E. ringens*.

5.1.11 Análisis de las fechas de nacimiento en juveniles silvestres

Se efectuó este análisis en 285 juveniles recolectados entre 2009 y 2010, donde la distribución de frecuencia de la FN originales mostró dos modas características de la producción larval (**Fig. 22a**). Se destaca que al no existir hasta la fecha estimaciones de mortalidad instantánea en juveniles de la anchoveta *E. ringens*, se efectuó un análisis de Curva Linealizada de Captura para este fin. Se conoce que la tasa de crecimiento diaria media para edades de entre 100 a 200 días es de aproximadamente $0,2 \text{ mmd}^{-1}$ y se asume que una tasa de crecimiento similar podría aplicarse también a la fase adulta. Adicionalmente, se desprende de un análisis de datos provenientes de la pesquería que la abundancia comienza a declinar en ejemplares menores de 15 cm. Sobre la base de las tasas de crecimiento promedios diaria se puede determinar que se requieren alrededor de 100 días para crecer de entre 15 y 17 cm de LT. Usando la información de la caída en abundancia después de los primeros 100 días se pudo obtener un estimado Z como:

$$N_t = N_0 e^{-Zt}$$



Una vez linealizada la función como $Ln N_t = Ln N_0 - Zt$ la pendiente representó la tasa instantánea de mortalidad (Z) que alcanzó un valor 0,03; valor que fue usado para la corrección de la mortalidad diferencial.

La distribución de frecuencia de fechas de nacimiento (DFFN) corregida por el efecto de la mortalidad diferencial (**Fig. 22b**) mostró un patrón bimodal de otoño y primavera similar a la de los datos observados y también similar a la distribución de frecuencia que resultó una vez que fueron estandarizadas por la distribución de frecuencia relativa de juveniles < 12 cm derivadas de las capturas (**Fig. 22c**). Cuando se compararon las DFFN con el cambio estacional en el IGS medio, se observó una elevada correspondencia (**Fig. 23**). Aunque se destaca que las DFFN debiesen ser extendidas hacia atrás debido a que el tiempo de desove es distinto del tiempo de eclosión, se reconoce que el efecto debiese ser marginal debido a que el proceso de fertilización en peces pelágicos pequeños es muy corto, generalmente no superior a tres y/o cuatro días.

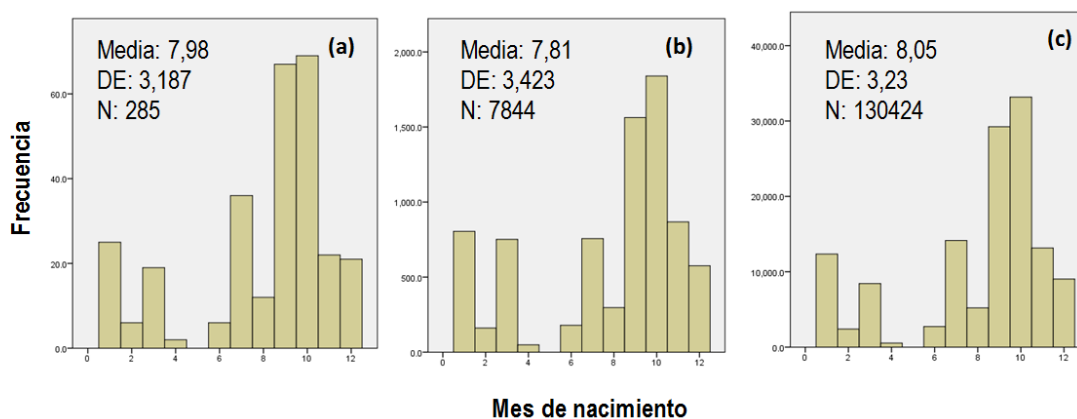


Figura 22 Distribuciones de frecuencias de fechas de nacimiento (DFFN) derivadas de la lectura de micro-incrementos diarios de otolitos de juveniles de la anchoveta *E. ringens* en la zona norte de Chile: (a) DFFN no corregidas; (b) DFFN corregidas por mortalidad diferencial y (c) DFFN expandidas a la captura comercial.

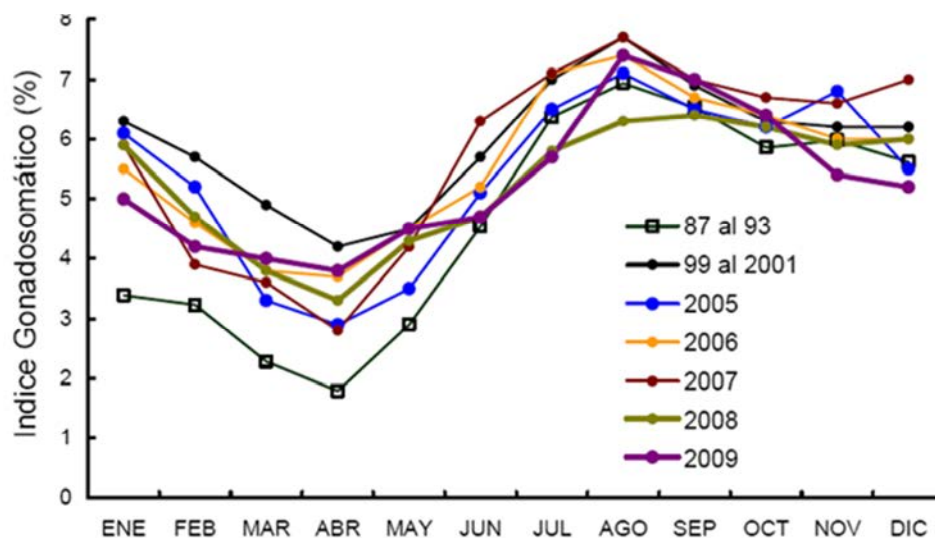


Figura 23 Cambios mensuales en el IGS medio de la anchoveta *E. ringens* en la zona norte de Chile extraído de Bohm *et al.* (2010).

5.1.12 Análisis de las fechas de nacimiento en ejemplares adultos

Se destaca que no se requiere una corrección de mortalidad diferencial en el caso de distribuciones de frecuencia de FN en ejemplares adultos. En este caso, la DFFN de adultos estandarizadas con datos de captura, no fue uniforme sino más bien mostró pulsos concentrados en junio y un segundo en agosto septiembre, aunque no tan distintivos como en el caso de los juveniles (**Fig. 24**). En general la correspondencia encontrada entre las DFFN entre juveniles y adultos es una evidencia de que las edades de los adultos son aproximadamente correctas con cierta variación en un par de meses. Se destaca también que la DFFN derivada de ejemplares adultos fue construida a partir de información de distintas clases anuales, i.e., 1982, 2009 y 2010, lo que puede explicar las variaciones encontradas.

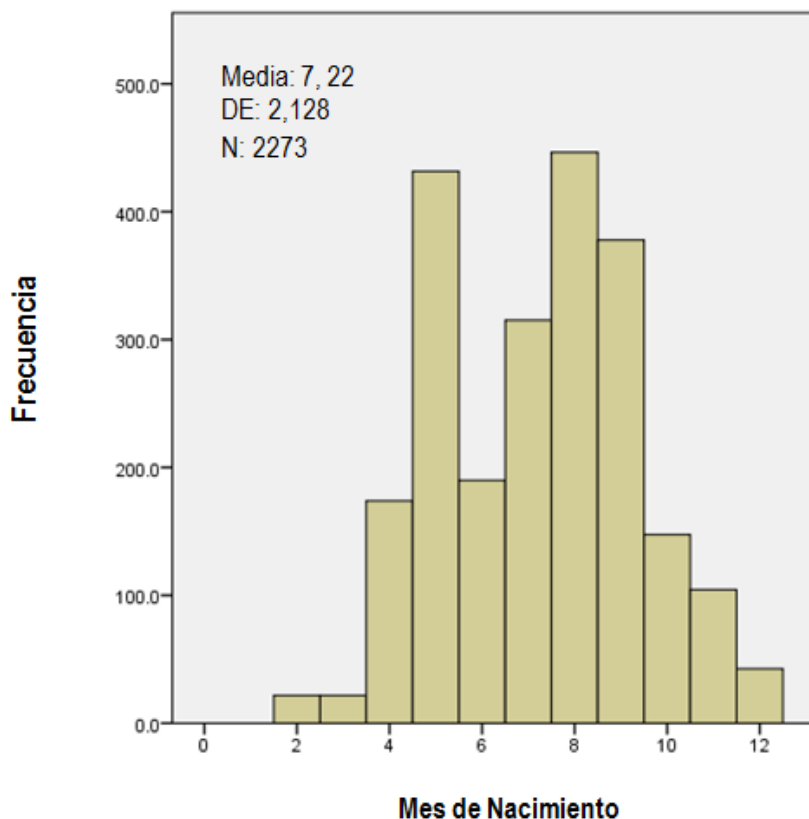


Figura 24 Distribuciones de frecuencias de fechas de nacimiento (DFFN) derivadas de la lectura de micro-incrementos diarios de otolitos de ejemplares adultos de la anchoveta *E. ringens* en la zona norte de Chile. Las DFFN no fueron corregidas por el efecto de mortalidad diferencial pero fueron estandarizadas con datos de captura.

5.1.13 Conclusiones del Taller Internacional

A continuación se resumen las principales conclusiones derivadas del desarrollo del Taller Internacional, muchas de las cuales son parte también del Reporte Técnico elaborado por el investigador líder.

Los protocolos de preparación de otolitos sagitales aplicados por los investigadores chilenos generaron muestras pulidas de calidad equivalente a aquellos desarrollados en laboratorios internacionales expertos. La digitalización de imágenes de otolitos pudo haberse beneficiado con el uso de cámaras digitales de 10 bits y con el uso de un objetivo de 40X en aquellas regiones donde los micro-incrementos fueron más finos. Sin embargo, las diferencias en la determinación de edad podrían ser marginales no afectando ninguna conclusión de proyectos chilenos previos y/o los resultados derivados del presente Taller Internacional. Por su parte el criterio de interpretación aplicado a los otolitos de anchoveta fue de elevada calidad y alineado con los estándares internacionales.



La revisión que se efectuó en otolitos de juveniles de anchoveta de edad conocida, cultivados en laboratorio bajo un régimen casi-natural, confirmó que la determinación de edad en juveniles a nivel diario de esta especie fue llevada a cabo de forma confiable usando análisis de la micro-estructura de sus otolitos. La interpretación en la zona de transición indicó que el crecimiento es rápido, gatillando la formación de micro-incrementos diarios que se bifurcan y/o conteniendo también incrementos sub-diarios. Este criterio es consistente con la interpretación GBR (criterio de bandas) pero no con el IMR que resulta en sobre-estimación de la edad diaria en la zona de transición. Aunque la anchoveta comienza a depositar micro-incrementos diarios al tercer día después de la eclosión, éstos debiesen ser muy delgados y prácticamente indetectables una vez que el otolito crece en material calcáreo en la etapa juvenil. Para soslayar esta dificultad se puede efectuar una corrección a través de la relación entre la edad y el radio del otolito a nivel larval, tal como se ha descrito en otras especies de peces pelágicos pequeños.

Algunos estudios previamente publicados sobre micro-estructura de otolitos de especies de anchovetas, parecieran haber estado sesgados, ya que en estos estudios se careció de ejemplares mantenidos en condiciones casi-naturales como una forma de verificar la exactitud en la determinación de edad. Más aún, la publicación previa de Plaza & Cerna (2015) puede ser actualizada con la información obtenida en el presente taller, sobre los micro-incrementos finos alrededor del primordio.

Se concluye que los peces silvestres pueden ser leídos con precisión y exactitud hasta al menos 136 días y una longitud de aproximadamente 11,5 cm. Se subraya que no existen dudas sobre la exactitud en la determinación de edad en juveniles de esta especie.

Se concluye que no fue posible evaluar con plena exactitud la determinación de edad en adultos ya sea usando el recuento de ámulos y/o a través del recuento de micro-incrementos diarios, debido a la usencia de un experimento de largo término. Sin embargo, la evidencia disponible hasta la fecha sugiere la secuencia de micro-incrementos primarios provee un indicador más confiable de edad que los presunto ámulos y que los adultos son principalmente de alrededor de 1 año de edad. Sin embargo, se considera que mayor investigación es necesaria todavía para confirmar definitivamente estos hallazgos.

La distribución de frecuencia de las fechas de nacimiento mostró que la mayoría de los juveniles fueron eclosionados entre enero y marzo y entre julio y diciembre, proporcionado un patrón bimodal, el cual fue muy similar al patrón de variación histórica del IGS promedio de esta especie en la zona norte de Chile. Este hallazgo es una evidencia adicional que confirma la exactitud en la determinación de edad a nivel diario en



juveniles de esta especie. Por su parte la distribución de frecuencia de las fechas de nacimientos de adultos también mostró un patrón bimodal (mayo; julio-septiembre), aunque menos conspicuo que en juveniles. Se concluye que el hecho de la forma de la distribución no fue uniformemente distribuida en el ciclo anual, demuestra que hay información confiable en la determinación de edad diaria en adultos de esta especie. Sin embargo el desfase en la distribución entre juveniles y adultos demuestra que la determinación de edad diaria en adultos pudo haberse visto afectada por un problema de precisión y/o ser producto de un efecto distorsionador producido por la mezcla de clases anuales en el análisis. Consecuentemente se concluye que análisis de fechas de nacimiento de adultos es una aproximación recomendable que debe ser potenciada con mayor número de muestras para reducir el efecto temporal, pero que por ahora no es suficiente para conformar y/o rechazar definitivamente la determinación de edad usando el método tradicional de conteo de ánulos.

5.1.14 Consideraciones finales

El Taller Internacional fue una instancia que involucró una cantidad considerable de horas de trabajo de laboratorio y análisis, donde los expertos internacionales trabajaron en colaboración con investigadores nacionales, técnicos y asistentes de investigación para lograr el objetivo del taller. Los expertos internacionales valoraron el esfuerzo por el financiamiento y desarrollo de investigación de un nivel elevado acuciosidad, con miras a mejorar la sustentabilidad de este importante recurso comercial para Chile. Al finalizar el taller los expertos ofrecieron dos exposiciones abiertas a la comunidad científica, que permitió a los asistentes visualizar diferentes aplicaciones de la disciplina de la Esclero-cronología, como herramienta para contribuir a dilucidar aspectos de la historia de vida de peces teleósteos.

Finalmente como parte del desarrollo del taller se consensuó la generación de un manuscrito científico de perspectiva, denominado “*Revisiting otolith microstructure in juvenile and adult anchovy*”, donde se resumirán los principales aspectos procedimentales y analíticos desarrollados. Finalmente, a través del Dr. Akinori Takasuka y debido a la relevancia de los resultados alcanzados se consideró necesario difundir una breve reseña del taller en el boletín electrónico “*Early Life History Section (ELHS)*” de la Sociedad de Pesquería de Estados Unidos (American Fisheries Society) (**Fig. 25**).



STAGES

Newsletter of the
Early Life History Section
of the American Fisheries Society

Volume 37, Number 1

Audrey J. Geffen & Cindy J.G. van Damme, Editors

March 2016

Do anchovy actually grow faster than previously recognized? Establishing reading criteria for otoliths of juvenile and adult anchovy in Valparaiso, Chile

A workshop on "Otolith microstructure analysis of juveniles and adult of the Peruvian anchovy *Engraulis ringens*" was held in Valparaiso, Chile, during December 7–11. Drs. Guido Plaza

(Pontificia Universidad Católica de Valparaiso) and Francisco Cerna (Instituto de Fomento Pesquero) organized this practical workshop at the Instituto de Fomento Pesquero, supported by their research projects "FIP 2009-17" and "SUBPESCA 4728-31 LP 11". Dr. Steven Campana (University of Iceland) and I were invited to the workshop as international contributors. The objective of the workshop was to provide a laboratory-

based platform to revise, analyze, and discuss the criteria of identification of primary-micro increments in otoliths of juveniles and adults of Peruvian anchovy *Engraulis ringens* obtained from field and laboratory conditions.

There has been controversy on age and growth of *Engraulis* spp. and some other small pelagic fish species: recent studies hypothesized that they grow

...continued on p. 6

ELHS website: cmast.ncsu.edu/elhs

5

Pacific Rim region...cont'd from p. 5

much faster than previously recognized (La Mesa et al. 2009, Aldanondo et al. 2011). Based on a recent study which validated daily increment formation in otoliths of juvenile and adult anchovy (Plaza and Cerna, 2015), the organizers proposed to test the hypothesis of fast growth of anchovy and to establish

reliable reading criteria for otoliths of juvenile and adult anchovy.

During the workshop, a total of 9 participants were involved in revisiting technical aspects of otolith reading, for example, double ring structure formed under specific laboratory conditions and possible missing rings around the core. The workshop was organized well

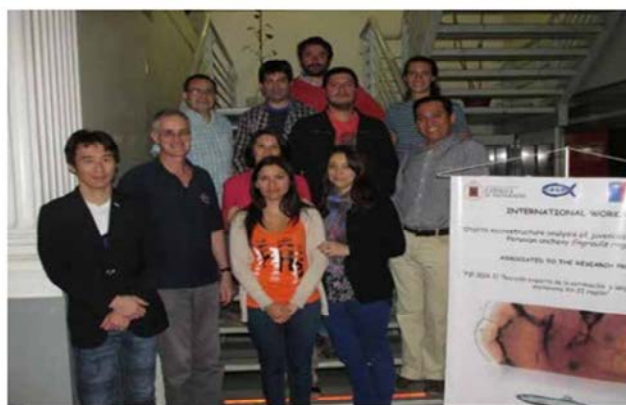
in a practical style by a combination of laboratory works and discussion. An established otolith protocol during the workshop is anticipated to contribute to aging juvenile and adult anchovy and may also be applicable to other taxa. The accuracy of aging would promote understanding ecology of these

...continued on p. 7

6

AFS - Early Life History Section

March 2016



Group photo including the workshop participants (Guido Plaza, Francisco Cerna, Steven Campana, Akinori Takasuka, Mauricio Landaeta, Mackarena Gómez, Cecilia Machuca, Guillermo Moyano, Alejandra Hernández)

Pacific Rim region...cont'd from p. 6
species throughout their life histories.

Further, it could influence age-length key in the stock assessments.

References

- Aldanondo, N., Cotano, U., and Etxebeste, E. (2011) Growth of young-of-the-year European anchovy (*Engraulis encrasicolus* L.) in the Bay of Biscay. *Scientia Marina*, 75: 227–235.
- La Mesa, M., Donato, F., Giannetti, G., and Arneri, E. (2009) Growth and mortality rates of European anchovy (*Engraulis encrasicolus*) in the Adriatic Sea during the transition from larval to juvenile stages. *Fisheries Research*, 96: 275–280.
- Plaza, G. and Cerna, F. (2015) Validation of daily microincrement deposition in otoliths of juvenile and adult Peruvian anchovy *Engraulis ringens*. *Journal of Fish Biology*, 86: 203–216.

--Akinori Takasuka§

Figura 25 Ilustración del proceso de difusión de la actividad del Taller Internacional en el Boletín Electrónico de la sección de Historia de Vida Temprana de la Sociedad de Pesquerías de Estados Unidos.



5.2 Objetivo Específico 3.2

“Definir un modelo de crecimiento mediante micro-incrementos diarios sobre la base del seguimiento de cohortes de nacimiento mensual en un ciclo anual”

5.2.1 Caracterización de la micro-estructura de otolitos

Previo al Taller Internacional y durante el desarrollo de éste se discutió sobre la eventualidad de analizar la micro-estructura en otros pares de otolitos especialmente el *lapillus*, que ha demostrado ser una alternativa para la determinación de edad en otras peces teleósteos. Al ser de mucho menor tamaño requiere menor tiempo de preparación para análisis micro-estructural. A continuación se describe este proceso exploratorio, haciendo hincapié en los elementos más sustantivos encontrados. Se destaca que la determinación de edad en ejemplares silvestres para los propósitos de este proyecto se llevó a cabo usando exclusivamente los otolitos sagitales. También se consideró necesario caracterizar brevemente la micro-estructura del otolito sagital de larvas de esta especie.

Larvas

La micro-estructura de los otolitos sagitales de larvas de *E. ringens* recolectadas se caracterizaron por presentar un primordio central compacto ($4,52 \pm 0,684 \mu\text{m}$ diámetro), rodeado por un micro-anillo prominente (marca de eclosión; ME;) formada a los $8,24 \pm 0,69 \mu\text{m}$, que circundó una zona que no presentó presencia de micro-incrementos. La ME se hizo más distintiva a medida que las larvas aumentaron en tamaño. La presencia de anillos finos que en ocasiones se bifurcaron fue un rasgo frecuente, que se observó en la mayoría de las larvas analizadas (Fig. 26).

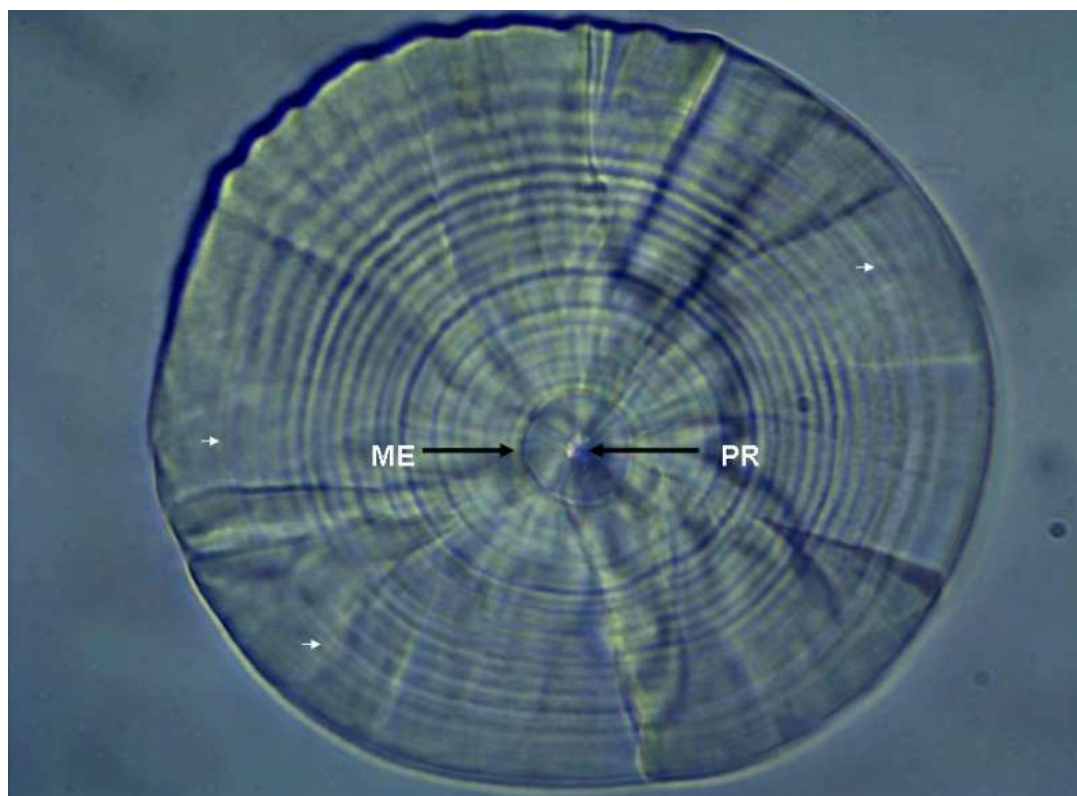


Figura 26 Fotografía ilustrativa de un otolito sagitta de una larva de 12,3 mm LT de *E. ringens* recolectada en invierno de 2014 en la zona de Antofagasta. ME: marca de eclosión; PR: Primordio. Las flechas negras indican micro-anillos que se bifurcan parcialmente, pero que corresponden a un micro-incremento primario.

Pre-reclutas

El protocolo de extracción descrito en la sección de metodología permitió la obtención de los tres pares otolitos para análisis micro-estructural en pre-reclutas y reclutas. Los otolitos asteriscus presentaron una zona nuclear irregular con varios primordios difusos en su constitución, a diferencia de los otolitos lapillus y sagitta que mostraron un área nuclear distintiva con primordios únicos, circundados por una marca de eclosión prominente (**Fig. 27**). La estructura del primordio localizado hacia la región ventral en el asteriscus fue similar a aquellos encontrados en los otolitos sagitta y lapillus, donde incluso se distinguió una marca prominente circundándolo (**Fig. 27 & 28; Tabla 7**). Posterior a dicha marca se apreciaron micro-incrementos que fueron visibles a 400X de magnificación y que mostraron un patrón relativamente homogéneo desde el primordio ventral hasta la periferia del otolito. (**Fig. 28**).



Por su parte la región nuclear de lúpilus y sagita, independiente del estado ontogenético, estuvo caracterizada por la presencia de un primordio único compacto, rodeado por una zona difusa, donde no se apreciaron micro-incrementos, incluso a 1000X de magnificación. Posterior a esta zona, denominada marca de eclosión (ME) se apreció la presencia de entre 6-8 micro-incrementos finos después de los cuales se distinguen micro-incrementos muy distintivos y de mucho mayor grosor (**Tabla 9**). La identificación y recuento de estos micro-incrementos pudo ser llevada a cabo con mayor precisión cuando se usó 100X de magnificación. El radio a la ME eclosión fluctuó entre 6 a 8 μm y entre 6 y 12 μm en lapillus y sagitta, respectivamente, no detectándose diferencias significativas entre ambos tipo de otolitos en este carácter (ANOVA $F_{1,18} = 1,28$; $p=0,27$). En contraste el radio medio a la MT varió entre 14 y 20 μm y entre 17 y 26 μm , en lapillus y sagitta, respectivamente, variando significativamente entre ambos tipos de otolitos ANOVA $F_{1,18} = 18,51$; $p<0,001$).

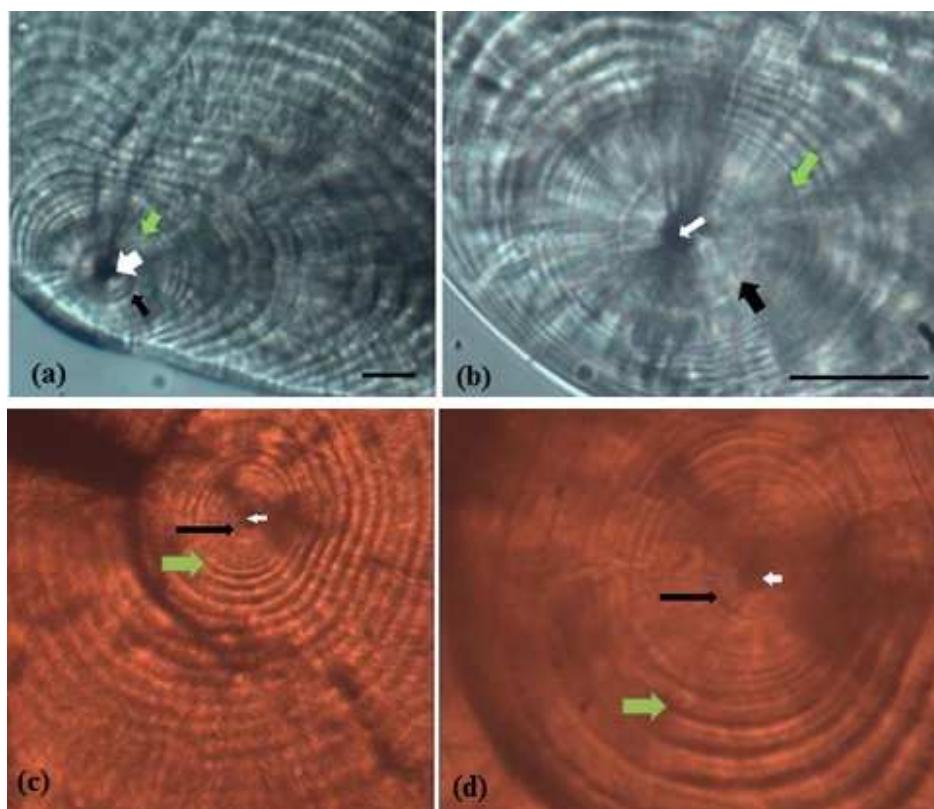


Figura 27 Fotografía de la región central de otolitos *lapillus* (ab) y *sagitta* (cd), a 400 X (ac) y 1000X (bc), ilustrando la presencia de anillos diarios muy finos factibles de cuantificar de forma más confiable a aumentos máximos. Flechas: primordio (blancas); marca de eclosión (negras); marca de transición (verdes).



Tabla 9 Estadísticas de valores medios y sus respectivas desviaciones (DE) del diámetro del primordio, radio a la marca de eclosión (ME), para los tres pares de otolitos, en 10 pre-reclutas de anchoveta de entre 3 y 7 cm LT, recolectados en la zona norte de Chile. Se indican también los radios medios a la segunda marca de transición (MT) y el número medio de micro-incrementos entre ambas marcas (NM).

Otolito	Pr	±	DE	ME	±	DE	MT	±	DE	NM
Asteriscus	13,87	±	4,13	18,81	±	2,62				
Lapillus	4,79	±	1,40	7,72	±	0,67	16,29	±	2,52	8
Sagitta	5,97	±	2,05	8,50	±	2,21	18,08	±	4,65	7

Un rasgo característico de la micro-estructura de otolitos asteriscus fue la presencia de micro-incrementos muy finos e irregulares (MFI), que fluctuaron entre 0,68 y 1,9 μm . los cuales fueron distinguibles en ciertas regiones de los otolitos y que fueron factibles de medir a magnificaciones de 1000X. Estos micro-incrementos tuvieron un grosor marcadamente inferior a los micro-incrementos regulares visibles a 400X de magnificación (Fig. 29).

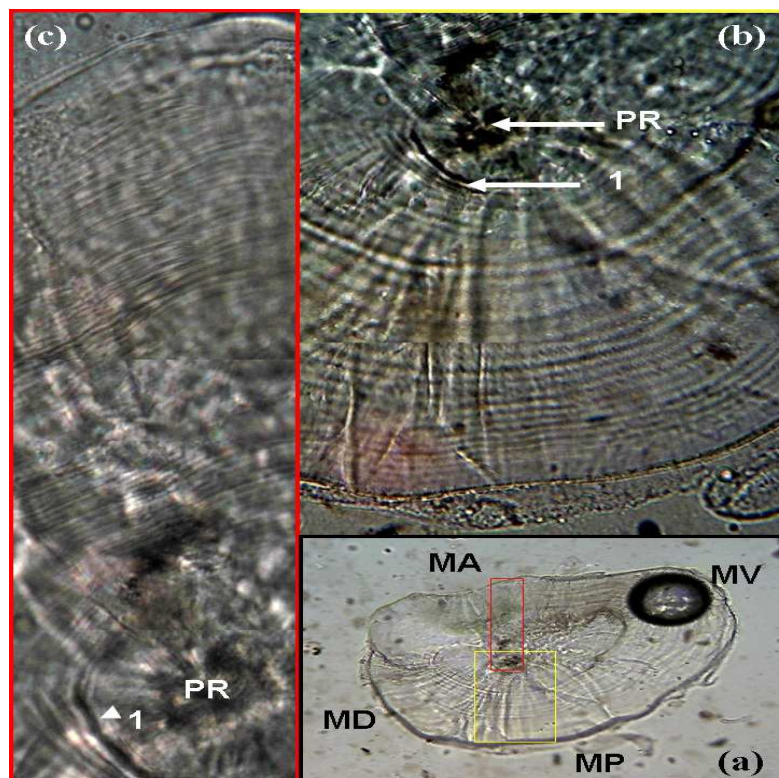


Figura 28 Fotografías ilustrativas de un otolito *asteriscus* izquierdo, extraído de un ejemplar pre-recluta de anchoveta de 4,8 cm LT, recolectado en una zona somera de Arica en Marzo de 2014. PR: primordio bien definido; PD: primordio difuso; (1): Check pretuberante. MA: margen anterior; MP: Margen posterior; MD: Margen dorsal; MV: margen ventral. (a): 100X; (b) 400X; (c) 1000X.

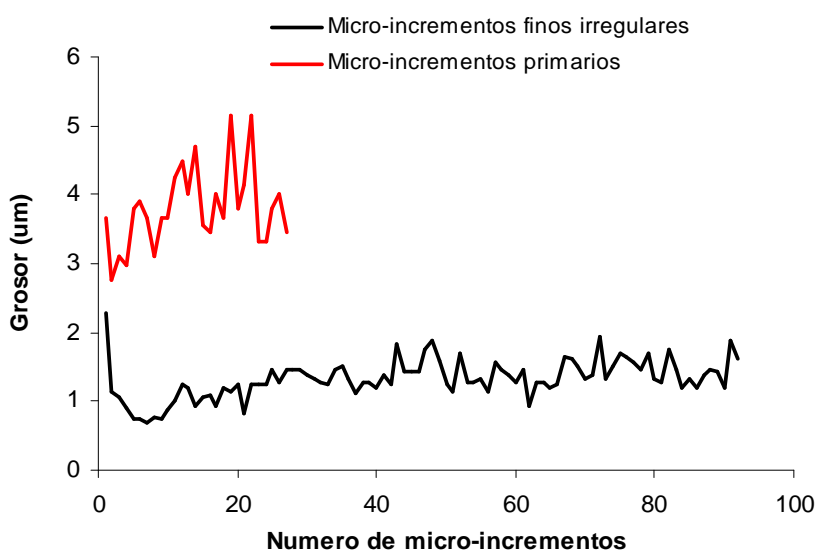


Figura 29 Ilustración del grosor medio de los patrones de micro-incrementos en 5 otolitos *asteriscus* de pre-reclutas *E. ringens* de entre 4 y 4,5 cm LT, recolectados en marzo de 2015 en la zona de Arica.

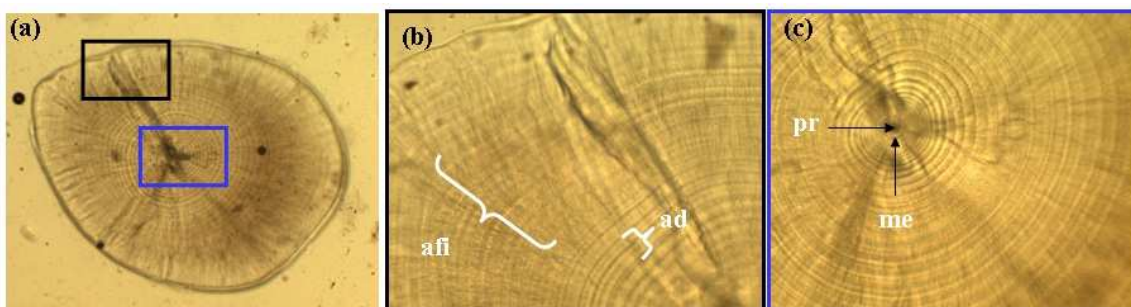


Figura 30 Fotografía ilustrativa de un otolito sagital proveniente de un pre-recluta de 3.1 cm LT. (a) 100X; (b & c)=400X. **afi**: anillos finos irregulares; **ad**: anillos dobles; **pr**: primordio; **me**: marca de eclosión.

La presencia de micro-incrementos finos e irregulares en ciertas regiones estuvo también presente en otolitos lapillus y sagitta, particularmente en ejemplares pre-reclutas de entre 3 y 7 cm LT. La presencia de anillos dobles difusos aunque también estuvieron presentes, fueron menos frecuentes y estuvieron restringidos principalmente a lapillus y sagitta (Fig. 30 & 31).

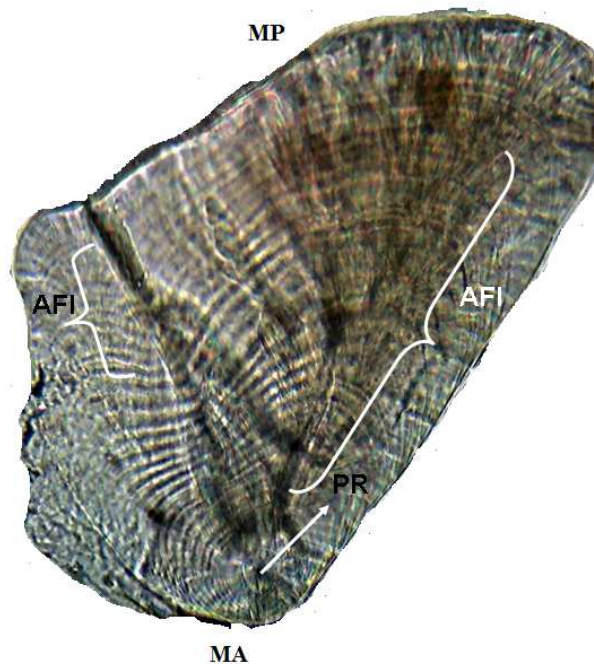


Figura 31 Fotografía ilustrativa de un otolito lapillus izquierdo de un ejemplar pre-recluta de *E. ringens* de 3.7 cm LT, recolectado en marzo de 2015 en la zona de Arica. AFI: anillos finos e irregulares; MA: margen anterior; MP: margen posterior; PR: primordio. Magnificación: 400X.

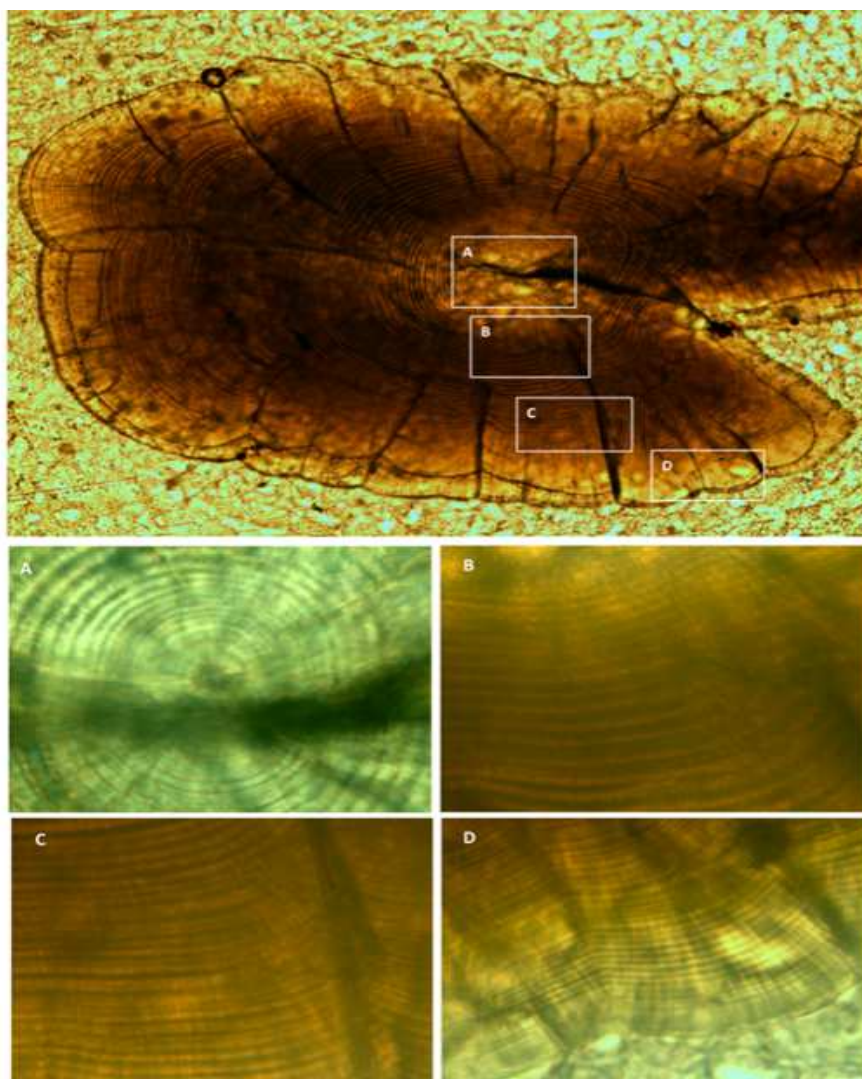
La presencia de los AFI dificultó en ocasiones la identificación de los micro-incrementos primarios, aunque fueron marcadamente menos frecuentes en lapillus, donde el patrón de micro-incrementos primarios fue relativamente homogéneo, desde el primordio hasta la periferia (**Fig. 31**). Es importante destacar que el primordio se ubica en el extremo del margen anterior en este tipo de otolitos. A medida que los ejemplares aumentaron de tamaño la presencia de micro-incrementos finos e irregulares, así como también la presencia de perturbaciones en el patrón de depósito, fue disminuyendo en lapillus y sagitta, a diferencia de los otolitos asteriscus, donde el patrón de depósito de micro-incrementos primarios fue prácticamente imposible de distinguir en juveniles de entre 8 y 12 cm de LT.

Reclutas

El patrón de la microestructura de los otolitos de reclutas de anchoveta pudo ser analizado con claridad en el plano sagital en dirección rostro-dorsal, con aumento de 400X. La lectura no pudo ser realizada en forma directa hacia el rostro o cauda debido al grosor del otolito que hace irresoluble los anillos diarios de la zona central. En dirección dorsal también existió cierta dificultad en la zona central de la lectura, sin embargo los anillos diarios pudieron ser contados y en algunos casos medidos con claridad (**Fig. 32**). Aspectos adicionales



de la descripción de la micro-estructura de juveniles (reclutas) adultos no fueron incorporados en este proyecto debido a que fueron detalladamente descritos en los proyectos “FIP 2009-17” y “SUBPESCA N° 4728-31 LP 11”, realizados previamente en esta especie en la zona norte de Chile.



.Figura 32 Área de lectura del otolito de anchoveta en plano sagital. El otolito corresponde a un pez de 10 cm LT y 105 días de edad. La foto **A)** muestra la zona del primordio con 1000X. Las fotos **B, C** y **D** muestran la secuencia de anillos hasta el borde dorsal.

5.2.2 Reproducibilidad de las lecturas

Se efectuaron ejercicios de reproducibilidad de lecturas en 19 otolitos sagitales de larvas que fluctuaron entre 0,7 y 1,08 cm LT, en 13 otolitos lapillus de reclutas entre 9,8 y 10,9 cm LT, y en 17 otolitos sagitales de reclutas entre 8 y 11 cm LT. La lectura de otolitos sagitales de larvas se efectuó en imágenes adquiridas a 1000X de magnificación, mientras que para los otolitos lapillus y sagitta se utilizaron imágenes combinadas de



diferentes secciones de otolitos tomadas en 400X de aumento, conteniendo una secuencia completa de micro-incrementos desde el primordio hasta el borde de los otolitos. Los lectores fueron clasificados en dos tipos: (1) Lector experimentado en análisis de la micro-estructura de otolitos (LE) y lector principiante (LP). Similarmente como se efectuó en la descripción de la micro-estructura se consideró apropiado evaluar también la reproducibilidad en lapillus, en un intento por evaluar su potencialidad en futuros estudios de determinación de edad de esta especie.

En el caso de las larvas se observó una elevada variabilidad en la identificación de los micro-incrementos primarios, debido a que el APE fluctuó entre 8 y 32%, con un IAPE que alcanzó $23,7 \pm 6,34\%$. (Tabla 10; Fig. 33). No obstante la mayor variabilidad pareció estar asociada a una sobre-estimación de la edad debido a la inexperiencia del lector, debido a que el APE se redujo significativamente (ANOVA $F_{1,36} = 71,51$; $p < 0,001$) cuando sólo se analizó la información considerando lectores experimentados (IAPE $9,06 \pm 4,10\%$).

Tabla 10 Resumen del ejercicio de reproducibilidad entre lectores para identificar micro-incrementos primarios, en otolitos sagitales de juveniles de larvas de la anchoveta *Engraulis ringens*, recolectados en invierno de 2014, en la zona norte de Chile. DE= 1 desviación estándar; APE=Porcentaje de Error Promedio; APE_LE: APE considerando lectores experimentados; CV: Coeficiente de variación.

ID	LECTOR					ESTADISTICA				
	LP ₁	LP ₂	LE ₁	LE ₂	LE ₃	MEDIA	DE	CV	APE	APE_LE
1	15	19	11	12	12	14	3,3	23,7	19	4
2	15	20	11	12	12	14	3,7	26,2	20	4
3	20	23	10	11	10	15	6,2	42,0	36	4
4	24	24	10	12	11	16	7,2	44,2	39	6
5	14	15	8	6	7	10	4,2	41,8	36	10
6	17	22	10	10	12	14	5,2	36,7	30	8
7	15	16	12	9	12	13	2,8	21,7	17	12
8	17	16	8	9	14	13	4,1	31,9	27	24
9	15	18	9	8	10	12	4,3	35,8	30	7
10	15	15	9	7	8	11	3,9	36,1	31	8
11	12	16	9	8	9	11	3,3	30,3	24	5
12	16	18	9	10	8	12	4,5	36,8	31	7
13	18	17	7	7	6	11	6,0	54,2	47	7
14	15	20	9	7	9	12	5,4	44,9	37	11
15	18	20	14	10	12	15	4,1	28,0	23	11
16	15	15	9	11	11	12	2,7	22,0	18	9
17	15	14	10	10	12	12	2,3	18,7	15	8
18	13	14	7	7	9	10	3,3	33,2	28	12
19	14	15	9	9	8	11	3,2	29,5	25	5

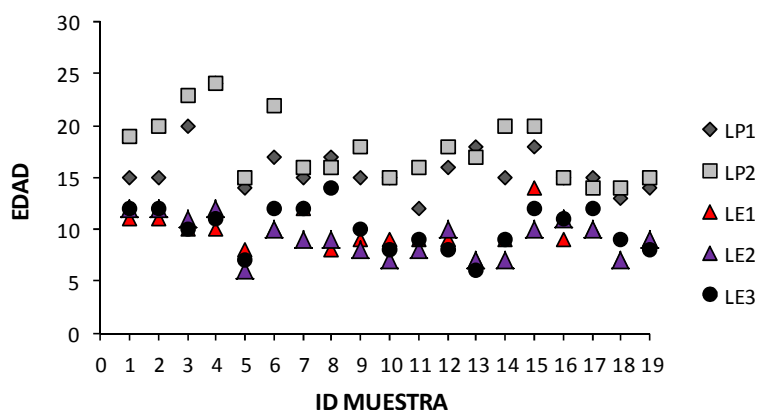


Figura 33 Ilustración del grado de dispersión de las lecturas en función del número de micro-incrementos primarios y los profesionales involucrados en los ejercicios de reproducibilidad de larvas de anchoveta *E. ringens*, recolectadas en la zona norte de Chile en invierno de 2014: LP: Lector principiante; LE: lector experimentado.

El caso de reclutas fue posible efectuar un ejercicio de reproducibilidad tanto en *lapillus* como en *sagitta*, aunque no fue posible efectuar el análisis en los dos pares de otolito en un mismo pez. En el caso del *lapillus* se evidenció una elevada reproducibilidad en las lecturas de los micro-incrementos primarios donde el APE para cada muestra fluctuó entre 3 y 14%, con un índice global IAPE de El IAPE alcanzó $6,78 \pm 3,49$ (Tabla 11, Fig. 34). La experticia afectó también significativamente la reproducibilidad, debido a que el APE promedio (IAPE) se redujo significativamente a $2,54 \pm 1,20\%$ (ANOVA $F_{1,24}=17,12$; $p < 0,001$)

Tabla 11 Resumen del ejercicio de reproducibilidad entre lectores para identificar micro-incrementos primarios, en otolitos *lapillus* de reclutas de la anchoveta *Engraulis ringens*, recolectados en la zona norte de Chile. DE= 1 desviación estándar; APE=Porcentaje de Error Promedio; APE_LE: APE considerando lectores experimentados; CV: Coeficiente de variación.

ID	Lector					Estadística				
	LP ₁	LP ₂	LE ₁	LE ₂	LE ₃	MEDIA	DE	CV	APE	APE_LE
1	105	106	117	103	107	106	5,5	5,2	3,1	4,9
2	111	90	105	89	94	101	9,7	9,7	6,6	6,3
3	120	123	102	95	93	122	14,0	11,6	12,5	3,7
4	102	94	94	94	92	98	3,9	4,0	3,7	1,0
5	88	82	101	78	82	85	9,0	10,6	6,8	10,7
6	123	118	93	86	97	121	16,2	13,4	14,6	4,3
7	124	123	113	103	101	124	10,8	8,7	8,7	4,6
8	109	100	103	85	85	105	10,9	10,4	8,6	8,8
9	110	98	97	86	83	104	10,8	10,3	10,0	6,3
10	129	111	110	109	102	120	10,0	8,4	8,0	3,1
11	109	101	113	86	96	105	10,7	10,2	7,6	9,9
12	116	120	102	95	91	118	12,8	10,8	11,5	4,2
13	103	107	113	86	85	105	12,7	12,1	9,3	12,9

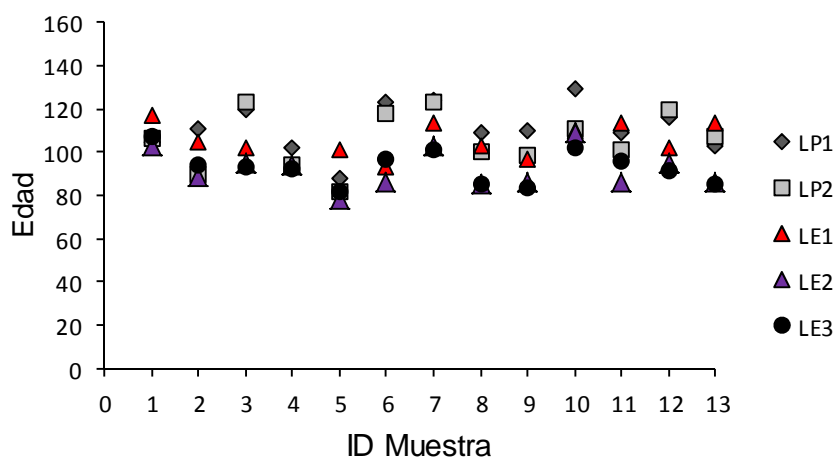


Figura 34 Ilustración del grado de dispersión de las lecturas en función del número de micro-incrementos primarios y los profesionales involucrados en los ejercicios de reproducibilidad de otolitos *lapillus* de reclutas de anchoveta. LP: Lector principiante; LE: lector experimentado.

La reproducibilidad de las lecturas en otolitos sagitales de reclutas fue similar a las reportadas en *lapillus* con valores de APE de entre 2 y 15% y un IAPE de $5,21 \pm 3,67$, cuando la información fue analizada sin considerar la experticia de los lectores. La variabilidad se redujo significativamente (ANOVA $F_{1,32}=8,02$; $p < 0,001$) a $2,34 \pm 2,2\%$ cuando se incluyó sólo a lectores expertos en los análisis. De destaca también un leve incremento de variabilidad en los ejemplares más grandes (Tabla 12; Fig. 35).

Tabla 12 Resumen del ejercicio de reproducibilidad entre lectores para identificar micro-incrementos primarios, en otolitos sagitales de reclutas de la anchoveta *Engraulis ringens*, recolectados en la zona norte de Chile. DE= 1 desviación estándar; APE=Porcentaje de Error Promedio; APE_LE: APE considerando lectores experimentados; CV: Coeficiente de variación.

ID	LECTOR					ESTADÍSTICAS				
	LP ₁	LP ₂	LE ₁	LE ₂	LE ₃	MEDIA	DE	CV	APE	APE_LE
1	130	118	122	120	117	121	5	4,3	3	1,5
2	118	120	110	110	107	113	6	5,0	4	1,2
3	151	148	130	133	132	139	10	7,1	6	0,8
4	143	156	112	107	114	126	22	17,2	15	2,4
5	153	151	135	140	130	142	10	7,0	6	2,5
6	136	148	116	110	118	126	16	12,6	10	2,7
7	138	160	114	111	108	126	22	17,7	14	1,8
8	83	85	79	69	61	75	10	13,4	11	8,9
9	94	98	92	93	81	92	6	6,9	5	5,8
10	75	85	81	71	67	76	7	9,6	8	7,3
11	93	91	92	85	74	87	8	9,1	7	7,7
12	88	97	91	74	76	85	10	11,6	10	8,9
13	92	98	93	79	73	87	11	12,1	10	9,3
14	87	89	84	74	77	82	6	7,9	7	4,8
15	78	91	75	62	61	73	12	16,9	13	9,1
16	90	103	94	87	91	93	6	6,6	5	2,7
17	99	93	95	84	76	89	9	10,4	8	7,8

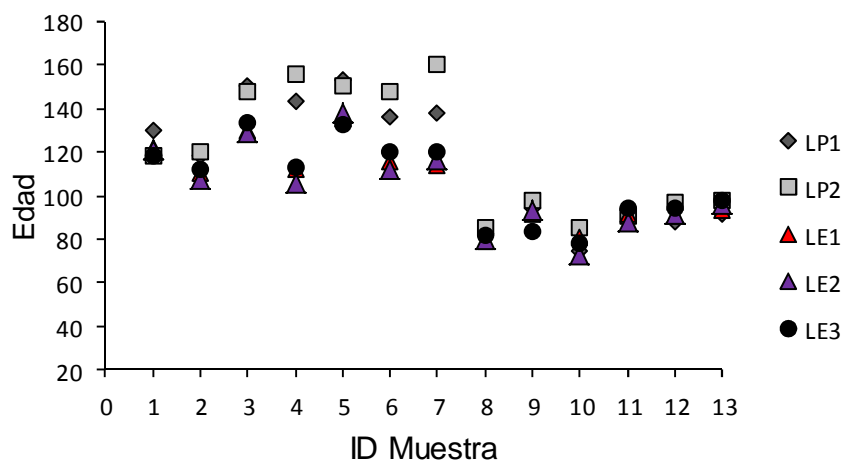


Figura 35 Ilustración del grado de dispersión de las lecturas en función del número de micro-incrementos primarios y los profesionales involucrados en los ejercicios de reproducibilidad de otolitos *Sagitta* de reclutas de anchoveta. LP: Lector principiante; LE: lector experimentado.

5.2.3 Aspectos de historia de vida

En adelante se reportan los principales resultados obtenidos en relación al análisis del micro-estructura de otolitos de larvas, pre-reclutas, reclutas y adultos en otolitos sagitales de anchoveta en la zona norte, analizados durante el transcurso del desarrollo del presente proyecto. Para la determinación de edad el criterio de lectura correspondió al GBR, que fue el criterio consensuado y validado durante la ejecución del Taller Internacional. Adicionalmente, para reducir el potencial impacto de pérdida de anillos cerca del primordio, se utilizó 100X de magnificación en la zona larval. Se debe subrayar que las lecturas fueron realizadas en otolitos por dos lectores con experiencia en análisis de la micro-estructura de otolitos de peces.

Un total de **760** ejemplares de entre 0,2 y 15 centímetros de LT fueron datados durante el desarrollo del proyecto y en una primera aproximación fue posible analizar a nivel global la relación talla-edad a la fecha de captura para todos los ejemplares analizados. Se observó un patrón donde se distinguieron cuatro grupos: por una parte las larvas y pre-reclutas que aparecen de forma distintiva y un grupo más heterogéneo de ejemplares de mayor tamaño de entre 7 y 15 cm y de entre 100 y 316 días (**Fig. 36**). Para propósitos analíticos el tercer grupo fue distinguido del cuarto grupo a la edad de 207 días, donde se distingue una discontinuidad, siendo asignados como reclutas y adultos, respectivamente.

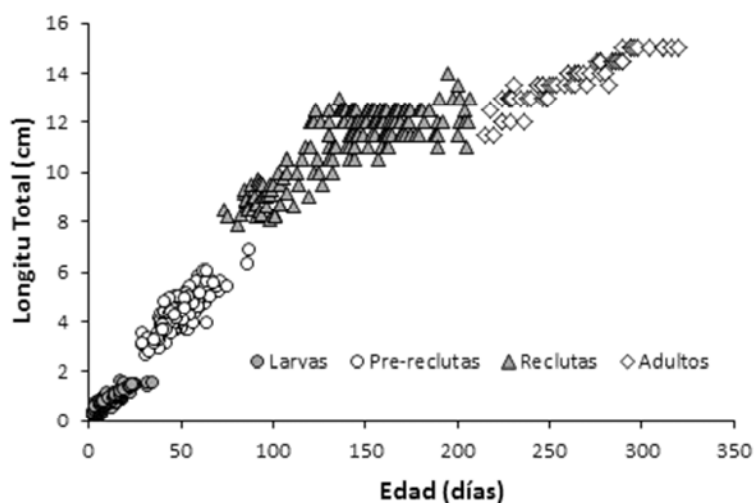


Figura 36 Relación longitud-edad al momento de la captura de ejemplares en diferentes estados ontogenéticos de la anchoveta *Engraulis ringens*, recolectados entre 2014 y 2015 en la zona norte de Chile.

Tabla 13 Estadísticas generales de edad y longitud a la fecha de captura para cuatro estados ontogenéticos (EO), año y cohorte estacional de nacimiento de la anchoveta *Engraulis ringens* en la zona norte de Chile. DE: 1 desviación estándar; CV: coeficiente de variación y número de ejemplares en cada ítem (n).

Año	EO	Cohorte	Edad \pm DE	Rango	CV	LT \pm DE	Rango	CV	n
2014		Total año	76,34 \pm 88,57	2 - 320	116,0	5,38 \pm 5,48	0,2 - 15,0	102,0	583
	Larvas	Total	8,59 \pm 5,95	2 - 34	69,3	0,73 \pm 0,33	0,2 - 1,7	44,8	325
		Otoño	7,10 \pm 3,97	2 - 17	55,9	0,65 \pm 0,23	0,2 - 1,1	35,6	123
		Invierno	9,50 \pm 6,73	2 - 34	70,8	0,78 \pm 0,37	0,3 - 1,7	46,7	202
	Pre-R	Total	63,33 \pm 9,38	47 - 86,5	14,8	5,38 \pm 0,60	4,4 - 6,9	11,2	24
		Primavera	63,33 \pm 9,38	47 - 86,5	14,8	5,38 \pm 0,60	4,4 - 6,9	11,2	24
	Reclutas	Total	139,58 \pm 31,09	75 - 206	22,3	11,12 \pm 1,40	7,9 - 12,5	12,6	175
		Invierno	124,64 \pm 31,13	75 - 204	25,0	10,51 \pm 1,52	7,9 - 12,5	14,4	92
		Primavera	156,14 \pm 21,13	100 - 206	13,5	11,80 \pm 0,84	9,0 - 12,5	7,2	83
	Adultos	Total	267,20 \pm 25,96	218 - 320	9,7	13,92 \pm 0,80	12,0 - 15,0	5,7	59
		Invierno	279,03 \pm 25,50	218 - 320	9,1	14,22 \pm 0,88	12,0 - 15,0	6,2	30
		Primavera	254,97 \pm 20,44	224 - 290	8,0	13,62 \pm 0,58	13,0 - 14,5	4,2	29
2015		Total	67,58 \pm 52,23	28 - 249	77,3	5,56 \pm 2,92	2,7 - 14,0	52,6	177
	Pre-R	Total	45,86 \pm 7,59	28 - 65	16,5	4,27 \pm 0,63	2,7 - 6,1	14,7	146
		Primavera	45,31 \pm 7,44	28 - 65	16,4	4,31 \pm 0,64	2,7 - 6,1	14,8	132
		Verano	51,11 \pm 7,16	38 - 63,5	14,0	3,94 \pm 0,39	3,1 - 4,8	9,8	14
	Reclutas	Total	152,54 \pm 44,86	73 - 207	29,4	11,40 \pm 1,62	8,5 - 14,0	14,2	24
		Invierno	189,85 \pm 14,94	163 - 207	7,9	12,38 \pm 0,92	11,0 - 14,0	7,4	13
		Primavera	136,00 \pm	136 - 136	0,0	13,00 \pm	13,0 - 13,0	0,0	1
	Adultos	Total	105,70 \pm 19,12	73 - 142	18,1	9,95 \pm 1,23	8,5 - 12,5	12,4	10
		Total	229,14 \pm 11,22	215 - 249	4,9	12,36 \pm 0,80	11,5 - 13,5	6,5	7
		Otoño	226,67 \pm 8,33	220 - 236	3,7	11,83 \pm 0,29	11,5 - 12,0	2,4	3
	Invierno	231,00 \pm 13,95	215 - 249	6,0	12,75 \pm 0,87	11,5 - 13,5	6,8	4	
	Total general			74,30 \pm 81,62	2 - 320	109,9	5,42 \pm 5,01	0,2 - 15,0	92,4



Las estadísticas generales de edad diaria y longitud por estado ontogenético y por estación de nacimiento se presentan en la **Tabla 13**. A una fracción de los 760 otolitos leídos se les midió el grosor de cada microincremento. En consecuencia se contó con dos tipos de datos para análisis de edad, *i.e.*, información de tipo transversal a la fecha de captura; y de tipo longitudinal, derivada de la medición de los grosores de los microincrementos de cada individuo. En adelante se presentan los resultados en primero por separado para cada estado ontogenéticos analizado y posteriormente integrando toda la información. Se hace hincapié, que en los análisis de los resultados no se efectuó un análisis espacial, debido a la mayor presencia de pre-reclutas en la zona de Antofagasta.

5.2.4 Patrones de historia de vida de larvas de *E. ringens*

Fechas de nacimiento

La longitud de larvas de *E. ringens* recolectadas en el sector de Coloso, Antofagasta mostraron una elevada variabilidad en cada fecha de muestreo (**Tabla 13**). Se lograron procesar 325 ejemplares, las que fluctuaron entre 2 y 17 mm de LT (7.3 ± 3.2 ; $CV=44.82$) y edades de entre 2 y 34 días (8.59 ± 5.95 ; $CV=50.67$). La distribución de fechas de nacimientos mostró un patrón polimodal, con nacimientos concentrados mayoritariamente entre junio y julio, aunque con presencia de eclosión también en septiembre de 2014 (**Fig. 37**).

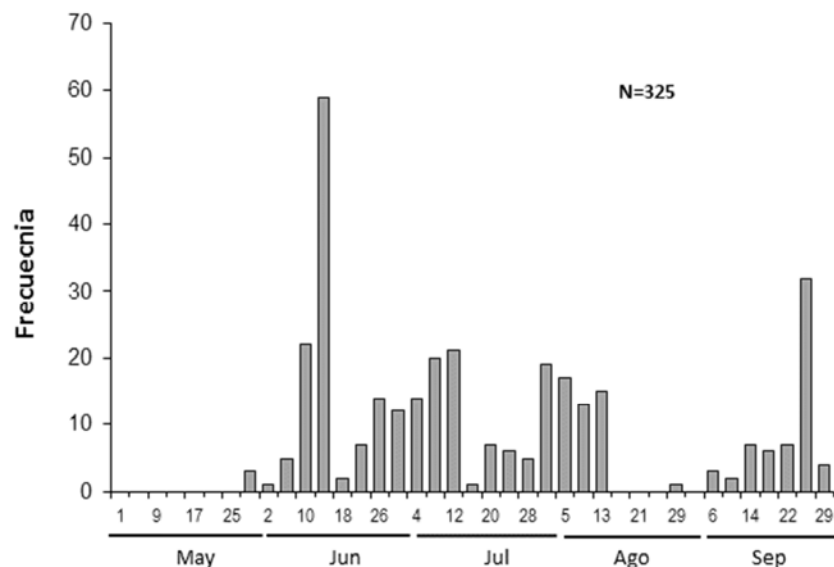


Figura 37 Distribución de frecuencia de las fechas de nacimiento de larvas *E. ringens*, recolectadas en invierno de 2014 en el sector de Coloso, Antofagasta.



Relación talla-edad

La relación talla-edad a la fecha de captura fue determinada para larvas que fluctuaron entre 2 y 17 mm de longitud y edades de entre 0 y 34 días. Se pudo observar que dicha relación se ajustó significativamente tanto a un modelo Laird-Gompertz, como a un modelo lineal para cada cohorte de nacimiento ($p < 0.001$; **Fig. 38**, **Tabla 14**). Las tasas de crecimiento absolutas al punto de inflexión fueron más variables que en caso del modelo lineal, aunque al integrar todas las cohortes ambas tasas fueron similares aproximándose a $0,6 \text{ mmd}^{-1}$ (**Fig. 38**; **Tabla 16**).

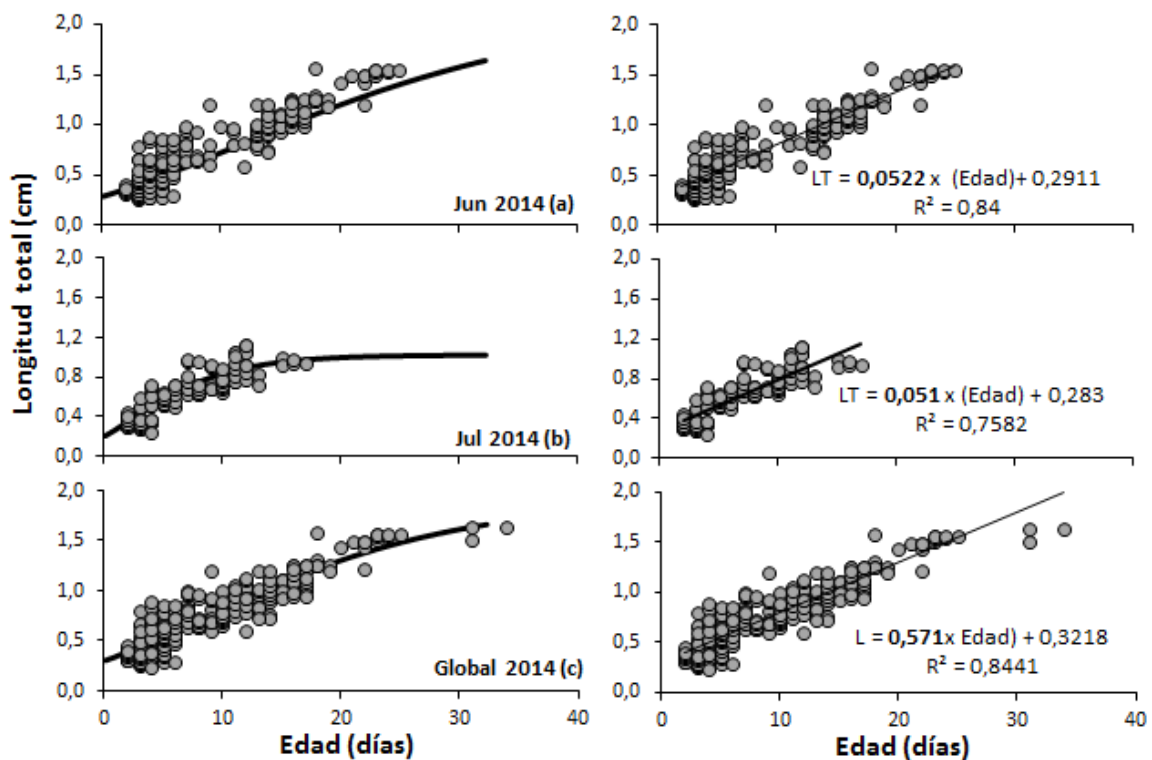


Figura 38 Modelos Laird-Gompertz y lineales para cuatro cohortes de nacimiento de larvas de la anchoveta *E. ringens*, recolectadas en la zona de Antofagasta, en invierno de 2014.

Tabla 14 Parámetros estimados de modelos Laird-Gompertz, para cuatro cohortes de nacimiento de larvas de anchoveta *E. ringens*, recolectadas en la zona de Antofagasta, en invierno de 2014. L_{∞} : Longitud asíntótica; X_0 : Edad al punto de inflexión; TC_{Api} : Tasa de crecimiento absoluta a X_0 . TC_{17} : Tasas de crecimiento diarias promedios derivadas del modelo hasta el día 17 después de la eclosión.

Cohorte	$L_{\infty} \pm es$	$g \pm es$	$X_0 \pm es$	$TL \text{ at } X_0$	TC_{Api}	TC_{17}	r^2
Junio	$2,43 \pm 0,45$	$0,061 \pm 0,012$	$11,55 \pm 3,32$	0,89	0,55	0,46	0,84
Julio	$1,02 \pm 0,06$	$0,207 \pm 0,034$	$2,54 \pm 0,31$	0,38	0,78	0,45	0,80
Global	$1,93 \pm 0,13$	$0,078 \pm 0,007$	$8,053 \pm 0,97$	0,71	0,55	0,52	0,84



5.2.5 Patrones de historia de vida pre-reclutas de *E. ringens*

Relación talla- edad a la fecha de captura para pre-reclutas

Los pre-reclutas analizados provinieron de una cohorte de primavera y otra de verano, para el año 2014 y una de primavera para el año 2015 (Fig. 39), pero debido al estrecho rango de longitud y bajo número de ejemplares la relación talla edad fue evaluada con la información combinada, para el primer caso. Dicha relación pudo ser determinada para ejemplares que fluctuaron entre 4 y 7 cm LT y edades de entre 44 y 87 días, para la cohorte de primavera-verano 2014-2015 y entre 2,7 y 6,1 cm y entre 28 y 65 días, para la cohorte de primavera de 2015 (Tabla 13; Fig 40). En ambos casos la relación pudo ser descrita significativamente tanto por modelos lineales como el curvilíneo de Laird-Gompertz, donde la edad explicó alrededor del 70% de la variabilidad en la longitud corporal ($p < 0,001$; Fig. 40; Tabla 15), con tasas de crecimiento absolutas máximas de entre 0,8 y 0,9 mmd^{-1} . El modelo lineal tuvo comportamientos similares con tasas de crecimientos ligeramente menores (Fig. 40). Se destaca que un análisis de covarianza y una prueba de razón de verosimilitud no detectaron diferencias significativas entre cohortes de nacimiento ($p < 0,001$).

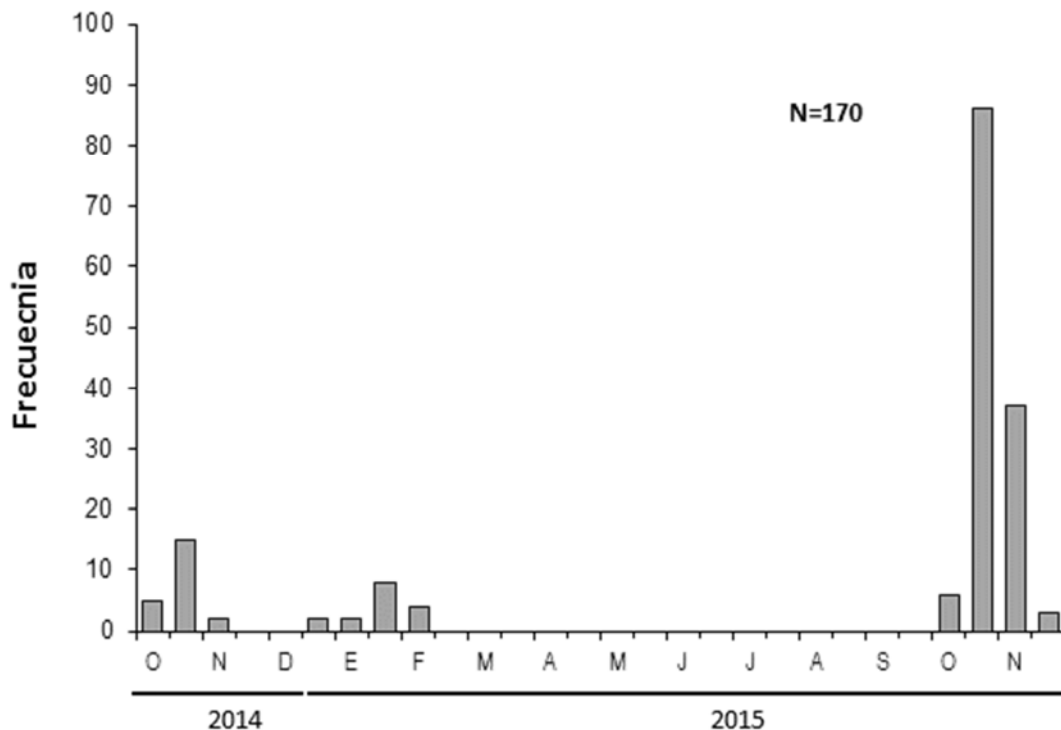


Figura 39 Distribución de fechas de nacimiento para pre-reclutas de la anchoveta *E. ringens*, recolectados en diciembre de 2014, marzo de 2015 y diciembre 2015.

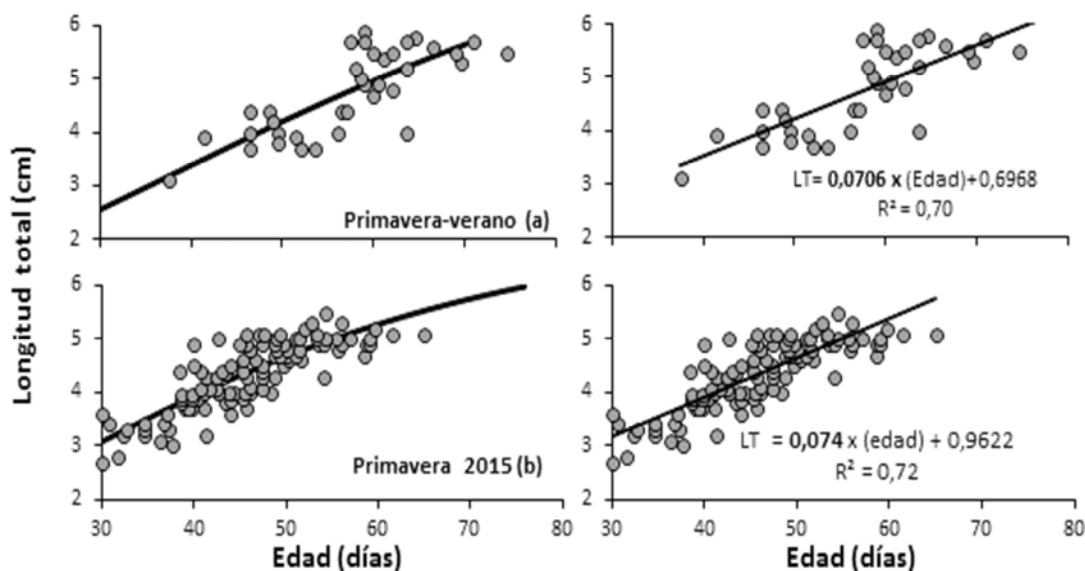


Figura 40 Modelos Laird-Gompertz y lineales para cuatro cohortes de nacimiento de pre-reclutas de anchoveta *E. ringens*, recolectados en la zona de Antofagasta, en invierno de 2014.

Tabla 15 Parámetros estimados de modelos Laird-Gompertz, para dos clases anuales de nacimiento de pre-reclutas de anchoveta *E. ringens*, recolectados en la zona norte de Chile. L_{∞} , Longitud asintótica; X_0 : Edad al punto de inflexión; TCApi; Tasa de crecimiento absoluta a X_0 .

Cohorte	$L_{\infty} \pm ES$	$g \pm ES$	$X_0 \pm ES$	$TL \text{ at } X_0$	TCl_{pi}	r^2	n
2014	8,74 ± 2,65	0,026 ± 0,015	37,96 ± 9,35	3,215	0,840	0,71	122
2015	7,06 ± 1,11	0,035 ± 0,011	24,69 ± 3,170	2,599	0,910	0,71	88
Global	7,84 ± 1,10	0,026 ± 0,007	26,14 ± 4,23	2,882	0,750	0,70	173

5.2.6 Patrones de historia de vida de reclutas de *E. ringens*

La relación talla-edad a la fecha de captura pudo ser descrita para ejemplares que nacieron en invierno y primavera de 2014, que fueron las cohortes que mostraron un rango de longitud y tamaños de muestra más adecuados para un ajuste de este tipo, a diferencia de las cohortes de verano e invierno de 2015 (Fig. 41). Los ejemplares comparados fluctuaron entre 8 y 13 cm LT y entre 75 y 206 días de edad (Tabla 16). Para ambos cohortes los modelos fueron significativos y estimaron tasas de crecimiento máximas superiores a 1 mmd^{-1} alcanzadas aproximadamente a los primeros 50 días de vida y a los 5 mm de LT y donde las tasas de



crecimiento de la cohorte primavera fue significativamente ($p < 0,001$) superior que la de invierno (Fig. 42; Tabla 16).

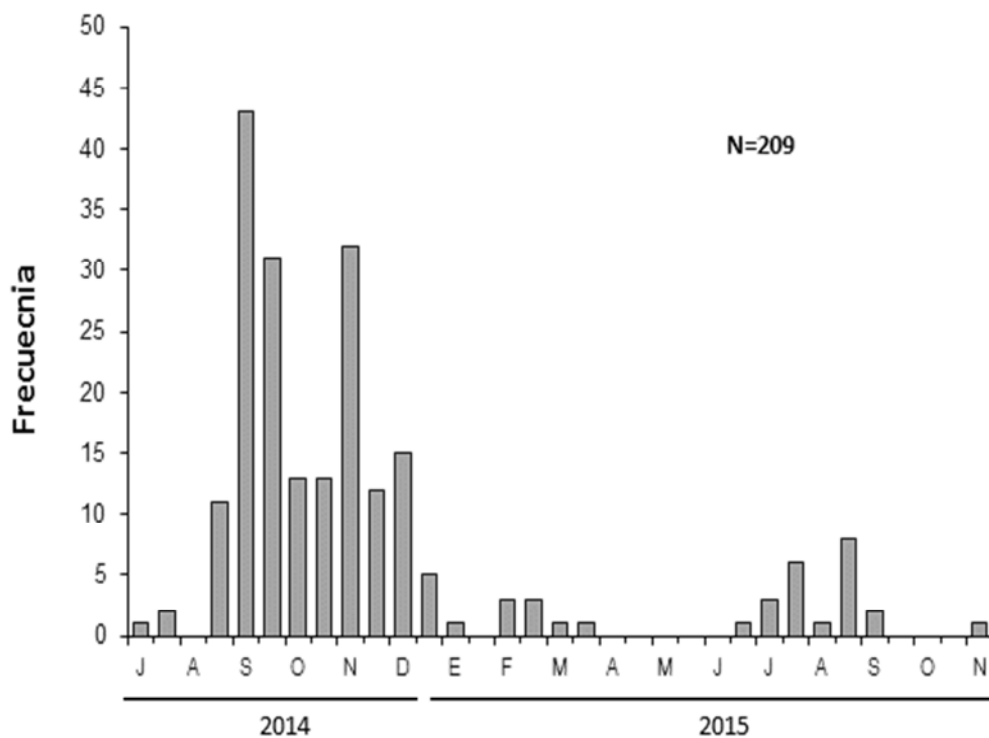


Figura 41 Distribución de fechas de nacimiento para reclutas de la anchoveta *E. ringens* recolectados en diciembre de 2014, marzo de 2015 y diciembre 2015.

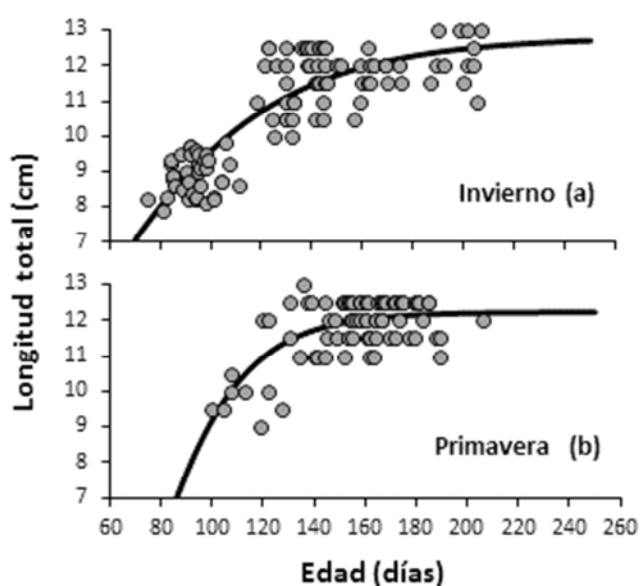


Figura 42 Modelos Laird-Gompertz y lineales para dos cohortes de nacimiento estacionales de reclutas de la anchoveta *E. ringens*, recolectadas en la zona norte de Chile.

Tabla 16 Parámetros estimados de modelos Laird-Gompertz, para dos clases anuales de nacimiento de reclutas de anchoveta *E. ringens*, recolectados en la zona norte de Chile. L_{∞} , Longitud asíntótica; X_0 : Edad al punto de inflexión; TCA_{pi} ; Tasa de crecimiento absoluta a X_0 .

Cohorte	$L_{\infty} \pm ES$	$G \pm ES$	$X_0 \pm ES$	$TL \text{ at } X_0$	TCA_{pi}	r^2	n
Invierno	$12,81 \pm 0,35$	$0,024 \pm 0,004$	$48,59 \pm 5,65$	4,712	1,130	0,76	105
Primavera	$12,23 \pm 0,17$	$0,048 \pm 0,013$	$73,84 \pm 8,949$	4,497	2,160	0,46	84
Global	$12,72 \pm 0,22$	$0,026 \pm 0,003$	$50,03 \pm 4,19$	4,679	1,220	0,75	199

5.2.7 Tasa de crecimiento Global (TCG)

En forma complementaria a las tasas de crecimiento derivada de los modelos de crecimiento fue posible obtener una estimación de la tasa de crecimiento global (TCG), como el cociente entre la diferencia entre la LT (menos la longitud a la eclosión) y la edad total a la fecha de captura. Las estadísticas generales de la TCG se resumen en la **Tabla 17**, donde es factible distinguir la elevada variabilidad en el crecimiento en la fase larval de esta especie con CV ~40%, a pesar de que corresponde sólo al primer mes de vida. Debido a que la base datos no estuvo balanceada sólo fue posible efectuar análisis estadísticos en algunos factores que cumplieron con los supuestos de homogeneidad de varianza y normalidad. En general la TCG fluctuó entre 0,1 y 1,79 mmd⁻¹, donde las fases pre-reclutas y reclutas fueron las que mostraron las TCG significativamente mayores a nivel global (ANOVA $F_{6,753} = 73,131$; $p < 0,001$) y en cada año de nacimiento analizado (ANOVA 2014; $F_{3,579} = 63,9$; $p < 0,001$; año 2015; $F_{2,174} = 44,84$; $p < 0,001$). A nivel de estado



ontogenético en la mayoría de los casos no se observaron diferencias significativas en la TCG entre las cohortes de nacimiento estacional comparadas (ANOVA $p > 0,05$; **Tabla 17**).

Tabla 17 Estadísticas generales de la tasa de crecimiento global para cuatro estados ontogenéticos (EO), año y cohorte estacional de nacimiento de la anchoveta *Engraulis ringens* en la zona norte de Chile. DE: 1 desviación estándar; CV: coeficiente de variación y número de ejemplares en cada ítem (n). Las letras y/o símbolos diferentes denotan diferencias significativas ($p < 0,05$) a nivel global y entre estaciones de nacimiento dentro de un mismo estado ontogenético.

Año	EO	Cohorte	Media \pm DE	Rango	CV	n	Global	Intra
2014		Total año	0,65 \pm 0,23	0,05 - 1,79	35,4	583	i	
	Larvas	Total	0,57 \pm 0,25	0,05 - 1,79	43,7	325	a	
		Otoño	0,58 \pm 0,27	0,05 - 1,79	46,1	123		a
		Invierno	0,56 \pm 0,22	0,05 - 1,21	39,3	202		a
	Pre-R	Total	0,82 \pm 0,07	0,70 - 0,96	8,9	24	b	
		Primavera	0,82 \pm 0,07	0,70 - 0,96	8,9	24		
	Reclutas	Total	0,80 \pm 0,12	0,56 - 1,08	14,4	175	b	
		Invierno	0,85 \pm 0,12	0,56 - 1,08	13,9	92		i
		Primavera	0,75 \pm 0,09	0,57 - 0,98	11,6	83		i
	Adultos	Total	0,51 \pm 0,02	0,46 - 0,57	4,8	59	a	
		Invierno	0,50 \pm 0,02	0,46 - 0,56	4,0	30		*
		Primavera	0,53 \pm 0,02	0,47 - 0,57	4,4	29		*
2015		Total	0,85 \pm 0,13	0,50 - 1,2	15,3	177	ii	
	Pre-R	Total	0,88 \pm 0,10	0,59 - 1,2	11,1	146	b	
		Primavera	0,90 \pm 0,09	0,71 - 1,2	9,5	132		i
		Verano	0,73 \pm 0,07	0,59 - 0,88	10,1	14		ii
	Reclutas	Total	0,77 \pm 0,16	0,52 - 1,13	20,7	24	b	
		Invierno	0,64 \pm 0,05	0,52 - 0,71	8,1	13		
		Primavera	0,94 \pm	0,94 - 0,94	0,0	1		
		Verano	0,93 \pm 0,08	0,81 - 1,13	9,1	10		
	Adultos	Total	0,53 \pm 0,03	0,50 - 0,57	5,1	7	a	
		Otoño	0,51 \pm 0,01	0,50 - 0,52	2,6	3		
		Invierno	0,54 \pm 0,03	0,51 - 0,57	5,3	4		
	Total general			0,69 \pm 0,23	0,05 - 1,79	32,8	760	

5.2.8 Perfiles del grosor de micro-incrementos

Los otolitos que presentaron una resolución de micro-incrementos adecuada desde el primordio hasta el borde del otolito permitieron medir el grosor de cada micro-incrementos. En este análisis se pudo observar los cambios aparentes en el grosor medio de los micro-incrementos entre las cohortes, para los distintos estados ontogenéticos de anchoveta. Este indicador usado como un proxy de la velocidad del crecimiento, muestra en



larvas, entre los 10 y 15 días, un menor crecimiento de la cohorte de invierno respecto de otoño del mismo año. En el caso de los reclutas se observa un crecimiento similar entre las cohortes de invierno y primavera del 2014, con un grosor máximo de 18 μm a los 50 días, por aproximadamente 10 días, a partir de los cuales comienza a descender aceleradamente el ancho de los micro-incrementos. La cohorte de invierno del 2015 presenta un ancho máximo similar a lo observado el 2014, aunque el 2015 se produce un plateau en ancho de los micro-incrementos, manteniendo valores similares desde el día 40 al 70, a partir del cual comienza a descender. La cohorte de verano del 2015 presenta un menor grosor de los micro-incrementos para un periodo plateau, con grosores que oscilaron entre 12 y 15 μm y un valor máximo inferior a la cohorte de invierno del mismo año. A partir del día 70 el ancho de micro-incrementos comienza a descender, periodo en que el crecimiento se compensa entre ambas cohortes (Fig. 43).

Un rasgo distintivo fue que el grosor de micro-incrementos, en los primeros 20 días de vida es muy inferior en larvas respecto de pre-reclutas y reclutas, mientras estos dos últimos estados ontogenéticos presentan anchos de 8 μm a los 20 días, mientras que en larvas no superan los 2 μm (Fig. 43). En la **Tabla 18** se muestra el grosor medio de los micro-incrementos por estado ontogenético y cohorte estacional.

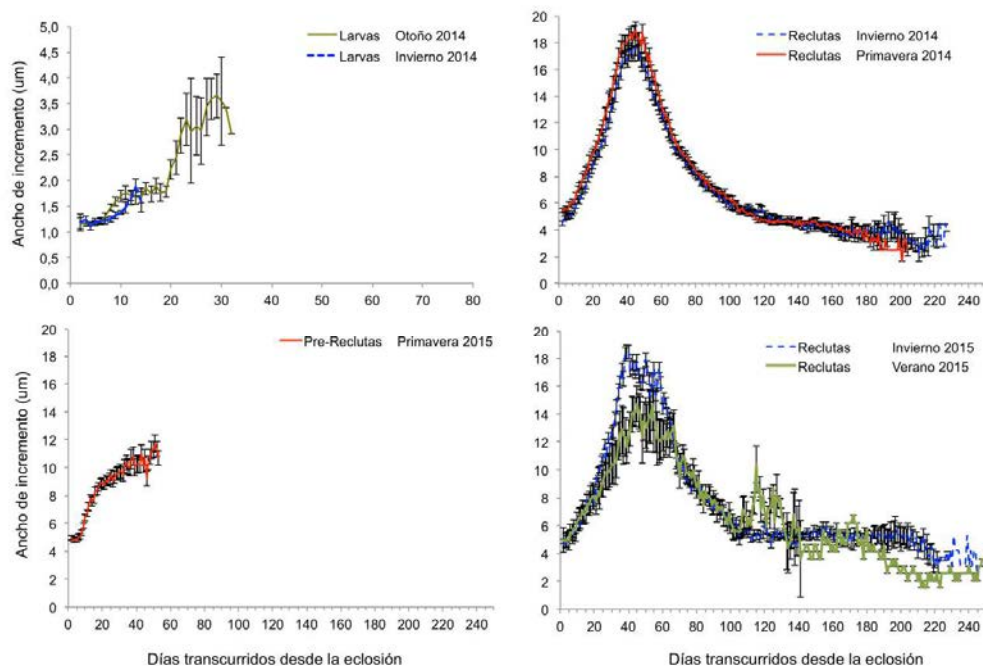


Figura 43 Perfiles de grosor medio de micro-incrementos diarios con su error estándar en otolitos de anchoveta presentados por estado ontogenético y cohorte estacional.



Tabla 18. Estadística general del ancho de los micro-incrementos y las tasas de crecimiento diaria retro-calculadas, determinadas por estado ontogenético y cohorte estacional de anchoveta de la zona norte para el 2014 y 2015. DE: desviación estándar; N: al número de peces analizados.

Año	Estado		Ancho incrementos (μm)		TCDR (mmd^{-1})		N
	Ontogénético	Cohorte	Media	\pm DE	Media	\pm DE	
2014	Larvas	Otoño	1,24	\pm 0,35	0,66	\pm 0,23	80
		Invierno	1,27	\pm 0,28	0,63	\pm 0,20	26
	Reclutas	Invierno	9,43	\pm 1,23	0,61	\pm 0,18	95
		Primavera	9,05	\pm 1,05	0,64	\pm 0,18	83
2015		Verano	9,47	\pm 1,93	0,45	\pm 0,10	10
		Invierno	8,23	\pm 0,87	0,56	\pm 0,16	17
	Pre-Reclutas	Primavera	8,34	\pm 1,88	0,99	\pm 0,34	91

TCDR: es la tasa de crecimiento diaria retrocalculada

5.2.9 Reconstrucción de los patrones de edad y crecimiento usando retro-cálculo

Relación entre radio del otolito y la longitud del pez

La relación entre el radio máximo del otolito (RO), medido desde el primordio hacia el eje caudal máximo del otolito y la longitud total de anchoveta (LT) fue analizada por estado ontogenético para un total de 106 larvas, 100 Pre-Reclutas y 200 Reclutas capturados entre diciembre de 2014 y marzo de 2015. La relación de estas dos variables fue logarítmica en el caso de las larvas y lineal para los pre-reclutas y reclutas (**Fig. 44 a-c**). Se debe subrayar que para efectos de retro-cálculo en estudios posteriores, es imprescindible revelar si la relación RO-LT sigue una tendencia lineal.

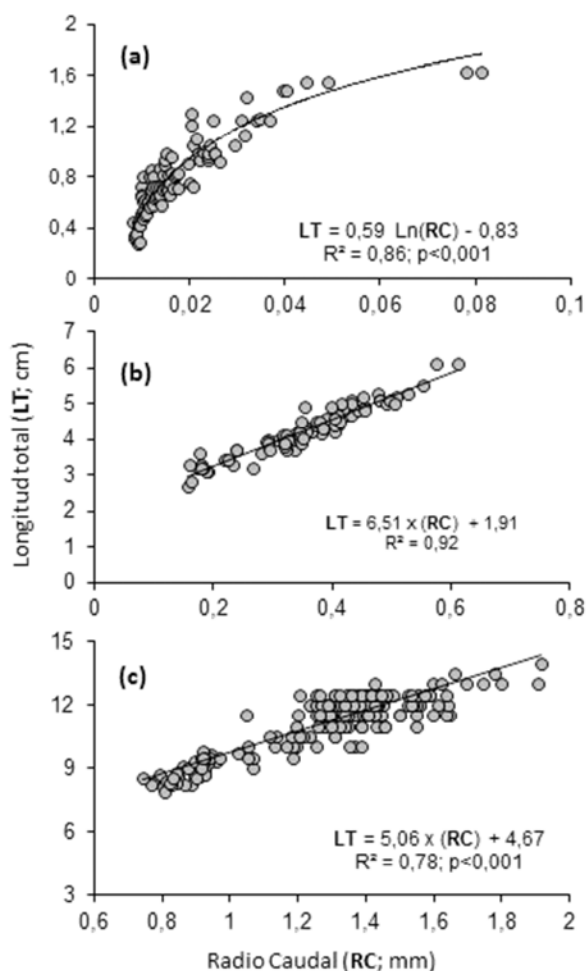


Figura 44 Relación entre la longitud total de los ejemplares y el radio caudal del otolito en larvas(a); pre-reclutas (b) y reclutas(c) de la anchoveta *E. ringens*, recolectadas en la zona norte de Chile durante los años 2014 y 2015. Se muestran las ecuaciones, sus parámetros y el coeficiente de determinación para cada estado.

La existencia de una relación lineal significativa entre el radio caudal y la longitud total de los ejemplares mayores e iguales a 2,7 cm LT y/o 30 días de vida, garantizó la aplicación de retro-cálculo para todos los estados ontogenéticos de anchoveta, mediante la utilización del método del intercepto biológico. El procedimiento de retro-cálculo permitió también la reconstrucción de las longitudes previas a cada edad, y con ello la determinación de las tasas de crecimiento individual por mes de nacimiento y la estimación del crecimiento para distintas cohortes.

En general los perfiles de la tasa de crecimiento media retro-calculada siguieron un patrón similar a aquellos descritos para el grosor de los micro-incrementos, con una tasa similar para los reclutas de invierno y primavera de 2014, y una menor tasa de crecimiento para los reclutas de invierno de 2015, hasta los 140 días,



la que posteriormente se compensa. La tasa máxima de los reclutas de invierno y primavera de 2014 fue de $1,6 \text{ mmd}^{-1}$, a los 50 días de vida, para descender rápidamente y alcanzar los $0,2 \text{ mmd}^{-1}$ a los 180 días desde la eclosión. Las cohortes de invierno y verano del 2015 presentan una tasa máxima de $1,4 \text{ mmd}^{-1}$ entre los 40 y 50 días desde la eclosión, esta tasa baja a $1,2$ y se mantiene alrededor de este valor hasta el día 75 aproximadamente, a partir del cual comienza a descender paulatinamente hasta los $0,2 \text{ mmd}^{-1}$ a los 250 días desde la eclosión (**Fig. 45**).

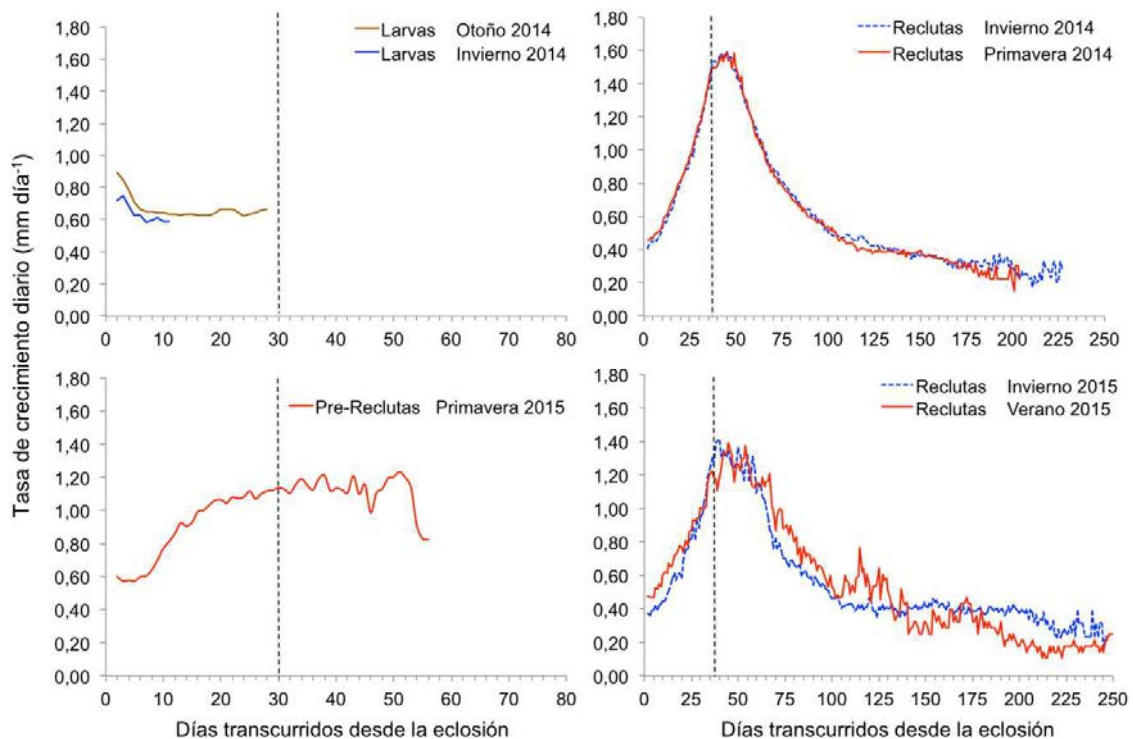


Figura 45 Perfil promedio de la tasa de crecimiento individual por cohorte estacional, en larvas, pre reclutas y reclutas de anchoveta de la zona norte. La línea vertical segmentada indica el límite entre el tiempo de vida con crecimiento alométrico (<30 días) y el con crecimiento isométrico, en la relación entre el otolito y la longitud del pez.

Los parámetros de crecimiento permitieron estimar, para cada estado ontogénico y cohorte, la longitud y la tasa media de crecimiento al punto de inflexión. En larvas de otoño e invierno del 2014 la tasa fue similar ($0,50$ y $0,53 \text{ mmd}^{-1}$). Lo propio ocurrió para las cohortes invierno y primavera del 2014 y verano del 2015, con iguales tasas de crecimiento de $1,3 \text{ mmd}^{-1}$. Esta situación cambia en las siguientes cohortes, invierno y primavera 2015, en que la tasa cae aproximadamente en $0,30 \text{ mmd}^{-1}$ (**Tabla 19**).



Tabla 19 Parámetros de crecimiento derivados del modelo Laird Gompertz para el ajuste de la relación edad-longitud retro-calculada de anchoveta *E. ringens*, por estado ontogenético y cohortes estacionales de anchoveta de la zona norte. Se indica la longitud (LT a X_0) y la tasa de crecimiento al punto de inflexión (TCDI a X_0), además del coeficiente de determinación (r^2).

Estado ontogenético	Cohorte	L_∞	α	X_0	LT a X_0	TCDI a X_0	r^2
Larvas	Otoño 2014	1,79	0,08	6,85	0,66	0,50	0,98
	Invierno 2014	1,29	0,11	4,33	0,47	0,53	0,99
Reclutas	Invierno 2014	11,64	0,03	44,27	4,28	1,30	0,99
	Primavera 2014	11,80	0,03	44,23	4,34	1,30	0,99
	Verano 2015	9,34	0,04	38,68	3,44	1,32	0,99
	Invierno 2015	12,48	0,02	53,64	4,59	0,98	0,99
Pre-Reclutas	Primavera 2015	5,45	0,05	21,83	2,00	1,08	0,99

A pesar de que la relación talla-edad a la fecha de captura mostró tendencias alométricas al interior de cada estado ontogenético, la tendencia general evidenció una fase de crecimiento ascendente y otra con cierto grado de plateau a partir de quinto mes de vida, que permite explorar el ajuste de modelos clásicos.

5.3 Objetivo Especifico 3.3

“Determinar la edad anual de anchoveta mediante micro-incrementos diarios”

5.3.1. Ajuste de modelos talla-edad integrando la información

Del taller de difusión de resultados surgió un requerimiento del parte de la Sub-secretaría de Pesca, para efectuar un análisis integrando toda la información de la relación edad diaria y longitud a la fecha de captura, con el fin de obtener parámetros de crecimiento menos sesgados por la falta de datos en la distribución de puntos y que puedan ser también un aporte para los análisis de evaluación de implicancias en futuros estudios. En este análisis se exploró el ajuste de modelos de crecimiento tradicionales, a saber: von Bertalanffy tradicional, Gompertz y vB estacional, en un total de 760 pares de datos de longitud total del pez (cm) y edad en días. De este total de otolitos analizados 325 correspondieron a larvas, 170 a juveniles pre-reclutas, 199 juveniles reclutas y 66 a adultos. Los ajustes se hicieron para cada cohorte anual, es decir peces nacidos el 2014, 2015 y ambos años combinados. Además se ajustaron las cohortes de invierno y primavera del 2014. Para escoger el modelo que mejor se ajustó a los datos, se aplicó el criterio de información de Akaike, siendo el modelo Laird Gompertz el que presentó un menor AIC en la mayoría de los casos. Los parámetros estimados para cada modelo y el valor del AIC se presentan en la **Tabla 20**.



Tabla 20 Estadísticas generales de edad y longitud a la fecha de captura para cuatro estados ontogenéticos (EO), año y cohorte estacional de nacimiento de la anchoveta *E. ringens* en la zona norte de Chile. DE: 1 desviación estándar; CV: coeficiente de variación y número de ejemplares en cada ítem (n).

Cohortes 2014				Significancia estadística					
Modelo	Parámetros	EE	t valor	P valor	-LogLike	R ²	AIC	n	
von Bertalanffy	L _∞	15,86	0,172	92,3	<2e-16	-571,9 (df=4)	0,99	1151,8	583
	K	3,15	0,078	40,6	<2e-16				
	t ₀	0,01	0,001	9,1	<2e-16				
Laird-Gompertz	L _∞	13,77	0,067	205,8	<2e-16	-461,79 (df=4)	0,99	931,6	
	G	0,02	0,000	75,8	<2e-16				
	X ₀	58,58	0,604	97,0	<2e-16				
vB Estacional	L _∞	14,54	1,185	12,3	< 2e-16	-473,04 (df=6)	0,99	958,1	
	k	3,09	1,617	1,9	0,057				
	t ₀	-0,01	0,004	-1,6	0,117				
	C	0,77	0,312	2,5	0,014				
	t _s	0,35	0,092	3,8	0,000				
Cohortes 2015									
von Bertalanffy	L _∞	14,77	0,500	29,6	< 2e-16	-172,5 (df=4)	0,95	353,0	177
	K	3,61	0,337	10,7	< 2e-16				
	t ₀	0,03	0,006	5,1	8,36E-07				
Laird-Gompertz	L _∞	13,22	0,215	61,4	<2e-16	-155,4 (df=4)	0,99	318,9	
	G	0,02	0,001	18,0	<2e-16				
	X ₀	51,82	1,106	4,9	<2e-16				
vB Estacional	L _∞	12,41	0,1176	105,5	<2e-16	-134,3 (df=6)	0,91	280,7	
	k	22,72	7,4017	3,1	0,0025				
	t ₀	0,01	0,0247	0,5	0,6478				
	C	0,88	0,0321	27,4	<2e-16				
	t _s	0,60	0,0256	23,7	<2e-16				
Cohortes 2014-2015									
von Bertalanffy	L _∞	16,34	0,177	92,5	<2e-16	-783,4(df=4)	0,98	1574,7	760
	K	2,89	0,065	44,6	<2e-16				
	t ₀	0,01	0,001	9,2	<2e-16				
Laird-Gompertz	L _∞	13,56	0,064	210,9	<2e-16	-665,8(df=4)	0,99	133,6	
	G	0,02	0,000	73,3	<2e-16				
	X ₀	54,97	0,472	116,4	<2e-16				
vB Estacional	L _∞	14,57	1,377	10,6	< 2e-16	-645,3 (df=6)	0,88	1302,7	
	k	3,07	1,704	1,8	0,072				
	t ₀	0,00	0,003	-1,0	0,321				
	C	0,67	0,301	2,2	0,026				
	t _s	0,34	0,108	3,2	0,001				



Las estimaciones de crecimiento muestran un L_{∞} más alto con el modelo de von Bertalanffy tradicional, con un valor máximo de 16,3 cm LT en comparación con el modelo Gompertz y vB estacional, en que este parámetro no supera los 14,6 cm. Estos valores están en directa relación con la longitud máxima de los datos analizados, la que fue de 15 cm LH. El t_0 para todos los modelos entrega valores cercanos al origen, es decir a cero, lo que refleja la influencia de los datos talla-edad de las larvas cuya edad mínima fue de 2 días. El coeficiente de crecimiento K presenta valores altos, nunca antes registrado en esta especie, debido a la influencia que tiene el parámetro t_0 y su ajuste hacia el origen, además de un bajo valor L_{∞} , distante de la longitud máxima (19 cm LT) observada para este recurso en la zona norte. Se destaca, sin embargo, que en todos los ajustes la edad explicó más del 90 % de la variabilidad en la longitud y con ajustes fueron significativos ($p < 0,001$).

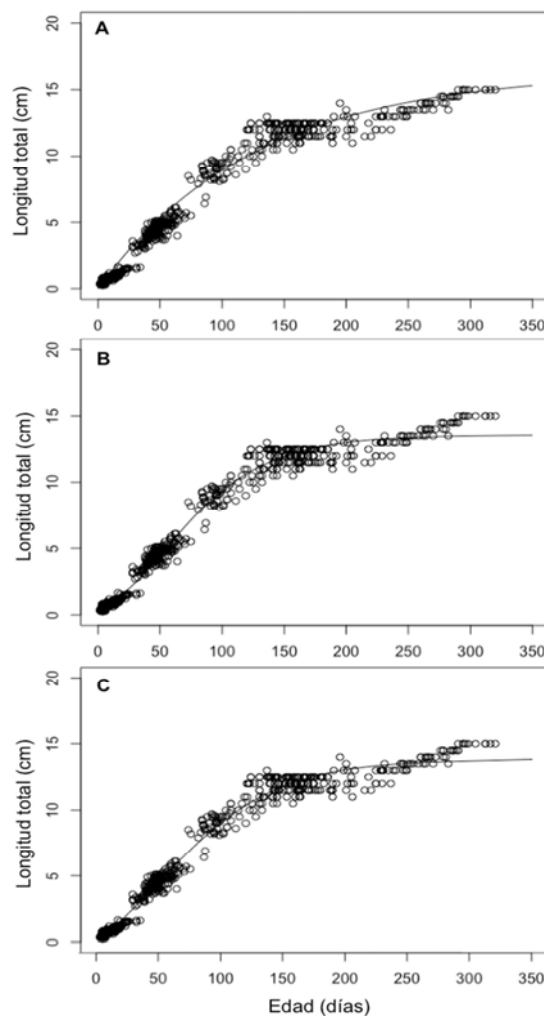


Figura 46 Relación longitud-edad al momento de la captura de las cohortes 2014-2015 de larvas, peces juveniles (pre-reclutas y reclutas) y adultos de anchoveta de la zona norte de Chile. Se presentan la curva ajustada con los modelos de von Bertalanffy tradicional (A) Laird-Gompertz (B) y von Bertalanffy estacional (C).



La relación talla-edad al momento de la captura muestra un alto crecimiento entre los 0 y 130 días para luego experimentar una detención, “plateau”, hasta los 250 días, a partir de esta edad se registrar un aumento de menor velocidad hasta los 300 días, a partir del cual se vuelve a observar una nueva detención del crecimiento (Fig. 46).

La relación talla-edad a la captura de las cohortes de invierno y primavera del 2014, solo pudo ser ajustada con los modelos de von Bertalanffy tradicional y Laird Gompertz, el modelo vB estacional no tuvo convergencia probablemente debido al número de datos analizados. El modelo que mejor explica el crecimiento de estas dos cohortes fue Laird Gompertz con menor AIC. Los parámetros estimados para este modelo no variaron significativamente entre ambas cohortes (Tabla 21, Tabla 22; Fig. 47). Las tasas de crecimiento máximas al punto de inflexión fueron cercanas a 1 mmd⁻¹ obtenidas aproximadamente al segundo mes de vida.

Tabla 21 Parámetros estimados de modelos de crecimiento a la edad de captura, Lird-Gompertz (a) y Von Bertalanffy (b), para las cohortes de invierno y primavera de anchoveta *E. ringens*, recolectadas en la zona norte de Chile. L_{∞} : Longitud asintótica; X_0 : Edad al punto de inflexión; G: Tasa instantánea a X_0 ; TCI_{pi} : Tasa de crecimiento absoluta a X_0 . K: Coeficiente de crecimiento; ES: Error estándar. Se presenta también el coeficiente de determinación, el -logaritmo de la verosimilitud (-logLike) con los grados de libertad (df) y el criterio de información de Akaike (AIC).

Gompertz (a)	$L_{\infty} \pm ES$	$G \pm ES$	$X_0 \pm ES$	TLX_0	TCI_{pi}	-LogLike	r^2	AIC	n
Invierno (1)	13,77 ± 0,09	0,022 ± 0,003	57,21 ± 0,86	5,07	0,11	-268,6	0,98	533,20	339
Primavera (2)	14,05 ± 0,14	0,018 ± 0,001	55,39 ± 0,834	5,17	0,09	-133,5	0,98	275,08	269
vB (a)	$L_{\infty} \pm ES$	$K \pm ES$	$t_0 \pm ES$				r^2		n
Invierno (1)	15,44 ± 0,19	3,409 ± 0,101	0,01 ± 0,001			-290,3	0,97	588,6	339
Primavera (2)	15,16 ± 0,25	3,717 ± 0,181	0,03 ± 0,003			-139,9	0,97	275,9	269

Tabla 22 Comparación entre cohortes de invierno (1) y primavera (2) de los parámetros de crecimiento definidos en la Tabla 21, para anchovetas recolectadas en la zona norte de Chile. L_{∞} : Longitud asintótica; X_0 : Edad al punto de inflexión; G: Tasa instantánea a X_0 ; absoluta a X_0 . K: Coeficiente de crecimiento. El contraste de los parámetros se llevó, usando “Contrast Statement” de PROC NL MIXED de SAS.Inc.

Modelo	Contraste	GL Num	GL Den	F	P
Gompertz	$L_{\infty 1}$ vs $L_{\infty 2}$	1	458	1,42	0,23
	G_1 vs G_2	1	458	2,48	0,12
	X_{01} vs X_{02}	1	458	1,42	0,24
Von Bertalanffy	$L_{\infty 1}$ vs $L_{\infty 2}$	1	458	1,4E-03	0,9543
	K_1 vs K_1	1	458	8,8E-04	0,9763
	t_{01} vs t_{02}	1	458	1,4E-03	0,9543

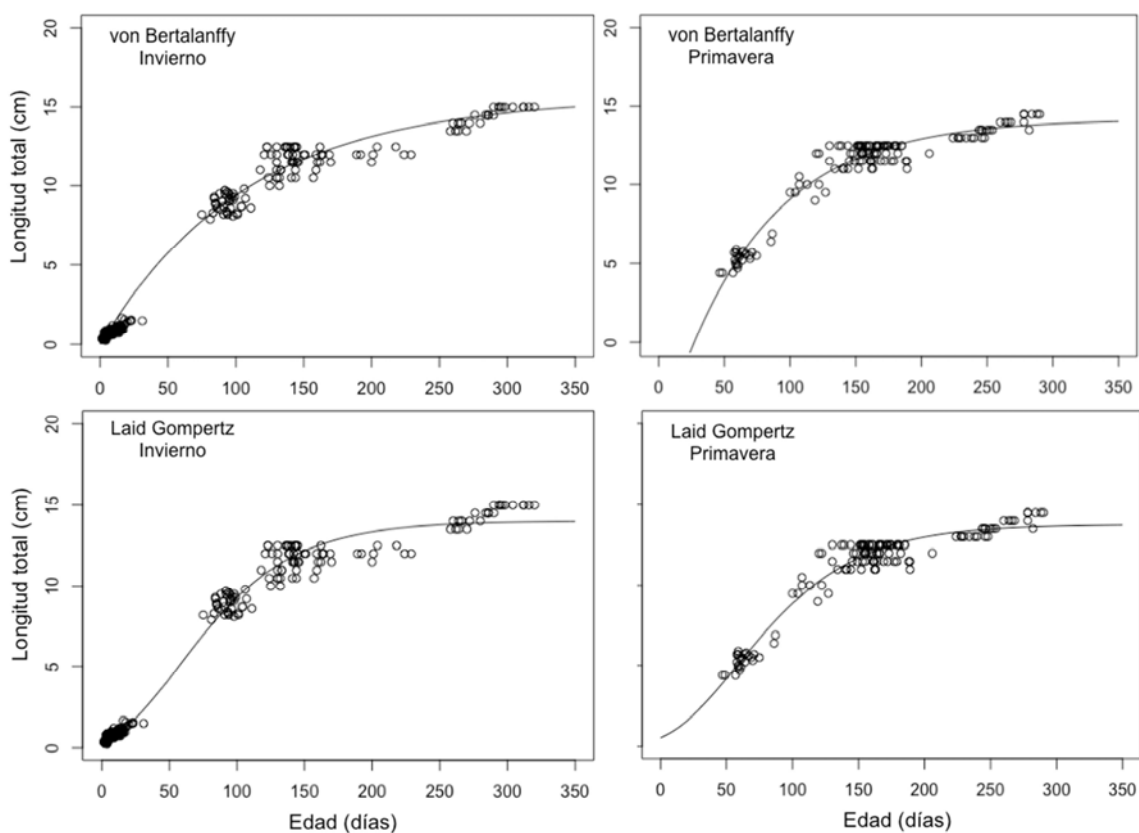


Figura 47 Relación longitud-edad al momento de la captura de las cohortes de invierno y primavera de 2014 de anchoveta de la zona norte de Chile. Se presenta la curva ajustada con los modelos de von Bertalanffy tradicional (A) y Laird-Gompertz (B).

5.3.3 Ajuste de modelos talla-edad integrando información histórica

Se estimaron los parámetros de crecimiento considerando todos los datos talla-edad en días que se dispone hasta hoy e incluyen los años 1973, 1982, 2009, 2010, 2014 y 2015. El ajuste comprendió un total de 926 pares de datos talla-edad en días, de los cuales 546 correspondieron a otoño-invierno y 380 a primavera-verano. El ajuste del modelo de von Bertalanffy estacional mostró un buen ajuste para toda la serie de años (anual), como aquellos datos que agrupan las cohortes otoño-invierno y primavera-verano de la misma serie. Un análisis más preciso indica que la verosimilitud es menor para la cohorte primavera-verano, sin embargo el parámetro “ t_s ” no es significativo y los datos de esta cohorte no tienen una distribución normal. En este sentido, los parámetros del ajuste anual y de la cohorte otoño-invierno son más parsimoniosos (**Tabla 23**).



Tabla 23 Parámetros de crecimiento a la edad de captura de anchoveta de la zona norte, considerando los datos globales históricos (1973,1982, 2009, 2010, 2014, 2015), donde se incluye el error estándar, el estadístico de contraste (t) y la probabilidad de contraste (P valor), obtenidos a partir del modelo de vB estacional. Se presenta también el coeficiente de determinación, el -logaritmo de la verosimilitud (-logLike) con los grados de libertad (df), test de normalidad Shapiro wilk y número de muestra (n).

Modelo von Bertalaffy estacional			Significancia estadística				Test Normalidad		
Modelo	Parámetros	EE	t valor	P valor	-LogLike	R ²	W	P valor	
Anual	L _∞	20,37	1,001	20,3	< 2e-16	-1319.9 (df=6)	0,95	0,988	1,05E-06
	k	1,76	0,173	10,2	< 2e-16				
	t ₀	0,01	0,002	7,6	0,000				
	C	0,63	0,051	12,3	< 2e-16				
	t _s	22,93	4,024	5,7	0,000				
	n	926							
Otoño-Invierno	L _∞	19,44	0,870	22,3	< 2e-16	-683.3 (df=6)	0,94	0,995	0,080
	k	1,90	0,191	9,9	< 2e-16				
	t ₀	0,01	0,001	7,5	0,000				
	C	0,56	0,056	10,0	< 2e-16				
	t _s	25,46	5,378	4,7	0,000				
	n	546							
Primavera-Verano	L _∞	21,66	3,539	6,1	2,3E-09	-586.9 (df=6)	0,81	0,978	1,80E-05
	k	2,34	0,767	3,0	0,002				
	t ₀	0,06	0,007	7,8	0,000				
	C	0,85	0,081	10,5	< 2e-16				
	t _s	-9,41	6,254	-1,5	0,133				
	n	380							

La mayor parsimonia de los ajustes de crecimiento de la cohorte anual y la cohorte otoño-invierno se debe a que estas presentan una mayor cantidad de datos que la cohorte primavera-verano. Sin embargo, al observar las curvas de crecimiento, que los ajustes anual y cohorte otoño-invierno no ajustan correctamente la fracción de peces pre-reclutas y las larvas (**Fig. 48**). Este resultado sugiere la necesidad de desarrollar un modelo de crecimiento que pueda ajustar simultáneamente los cuatro estados ontogenéticos (larvas, pre-reclutas, reclutas y adultos), siendo la solución de esto un problema matemático por resolver que aún no ha sido resuelto en ciencia pesquera.

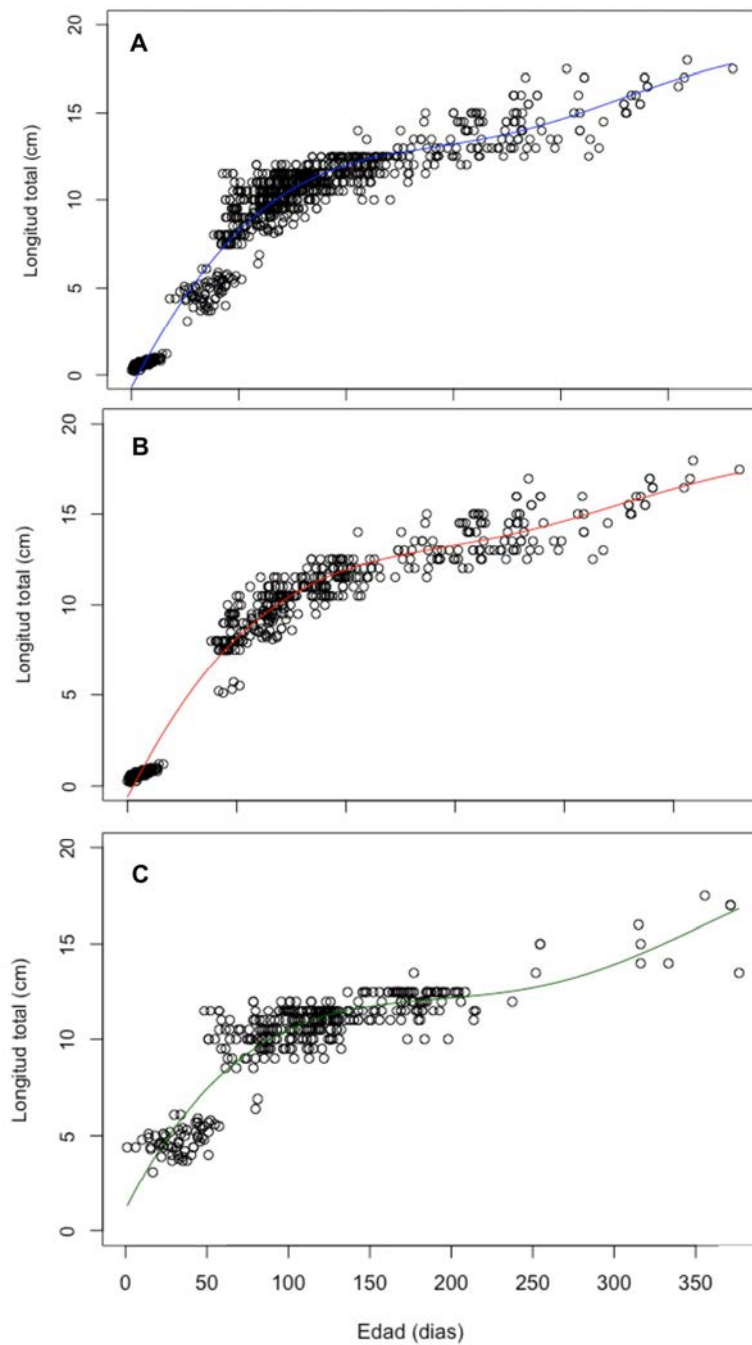


Figura 48 Curvas de crecimiento estacional de la relación longitud-edad al momento de la captura para la serie de datos históricos (1973,1982, 2009, 2010, 2014, 2015) de larvas, peces juveniles (pre-reclutas y reclutas) y adultos de anchoveta de la zona norte de Chile. Se presenta la curva ajustada con los modelos de von Bertalanffy estacional de: A) toda la serie; B) cohortes de otoño-invierno; C) cohortes primavera-verano.



5.4 Objetivo Específico 3.4

“Revisar los criterios de asignación de grupos de edad de anchoveta mediante la formación de macro-anillos”

Para este análisis se dispuso de 60 otolitos de peces juveniles, con tallas entre 8,0 y 12,0 cm LT, se comparó la lectura de la macro-estructura con la micro-estructura. Del total de otolitos analizados solo en dos se observó un macro-anillo con una edad de formación de 140 y 148 días para tallas de 11,0 y 11,5 cm LT, respectivamente. Este macro-anillo en la lectura convencional se le asigna una periodicidad menor al año, ya que el criterio es considerar dos macro-anillos por año (**Tabla 24**).

Tabla 24 Resultados de lectura de la macro-estructura y micro-estructura de ejemplares juveniles de anchoveta de la zona norte.

Mes	Longitud total (cm)			Lectura micro-estructura			Lectura macro-estructura			
				Edad (días)			Edad (años)			
	Nacimiento	Media ± DE	Rango	Media ± DE	Rango	n	Media	Ri ± DE	Rf ± DE	Radio medio Macro-anillo
Agosto		9,0 ± 0,5	8,0 - 10,0	100 ± 5	95 - 110	15	0,0			
Septiembre		9,4 ± 1,2	8,0 - 12,0	144 ± 9	74 - 169	30	0,0			
Octubre		11,0 ± 0,8	9,5 - 12,0	144 ± 9	126 - 154	5	0,0			
		11,3 ± 0,4	11,0 - 11,5	144 ± 6	140 - 148	2	0,5	1182 ± 92	1217 ± 61	
Noviembre		10,0 ± 0,9	9,0 - 12,0	111 ± 9	99 - 121	8	0,0			

Considerando los resultados del presente proyecto donde se ha comprobado un alto crecimiento individual, los macro-anillos no presentarían una periodicidad anual, por lo cual no pueden ser usados como una referencia exacta del tiempo de vida transcurrido.

5.5. Objetivo Específico 3.5

“Evaluar las implicancias del crecimiento en la modelación poblacional del recurso”

Una de las características de la relación talla-edad cuando se contó con mayor información a nivel diario en diferentes estados ontogenéticos fue un aumento sustantivo del coeficiente de crecimiento (K), debido a la influencia que tiene el parámetro t_0 y su ajuste hacia el origen, además de subestimación del L_{∞} , distante de la longitud máxima (19 cm LT) observada para este recurso en la zona norte. El uso de estos parámetros en la evaluación de las implicancias en el actual modelo de evaluación se consideró inadecuado. Para ello se utilizaron los parámetros de crecimiento del modelo de von Bertalanffy reportados por Cerna & Plaza (2015),



debido a que dicho estudio se contó con un número muestra apropiado de peces adultos, a diferencia del presente proyecto donde no fue posible datar peces más allá de los 15 cm LT.

En la **Figura 49** se muestran las trayectorias de las variables de estado, a) biomasa desovante, b) biomasa total, c) rendimiento por recluta (RPR) de largo plazo y d) los reclutamientos para el stock de anchoveta del sur del Perú y norte de Chile. En general, se observa que tanto para la biomasa desovante, como en los reclutamientos se produce un escalamiento respecto de los valores originales, estimados considerando parámetros de crecimiento “antiguos” calculados dentro del modelo de evaluación y los nuevos valores, parámetros de crecimiento estimados a partir de la relación talla-edad en días. Para todo el periodo de estudio, los nuevos valores en los parámetros de crecimiento producen una disminución del 56% (± 17 d.s) para la biomasa desovante. En cambio para el reclutamiento, es un aumento del 52% (± 40 d.s), sin embargo para algunos años la nueva serie de reclutamientos presenta valores hasta seis veces más que los valores estimados para la serie original.

En la **Tabla 25** se muestran los valores que toman las variables de estado y su porcentaje de variación entre la evaluación actual y la que toma en cuenta los nuevos parámetros de crecimiento y la mortalidad natural. Se observa que para el último año de la evaluación, la biomasa desovante disminuye en un 20%, la biomasa total aumenta en un 32%, la reducción del potencial reproductivo aumenta en un 44% y los reclutamientos aumentan en un 133%. La variable de estado que más sufrió variaciones al último año de la evaluación fueron los reclutamientos, llegando a alcanzar para el año 1993 una diferencia de casi seis veces más que el valor actual (**Figura 49**).

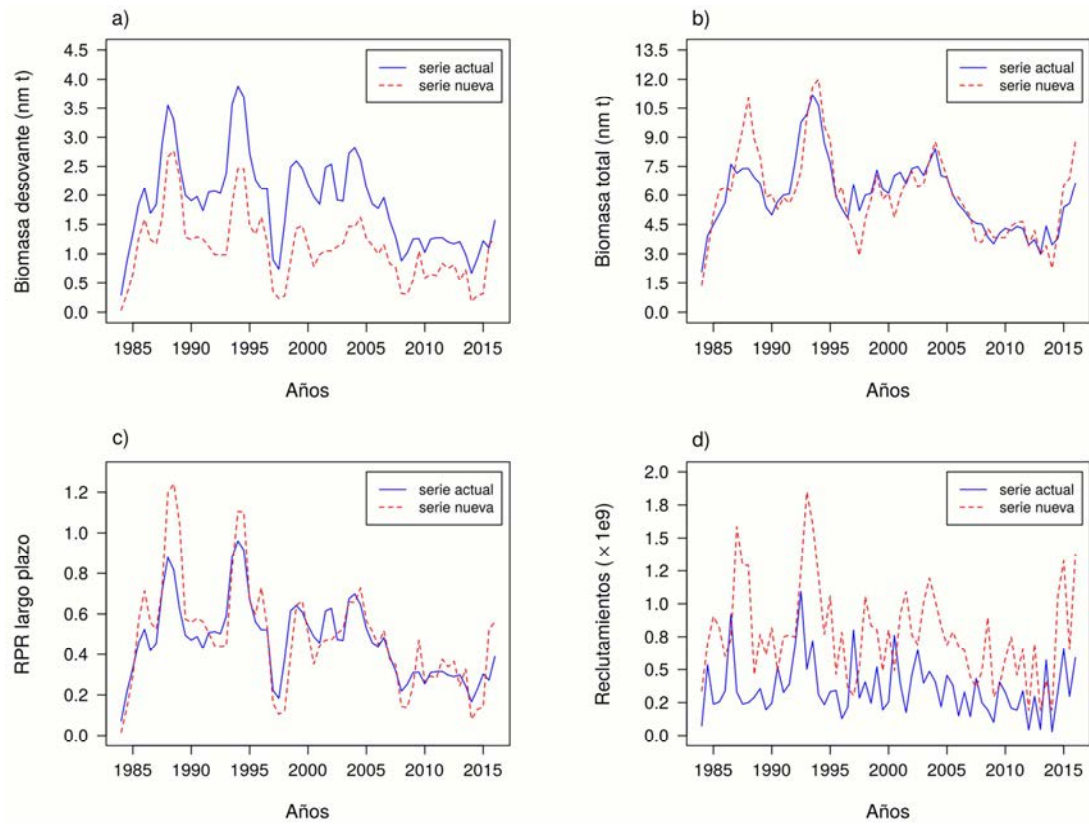


Figura 49 Trayectorias de las diferentes variables de estado, a) biomasa desovante, b) biomasa total, c) RPR largo plazo y d) reclutamientos para el stock de anchoveta del sur del Perú y norte de Chile. La línea continua representa el actual enfoque de modelación y la línea segmentada a la que incorpora los nuevos parámetros de crecimiento y de mortalidad natural.

Tabla 25 Resumen del porcentaje de variación en las variables de estado para el último año de la evaluación del stock de anchoveta del sur del Perú y norte de Chile.

Variable de estado	valor actual	valor nuevo	Variación %
Biomasa desovante	1570,3	1250,8	-20,35
Biomasa total	6627,8	8778,9	+32,45
Reducción del potencial reproductivo	0,3884	0,5614	+44,53
Reclutamiento	589,3	1376	+133,48



6 DISCUSION

En primera instancia es importante enfatizar que debido al carácter de revisión de este proyecto, algunos resultados obtenidos son confirmatorios de hallazgos previos reportados en los proyectos anteriores, los cuales fueron ampliamente discutidos ya sea al interior de informes derivados de los mismos, así como también al interior de las publicaciones científicas que resultaron de su desarrollo (Plaza & Cerna 2015; Cerna & Plaza 2016). Por consiguiente, a continuación sólo se discuten mayoritariamente aquellos elementos que resultaron del desarrollo del actual proyecto.

6.1 Rasgos micro-estructurales de los otolitos

La existencia de dificultades para identificar micro-incrementos primarios ha conducido al establecimiento de los dos criterios de interpretación que se describieron en la sección “Antecedentes” (Cermeño *et al.* 2006; Cermeño *et al.* 2008; Arneri *et al.* 2011). El criterio GBR considera que los micro-incrementos primarios deben ser identificados a magnificaciones bajas, idealmente a 10X, para evitar la influencia de los micro-incrementos sub-diarios, que son distinguibles a mayores magnificaciones (40X y 100X; criterio IMR). Es importante subrayar que ambos criterios han sido propuestos, examinado exclusivamente los otolitos de mayor tamaño (*sagitta*). En este sentido uno de los resultados reportados en este informe fue generar los protocolos de extracción y preparación de los otolitos *lapillus* y *asteriscus* para *E. ringens*, el cual permitió efectuar una caracterización de su micro-estructura. Este proceso reveló la existencia de los dos tipos de micro-incrementos, los AFI (anillos finos e irregulares 0,5-1,5 μm) y aquellos micro-incrementos presumiblemente primarios (MP) que fueron más consistentes y de mayor grosor. Este patrón fue particularmente evidente en otolitos de pre-reclutas en otolitos *asteriscus*, visibles a magnificaciones de 1000X, donde incluso pudieron ser medidos.

La existencia de micro-incrementos finos e irregulares han sido tipificados como sub-diarios en varios estudios durante la fase larval y juvenil en peces teleósteos (Campana 1984; Powell *et al.* 2000; Dougherty 2008), aunque los factores que gatillan su formación no han sido empíricamente demostrados. Se ha sugerido que estos anillos finos e irregulares pueden ser producto del proceso de preparación de los otolitos para el análisis micro-estructural (*e.g.*, sobrepulido) (Campana & Jones 1992). Alternativamente se ha sugerido que los anillos sub-diarios se forman durante los periodos de crecimiento rápido (Campana & Jones 1992; Panifili *et al.* 2002; Tanabe *et al.* 2003). En el presente estudio la existencia de estos anillos de menor grosor se observaron en los tres pares de otolitos, independiente del estado ontogenético, siendo visibles incluso en los otolitos de menor tamaño que no requirieron preparación. Por consiguiente, la hipótesis de la influencia de la preparación en la ocurrencia de estas estructuras debe ser descartada.



Al tratar de explicar la existencia de los AFI es importante señalar que en condiciones de confinamiento la ocurrencia de estas estructuras es mucho menos frecuente, donde se ha reportado que los micro-incrementos primarios son bastantes bien definidos y homogéneos (Moyano *et al.* 2013; Olguín 2014). Más aún, en un estudio reciente en *E. ringens* se demostró que cuando los juveniles fueron mantenidos en un sistema de mesocosmo enriquecido mostraron un patrón de depósito variable similar al reportado en condiciones naturales. Cuando los ejemplares fueron traspasados a un sistema de cultivo con alimentación artificial y de frecuencia regular, se comenzaron a formar micro-incrementos homogéneos de menor grosor pero bien definidos (Plaza *et al.* 2012; Plaza & Cerna 2015), sin evidenciar formación de micro-incrementos sub-diarios. Por consiguiente, es razonable sugerir, en función de estos hallazgos y los reportados en el presente estudio, que existe una relación causal entre la existencia de anillos sub-diarios y un mayor crecimiento somático.

La existencia de micro-incrementos sub-diarios observadas en otolitos *lapillus* y *asteriscus* fue evidente también en otolitos sagita tanto en pre-reclutas como en reclutas, lo a que a diferencias de años anteriores mostraron un menor grado de calcificación (*i.e.*, tendieron a ser mucho más transparentes), similares a los otolitos tipo B, reportados en el desarrollo del proyecto FIP 2009-16. Fue precisamente esta característica que impido obtener óptimas preparaciones para recuento de anillos diarios en ejemplares mayores a 15 cm LT en el presente estudio. A pesar de esta peculiaridad de la micro-estructura los otolitos sagitales se observaron niveles adecuados de reproducibilidad en las lecturas en los cuatro estados ontogénicos. En el caso particular de peces con tallas entre 8,0 y 12,0 cm LT (reclutas), se evidenció que los otolitos sagitales mostraron una secuencia completa de micro-incrementos diarios en dirección dorsal, similar a lo observado en estudios anteriores (Cerna *et al.*, 2011; Plaza *et al.*, 2012). En este eje u orientación de la lectura no se observaron con tanta claridad anillos dobles como en el eje caudal o rostral, lo que facilitó el conteo, disminuyendo el nivel de error. En este mismo sentido el análisis de precisión de la lectura entre lectores (reproducibilidad) mostró un bajo error, lo cual hace confiable los resultados derivados del análisis de la microestructura.

La relación en el radio del otolito y el tamaño del ejemplar fue alométrica para el estado larval y lineal para pre-reclutas y reclutas. Estos resultados se corresponden con los reportados en otros estudios, tanto en clupeoídeos como en otros peces teleósteos, donde también se ha demostrado proporcionalidad en esta relación en la etapa juvenil y alometría en la etapa larval (Thorrold & Williams, 1989; Jenkins & Davis, 1990; Moksness & Fossum, 1992; Watanabe & Kuroki, 1997; Takahashi *et al.* 2001; Otterlei *et al.* 2002; Plaza *et al.* 2012). La proporcionalidad entre crecimiento del otolito y crecimiento somático en gran parte de la historia juvenil temprana y tardía permiten que pueda reconstruir el crecimiento incluso hasta los primeros 30 días de



vida. Por consiguiente, es razonable inferir que los resultados derivados del retro-cálculo en el presente estudio son confiables.

6.2 Relación talla-edad a la fecha de captura

El levantamiento de información de edad a nivel diario en cuatro estados ontogenéticos (larval, transición, juveniles y adultos), llevado a cabo en el marco del desarrollo del presente proyecto es pionero en Chile y constituye también uno de los pocos casos en el mundo en que ha sido posible. En primera instancia los modelos curvilíneos ajustados a toda la información y por cohortes estacionales recogieron gran parte de la variabilidad en longitud, con bondades de ajuste elevadas (r^2), aunque ninguno recogió la aparente alometría que se apreció al interior de cada estado ontogenético. A pesar de ello, los modelos estimaron tasas de crecimiento absolutas al punto de inflexión, que en el caso del modelo de Laird-Gompertz, que variaron entre 0,9 a 1,1 mmd^{-1} , las cuales se alcanzaron a aproximadamente el segundo mes de vida. Por otra parte, los modelos vB tradicional y estacional estimaron coeficientes de crecimientos superiores a 2,5 cm año^{-1} . No obstante, es importante destacar que todos los modelos tendieron a subestimar la longitud asintótica, presumiblemente debido a la ausencia de ejemplares mayores a 15 cm de LT en los análisis. Estos resultados son comparables con el único estudio de naturaleza similar llevado a cabo en la anchoveta de la Bahía de Biscay *Engraulis encrasicolus*. Estos autores efectuaron un estudio de edad y crecimiento a nivel diario para ejemplares que fluctuaron entre 3 y 15 mm de longitud estándar y entre 1 y 108 días de vida. En este estudio se demostró que las máximas tasas de crecimiento (1,85 mmd^{-1}), obtenidas a través de un modelo logístico fueron alcanzadas a los 73 días después de la eclosión, mientras que las tasas de crecimiento absolutas al punto de inflexión fueron de 1,86 mmd^{-1} a los 96 días, usando un modelo Laird-Gompertz. De ambos estudios se deduce que después de una fase larval alométrica de alrededor de 30 días en ambas especies ocurre un crecimiento muy acelerado, hasta aproximadamente el tercer mes vida, que inclusive se extendió al cuarto mes en el caso del presente estudio en *E. ringens*. Consecuentemente, los resultados del presente estudio sugieren que este periodo de la vida temprana de esta especie puede ser clave, en la eventualidad que exista un relación entre el crecimiento y la sobrevivencia, tal como como varios estudios lo han demostrado en especies de peces pelágicas, donde el paradigma ha sido puesto a prueba (Takasuka *et al.* 2003; Alemany *et al.* 2006; Robert *et al.* 2007; Plaza & Ishida 2008). En adelante se hace necesario también disgregar el análisis por estado ontogenético para comprender de mejor forma la dinámica del crecimiento temprano en este importante recurso comercial.

La relación talla-edad a la fecha de captura para las larvas analizadas entre 2 y 17 mm de LT y entre 2 y 34 días, se ajustó significativamente tanto a modelos lineales como a modelos curvilíneos de tipo Laird-Gompertz, aunque ligeramente superiores en estos últimos. La linealidad puede ser parcialmente explicada debido a que



el rango de longitud analizado fue más bien estrecho. Es importante destacar que para el caso larval esta relación es generalmente alométrica, debido presumiblemente a que en clupeoideos hay una mayor profundización del tamaño corporal durante la metamorfosis (Watanabe & Saito, 1998; Takahashi et al. 2001; Plaza *et al.* 2008). Por consiguiente, es altamente factible que la proporcionalidad encontrada entre tamaño larval y edad se deba a la escasa presencia en los análisis de larvas en estado de post-flexión. Sin embargo, independiente del tipo de modelo usado los resultados demuestran que el crecimiento larval en invierno de 2014 fue relativamente homogéneo cuando se dispuso de toda la información para el ajuste lineal y Laird-Gompertz, con tasas de crecimiento de alrededor de $0,6 \text{ mmd}^{-1}$ para temperaturas superficiales del mar de entre 14 y 15 °C en la zona de estudio. A nivel de cohortes mensuales se observó alguna variación que pareció ser más producto de la inconsistencia de los rangos de comparación que de naturaleza estadística.

Las comparaciones de las tasas de crecimiento son confiables cuando se comparan la misma técnica de determinación de edad, el mismo tipo de modelo y el rango de longitud y edad analizadas, aspectos que no siempre son factibles de estandarizar. Hernández & Castro (2000) estimaron tasas de crecimiento medias de $0,47$ y $0,50 \text{ mmd}^{-1}$ para larvas de entre $5,68$ y $20,74$; y entre 3 y 35 días para la zona frente a Talcahuano, usando un modelo lineal y Laird Gompertz, respectivamente, a temperaturas de entre $11,1^{\circ}$ a $13,5^{\circ}\text{C}$. Estas estimaciones son similares a las tasas de crecimiento reportadas en el presente estudio para temperaturas de entre 14° a 15°C , en la zona costera de Antofagasta para el invierno de 2014, y también similares a las reportadas por Herrera et al. (1985) para la misma especie en Chile central para ejemplares que fluctuaron entre 5 y 20 mm de longitud ($0,45 \text{ mmd}^{-1}$ a $12,5^{\circ}\text{C}$).

Las tasas de crecimiento medias reportadas en el presente estudio caen también dentro del rango para otras larvas de peces pelágicos pequeños en el ecosistema de Humboldt, utilizando la misma metodología y rangos similares de tamaño y edad, *e.g.*, Castillo *et al.* (1985) reportó valores de entre $0,40$ - $0,65 \text{ mmd}^{-1}$, para la sardina española (*Sardinops sagax*), mientras Rodríguez (2016) reportó valores de entre $0,319$ a $0,424 \text{ mmd}^{-1}$ para la sardina común *Strangomera bentincki* entre los periodos 2010 y 2013 en la región costera de Valparaíso. Por otra parte valores similares de tasas de crecimiento diario larval han sido reportadas para otros engraulidos, a temperaturas variables., *e.g.*, *Engraulis mordax* ($0,34$ - $0,55 \text{ mmd}^{-1}$; 13 - 16°C ; Methot & Kramer 1979), Anchoa Mitchilli ($0,25$ - $0,58 \text{ mmd}^{-1}$; 22 - 30°C ; Fives *et al.* 1986), *Engraulis japonicus* ($0,3$ - $0,6 \text{ mmd}^{-1}$ para cohortes de primavera y verano: 10 - 22°C ; Hwang *et al.* 2006). Por consiguiente, la información derivada del presente estudio, sumadas a la estimadas previamente por los estudios de Hernández & Castro (2000) y Herrera *et al.* (1985), permiten sugerir que el crecimiento larval de esta especie en el sistema de Humboldt caen en el límite superior de aquellos reportados en otras especies de la misma familia, en ecosistemas con temperaturas similares e incluso superiores.



Por otro lado, cuando se compara el crecimiento larval de *E. ringens* con otros clupeidos, se evidencia que los valores se asemejan a aquellos casos en que los estudios se realizaron a rangos de temperatura similares (15 °C), i.e., Mar Báltico, *Sprattus sprattus*, 0,55 mmd⁻¹, Fey 2006; *Sardinops sagax*: en aguas de Namibia 0,58 mmd⁻¹, Thomas 1986; y 0,5-0,8 mmd⁻¹ en *S. sagax* en la Gran Bahía Australiana oriental (Strong & Ward 2009), siendo sólo inferior cuando la temperatura se aproximó a los 20 °C (Gaughan *et al.* 2001; e.g., *Sardinops melanostictus* 0,8-1,2 mm día⁻¹, (Plaza *et al.* 2008); 0,8 mmd⁻¹ en *S. sagax* en aguas peruanas (Buttler & Rojas de Mendiola 1985). Por consiguiente, es altamente recomendable seguir monitoreando el crecimiento larval de la anchoveta en la zona norte, para verificar si lo observado puede ser una generalidad o estar asociado a una particularidad ambiental de un año determinado.

Para el caso de los pre-reclutas dos fueron los hallazgos distintivos derivados de la relación talla-edad a la fecha de captura: (i) un aumento sustantivo en la tasa de crecimiento en relación al periodo larval y (ii) una mayor proporcionalidad entre edad y longitud. El mayor crecimiento alcanzado durante la fase pre-recluta, con tasas de crecimiento máximas cercanas a 0,9 mmd⁻¹, entre los 30 y 70 días, respaldan los resultados de Cerna & Plaza (2016) quienes infieren que en dicho periodo es donde ocurre el mayor crecimiento y también las mayores variaciones a nivel individual. Consecuentemente, esta etapa podría ser un proxy importante para anticiparse a pronosticar las fluctuaciones de la clase anual resultante, debido a que es altamente factible que en esta especie exista una relación directa entre el crecimiento y la sobrevivencia, tal como ha sido determinada en otros peces pelágicos (Takasuka *et al.* 2003; Alemany *et al.* 2006; Robert *et al.* 2007; Plaza & Ishida 2008). Más aún, el hecho de que las tasas de crecimiento de la cohorte de pre-reclutas de invierno sean mayores que la cohorte larval de invierno del mismo año, son una evidencia temprana de que este proceso podría estar ocurriendo. Por otro lado, algunas estimaciones de tasas de crecimiento han sido reportadas para pre-reclutas de *E. encrasicouls*, e.g., 0,41 mmd⁻¹ en sureste del mar Adriático (Durovic *et al.* 2012); 0,55 mmd⁻¹ (otoño) en mar Adriático central (La Mesa *et al.* 2009) y (0,4-1,0) mmd⁻¹ en la bahía de Biscay (verano; Aldanoldo *et al.* 2011). A priori las estimaciones para pre-reclutas de *E. ringens*, obtenidas en el presente estudio caen en el límite superior de estas estimaciones.

6.3 Aspectos de historia de vida de reclutas

Un rasgo distintivo encontrado en la relación talla-edad a la fecha de captura en reclutas, fue el marcado patrón alométrico observado a partir de aproximadamente el quinto y séptimo mes de vida, a longitudes de entre 11 y 12 cm LT; y que pareció ocurrir independiente de la cohorte estacional de nacimiento. A pesar de ello, las máximas tasas de crecimiento estimadas por los modelos Laird-Gompertz fueron superiores a 1 mmd⁻¹, lo que da cuenta de un crecimiento acelerado en esta especie que se extendió por aproximadamente 5



meses de vida. Estos resultados confirman los hallazgos de Plaza & Cerna (2015) y Cerna & Plaza (2016), fortaleciendo la hipótesis de que el crecimiento acelerado de esta especie durante su fase juvenil, confirmando a su vez que es un proceso que ocurre independiente de la clase anual y de la estación de nacimiento en esta especie en la zona de estudio.

La caída en el crecimiento alrededor de los 11 y 12 cm es un rasgo distintivo que también fue evidenciado en los estudios previos, llevados cabo en esta misma especie en la zona norte de Chile y que tampoco dependió de la estacionalidad. Por consiguiente, se concluye que este proceso no está modelado por los controladores ambientales del crecimiento (*i.e.*, la productividad & temperatura). Consecuentemente, es razonable hipotetizar que la caída del crecimiento podría estar asociada a la primera madurez sexual en esta especie, cuya talla media de madurez ha sido estimada entre 11,5 y 12,5 cm LT (Cubillos *et al.* 1999; Canales & Leal 2009). Es importante destacar que hasta la fecha se ha propuesto que la mayoría de las especies de peces clupeiformes, a excepción de las especies tropicales que viven menos de 1 año, maduran entre el primer y segundo año de vida (Blaxter & Hunter 1982; Clarke 1987; Ganas 2014) ¿Hasta qué punto estos nuevos hallazgos del presente estudio estarían cuestionando este nuevo paradigma? Para dilucidarlo se hace imprescindible analizar la micro-estructura de otolitos de reclutas, conjuntamente con información histológica de su desarrollo gonadal en estudios futuros. Este aspecto es importante, debido a que la longitud y edad de madurez pueden cambiar en función del tamaño poblacional (van der Lingen *et al.* 2006; Fairweather *et al.* 2006) en estas especies y por consiguiente ser también un indicador de la salud poblacional. Resolver esta disyuntiva se torna crucial ante el nuevo escenario de crecimiento acelerado, donde se dificulta la obtención de estimaciones confiables del tamaño de stock, y donde se hace necesario buscar indicadores biológicos que contribuyan a dar una señal anticipada de la condición del recurso.

6.4 Validación de los macro-anillos

La comparación entre la micro y macro-estructura de los juveniles analizados mostró un resultado similar a lo reportado en estudios anteriores por Cerna *et al.* (2011), Plaza *et al.* (2012) y Cerna & Plaza (2016). La formación del primero de ellos podría estar asociado al inicio de la reproducción, situación que es necesario estudiar utilizando análisis de estados de madurez a nivel histológico. Para anchoveta de la zona norte ya se ha comprobado, en estudios anteriores (Cerna *et al.* 2011; Plaza *et al.* 2012; Cerna & Plaza 2016), que antes del año de vida (estimado con anillos diarios) se observan cuatro macro-anillos más que el ya mencionado, cuya naturaleza de formación es difícil de determinar. Por consiguiente, se infiere que los macro-anillos no están asociados a una periodicidad anual que permita ser usados para determinar la edad. Por lo tanto, el rápido crecimiento de anchoveta no amerita ningún tipo de modificación en torno a definir criterios de



asignación de edad anual basado en los macro-anillos, que de por sí son difíciles de identificar más allá del cuarto. Consecuentemente se recomienda discontinuar este tipo de comparaciones entre macro y micro-estructura a no ser que se analice de forma simultánea el parénquima ovárico a través de análisis histológico, para evaluar si el tiempo de formación de los macro-anillos hialinos pudiesen estar relacionados con eventos de reproducción.

6.5 Implicancias del crecimiento en la modelación poblacional del recurso

Una de los principales resultados que se obtienen a partir de la observación de las variables de estado del modelo de evaluación de stock para la anchoveta del sur del Perú y norte de Chile es un re-escalamiento en los valores para la biomasa desovante y el reclutamiento, producto de un aumento en la mortalidad natural al cambio en los parámetros de crecimiento, y a la presencia de un único grupo de edad en la estructura talleada, pasando a ser una pesquería absolutamente dependiente del éxito o fracaso de los reclutamientos. Muchas pesquerías de pequeños peces pelágicos alrededor del Mediterráneo (Cardinale *et al.* 2009) y del Atlántico (Uriarte *et al.* 1996; De Oliveira *et al.* 2005) son caracterizadas por presentar una vida corta, y esta característica hace a esos stock particularmente sensibles a su abundancia y composición etaria, fuertemente dependientes del éxito del reclutamiento, y presentando amplias fluctuaciones debido principalmente a cambios en el medio ambiente (Freon *et al.* 2005). De cualquier modo, la efectividad de aplicar modelos de evaluación de stock estructurados de forma compleja puede ser cuestionable, especialmente en casos donde la edad de los individuos no excede los 3 años (Giannoulaki *et al.* 2014), más aun en el caso de la anchoveta del sur del Perú y norte de Chile en que estimaciones del crecimiento basados en la micro-estructura de los otolitos muestran que alcanzaría una talla promedio de 16,3 cm al primer año de vida (Cerna & Plaza, 2016).

Los resultados demuestran que los nuevos parámetros de crecimiento y la mortalidad natural tienen un efecto relevante sobre las variables poblacionales bajo el actual enfoque de modelación. Sin embargo, dichos resultados no pueden ser considerados como definitivos, ya que estos no permiten realizar conclusiones robustas sobre las reales implicancias en el estatus e indicadores de estado. De esta manera, y a la luz de los nuevos resultados sobre el crecimiento y la mortalidad natural de la anchoveta del sur del Perú y norte de Chile, es necesario poder evaluar modificaciones en la configuración del modelo (*i.e.*, selectividad, ojiva de madurez a la talla o edad, etc.) o analizar el uso de un enfoque de modelación alternativo para especies de vida corta (Giannoulaki *et al.* 2014). Esto podría ser discutido y analizado en el marco de un estudio complementario por un grupo de expertos en dinámica de poblaciones y consensuado en el ámbito de los Comité Científico Técnico de Pelágicos Pequeños y de los Comités de Manejo.



Una de las dificultades que impone el nuevo escenario para el proceso de evaluación de stock es el elevado valor del coeficiente de crecimiento (K) que deriva del ajuste de modelos Bertalanffy a nivel diario, incluso si se cuenta con estimaciones más realistas de la longitud asintótica, como los reportados por Cerna & Plaza (2016), debido a que hasta la fecha los modelos de evaluación de stock sólo dependen de estimados no sesgados de “ K ” en escala de años (Austin *et al.* 2011; Austin *et al.* 2011; Pardo *et al.* 2013). Se podría argumentar que desde un punto de vista netamente dimensional las estimaciones de “ K ” obtenidas en el presente estudio sólo son parcialmente sesgadas, porque provienen de una relación talla-edad que cubre gran parte de la historia de vida del recurso. Sin embargo, cuando los pares de datos se escalan a edad anual generan un incremento del “ K ”, debido a que la mayor proporción del crecimiento se concentra en el primer año de vida. Por el contrario, si se usa la edad en escala diaria el modelo VB genera estimados de “ K ” muy bajos porque se interpreta como una especie extremadamente longeva. Por consiguiente, si se pretende continuar utilizando modelos de evaluación para determinar el estatus de este recurso se va requerir un proceso de teorización analítica que contribuya el desarrollo de una nueva metodología de evaluación, que puede requerir incluso incorporar en su desarrollo modelos de crecimiento alternativos que describan de mejor forma la relación talla-edad en especies que tienden a maximizar su crecimiento durante el primera año de vida. En este contexto, es importante destacar a los modelos bifásicos de crecimiento estacional que se recomiendan como una alternativa a los modelos curvilíneos clásicos, en especies en las cuales el crecimiento es alterado significativamente por la madurez sexual (Quince *et al.* 2008ab). Es importante subrayar, sin embargo, que el desarrollo de un modelo de crecimiento alométrico, con características sinusoidales pero en tendencia incremental es un nuevo desafío, que aún no ha sido desarrollado en ciencia pesquera, pero que puede ser muy importante para especies de vida corta y de crecimiento acelerado.

Finalmente, los resultados del presente proyecto han venido a confirmar los hallazgos de crecimiento acelerado de esta especie, que se habían reportado en proyectos anteriores. Este escenario va requerir no sólo cambios en el proceso de evaluación del recurso sino también en los aspectos logísticos asociados a la determinación de edad de esta especie. Desde hace dos años la determinación de edad usando conteo de ámulos se ha discontinuado en el Instituto de Fomento Pesquero, pero el desarrollo de proyectos continuos en esta línea de investigación ha permitido el monitoreo constante de la edad a nivel diario. Por lo tanto, se propone que este proceso continúe hasta que se tenga plena certeza de cual va ser el procedimiento de evaluación de stock para la especie ante el nuevo escenario. Más aún el monitoreo del crecimiento a nivel diario de los estadios tempranos (larvas, pre-reclutas y reclutas), puede ser útil también para evaluar la relación que pueda existir entre el crecimiento y la sobrevivencia y/o fuerza de la clase anual. Esto puede efectuarse dentro de un programa de monitoreo del reclutamiento, donde también se caracterice las condiciones ambientales, bióticas y abióticas, del hábitat de este recurso.



7 CONCLUSIONES

- ❖ El Taller Internacional liderado por dos expertos internacionales, el Dr. Steven Campana, de la Universidad de Islandia, líder en la disciplina de análisis de micro-estructura de otolitos y el Dr. Akinori Taksuka del Instituto Nacional de Investigación Pesquera de Japón, permitió demostrar que en el proceso de determinación de edad llevado a cabo los proyectos FIP 2009-16 y “SUBPESCA N° 4728-31 LP 11”, se utilizaron procedimientos metodológicos comparables con los estándares internacionales y consecuentemente fueron generadores de información de edad a nivel diario altamente confiables para la anchoveta *E. ringens* en la zona norte de Chile.
- ❖ Durante el desarrollo del Taller Internacional se demostró que los experimentos de producción de juveniles en confinamiento, llevados a cabo durante el desarrollo del proyecto “SUBPESCA N° 4728-31 LP 11”, permitieron validar la periodicidad de formación de los micro-incrementos con confiabilidad y elevados niveles de reproducibilidad. Consecuentemente se demostró que las conclusiones sobre el crecimiento acelerado de juveniles silvestres reportados en los proyectos anteriormente realizados son confiables. En este mismo contexto, se demostró que el criterio de bandas (GBR) es el que mejor registra el proceso de formación diaria de micro-incrementos en otolitos en esta especie.
- ❖ El proceso de formación diaria de los micro-incrementos en juveniles fue validada también mediante un análisis de las fechas de nacimiento, llevado a cabo por Dr. Steven Campana. Mediante este análisis se demostró que la distribución de frecuencia de las fechas de nacimiento de los juveniles coincidieron con el patrón de variación histórica del IGS promedio de esta especie en la zona norte de Chile. El experto destacó que este rasgo es una evidencia adicional que confirma la precisión en la determinación de edad a nivel diario en juveniles de esta especie.
- ❖ Durante el desarrollo del Taller Internacional se concluyó que no fue posible evaluar con plena exactitud la determinación de edad en adultos, debido a la ausencia de un experimento de largo término que permita mantener en confinamiento ejemplares adultos por un periodo equivalente a la edad que está siendo cuestionada. Sin embargo, la evidencia disponible hasta la fecha sugiere la secuencia de micro-incrementos primarios provee un indicador más confiable de edad que los presunto ámulos y que los adultos son principalmente de alrededor de 1 año de edad. Sin embargo, se considera que mayor investigación es necesaria para confirmar definitivamente estos hallazgos.



- ❖ El proceso de muestreo llevado a cabo durante el desarrollo del proyecto FIP 2014-31 permitió obtener ejemplares silvestres en un amplio rango de longitud, desde 0,65 a 15 cm de LT, cubriendo las fases larval, juvenil temprana (pre-reclutas), juvenil tardía (reclutas) y adultos, lo que permitió ajustar modelos talla-edad a la fecha de captura para cada estado ontogenético por separado y de forma global. Se concluyó que en la mayoría de los casos el crecimiento tendió a ser alométrico a nivel de cada fase, siendo explicado significativamente por modelos Laird-Gompertz que estimaron tasas máximas de crecimiento diario de $\sim 0,6$; $\sim 0,9$; y $\sim 1,2$ mmd^{-1} para la fase larval, pre-recluta y recluta, respectivamente, estimaciones que se mantuvieron en nivel similares cuando se analizaron ejemplares nacidos en la misma cohorte de invierno y primavera.
- ❖ Cuando se integró toda la historia de vida, a nivel global y separados por estación de nacimiento (invierno y primavera), los modelos Laird Gompertz y von Bertalanffy tradicional fueron los que mejor recogieron la variabilidad de la relación talla edad a la fecha de captura, a pesar de la aparente alometría que fue evidente en cada estado ontogenético. El ajuste de dichos modelos permitieron concluir que la especie creció a tasas de crecimiento máximas de alrededor de 1 mmd^{-1} al segundo mes de vida en caso de Laird-Gompertz.
- ❖ El ajuste de modelos von Bertalanffy tradicional a la información de edad y talla a nivel global y de cohortes estimó coeficientes de crecimiento (K) $\sim 2-4$ año^{-1} muy superiores a los registrados hasta la fecha para la especie. Por otra parte las longitudes asintóticas estimadas por ambos modelos fluctuaron entre 14 y 16 cm LT, sub-estimación que pareció estar asociada a la ausencia de ejemplares mayores a 15 cm en los análisis.
- ❖ El perfil del grosor de los micro-incrementos de los sobrevivientes definitivos (reclutas), como proxy del crecimiento, mostraron máximo cercano a los 20 μm , entre los 30 y 50 días dependiendo de la cohorte, para luego descender hasta alcanzar aproximadamente los 2 μm a los 200 días aproximadamente. Este patrón de perfil ontogenético de crecimiento, sumado a los resultados derivados de los modelos de talla edad, demuestran que el segundo mes de vida parece ser fundamental en términos de crecimiento somático para esta especie.
- ❖ La relación entre el tamaño del otolito (radio) y el tamaño del pez de *E. ringens* fue significativamente descrita por un modelo logarítmico para el estado larval temprano (pre y flexión), mientras que la relación se tornó lineal para ejemplares pre-reclutas y reclutas. Por lo tanto, el retro-cálculo para esta especie se puede efectuar de forma confiable desde ejemplares más viejos hasta incluso los primeros



30 días de vida. Mediante este procedimiento se estimaron tasas de crecimiento diaria retro-calculadas y tasas máximas al punto de inflexión de modelos Laird-Gompertz que fueron similares a la tasas de crecimiento derivadas de modelos talla-edad a la fecha de captura para cada estado ontogénico, a saber $\sim 0,5$; $\sim 1,0$ & $\sim 1,3$ mmd^{-1} para la fase larval, pre-recluta y recluta, respectivamente.

- ❖ Una de las características de la relación talla-edad cuando se contó con mayor información a nivel diario en diferentes estados ontogénicos fue un aumento sustantivo del coeficiente de crecimiento (K), debido a la influencia que tiene el parámetro t_0 y su ajuste hacia el origen, además de subestimación del L_∞ , distante de la longitud máxima (19 cm LT) observada para este recurso en la zona norte. El uso de estos parámetros en la evaluación de las implicancias en el actual modelo de evaluación se consideró inadecuado. Para ello se utilizaron los parámetros de crecimiento del modelo de von Bertalanffy reportados por Cerna & Plaza (2016). El análisis demostró que los parámetros de crecimiento y mortalidad natural producen una disminución del 56% (± 17 d.e) de la biomasa desovante y un aumento del reclutamiento en un 52% (± 40 d.e), sin embargo para algunos años la nueva serie de reclutamientos presenta valores hasta seis veces más que los estimados para la serie original. Se concluye que el nuevo patrón de crecimiento y la mortalidad natural de la anchoveta del sur del Perú y norte de Chile, hacen necesario evaluar modificaciones en la configuración del modelo (i.e. selectividad, ojiva de madurez a la talla o edad, etc.) o analizar el uso de un enfoque de modelación alternativo para especies de vida corta.



8 REFERENCIAS

- Aguayo M, Soto (1978). Edad y crecimiento de la sardina común (*Clupea Strangomera bentincki*) en Coquimbo y Talcahuano. Serie Investigaciones Pesqueras. Instituto de Fomento Pesquero. Santiago, Chile, 28: 55.
- Akaike H (1974). A new look at the statistical model identification. *IEEE Transactions on Automatic Control* 19, 716–723.
- Aldanondo N, Cotano U, Etxebeste E (2011). Growth of young-of-the-year European anchovy (*Engraulis encrasicolus*, L.) in the Bay of Biscay. *Scientia Marina* 75: 227-235.
- Aleman F, Alvarez I, Garcia A, Cortes D, Ramirez T, Quintanilla J, Alvarez F, Rodriguez JM (2006). Postflexion larvae and juvenile daily growth patterns of the Alboran Sea sardine (*Sardina pilchardus* Walb.): influence of wind. *Scientia Marina* 70: 93–104.
- Anderson J (1988). A Review of Size Dependent Survival During Pre-Recruit Stages of Fishes in Relation to Recruitment. *Journal of Northwest Atlantic Fishery Science* 8: 55-66.
- Arneri E, Carpi P, Donatatom F, Santojanni A (2011). Growth in small pelagic fishes and its implications in their population dynamics. *Biologia Marina Mediterranea* 18: 106-113.
- Austin SH, Robinson TR, Robinson WD, Ricklefs RE (2011). Potential biases in estimating the rate parameter of sigmoid growth functions. *Methods in Ecology and Evolution* 2: 43–51.
- Beamish RJ, Fournier EA (1981). A method for comparing the precision of a set of age determinations. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 38: 982-983.
- Blaxter JHS, d Hunter JR (1982). The biology of the Clupeoid fishes. *Advances in Marine Biology* 20: 1-223.
- Borja A, Uriarte A, Egana J, Motos L, Valencia V (1998). Relationships between anchovy (*Engraulis encrasicolus*) recruitment and environment in the Bay of Biscay (1967-1996). *Fisheries Oceanography* 7: 375-380
- Butler MJ (1989). Community responses to variable predation: field studies with sunfish and freshwater macroinvertebrates. *Ecological Monographs* 59: 311-328.
- Buttler JL, Rojas de Mendiola BR (1985). Growth of larval sardines off Peru. Calif. Coop. Fish. Invest. Rep. 16: 113-118.
- Cahuín S, Cubillos L, Ñiquen M, Escribano R. 2009. Climatic regimes and the recruitment rate of anchoveta, *Engraulis ringens*, off Peru. *Estuarine Coastal Shelf Science* 84: 591–597.
- Campana ES, Jones CM (1992). Analysis of otolith microstructure data, p 73-100. In D.K. Stevenson and SE Campana (ed) Otolith microstructure examination and analysis. Canadian Special Publication of Fisheries and Aquatic Sciences 117.
- Campana SE (1984). Microstructural growth patterns in the otoliths of larval and juvenile starry flounder, *Platyichthys stellatus*. *Canadian Journal of Zoology* 62: 1507-1512.
- Campana SE (2001). Accuracy, precision and quality control in age determination, including a review of the use and abuse of age validation methods. *Journal of Fish Biology* 59: 197–242.
- Campana S E., Gagne JA, Munro J (1987). Otolith microstructure of larval herring (*Clupea harengus*): image or reality? *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 44:1922 1929.
- Campana, S.E. 1990. How reliable are growth back-calculations based on otolith? *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 47: 2219-2227.



- Canales M, Leal E (2009). Parámetros de historia de vida de la anchoveta *Engraulis ringens* Jenyns, 1842, en la zona centro norte de Chile. *Revista de Biología Marina y Oceanografía* 44: 173-179.
- Canales C, Böhm MG, Córdova J, Hernández C (2015). Estatus y posibilidades de explotación biológicamente sustentables de los principales recursos pesqueros nacionales año 2016, Anchoveta XV-II Regiones. Informe de Estatus, IFOP, 104 pp.
- Cardinale M., Ratz HJ, Cheilari A (Eds) 2009. Report of the SGMED-09-02 Working Group on the Mediterranean Part I. Scientific, Technical and Economic Committee for Fisheries (STECF), 8-10 June 2009, Villasimius, Sardinia, Italy, 846 pp.
- Castillo G, Aguilera E, Herrera G, Bernal PA, Buttler JL, Chong J, González H, Oyarzún C, Veloso C (1985). Larval growth rate of the Pacific sardine *Sardinops sagax* off central Chile, determined by count of daily rings in otoliths. *Biología Pesquera* 14:3-10.
- Cermeño P, Uriarte A, Morales-nin B, Cotano M, Alvarez P (2008). Setting up interpretation criteria for ageing juvenile european anchovy otoliths. *Scientia Marina* 72: 733-742.
- Cermeño P, Morales-nin B, Uriarte A (2006). Juvenile European anchovy otolith microstructure. *Scientia Marina* 70: 553-557.
- Cerna F, Plaza G (2016). Daily growth patterns of juveniles and adults of the Peruvian anchovy (*Engraulis ringens*) in northern Chile. *Marine and Freshwater Research* 67: 899-912.
- Cerna F, Plaza G, López A, Machuca C, Serra R, Gaspar C, Moyano G (2011). Revisión de la asignación por grupo de edad en la anchoveta de la zona norte. Informe Pre Final: FIP 2009-17. 52
- Cerna F., Plaza G., López A, Machuca C, Serra R, Gaspar C, Moyano G (2011). Revisión de la asignación por grupo de edad en la anchoveta de la zona norte. Informe Pre Final: FIP 2009-17. 52 p.
- Cerna F (2012). Estimación de parámetros de crecimiento de anchoveta y sardina común. En: Zúñiga y Canales, Colaboradores: Aranís A., Castillo J., Cerna F. 2013. Estatus y posibilidades de explotación biológicamente sustentables de los principales recursos pesqueros nacionales, año 2014. Primer Informe Anchoveta V-X Regiones 2014 IFOP/SUBPESCA. 89 p +Anexos.
- Clarke TA (1987). Fecundity and spawning frequency of the Hawaiian anchovy or nehu, *Engraulis mordax*. *Fish. Bull.*, US 85: 127-137.
- Claramunt G, Castro LR, Cubillos LA, Hirche HJ, Perez G, Braun M (2012). Inter-annual reproductive trait variation and spawning habitat preferences of *Engraulis ringens* off northern Chile. *Revista de Biología Marina y Oceanografía* 47: 227-243.
- Cochrane K, Buuterworh DS, De Olivera JAA, Roel BA. (1998). Management procedures in a fishery based on highly variable stocks and with conflicting objectives: experiences in the South African pelagic fishery. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 8: 177-214
- Cubillos L, Arancibia H (1993). Análisis de la pesquería de sardina común (*Strangomera bentincki*) y anchoveta (*Engraulis ringens*) del área de Talcahuano, Chile. *Investigaciones Marinas* 21: 3-21.



- Cubillos L, Canales M, Bucarey D, Rojas A, Alarcón R. (1999). Epoca reproductiva y talla media de primera madurez sexual de *Strangomera bentincki* y *Engraulis ringens* en el período 1993-1997, en la zona centro-sur de Chile. *Investigaciones Marinas* 27: 73-85.
- Cubillos LA, Arcos DF, Bucarey DA, Canales MT (2001.) Seasonal growth of small pelagic fish off Talcahuano, Chile (37°S, 73°W): a consequence of their reproductive strategy to seasonal upwelling? *Aquatic Living Resources* 14: 115–124.
- Cubillos L, Bucarey D, Canales M (2002). Monthly abundance estimation for common sardine *Strangomera bentincki* and anchovy *Engraulis ringens* in the central southern area off Chile (34-40°S). *Fisheries Research* 57: 117-130.
- De Oliveira JAA, Uriarte A, Roel BA (2005). Potential improvements in the management of Bay of Biscay anchovy by incorporating environmental indices as recruitment predictors. *Fisheries Research* 75: 2-14.
- Dougherty AB (2008). Daily and sub-daily otolith increments of larval and juvenile walleye pollock, *Theragra chalcogramma* (Pallas), as validated by alizarin complexone experiments. *Fisheries Research* 90: 271–278.
- Durovic M, Pesic A, Regner S, Joksimovic A, Mandic M, Kasalica O, Ikica Z, Krpo-Četkovic J (2012). Daily otolith increments and growth rate of juvenile anchovy, *Engraulis encrasicolus* (Linnaeus, 1758), in the south-eastern Adriatic Sea. *Acta Adriatica* 53: 331 – 340.
- Fairweather TP, van der Lingen CD, Booth AJ, Drapeau L, van der Westhuizen JJ (2006). Indicators of sustainable fishing for South African sardine *Sardinops sagax* and anchovy *Engraulis encrasicolus*. *African Journal of Marine Science* 28: 661–680.
- Fey DP (2006). The effect of temperature and somatic growth on otolith growth: the discrepancy between two clupeid species from a similar environment. *Journal of Fish Biology* 86: 355–359
- Fives JM, Warlen SM, Hoss DE (1986). Ageing and growth of larval bay anchovy *Anchoa mitchilli*, from the Newport River Estuary, North Carolina. *Estuaries* 9: 362-367.
- Francis RIC (2011). Data weighting in statistical fisheries stock assessment models. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic* 68: 1124-1138.
- Freon P, Cury P, Shannon L, Roy C (2005). Sustainable exploitation of small pelagic fish stock challenged by environmental and ecosystem changes. *Bulletin of Marine Science*, 76: 385-462.
- Funamoto T, Aoki I, Wada Y (2004). Reproductive characteristics of Japanese anchovy, *Engraulis japonicus*, in two bays of Japan. *Fisheries Research* 70: 71-81.
- Ganias K (2014). *Biology and Ecology of Sardines and Anchovies*. CRC Press 394 pp.
- Gaughan DJ, Fletcher WJ, White KV (2001). Growth rate of larval *Sardinops melanostictus* from ecosystems with different levels of productivity. *Marine Biology* 139: 831-837.
- Giannoulaki M, Ibaibarriaga L, Antonakakis K, Uriarte A, Machias A, Somarakis S, Sanchez S., Roel BA (2014). Applying a two-stage Bayesian dynamic model to a short-lived species, the anchovy, in the Aegean Sea (Eastern Mediterranean). Comparison with an Integrated Catch at Age stock assessment model. *Mediterranean Marine Science*. 15: 350-365.
- Gompertz B (1825). On the nature of the function expressive of the law of the human mortality, and on a new mode of determining the value of the contingencies. *Phil. Trans. R. Soc. Lond.* 115: 515- 585.



- Hare JA, Cowen KC (1997). Size, growth, development. And survival of the planktonic larvae of *Pomatomus saltatrix* (Pisces: Pomatomidae). *Ecology* 78: 2415-2431.
- Hernández E, Castro L (2000). Larval growth of the anchoveta *Engraulis ringens* during the winter spawning off central Chile. *Fishery Bulletin* 98: 704-710.
- Herrera G, Aguilera E, Castillo G, Bernal P (1985). Growth of anchovy larvae *Engraulis ringens* in central Chile, determined by daily increment count in otoliths. *Biología Pesquera* 14:11-15.
- Hwang SD, Song MH, Lee TW, McFarlane GA and King JR. (2006) .Growth of larval Pacific anchovy *Engraulis japonicus* in the Yellow Sea as indicated by otolith microstructure analysis. *Journal of Fish Biology* 69: 1756-1769
- Ihaka R, Gentleman R (1996). R: a language for data analysis and graphics. *Journal of Computational and Graphical Statistics* 5: 299–314.
- Jenkins GP, Davis TLO (1990). Age, growth rate, and growth trajectory determined from otolith microstructure of southern bluefin tuna *Thunnus maccoyii* larvae. *Marine Ecology Progress Series* 63: 93-104.
- La Mesa M, Donato, F, Giannetti G, Arneri E (2009). Growth and mortality rates of European anchovy (*Engraulis encrasicolus*) in the Adriatic Sea during the transition from larval to juvenile stages. *Fisheries Research* 96: 275-280.
- Laird AK, Tyler SA, Barton AD. (1965). Dynamics of normal growth. *Growth* 29: 233-248.
- Leggett WC, DeBlois E (1994). Recruitment in marine fishes: is it regulated by starvation and predation. Netherlands *Journal of Sea Research* 32: 119-134.
- Llanos-Rivera A, Castro L (2006). Interpopulation differences in temperature effects on *Engraulis ringens* yolk-sac larvae. *Marine Ecology Progress Series* 312: 245-253.
- Lluch-Belda D, Crawford RJ, Kawasaki T, MacCall AD, Parrish RH, Schwartlose RA, Smith PE (1992) Worldwide fluctuations of sardine and anchovy stocks: the regime problem. *South African Journal of Marine Science* 8:195-205.
- Methot RD, Kramer D (1979). Growth of northern anchovy larvae, *Engraulis mordax*, in the sea. *Fishery Bulletin* 77: 413-423.
- Moksness E, Fossum P (1992). Daily growth rates and hatching dates distribution of Norwegian spring-spawning herring (*Clupea harengus* L). *ICES Journal of Marine Science* 49: 217-221.
- Morales-Nin B, Aldebert Y (1997). Growth of juvenile *Merluccius merluccius* in the Gulf of Lions (NW Mediterranean) based on otolith microstructure and length-frequency analysis. *Fisheries Research* 30: 77-85.
- Moreno P, Claramunt Q, Castro LR (2013). Transition period from larva to juvenile in anchoveta *Engraulis ringens*. Length or age related? *Journal of Fish Biology* 78: 825-837.
- Moyano G, Plaza G, Toledo MI (2012). Otolith micro-structure analysis of rainbow trout alevins (*Oncorhynchus mykiss*) under rearing conditions. *Latin American Journal of Aquatic Research* 40:722–729.
- Namiki S, Tanaka H, Katayama S, Funaki O, Aoki I, Oozeki Y (2010). Validation of daily increment formation in otoliths of immature and adult Japanese anchovy *Engraulis japonicus*. *Fisheries Science* 76: 951-959.



- Olguín O (2014). Determinación del crecimiento durante los estadios tempranos de Trucha Café (*Salmo trutta*) en Hatchery, mediante análisis de la micro-estructura de sus otolitos. Tesis de Pre-grado. Escuela de Ciencias del Mar, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso. 77 p.
- Oliveros-Ramos R, Peña C (2011). Modeling and analysis of the recruitment of Peruvian anchovy (*Engraulis ringens*) between 1961 and 2009. *Ciencias Marinas* 37: 659–674.
- Otterlei E, Folkvord A, Nyhammer G (2002). Temperature dependent otolith growth of larval and early juvenile Atlantic cod (*Gadus morhua*). *ICES Journal of Marine Science* 59: 401-410.
- Panfili J, de Pontual H, Troadec H, Wright P (2002). Manual of fish clerochronology. Ifremerird coedition. 320 p.
- Pardo SA, Cooper SB, Dulvy NK (2013). Avoiding fishy growth curves. *Methods in Ecology and Evolution* British Ecological Society. Volume 4: 305–399.
- Plaza G, Cerna (2015). Validation of daily microincrement deposition in otoliths of juvenile and adult Peruvian anchovy (*Engraulis ringens*). *Journal of Fish Biology* 86: 203-216.
- Plaza G, Ishida M (2008). The growth-mortality relationship in larval cohorts of *Sardinops melanostictus*, revealed by using two new approaches to analyze longitudinal data from otoliths. *Journal of Fish Biology* 73: 1531-1553.
- Plaza G, Honda H, Sakaji H, Nashida K (2005). Preparing fish sagittae for examination of daily growth increments of young-of-the-year fishes: A modification of the embed method. *Journal of Fish Biology* 66: 592-597.
- Plaza G, Ishida M, Aoyama D (2008). Temporal patterns of growth in larval cohorts of the Japanese sardine *Sardinops melanostictus* in a coastal nursery area. *Journal of Fish Biology* 73: 1284-1300.
- Plaza G, Honda H, Sakaji H, Nashida K. (2006) Patterns of growth of the Round Herring *Etrumeus teres*. *Journal of Fish Biology* 69: 590-595.
- Plaza G, Cerna F, Legua J (2012). Validación de formación de anillos primarios y macro-anillos de crecimiento en otolitos de anchoveta de la zona norte. Informe Final. PROY. SUBPESCA ID N°4728-31LP11. 130 p.
- Powell AB, Laban EH, Holt SA, Holt GJ (2000). Validation of age estimates from otoliths of larval and juvenile spotted sea trout, *Cynoscion nebulosus*. *Fishery Bulletin* 98: 650-654.
- Quince C, Shuter BJ, Abrams PA, Lester NP (2008 a). Biphasic growth in fish I: Empirical assessment. *Journal of Theoretical Biology* 254: 207-214.
- Quince C, Shuter BJ, Abrams PA, Lester NP (2008 b). Biphasic growth in fish II: Empirical assessment. *Journal of Theoretical Biology* 254: 207-214
- Ribeiro R, Reis J, Santos C, Goncalves F, Soares AMVM (1996). Spawning of anchovy *Engraulis encrasicolus* in the Mondego estuary, Portugal. *Estuarine Coastal and Shelf Science* 42: 467-482.
- Richardson AJ, Mitchell-Innes BA, Fowler JL, Bloomer SF, Verheye HM, Field JG, Hutchings L, Painting SJ (1998). The effect of sea temperature and food availability on the spawning success of Cape anchovy *Engraulis capensis* in the southern Benguela. *South African Journal of Marine Science* 19: 275-290.
- Robert D, Castonguay M, Fortier L (2007). Early growth and recruitment in Atlantic mackerel *Scomber scombrus*: discriminating the effects of fast growth and selection for fast growth. *Marine Ecology Progress Series* 337: 209-219.



- Rodríguez C (2016). Crecimiento larval de sardina común (*Strangomera bentincki*) de la zona central de Chile: variaciones entre cohortes 2010-2013. Tesis de grado. Universidad de Valparaíso. 79 p.
- Schnute L, Fournier D (1980). A new approach to length-frequency analysis: growth structure. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic* 37: 1337-1351.
- Schwartzlose RA, Alheit J, BakunVA, Baumgartner TR, Cloete R, Crawford RJM, Fletcher WJ, Green-ruiz Y, Hagen P, Kawasaki P, Lluch-belda TD, Lluch-cota SE, Maccall AD, Matsuura Y, Nevarez-martinez MO, Parrish RH, Ror C, Serra R, Shust KV, Ward MN, Zuzunaga JZ (1999). Worldwide large-scale fluctuation of sardine and anchovy populations. *South African Journal of Marine Science* 21: 289–347.
- Serra R (1983). Changes in the abundance of pelagic resources along the Chilean coast. FAO Fish. Rep. 291, pp. 255-284.
- Serra R (1991). Long-term variability of the Chilean sardine. In: T. Kawasaki, S. Tanaka, Y. Toba and A Taniguchi (eds.). Long term variability of pelagic fish populations and their environment. *Pergamon Press*: 165-172.
- Shannon LJ, Nelson G, Crawford RJM (1996). Possible impacts of environmental change on pelagic fish recruitment: Modelling anchovy transport by advective processes in the southern Benguela. *Global Change Biology* 2: 407-420.
- Somers I F (1988). On a seasonal oscillating growth function. *ICLARM Fishbyte* 6 (1), 8–11.
- Stige LC, Hunsicker M, Bailey K, Yaragina N, Hunt G (2013). Predicting fish recruitment from juvenile abundance and environmental indices. *Marine Ecology Progress Series* 480: 245–261.
- Strong NJ, Ward TM (2009). Growth rate of larval sardine, *Sardinops sagax* in upwelling areas of the eastern Great Australian Bight. *Transactions of the Royal Society of South Australia* 133: 307-317.
- Struhsaker P, Uchiyama J (1976). Age and growth of the nehu *Stolephorus purpureus* (Pisces, Engraulidae) from the Hawaii Islands as indicated by daily growth increment of sagittae. *Fishery Bulletin* 74:9-17.
- Takahashi M, Kinoshita T, Watanabe C (2001). Growth of larval and early juvenile Japanese anchovy, *Engraulis japonicus*, in the Kuroshio-Oyashio transition region. *Fisheries Oceanography* 10: 235-247.
- Takasuka A, Aoki I, Mitani I (2003) Evidence of growth selective predation on larval Japanese anchovy *Engraulis japonicus* in Sagami Bay. *Marine Ecology Progress Series* 252:223–238.
- Takasuka A, Oozeki Y, Kubota H, Lluch-Cota SE (2008). Contrasting spawning temperature optima: Why are anchovy and sardine regime shifts synchronous across the North Pacific? *Progress in Oceanography* 77: 225-232.
- Tanabe, T., Kayama, S., Ogura, M. and Tanaka, S. (2003). Daily increment formation in otoliths of juvenile skipjack tuna *Katsuwonus pelamis*. *Fisheries Science* 69: 731–737.
- Thomas J, Panfili J (2000). Otolith microstructure examination and growth patterns of *Vinciguerria nimbaria* (Photichthyidae) in the tropical Atlantic Ocean. *Fisheries Research* 46: 131-145.
- Thomas R M (1986). Growth of larva] pelagic fish in the South-East Atlantic from daily otolith rings in 1982/83 and 1983/84. *South African Journal of Marine Science* 4: 61- 77.
- Thorrold RS, Williams MCB (1989). Analysis of otolith microstructure to determine growth histories in larval cohorts of a tropical herring (*Herklotsichthys castelnaui*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science* 46:1615-1624.



- Uriarte A, Prouzet P, Villamor B (1996). Bay of Biscay and Ibero Atlantic anchovy populations and their fisheries. *Scientia Marina* 60:237-255.
- van der Lingen CD, Fréon P, Fairweather TP, van der Westhuizen JJ (2006). Density-dependent changes in reproductive parameters and condition of southern Benguela sardine *Sardinops sagax*. *South African Journal of Marine Science* 28: 625–636.
- von Bertalanffy L (1938). A quantitative theory of organic growth (inquiries on growth laws II). *Human Biology* 10: 181–213.
- Waldrom ME (1992). Validation of annuli of the south-african anchovy, *Engraulis-capensis*, using daily otolith growth increments. *ICES Journal of Marine Science* 51: 233-234.
- Watanabe Y, Kuroki T (1997). Asymptotic growth trajectories of larval sardine (*Sardinops melanostictus*) in the costal waters off western Japan. *Marine Biology* 127: 369-378.
- Watanabe Y, Saito H (1998). Feeding and growth of juvenile sardine in the Pacific waters off central Japan. *Journal of Fish Biology* 52: 519–533. Watanabe Y(2007).Two aspects of population decline of Japanese sardine. *Nippon Suisan Gakkaishi* 73: 754–757.
- Yáñez E, Barbieri MA, Silva C, Nieto K, Espíndola F (2001).Climate variability and pelagic fisheries in northern Chile. *Progress in Oceanography* 49: 581-596.



9 ANEXOS

- 9.1 Captura de pre-reclutas de anchoveta**
- 9.2 Programa del workshop internacional**
- 9.3 Reporte del experto**
- 9.4 Taller de implicancias**
- 9.5 Taller de difusión de resultados**
- 9.6 Respuesta al evaluador**



ANEXO 9.1: CAPTURA DE PRE-RECLUTAS DE ANCHOVETA

En una primera experiencia en terreno, se realizaron lances con redes de cerco anchoveteras usando de manera complementaria un chinguillo para probar su efectividad en la captura de ejemplares pre-reclutas que pudiesen escapar de la red de cerco. A bordo de la lancha Loreto III se realizaron pruebas de captura en 7 puntos frente a la costa de Arica entre el 22 y 23 de enero de 2015 (Tabla 1). La captura estuvo compuesta por ejemplares de tallas grandes (>9 cm) y solo en un lugar (lance 5) fue posible retener peces de 8 cm.

Frente a la costa de Iquique se realizaron lances en 6 lugares entre el 24 y 25 de enero de 2015, capturándose anchovetas de tallas grandes (>9 cm) (Tabla 2). Se realizaron salidas adicionales en botes con el uso de chinguillos, sin embargo se observa presencia de peces pequeños pero no fue posible su captura.

Tabla 1. Resumen de experiencias de captura frente a la costa de Arica en enero de 2015.

Lance	Fecha	Hora	T °C	Latitud	Longitud	Resultado
1	22/01	17:20	20,5	18°33'02"	70°25'03"	Talla > 9 cm
2	22/01	19:05	21,4	18°36'05"	70°24'37"	Talla > 9 cm
3	22/01	22:30	20,3	18°34'50"	70°23'34"	Sin pesca
4	23/01	02:15	20,0	18°27'17"	70°22'29"	Sin pesca
5	23/01	05:50	20,0	18°26'26"	70°21'17"	Muestra de peces de 8 cm
6	23/01	09:50	20,1	18°27'04"	70°20'56"	Sin pesca
7	23/01	03:10	20,6	18°24'25"	70°23'11"	Sin pesca

Tabla 2. Resumen de experiencias de captura frente a la costa de Iquique en enero de 2015.

Lance	Fecha	Hora	T °C	Latitud	Longitud	Resultado
1	24/01	22:10	20,2	19°55'52"	70°12'35"	Talla > 9 cm
2	24/01	23:43	21,1	20°05'01"	70°11'46"	Talla > 9 cm
3	25/01	02:30	20,6	20°07'04"	70°10'08"	Talla > 9 cm
4	25/01	04:55	19,7	20°17'19"	70°10'59"	Sin pesca
5	25/01	07:20	19,7	20°15'32"	70°12'21"	Sin pesca
6	25/01	16:00	20,0	20°20'19"	70°13'19"	Talla > 9 cm

A fines de febrero de 2015 se realizaron pruebas de captura usando una red de arrastre de boca fija, la cual fue construida en base a un marco metálico rígido y paño de red de ½" de tamaño de malla. Luego de las pruebas realizadas los días 26 y 27 de febrero, se descartó este método de captura debido a la complejidad para mantener la configuración de la boca de la red. El 28 de febrero se tomaron muestras de plancton (Tabla 3).

Se realizaron esfuerzos por modificar la red reemplazando el marco metálico por una red con alas. Se usaron materiales disponibles en la zona y se improvisó usando mallas mosquiteras para retener peces de tamaños pequeños. Entre el 1 y 9 de marzo se realizaron pruebas frente a la costa de Arica tanto con la red modificada



como con una red de plancton (Tabla 4). En general, el éxito de captura fue bajo, con presencia de diversas especies en la red de arrastre, a excepción de un lance realizado el 8 de marzo en el cual se capturan 25 anchovetas pre-reclutas.

Tabla 3. Resumen de experiencias usando red de plancton a bordo del bote Job frente a la costa de Arica en marzo de 2015.

Lance	Fecha	H_Ini	H_Fin	T °C	Pos_Ini	Pos_Fin	Resultado
1	28/02	22:03	22:08	20,5	18°25,352' 70°19,475'	18°25,312' 70°19,506'	Sin muestra
2	28/02	22:12	22:22	20,5	18°25,280' 70°19,525'	18°25,085' 70°19,695'	Toma de muestra L1
3	28/02	22:34	22:45	20,5	18°25,014' 70°19,785'	18°24,787' 70°20,004'	Toma de muestra L2
4	28/02	23:00	23:13	20,8	18°24,875' 70°20,267'	18°25,046' 70°20,186'	Toma de muestra L3
5	28/02	23:32	23:44	21,0	18°25,270' 70°19,826'	18°25,574' 70°19,671'	Toma de muestra L4
6	29/02	00:06	00:17	20,9	18°25,453' 70°19,305'	18°25,723' 70°19,213'	Toma de muestra L5



Tabla 4. Resumen embarques y actividades realizadas entre el 27 de febrero y el 9 de marzo de 2015 frente a la costa de Arica.

Fecha	Hora	Zarpe/recalada	Embarcación	Actividad
27-02-2015	21:00	Zarpe	Job	Prueba red plancton. Se visitan caladeros norte.
28-02-2015	11:00	Recalada		
		20:00	Zarpe	Job
01-03-2015	07:00	Recalada		
	09:00	Zarpe	Juan	Se prueba red plancton para captura prereclutas, se cuenta con ayuda de patrón semi industrial. Sin resultado positivo.
	23:00	Recalada		
02-03-2015	21:00	Zarpe	Job	Se visitan distintos caladeros con red arrastre de armazón metálico. Sin resultado positivo.
03-03-2015	08:00	Recalada		
	14:00	Zarpe	Juan y Venecia	Se prueba utilizando dos embarcaciones para arrastrar armazón metálico y sus modificaciones
	23:00	Recalada		
04-03-2015	11:00	Zarpe	Job	Se visitan caladeros de la zona sur de Arica, sin resultados. Se prueba cambiando tubos de armazón y utilizando dos conos.
	24:00	Recalada		
05-03-2015	02:00	Zarpe	Venecia	Se zarpa con apoyo de dos patrones de semi industriales que capturan anchoveta, se visitan caladeros y se ubica zona con posible presencia.
	11:00	Recalada		
07-03-2015	21:00	Zarpe	Job y Venecia	Se utiliza red de plancton con dos botes. Se visitan los caladeros recomendados por los patrones. Se observa la presencia de prereclutas pero no se obtiene captura
08-03-2015	09:00	Recalada		
		23:00	Zarpe	Job y Venecia
09-03-2015	10:20	Recalada		

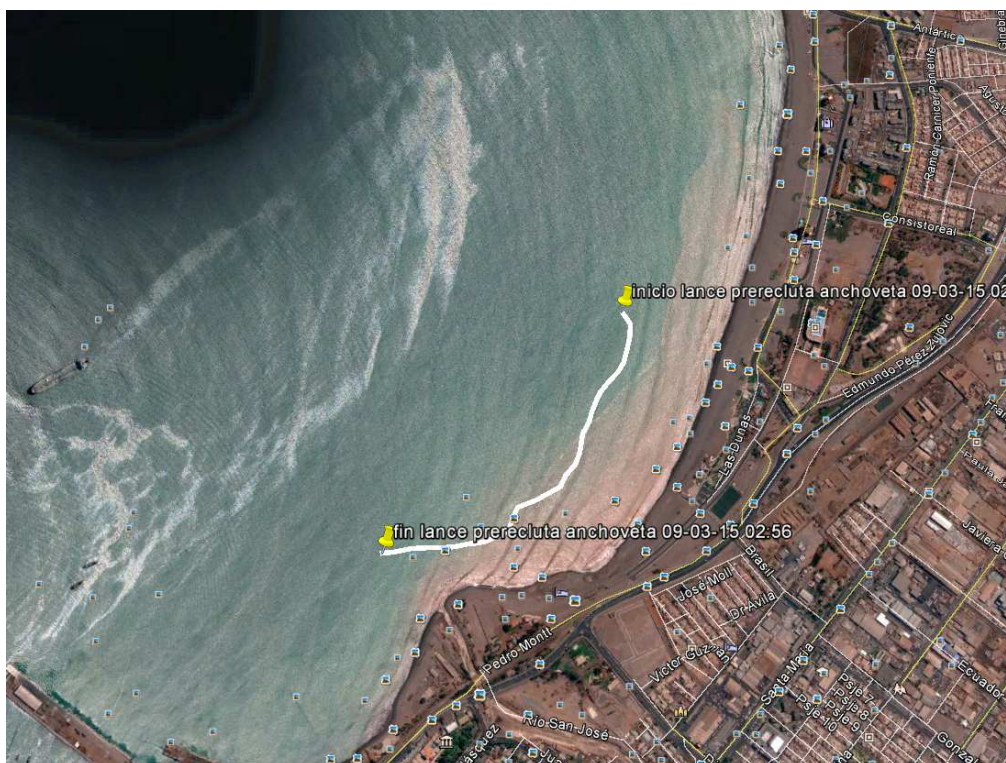


Figura 1. Track de navegación en lance realizado el 9 de marzo de 2015 con captura de pre-reclutas de anchoveta usando una red de muestreo remolcada.

Luego de las experiencias llevadas a cabo entre enero y marzo de 2015 usando diversos métodos de captura (redes de cerco, chinguillo, red remolcada de boca rígida y red de plancton), se determinó que la mejor opción consistía en la construcción de una red específica para esta finalidad. Se establecieron los requerimientos que debía cumplir una red de muestreo específica de pre-reclutas de anchoveta para ser operada en la zona norte del puerto de Arica. En particular, estos requerimientos corresponden a:

- Sistema de captura capaz de ser operado en zonas de baja profundidad, cerca de la playa, en lugares con oleaje, por lo tanto se debe evitar el uso de un marco rígido en la boca.
- Dada la alta actividad y velocidad de reacción de los peces, se requiere un sistema de captura capaz de juntar a los peces para su retención. Se necesita un sistema versátil en su operación.
- Se requiere una altura mínima de 1 metro para aumentar la probabilidad de captura e impedir el escape por la sección inferior.

En base a lo anterior, se definió que lo más viable de implementar para la captura de pre-reclutas corresponde a una red de muestreo similar a una red de muestreo de arrastre de pareja. En particular, se establecieron algunas características relevantes, tales como:



- Longitud de las alas de 5 metros como mínimo
- Tamaño de malla del copo idealmente de 8 mm
- Paño sin nudo para evitar daño a los peces capturados
- Idealmente un mínimo de 10 metros de tela estirada en la boca, equivalente a 5 metros de perímetro armada
- Flotación suficiente en la relinga superior para impedir el hundimiento de la red y mantener la configuración de la boca durante el remolque
- Viable de ser remolcada con botes artesanales de motores pequeños (<30 HP)

Para cumplir el requerimiento anterior, se diseñaron y construyeron dos redes de muestreo de arrastre pelágicas para ser operadas desde botes con motor fuera de borda. Ambas redes responden al mismo diseño general, con algunas diferencias en la parte frontal. Puntualmente, la Red de Muestreo 1 (**Fig. 2^a**; **Fig. 3**) posee alas de 7 metros de longitud, las cuales están construidas con mallas de 25,4 mm (1 pulgada). Por su parte, la Red de Muestreo (**Fig. 2b**; **Fig. 3**) posee alas de 5,2 metros de longitud construidas con mallas de 14 mm (9/16 pulgada). No fue posible disponer de tamaños de malla menores en Chile y Perú.

Cada red posee 23 flotadores de 650 gramos de flotación unitaria (T3 Vinycon). Además, para facilitar la abertura vertical de las redes, se usará cadenas en la relinga inferior con peso lineal de 260 gramos por metro.

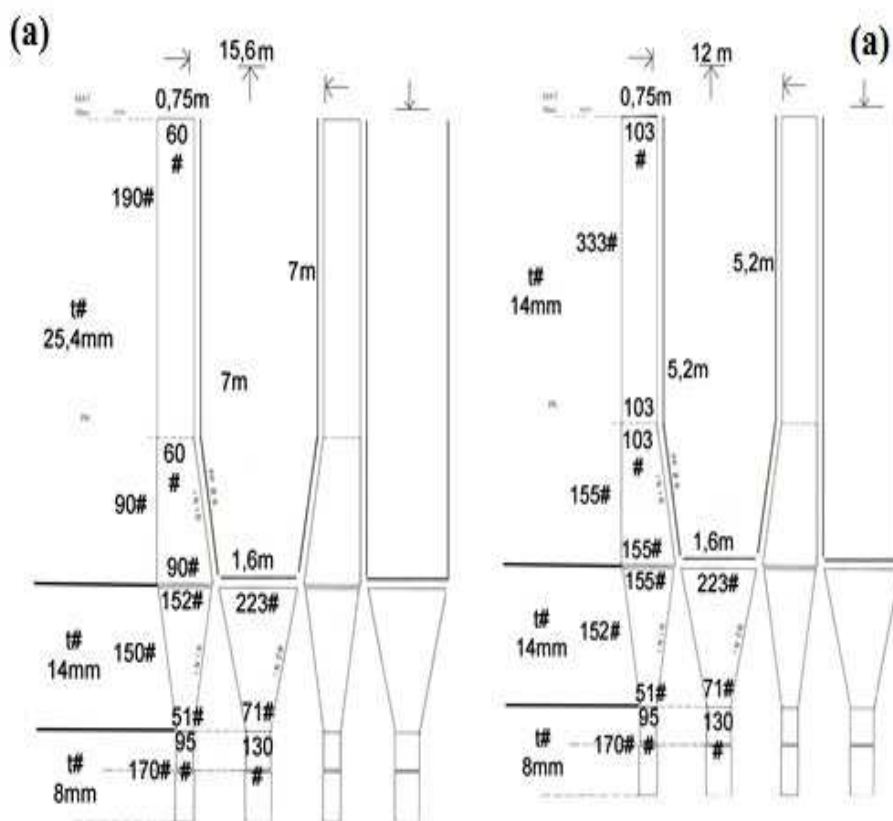


Figura 2 (a) Red de muestreo 1, de 15,6 m de longitud de boca superior; (b): Red de muestreo 2, de 12 m de longitud de boca superior.

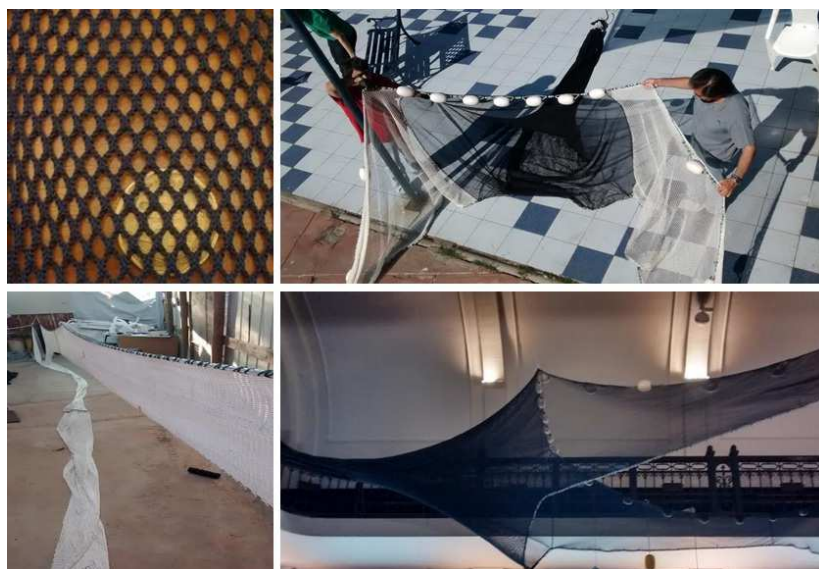


Figura 3 Fotografías ilustrativas de la red de muestreo para recolectar pre-reclutas de anchoveta en aguas someras del norte de Chile.



Entre el 18 y 21 de noviembre 2015 se llevan a cabo 3 salidas para intentar la captura de anchovetas mediante el uso de la nueva red de arrastre pelágica de muestreo. En la primera salida (18-11-2015) se realizaron 6 lances a bordo del bote Job (15 HP), sin resultados positivos. El 20 y 21 de noviembre se realizan nuevas salidas, efectuándose 8 lances cada día. Se logró una muestra pequeña (<30 ejemplares) que en su totalidad correspondieron a peces mayores de 9 cm (Fig. 5).



Figura 4. Zonas de pesca visitadas entre el 18 y 21 de noviembre de 2015.



Figura 5. Muestra de ejemplares capturados con red de muestreo de arrastre de pareja.

Breve análisis de los resultados obtenidos

De manera independiente al bajo éxito de captura de los peces objetivo, fue posible observar en terreno en distintas ocasiones una cantidad abundante de peces pequeños, principalmente en enero y marzo de 2015. Siempre existe la incertidumbre de la especie observada, aunque dados los resultados obtenidos, es posible inferir que ejemplares juveniles y pre-reclutas de anchoveta presentan una distribución cercana a la costa. Los pescadores de ambas zonas (Arica e Iquique) también consideran que esta situación es posible dado que cardúmenes de peces pequeños se observan habitualmente en la costa, reconociendo la dificultad en su captura debido a varios factores (alta capacidad de reacción y movilidad, áreas complejas para operar, entre otros).

Los métodos de captura probados, en su mayoría contruidos y operados de manera artesanal, no resultaron satisfactorios. Por este motivo se desarrolló un nuevo arte de pesca de muestreo pelágico, el cual fue usado en noviembre de 2015. En dicho período, la presencia de peces en la zona fue escasa, situación diferente a la observada a inicios de 2015. Si bien no fue posible validar la nueva red de muestreo, su desarrollo y evaluación debe ser considerada en estudios futuros ya que se considera que las anchovetas pre-reclutas poseen una elevada conducta de escape y solo podrían ser vulnerables usando un arte de pesca activo.



PONTIFICIA UNIVERSIDAD
CATOLICA
DE VALPARAISO



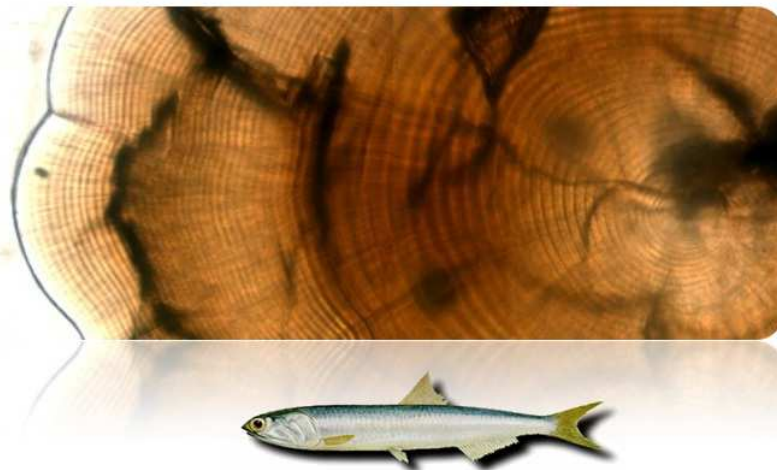
ANEXO 9.2: PROGRAMA DEL WORKSHOP INTERNACIONAL

WORKSHOP ON

"Otolith microstructure analysis of juveniles and adults of the Peruvian anchovy *Engraulis ringens*"

ASSOCIATED TO THE RESEARCH PROJECT

"FIP 2014-31 "Revisión experta de la estimación y asignación de edad de la anchoveta XV-II región"



December 7-11, 2015, Valparaíso, Chile

Organizers

Guido Plaza & Francisco Cerna

Escuela de Ciencias del Mar
Pontificia Universidad Católica de Valparaíso
Instituto de Fomento Pesquero

A. INTRODUCTION

Age estimation for anchovy species has been assessed by counting 'presumed' annuli, using either scales or otoliths. To date, the information gathered on age structure for anchovy species associated with highly productive systems has shown that some anchovies (e.g. genus *Engraulis*) seem to be relatively short-lived, with a maximum life span ranging from 4 to 5 years and a maximum asymptotic length ranging from 16 to 19 cm (Waldron, 1992; Vidal-Talamantes, 1991; Basilone, et al. 2000). However, recent studies using otolith micro-structure analysis have reported an even faster growth patterns at the daily level for some anchovies and for other small pelagic fishes as well (La Mesa *et al.*, 2009; Aldanondo *et al.*, 2011), which seems to be indicative these species reach their asymptotic length at very early stages during their first year of life.

To contribute to test the fast growing hypothesis the Chilean Undersecretariat of Fisheries and Aquaculture (SUBPESCA), called for proposal for the research project "FIP 2009-17", which was adjudicated by the Instituto de Fomento Pesquero and the Pontificia Universidad Católica de Valparaíso. During this study the daily growth patterns of juvenile and adult of the Peruvian anchovy (*Engraulis ringens*) in northern Chile was revealed, using analysis of daily micro-increments of sagittal otoliths for the recruitment and fishery season of 2009 and 2010. Using this methodology high growth rates were reported for juveniles < 12 LT. In addition, fish > 12 TL could also be aged using daily increment count. However, during the internal evaluation process of this research some doubt arose on the potential influence that could have in the results the existence of different criteria of identifying primary increments in Engraulidae. For this family the occurrence of double micro-increments in certain areas of otolith is a well-known process in members of this family, which it is still under controversy. To overcome in part this problem a second research project (ID N° 4728-31 LP 11) was carried out from 2011-2012 focused in validating the daily periodicity of formation of primary micro-increments in immature and mature anchovies under rearing conditions.

To continue advancing in resolving the fast-growth hypothesis in Peruvian anchovy a third project has been approved, which incorporates a review process of the methodology used to prepare and identify primary increments in the two previous research projects. To full fill with this purpose a workshop will be carried out in Valparaiso (Chile) with the participation of two international scientists, which will

collaborate with Chilean researchers to revise the methodology used, contribute to discuss and analyze the criteria of identification of primary micro-increments and recommend new approaches for laboratory and field research for future studies.

B. OBJECTIVE

To provide a laboratory based platform to revise, analyze and discuss the criteria of identification of primary-micro increments in otoliths of juveniles and adults of the Peruvian anchovy *Engraulis ringens*, collected in both field research and produced under rearing conditions, as part of the development of the research projects "FIP 2009-17" and "SUBPESCA 4728-31 LP 11".

C. INTERNATIONAL RESEARCHERS

Two international researchers will participate in the current workshop: Dr. **Steven Campana** of the Faculty of Life and Environmental Sciences of the University of Iceland; and Dr. **Akinori Takasuka** of The National Research Institute of Fisheries Sciences, Fisheries Research Agency, Japan.

D. DATES AND VENUE

The workshop will be held between 7-11 December 2015, at the Meeting Room of the Instituto de Fomento Pesquero (IFOP), located at Manuel Blanco Encalada 839, Valparaíso. Chile.

E. WORKSHOP FORMAT

A laboratory-based workshop where the research leader in the discipline of otolith micro-structure (Dr. **S. Campana**) will participate in close collaboration with three researchers with experience in early life history traits in small pelagic fishes, *i.e.*, **Akinori Takasuka**, **Guido Plaza** and **Francisco Cerna**, so as contribute to full fill with the workshop objective. During the periods where laboratory work will be required some professionals and technicians will join the workshop as well.

F. SEMMINARY

One finished the Workshop the following two presentations will be given by Dr. **Akinori Takasuka** and Dr. **Steven Campana**, respectively: "*Biological mechanisms underlying climate impacts on anchovy and sardine alternations: insights from interspecific and intersystem comparisons*"; and "*Natural tags and markers for*

tracking and identifying aquatic organisms". These presentations will be open to researchers, undergraduate and graduate students in the area of marine science.

G. LANGUAGE

A system for simultaneous translation (English-Spanish) will be available during the introduction section on December 7 (morning) and during the closure section on December 11 (morning).

H. PROGRAM

The workshop program proposed corresponds to a draft guideline, because some modifications could be possible depending on either the progress of laboratory tasks and/or recommendations made by the researchers involved.

Monday, December 7	
9:30-10:30	Introduction to workshop and participants Introduction to the two international scientists Dr. Steven Campana and Dr. Akinori Takasuka Workshop program Workshop modality and others
10:30-11:30	Introduction to the scientific problem associated to early growth of <i>Engraulis ringens</i> obtained as part of the research project "FIP 2009-17: (Francisco Cerna)
11.30-11.00	Coffee break
11.30: 12:30	Introduction to the scientific problem associated to early growth of <i>Engraulis ringens</i> obtained as part of the research project "FIP 2009-17: (Guido Plaza)
12.30-13.00	Questions and discussion
13.00-14.30	Lunch
14.30-17:30	Laboratory work: methodological procedures used to mount otolith of <i>E. ringens</i> for examination of primary increments.
Thursday, December 8	
9.30-13:00	Laboratory work: methodological procedures used to examine daily otolith increments in juvenile <i>E. ringens</i> . <ul style="list-style-type: none"> • Preparation of some samples of mounted otolith in the previous day to evaluate polishing procedures. • Illustration of the process of digitalizing image and measuring and counting daily increments in juvenile fish derived from field research (FIP 2009-17).

13.00-14.30	Lunch
14:30-16:30	Laboratory work: Continuation... Reading of prepared samples of otoliths of juveniles <i>E. ringens</i> collected in field research 2009-2010 (FIP 2009-17 Project). Reproducibility exercises
16.30-17.30	<ul style="list-style-type: none"> • Questions and discussion associated to preparing and reading daily increment of juveniles <i>E. ringens</i> collected in field research • Recommendation for future research
Wednesday , December 9	
9.30-13:00	Laboratory work: methodological procedures used to examine daily otolith increments in juveniles <i>E. ringens</i> under rearing conditions <ul style="list-style-type: none"> • Reading of prepared samples of otoliths of juveniles <i>E. ringens</i> from rearing experiments (SUBPESCA 2011 Project). • Reproducibility exercises
13.00-14.30	Lunch
14:30-16:30	<ul style="list-style-type: none"> • Questions and discussion associated the interpretation of primary increment derived from both field and rearing experiments in juvenile <i>E. ringens</i>. • Recommendation for future research.
Tuesday , December 10	
9.30-13:00	Laboratory work: methodological procedures used to examine daily otolith increments in adult <i>E. ringens</i> . <ul style="list-style-type: none"> • Reading of prepared samples of otoliths of adult <i>E. ringens</i> collected in field research 2009-2010 (FIP 2009-17 Project). • Reproducibility exercises
13.00-14.30	Lunch
14:30-16:30	Laboratory work: Continuation... Contrasting micro and macro-structure in adult <i>E. ringens</i> in previously prepared samples, derived from FIP 2009-17 Project
14:30-16:30	<ul style="list-style-type: none"> • Questions and discussion associated the interpretation of primary increment derived from field research in adult <i>E. ringens</i>. • Recommendation for future research.
Friday, December 11	
9:30-11:00	<ul style="list-style-type: none"> • Introduction to closure remarks • Reading of the output report • Conclusions and acknowledgment made by the organizers
11:00-12:40	Seminary

11:00-11:30	<p>"Biological mechanisms underlying climate impacts on anchovy and sardine alternations: insights from interspecific and intersystem comparisons" (Dr. Akinori Takasuka):</p> <p>This talk introduces our studies on biological mechanisms underlying climate impacts on out-of-phase population oscillations between anchovy and sardine (species alternations) through interspecific and intersystem comparisons. At the end of the talk, I will also introduce a summary of the recent symposium/workshop on "Growth-survival paradigm in early life stages of fish: controversy, synthesis, and multidisciplinary approach" held in Yokohama, Japan, during November 9-13, 2015.</p>
11:40-12:00	Coffee break
12:00-12:30	<p>"Natural tags and markers for tracking and identifying aquatic organisms" (Dr. Steven Campana).</p> <p>Otolith elemental and isotopic fingerprints, genetic markers, growth patterns recorded in otoliths, and parasites are all examples of natural tags with demonstrated success in identifying and tracking sub-populations, groups and even individuals of teleost fishes. Far less explored are similar applications involving sharks and crustaceans such as lobsters, yet many of the same powerful tracking and identification applications appear to exist for these animals as well. In this talk, I will briefly review some of the established natural tags with proven track records for monitoring the movement of aquatic organisms, before exploring some exciting new possibilities.</p>
12:40	End

I. PARTICIPANTS

Name	Category	Affiliation
Steven Campana	International	University of Iceland
Akinori Takasuka	Researchers	Nat. Research Institute of Fisheries Science, Japan
Guido Plaza	Chilean	Pontificia Universidad Católica de Valparaíso
Francisco Cerna	Researchers	Instituto de Fomento Pesquero
Mackarena Gómez	Professionals and technicians	Instituto de Fomento Pesquero
Cecilia Machuca		
Guillermo Moyano		Universidad de Valparaíso
Camilo Rodríguez		
Jorge Contreras		Pontificia Universidad Católica de Valparaíso
Alejandra Hernández		

J. REFERENCES

- Aldanondo, N., Cotano, U., and Etxebeste, E. (2011). Growth of young-of-the-year European anchovy (*Engraulis encrasicolus*, L.) in the Bay of Biscay. *Scientia Marina* **75**, 227-235.
- Basilone G, Patti B, Mazzola S, Cuttitta A, Bonanno A, Sposito P, Kallianiotis A (2000). Growth of the European anchovy (*Engraulis encrasicolus*) in the Strait of Sicily. MedSudMed Technical Documents No.5. 79-89.
- La Mesa, M., Donato, F., Giannetti, G., and Arneri, E. (2009). Growth and mortality rates of European anchovy (*Engraulis encrasicolus*) in the Adriatic Sea during the transition from larval to juvenile stages. *Fisheries Research* **96**, 275-280.
- Vidal-Talamantes R (1991). Variations in the age composition of catch of anchovy (*Engraulis mordax*) and alternatives for the management of the resource. *Ciencias Marinas* Vol. 17, No. 3, pp. 73-89.
- Waldron, M.E. (1994). Validation of annuli of the South African anchovy, *Engraulis capensis*, using daily otolith growth increments. *ICES Journal of Marine Science* **51**, 233-234.

ANEXO 9.3: REPORTE DEL EXPERTO

REVIEW OF THE WORKSHOP:

Otolith microstructure analysis of juveniles and adults of the Peruvian anchovy *Engraulis ringens*¹

**held
December 7-11, 2015
Instituto de Fomento Pesquero (IFOP)
Valparaíso, Chile**

Review prepared by:

**Dr. Steven Campana, Life and Environmental Sciences, University of Iceland, 101
Reykjavik, Iceland**

¹ Workshop organized by Guido Plaza and Francisco Cerna as part of the research project *FIP 2014-31 “Revisión experta de la estimación y asignación de edad de la anchoveta XV-II región”*

EXECUTIVE SUMMARY

Recent studies of some anchovy and small pelagic fish species using otolith microstructure analysis have suggested maximum lifespans on the order of one year, and not 4-5 years as has been presumed in the stock assessment of northern Chile anchovy. To address concerns over the accuracy of the daily age interpretations, a workshop was held in Valparaiso, Chile to review the methodology and accuracy of the age interpretations developed in previous projects, and to provide recommendations for future research. This review document summarizes the workshop results and conclusions from the perspective of an independent international expert in the field of otolith microstructure and age determination.

The otolith preparation protocol applied by the Chilean researchers produced polished samples of equivalent quality to those developed by expert international laboratories. The interpretation criteria applied to the anchovy otoliths was of high quality and in keeping with international standards.

The workshop review of known-age juvenile anchovy otoliths reared under quasi-natural conditions confirmed that young anchovy could be aged both accurately and precisely using otolith microstructure. Interpretation of the sometimes-ambiguous transition zone indicated that the daily increments in that zone grew quickly with considerable splitting and/or subdaily increments (GBR interpretation). Although anchovy otoliths probably begin to deposit daily increments shortly after hatch, minor age adjustments (of 7-15 days) may be made for the presence of experimentally-confirmed narrow increments around the otolith core. The workshop results indicated that some previous published studies of anchovy otolith microstructure were incorrect, since they lacked known-age fish reared outside under natural conditions as a check on their ageing accuracy.

Wild juvenile anchovy otoliths can be read both accurately and precisely to an age of at least 136 days and a length of about 11.5 mm. There is no doubt about the relative accuracy of the juvenile age determinations. The hatch dates of the juveniles, as calculated from the daily ages, closely mirrored the known spawning (GSI) period of the stock.

It was not possible to evaluate the accuracy of either the annuli or the daily growth increments in adult anchovy. The available evidence suggested that the daily increment sequence provides a more reliable indicator of age than do the presumed annuli, and that the adults are mainly about one year old. The hatch date distributions of the adults were broadly consistent with that of the juveniles and GSI, but were not sufficiently close to confirm that the daily ages were accurate. Therefore, further research will be required to confirm the lifespan and age composition of the adults.

INTRODUCTION

Age estimation for Chilean anchovy species has traditionally been assessed by counting 'presumed' annuli in either scales or otoliths. The longevity of anchovy species (e.g. genus *Engraulis*) associated with highly productive systems has been reported as being relatively short-lived, with a maximum life span ranging from 4 to 5 years and a maximum asymptotic length ranging from 16 to 19 cm (Waldron 1992; Vidal-Talamantes 1991; Basilone et al. 2000). However, recent studies of some anchovy and small pelagic fish species using otolith microstructure analysis have suggested younger ages and faster growth patterns at the daily level (La Mesa et al. 2009; Aldanondo et al. 2011); these studies suggest that these species reach their asymptotic length during their first year of life. Thus, the two methods of ageing (annuli vs daily growth increments) produce very different perspectives on the age composition of anchovy. Neither method has been validated as being correct.

To test the fast growing/young age hypothesis suggested by otolith microstructure, the Chilean Undersecretariat of Fisheries and Aquaculture (SUBPESCA) bid on the research project "FIP 2009-17", which was adjudicated by the Instituto de Fomento Pesquero and the Pontificia Universidad Católica de Valparaíso. In this study, the daily growth patterns of juvenile and adult Peruvian anchovy (*Engraulis ringens*) in northern Chile were assessed using analysis of daily growth increments (micro-increments or primary increments) of sagittal otoliths from the recruitment and fishery season of 2009 and 2010. Using this methodology, sub-annual ages and high growth rates were reported for juveniles < 12 cm total length (TL). Fish > 12 TL could also be aged using daily increment counts. However, during the internal evaluation process of this research, some doubts arose on the validity of the age estimates, because of the existence of different criteria for identifying daily increments in Engraulidae. The presence of double rings in certain areas of otolith is well documented in this family, and their correct interpretation is an area of considerable controversy. To address this problem, a second research project (ID N° 4728-31 LP 11) was carried out from 2011-2012 focused on validating the daily periodicity of growth increments in both immature and mature anchovies.

To address ongoing questions concerning the accuracy of the fast-growth hypothesis in Peruvian anchovy, a third project was approved to review the methodology used to prepare and identify primary increments in the two previous research projects. As part of this objective, a workshop was carried out in Valparaíso (Chile) with the participation of two international scientists with considerable expertise in otolith microstructure: Dr. Steven Campana of the Faculty of Life and Environmental Sciences at the University of Iceland, and Dr. Akinori Takasuka of The National Research Institute of Fisheries Sciences, Fisheries Research Agency, Japan. Drs. Campana and Takasuka were invited to the workshop to work with Chilean researchers in reviewing (and if necessary, revising) the methodology used, discuss and analyze the criteria for identification of primary micro-increments, and recommend new approaches for laboratory and field research for future studies.

This review document, prepared by Steven Campana, summarizes the workshop results and conclusions from the perspective of an independent international expert in the field of otolith microstructure and age determination.

WORKSHOP OBJECTIVE

The objective of the workshop was to provide a laboratory-based platform to review, revise, analyze and discuss the criteria for accurate identification of primary-micro increments in otoliths of juveniles and adults of the Peruvian anchovy *Engraulis ringens*, both from field collections and as reared under quasi-natural conditions, as part of the research projects “FIP 2009-17” and “SUBPESCA 4728-31 LP 11”. Thus the goal of the workshop was to determine if the young ages and fast growth suggested by daily increments are correct, or if they were somehow limited by inappropriate preparatory methods or interpretation. The workshop agenda is attached as Appendix 1. The list of participants is shown in Appendix 2.

WORKSHOP RESULTS

Review of Methodology

The methods used to prepare the otoliths for microstructural examination were equivalent to those used in the top laboratories around the world, and would not have limited any interpretations. Otoliths were mounted on microscope slides in a two-part epoxy resin, and then polished to a plane just short of that of the increments, as is normally recommended (Campana 1992). For larger otoliths requiring double polishing, the epoxy resin was applied to a thin film of thermoplastic cement, so as to allow for subsequent flipping of the otolith for two-sided polishing. The combined use of thermoplastic cement and epoxy resin is, to my knowledge, unique. However, the resulting ease of flipping was impressive, showing that the method is preferable to many other methods now in use.

Otolith polishing was carried out using dry lapping films, as per standard methods. Examination of >10 prepared otoliths showed that they were optimally polished in all but one otolith. Nothing in the mode of preparation limited any interpretation of any otoliths. Adult otolith preparation is particularly demanding, yet the resulting preparations were equivalent in quality to those prepared in the top laboratories around the world.

Otolith interpretations were carried out using high quality compound microscopes, such as the Leica DM750, with a complete set of panachromatic lenses, plus an oil immersion lens capable of 1000X magnification. Juvenile otolith imagery was captured using a Leica ICC50HD digital camera working at 3.1 mega-pixels and 8 bits per colour channel. Adult otolith imagery was captured using a QImaging MicroPublisher 5.0 digital camera working at 5 mega-pixels and 10 bits per colour channel. Both of these cameras had sufficient resolution to allow reliable interpretation of all but the narrowest growth increments. As will be discussed later, some narrow growth increments (~3-5) around the otolith core could be resolved under the microscope, but were not resolved in the images. However, neither microscopic examination nor the finest cameras in the world would have been sufficient to resolve the narrowest increments around the core, necessitating the estimation of the number of unresolved increments around the core. The estimation process was based on the imagery, so all increments were accounted for.

The 8-bit per channel imagery of the Leica camera had the potential to limit the image enhancement (grey level expansion) capabilities of the images. However, none of the anchovy otoliths required image enhancement for anything other than ease of viewing, or possibly for better viewing of the region around the core. Image enhancement was not routinely applied to previous age estimates.

Some of the otolith images used for age determination were captured under the 20X objective of the microscope, resulting in relatively low magnification. This level of magnification was completely appropriate for most of the anchovy growth sequence; however a 40X objective would have been better suited for viewing narrow increments around the otolith core or near the edge of adult otoliths. Nevertheless, the imagery that was used was completely appropriate for ageing juvenile otoliths once the adjustment for narrow increments around the core was made (discussed later). In the case of the adult otoliths, any failure to see narrow increments in the outer region of the otolith would have been of trivial magnitude when deciding between sub-annual and multi-annual ages.

A transition zone beginning around 80 μm or 23 days from the otolith core contained a sequence of increments that could be interpreted either as broad increments containing one or more subdaily increments (termed GBR by Cermeno et al. 2008), or as a series of narrow increments where every one was assumed to be daily (termed IMR by Cermeno et al. 2008). Age interpretations by the Chilean researchers assumed that the transition zone contained broad, split increments representative of fast daily growth (GBR). This type of interpretation is the standard interpretation protocol for most fish species (Campana 1992).

In summary, the otolith preparation protocol applied by the Chilean researchers produced polished samples of equivalent quality to those developed by expert international laboratories. The otolith imagery might have benefitted from the consistent use of 10-bit cameras, and from the use of a 40X objective in regions of very narrow increments. However, the difference in age estimates would have been small, and would not have affected any conclusions from previous Chilean projects or this workshop. The interpretation criteria applied by the Chilean researchers was of high quality and in keeping with international standards.

Review of Known-age Juvenile Otolith Samples

As part of a previous project, Drs Plaza and Cerna had reared anchovy larvae from hatch in an outside, quasi-natural seawater 'pond' for 52 days (Plaza and Cerna 2014). While in this environment, no food was provided; the larvae ate prey that were already present in the water. The juveniles were then transferred to rearing tanks where they were fed an artificial diet for an additional 51 days. Larvae were sampled periodically for their otoliths beginning at 68 days after hatch, but not before. The availability of known-age fish reared under quasi-natural conditions separated this study from all other published studies of anchovy age determination, since the true age of the fish was known and the ageing study was the only known age validation study of anchovy otolith daily growth increments.

A subsample of otoliths from the rearing study were examined at the workshop. All samples were blind labelled; thus the true age of the fish was unknown to workshop participants at the

time of ageing. Each of 5 otoliths were examined and aged by all workshop participants, both under the microscope and from images. A distinct check was apparently formed on the date of transfer; therefore all workshop participants recorded the age from what was presumed to be the hatch check to the check (Zone A+B), and then again from the check to the edge of the otolith (Zone C). Zone A was defined as the region from the hatch check to the beginning of a transition zone characterized by broad/split or narrow/numerous growth increments, while Zone B was defined as the transition zone. Ages were not determined for Zones A and B separately.

The age estimates for Zone C (the outer region) were analyzed first, since this zone was considered unambiguous. The results showed that the workshop participants interpreted the daily growth increments accurately (on average) over a post-check period of 16-51 days, with no appreciable bias and a mean coefficient of variation (CV) of 6.0% (Fig. 1). These results demonstrate that anchovy larvae form a continuous series of daily growth increments through at least a portion of the juvenile stage, and that these increments were interpreted correctly by the workshop participants. These results match those reported by Plaza and Cerna (2014).

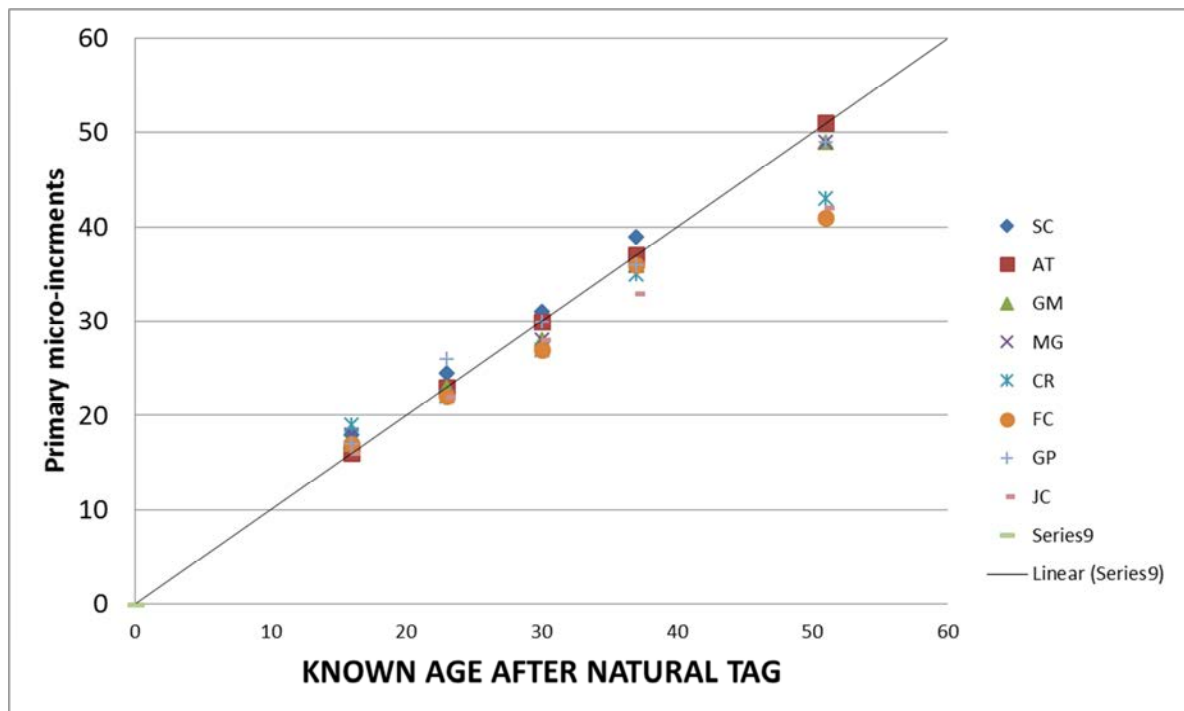


Figure 1. Relationship between the known period after the formation of the transfer check and increment count by workshop participants. The 1:1 line is shown as a solid line. Most workshop participants interpreted the growth increments correctly across the entire time span.

None of the workshop participants correctly estimated the known stage duration of Zones A+B, which was 52 days. On average, the true age to the end of Zone A+B was underestimated by 12 days, with the age underestimation tending to increase with the total age of the fish (Fig. 2). A similar magnitude of age underestimation was observed when estimating the total age of the juvenile, which is not surprising given that Zone C was aged correctly. The mean CV of the

increment counts across all workshop participants and reared otoliths was 7%. The overall relationship between daily increment count and true age is shown in Fig. 3.

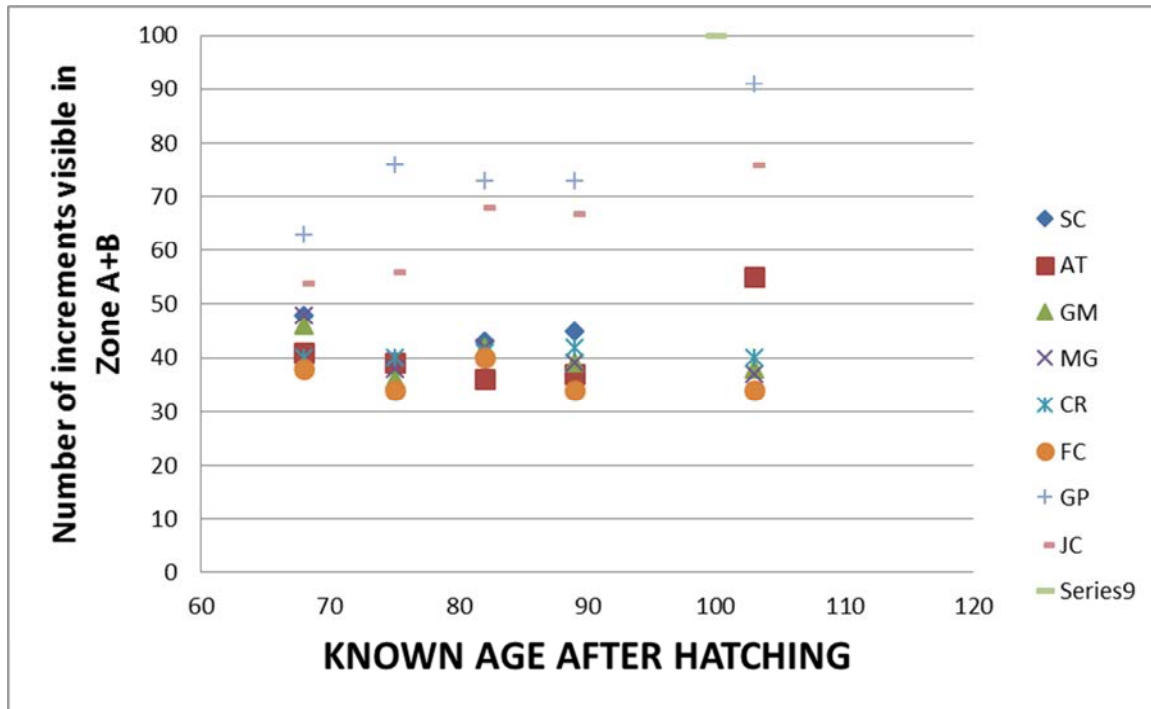


Figure 2. Number of increments visible in Zone A+B of known-age juvenile anchovy otoliths. The actual duration was 52 days.

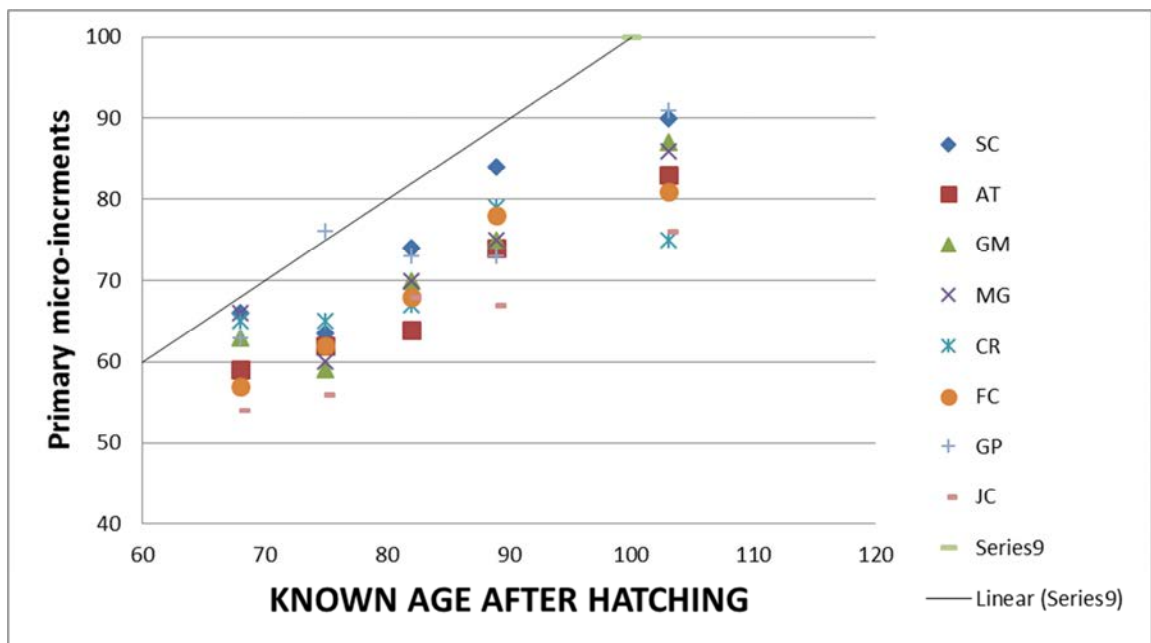


Figure 3. Relationship between the known age of the reared anchovy juveniles and increment count by workshop participants. The 1:1 line is shown as a solid line. Most workshop participants underestimated true age by about 8-15 days.

There are two possible explanations for the age underestimation. The first and most obvious is that the transition zone was interpreted incorrectly; indeed, all workshop participants interpreted the transition zone as consisting of broad, split increments (eg- GBR). If the “subdaily” increments in the transition zone were interpreted as daily (eg- IMR), overall age estimates increased by about 13 days. However, IMR interpretation does not explain why the age discrepancy increased with increasing total age. Perhaps more importantly, the IMR-interpreted age only corresponds with the actual age if it is assumed that the daily increments first start to form three days after hatch (as reported by Hernández & Castro 2000), and that all of the daily increments can be seen in older fish. As was found in the workshop, this assumption is false.

In many small pelagic fish species, daily increments appear not to form until well after hatch. For example, Campana et al (1987) demonstrated that increment count underestimated true age in larval herring (*Clupea harengus*) by 15-20 days because the first-formed increments had a width that was less than the resolution limit of a light microscope. In addition, fine increments became less visible in larger otoliths because of the difficulty of polishing exactly to the midplane of the otolith. Exactly the same phenomenon appears to apply to larval anchovy. Contreras (unpublished) measured otolith radius in known-age anchovy larvae, and found that 15-day old larvae had an average otolith radius of 24.73 μm (Fig. 4). However, when this same otolith radius was overlaid on the known-age juvenile anchovy otoliths, only 5-8 increments were visible. Therefore, the workshop adopted Campana et al’s (1987) correction method for anchovy otoliths; the radius of the innermost increment visible in the juvenile otolith images was first measured, as shown in the example of Fig. 5.

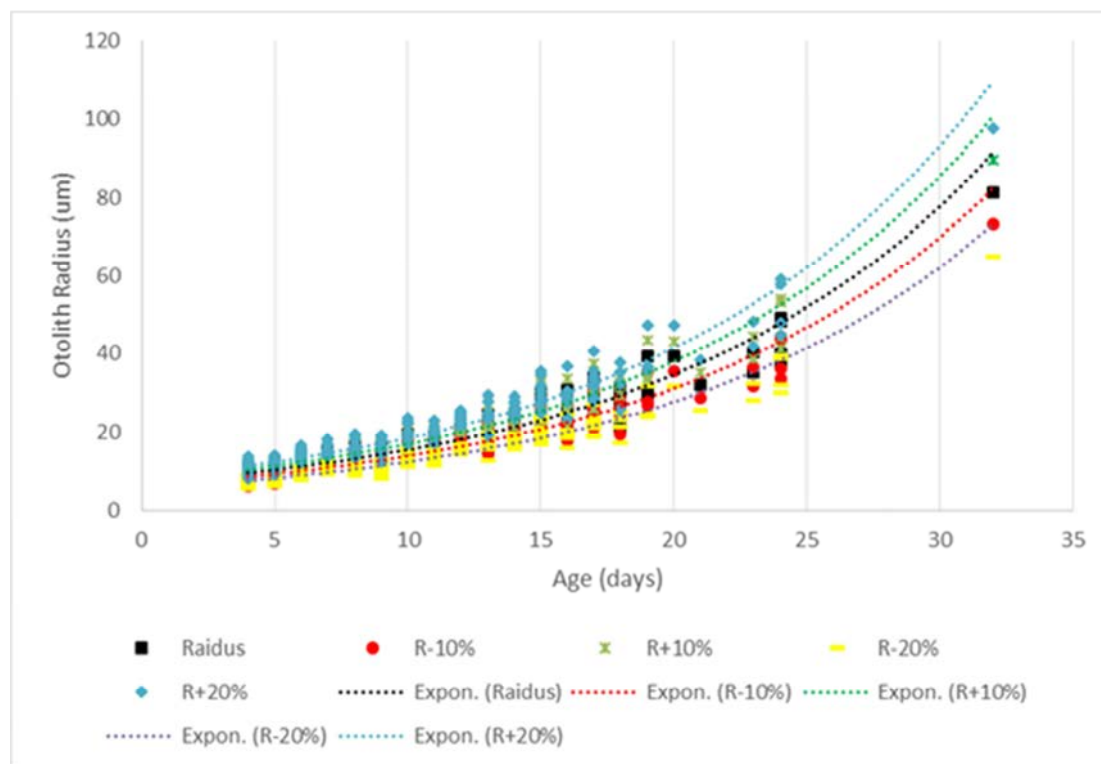


Figure 4. Relationship between otolith radius and known age in laboratory-reared anchovy larvae (from Contreras unpublished).

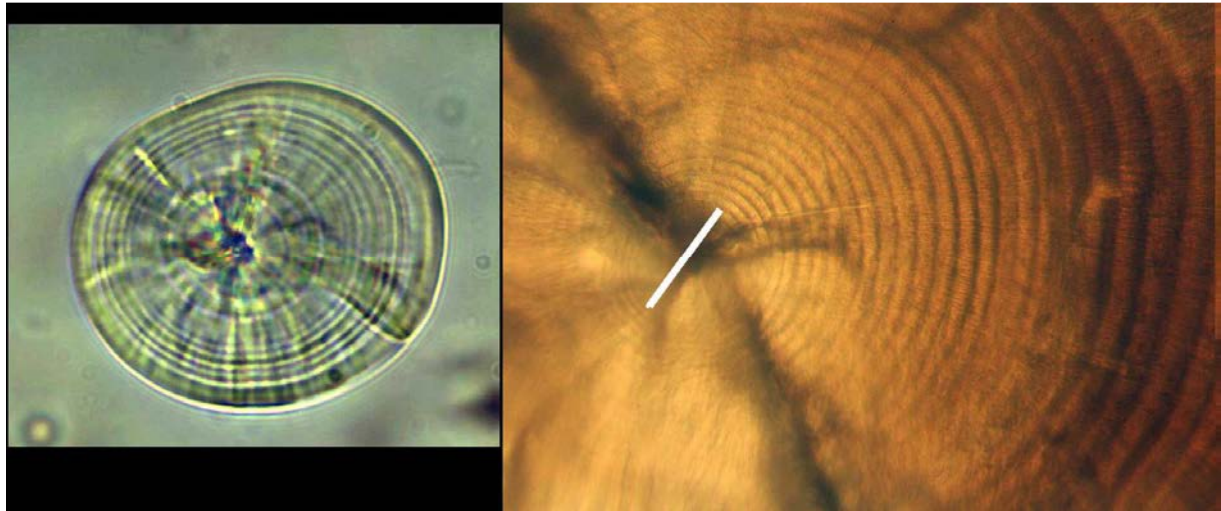


Figure 5. (Left panel) Known-age larval anchovy otolith showing many daily growth increments. (Right panel) Known-age juvenile anchovy otolith annotated with a line of the same length as the diameter of the larval otolith on the left. No increments are visible within the marked diameter, even though they must be present. The measured radius along this line was used in conjunction with an age-otolith radius relationship based on known-age larvae to estimate how many unresolved increments should have been present inside of the first visible increment in juvenile otoliths.

The equation describing the exponential regression fit to the otolith radius-age data (Fig. 4) was then used to estimate how many daily increments should have been visible in the otolith radius measured on the image (Contreras and Rodriguez (unpublished)). The resulting estimate of the number of unresolved increments (generally between 7 and 15) was then added to the increment count to arrive at a total estimated age (Table 1). This total estimated age closely matched the actual age of the juvenile (Fig. 6).

Table 1. Increment counts of 5 known-age juveniles as determined through the microscope. Also shown are the increment counts from participant SC as determined from images, the number of increments estimated to have been present before the first visible increment (from Fig. 4), and the total resulting estimated age for SC.

TOTAL													Estimated "unseen"	SC Photo	TOTAL SC
ID	Código	Hatch date	Catch date	Known Age	SC	AT	GM	MG	CR	FC	GP	JC			
10	Vaja 111011 -ancho 10	04/08/2011	11/10/2011	68	66	59	63	66	65	57	63	54	7.5	64	71.5
13	Vaja 181011 -ancho 13	04/08/2011	18/10/2011	75	63.5	62	59	60	65	62	76	56	11	62	73
18	Vaja 251011 -ancho 18	04/08/2011	25/10/2011	82	74	64	70	70	67	68	73	68	9.5	70	79.5
23	Vaja 011111 -ancho 23	04/08/2011	01/11/2011	89	84	74	75	75	79	78	73	67	7.5	80	87.5
34	Vaja 151111 -ancho 34	04/08/2011	15/11/2011	103	90	83	87	86	75	81	91	76	15	91	106

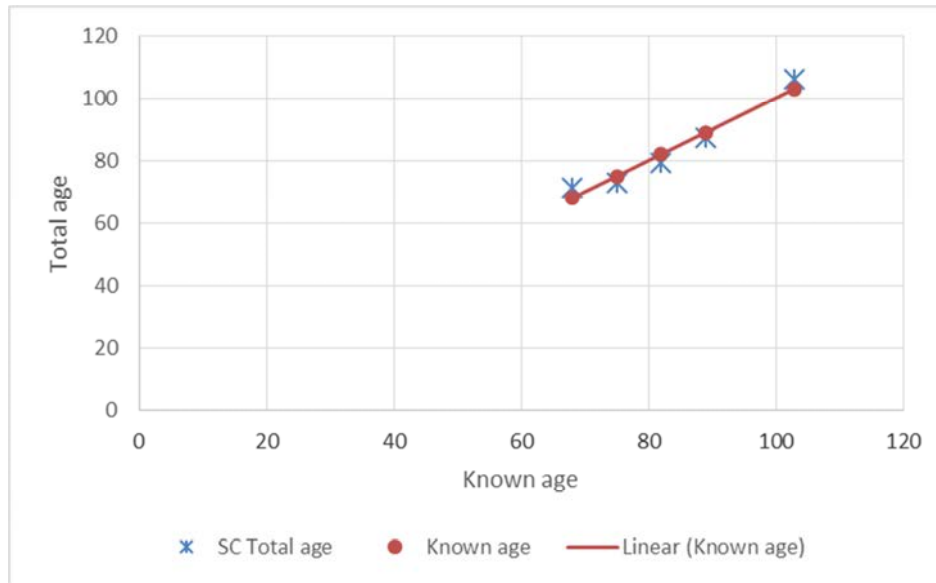


Figure 6. Relationship between increment count and known age for one juvenile otolith which was aged from an image, and where the estimated number of unseen increments was added to the increment count to derive a total age. The 1:1 line is shown as a solid line.

The steepness of the otolith-age exponential regression affects the number of predicted number of unresolved increments within a given otolith radius, with slower growth producing more unresolved increments. The growth rate of the known-age anchovy larvae was very similar to that measured in wild fish, suggesting that the fitted curve should apply equally well to both the reared and wild fish. However, growth rate variations across years are inevitable. Sensitivity analyses demonstrated that a $\pm 20\%$ variation in growth rate resulted in only a 0-3 day difference in the estimated number of unresolved increments for a given otolith, indicating that the adjustment for unresolved increments was not particularly sensitive to growth rate.

A consensus interpretation of two known-age juvenile otoliths by workshop participants was carried out without knowledge of the true age of the fish (Figs. 7 and 8). After age adjustment for unresolved increments around the core, the workshop ages were virtually identical with the true ages of the fish, differing by less than 1-3%. In each case, the transition zone was interpreted as consisting of broad, split increments (eg- GBR). IMR interpretation of the otoliths in Figs 7-8 would have produced ages that exceeded the actual age by 15-20% once adjusted for unresolved increments. Although samples collected before Age 52 days would have been helpful in rejecting IMR interpretation, the workshop results clearly indicated that the GBR interpretation was the correct one.

It is worth noting that age estimates of sub-adult, large juvenile anchovy differed by only about 15-30 days between GBR and IMR interpretations; this discrepancy is not nearly enough to invalidate the conclusion that anchovy juveniles of about 10 cm in length are less than 1/3 year of age, no matter which interpretation is used.

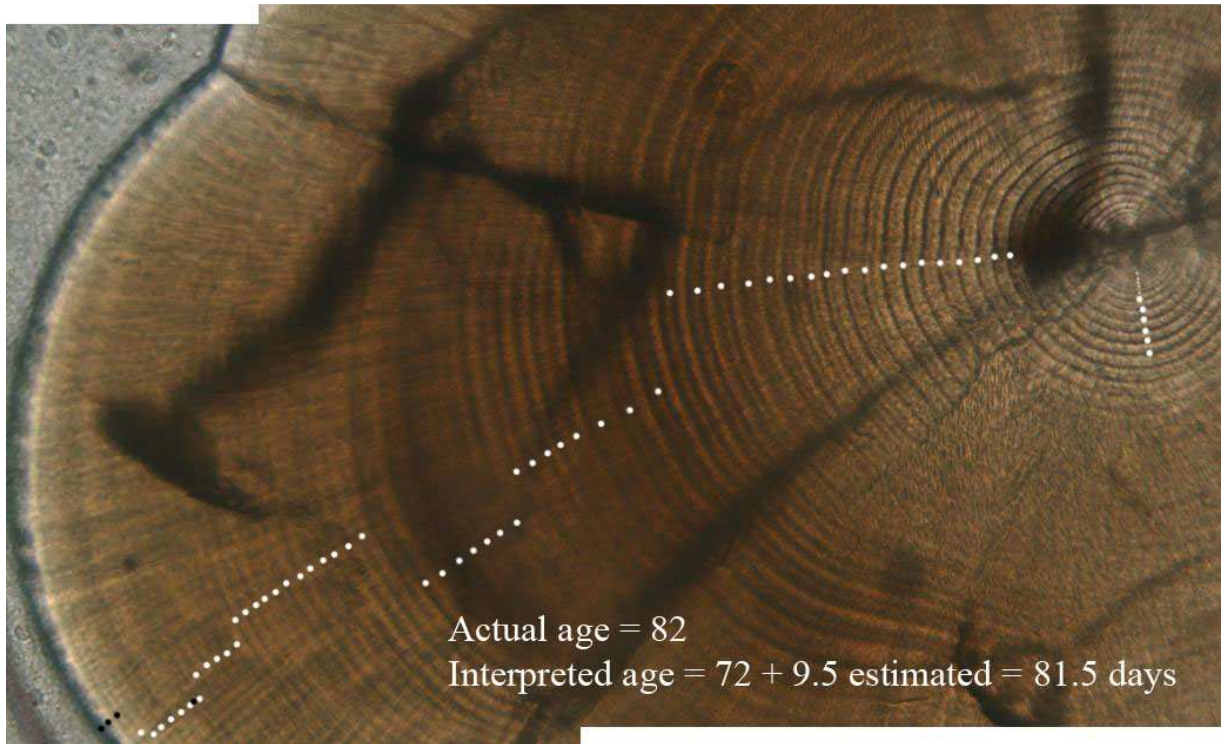


Figure 7. Annotated daily growth increments corresponding to GBR interpretation in an 82-day known-age juvenile anchovy otolith. The interpreted age was virtually identical to the known age once adjusted for unresolved increments around the core.

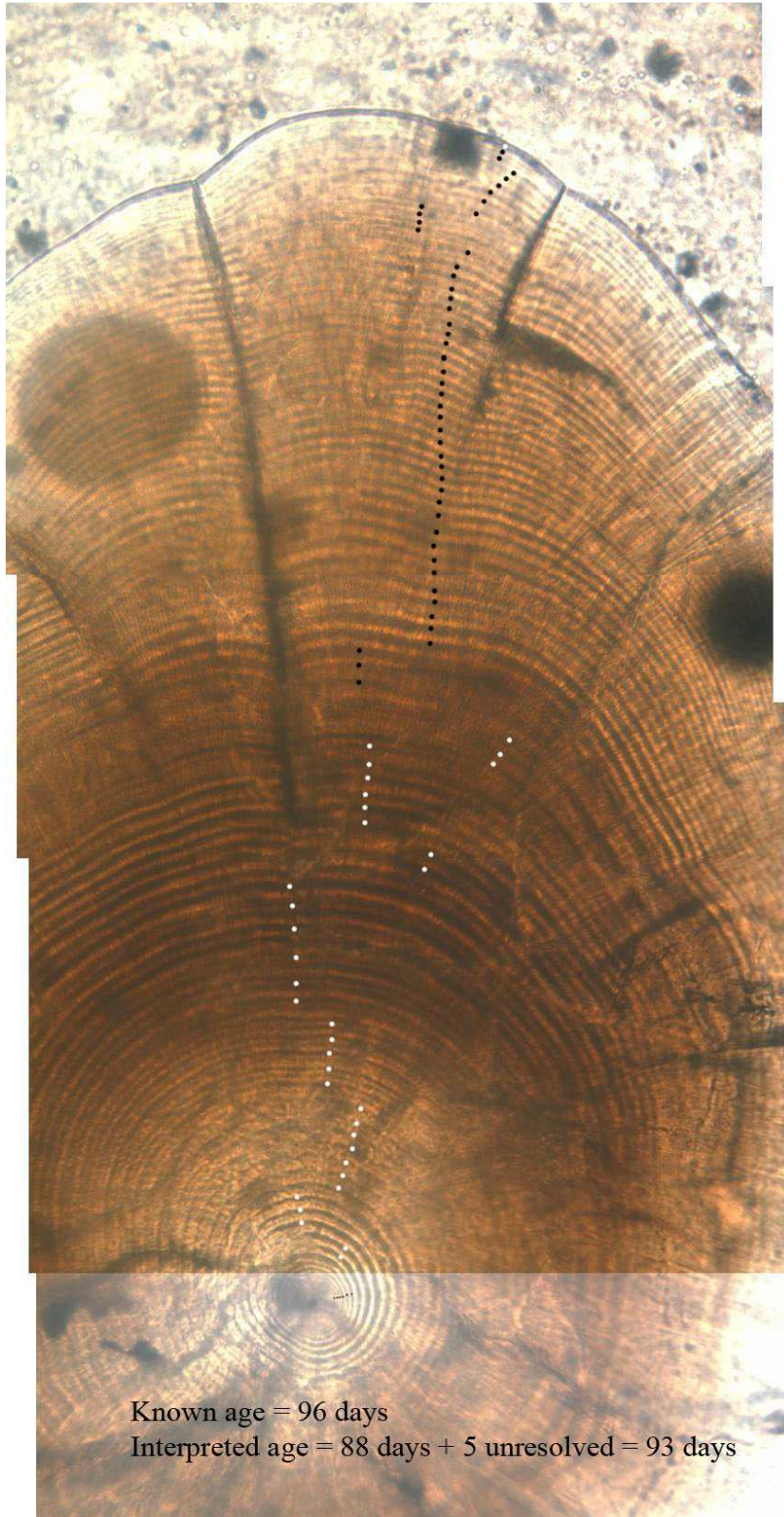


Figure 8. Annotated daily growth increments corresponding to GBR interpretation in a 96-day known-age juvenile anchovy otolith. The interpreted age was very similar to the known age once adjusted for unresolved increments around the core.

In summary, the workshop review of known-age juvenile anchovy otoliths reared under quasi-natural conditions indicated that young anchovy could be aged both accurately and precisely using otolith microstructure. Interpretation of the sometimes-ambiguous transition zone indicates that the daily increments in that zone grow quickly with considerable splitting and/or subdaily increments. Such an interpretation is consistent with GBR interpretation; IMR interpretation resulted in age over-estimation. Although anchovy otoliths probably begin to deposit daily increments around 3 days after hatch, the increments are narrow and almost impossible to resolve once the otolith thickens in the juvenile stage. Otolith-specific age adjustments of 7-15 days must be made with a known-age age-otolith radius relationship, as has been described for other small pelagic fish species.

Review of Wild Juvenile Otolith Samples

Given the age determination accuracy demonstrated in the analysis of the known-age juvenile anchovy, and in light of the very similar microstructure and apparent growth rates between the wild and reared fish, wild juvenile otoliths were interpreted and aged in the same manner as the known-age juveniles (i.e. GBR interpretation). The representative otolith shown in Fig. 9 came from an 11.5 mm TL fish, and was interpreted as about 136 days without adjustment for unresolved increments around the core (~151 days with adjustment). The precision of the ages across all workshop participants was 7.3% when the otolith was interpreted through the microscope, and 9.9% when interpreted from images. Interpretation of the outer region of a second otolith gave a CV of 6.8%, indicating that the narrow increments around the core are the source of some imprecision. All of these precision estimates are considered slightly better than average (Campana 2001).

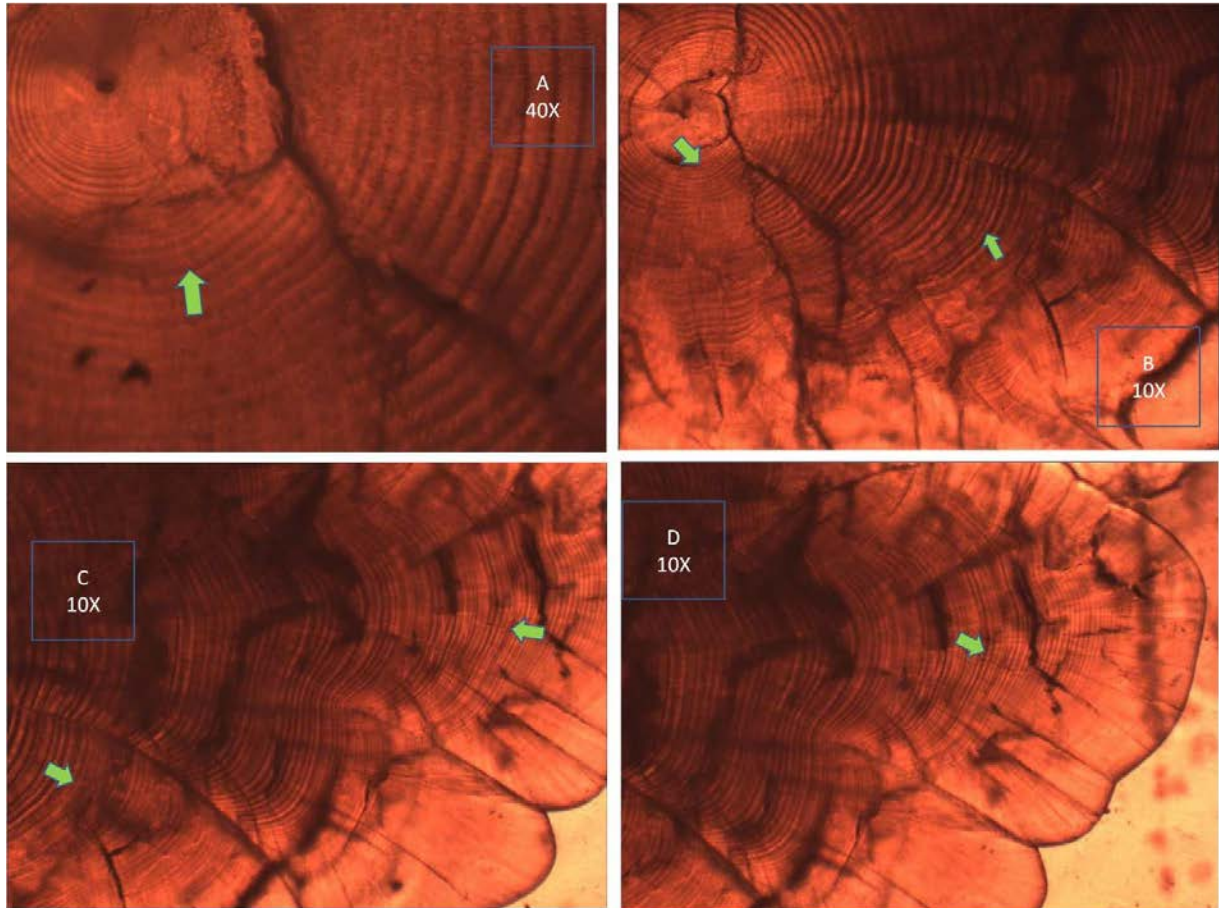


Figure 9. Image of a wild juvenile anchovy otolith which was aged at about 136 days both under the microscope and from this image.

In summary, wild juvenile anchovy otoliths can be read both accurately and precisely to an age of at least 136 days and a length of about 11.5 mm.

Review of Adult Otolith Samples

The preparation and daily interpretation of adult otoliths is challenging in virtually all fish species. In the case of anchovy, the preparations were very good for their size. The daily growth increment sequence appeared to be continuous from the core to the otolith edge, but there were a few discontinuities in the outer half of the growth sequence which left open the possibility of a growth interruption. By comparison with other species, these growth discontinuities did not appear to be strong. Nevertheless, some growth discontinuities mark periods of zero otolith growth, and since the duration of the growth interruption cannot be determined, it is possible that the daily increment ages of the adult otoliths were underestimated. Independent age determinations of a couple of the adult otoliths by SC gave daily ages which were ~20-40% greater than the mean values of ~200 days determined previously.

All of the adult otoliths were prepared so as to optimize increment counts out to the anti-rostrum, which was the most easily viewed axis. However, this axis is also a relatively short growth axis,

leaving open the possibility that more growth increments would have been counted along a different, longer growth axis.

It will be impossible to confirm the accuracy of the adult age composition, either daily or annual, without age validation. The otolith 'annuli' used for stock assessment ageing looked unconvincing and unlike annuli visible in other small pelagic fish species, including southern sardine. Examination of catch at age figures in the most recent Chilean stock assessment report did not show the tracking of strong cohorts across years such as would be expected of accurate annular ageing. However, it would be premature to conclude that the daily age determinations of the adults are correct until proper age validation is completed. In the interim, several proxy measures of ageing accuracy were considered, as mentioned below.

Struhsaker and Uchiyama (1976) estimated the age of adult Hawaiian fishes by measuring the width of clear daily growth increments at intervals along an otolith growth axis, and then scaling the daily widths to the overall radius of the otolith to infer daily age. A comparable approach applied to the long axis (post-rostrum) one of the adult anchovy otoliths (TL = 15 cm) yielded an age estimate of 378 days; this age estimate is quite close to the age range of 200-350 days determined in other 15 cm anchovy. However, this approach assumes that the daily increment sequence is continuous (without growth interruptions) and that the width of the measured increments is comparable to those that are interpolated. Violations of these assumptions would tend to make the age somewhat older.

A second form of age corroboration is to generate daily hatch date distributions for juvenile fish, and to compare them with the corresponding hatch date distributions of the same cohort when they are adults. If the daily ageing is accurate, and assuming no major date- or age-selectivity, the two hatch date distributions should be comparable. This approach is explored further in the next section.

Finally, and perhaps most convincingly, parallel stock assessments of the same base data can be carried out using the annuli-based ages and the daily increment-based ages. Almost certainly, the correct age interpretations will result in a much more credible stock assessment, with a better fit to all data sources, than will one based on incorrect ages.

In summary, it was not possible to evaluate the accuracy of either the annuli or the daily growth increments in adult anchovy. The available evidence suggested that the daily increment sequence provides a more reliable indicator of age, and that the adults are mainly about one year old. However, further research will be required to confirm this.

Hatch date analysis

If the daily age determinations are reasonably accurate, the daily age can be subtracted from the date of collection (corresponding to the edge of the otolith) to calculate the exact date of hatch. In general, the resulting frequency distribution of hatch dates should reflect spawning production, either from egg surveys or trends in the gonadosomatic index. The accuracy of the hatch date distribution can be improved for mortality rate after hatch, which would otherwise tend to emphasize young fish in the collection (which have had less time to die) compared to

older fish (which have had more time to die). Mortality-corrected hatch date distributions are normally used to determine spawning times and infer spawning locations (Campana and Jones 1992). However, they can also be used as an indirect assessment of ageing accuracy, when the hatch date distributions of juveniles are compared to that of the adults from the same cohort; if the ageing is inaccurate, the hatch date distributions will not coincide. In the case of the anchovy, where the juvenile ages are known to be correct, a flat hatch date distribution in the adults would suggest that the adult ageing was in error by more than a few months.

The raw hatch date distributions of 285 wild anchovy juveniles collected in 2009-2010 is shown in Fig. 10a. Two modes of larval production are clearly visible. There are no published estimates of instantaneous mortality rate in juvenile anchovies with which to do mortality corrections of the hatch date distribution, so mortality rate was approximated with a coarse catch curve analysis. Mean daily growth rate between the age of 100 and 200 days was estimated as about 0.19 mm/day from the unpublished data in Plaza and Cerna. A similar growth rate appears to apply through to the adult stage. The length frequencies in the commercial catch data (Cerna, unpublished) shows that the numbers at length begin to decline at 15 cm. On the basis of the daily growth rate noted above, it would take about 100 days to grow from 15 to 17 cm. Therefore, using the 2009-2010 annual commercial length frequencies, the natural log transformed numbers at lengths 15 and 17 cm were calculated. The slope of that decline in numbers over a 100 day period is the total instantaneous mortality rate, Z . Therefore, a Z value equal to 0.03 was used in the mortality correction for the juveniles. The attached Excel worksheet 'mortality corrected hatch dates. xlsx' shows the details of the mortality correction.

The mortality-corrected hatch date distribution of the juveniles shows the same bimodal pattern as that of the raw hatch dates, although the relative size of the mode in Jan-Mar is emphasized (Fig. 10b).

The hatch date distribution can also be skewed by catch dates of sample that are unrepresentative of that of the population. Therefore, the mortality-corrected hatch date distributions were weighted by the relative length frequencies of juveniles (<12 cm TL) by month in the commercial length frequency (ln-transformed). The resulting catch-weighted, mortality-corrected hatch date distribution of juveniles is similar to that without catch weighting or mortality correction in that two modes – spring and fall – are clearly visible (Fig. 10c).

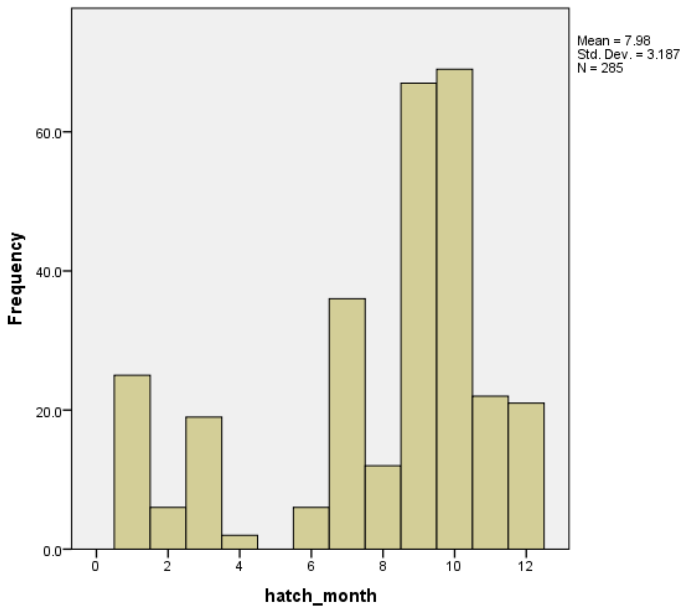


Figure 10a. Uncorrected juvenile hatch date distribution

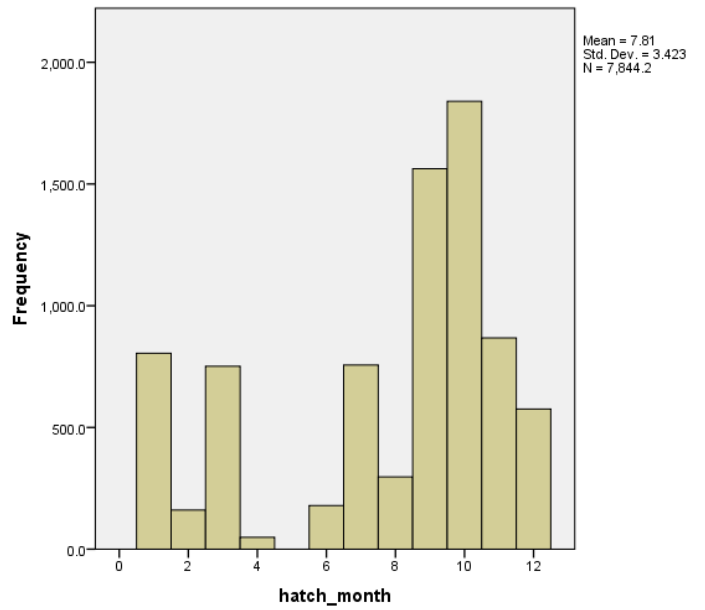


Figure 10b. Mortality-corrected juvenile hatch date distribution

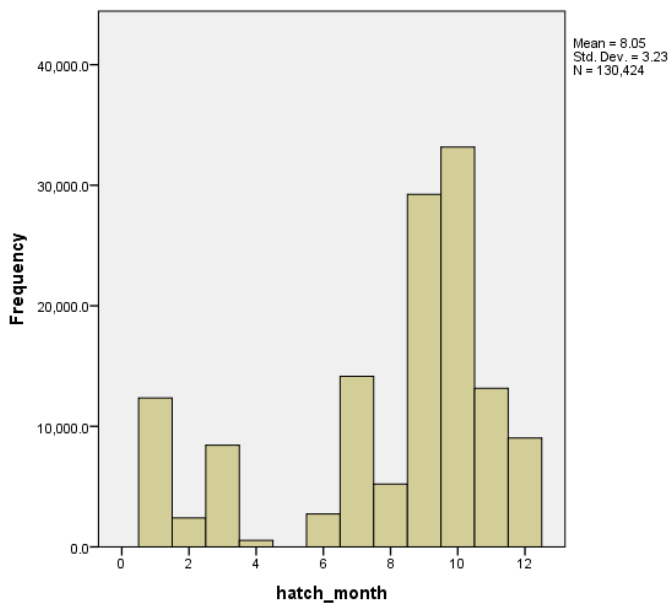


Figure 10c. Catch-weighted and mortality-corrected juvenile hatch date distribution

A comparison of the hatch date distributions with the GSI monthly index shows good correspondence (Fig. 11). In principle, the hatch date distribution should be extended to earlier dates by including the duration between spawning and egg hatch. But in the case of anchovy, this period is only a few days and makes no visible difference to the correspondence.

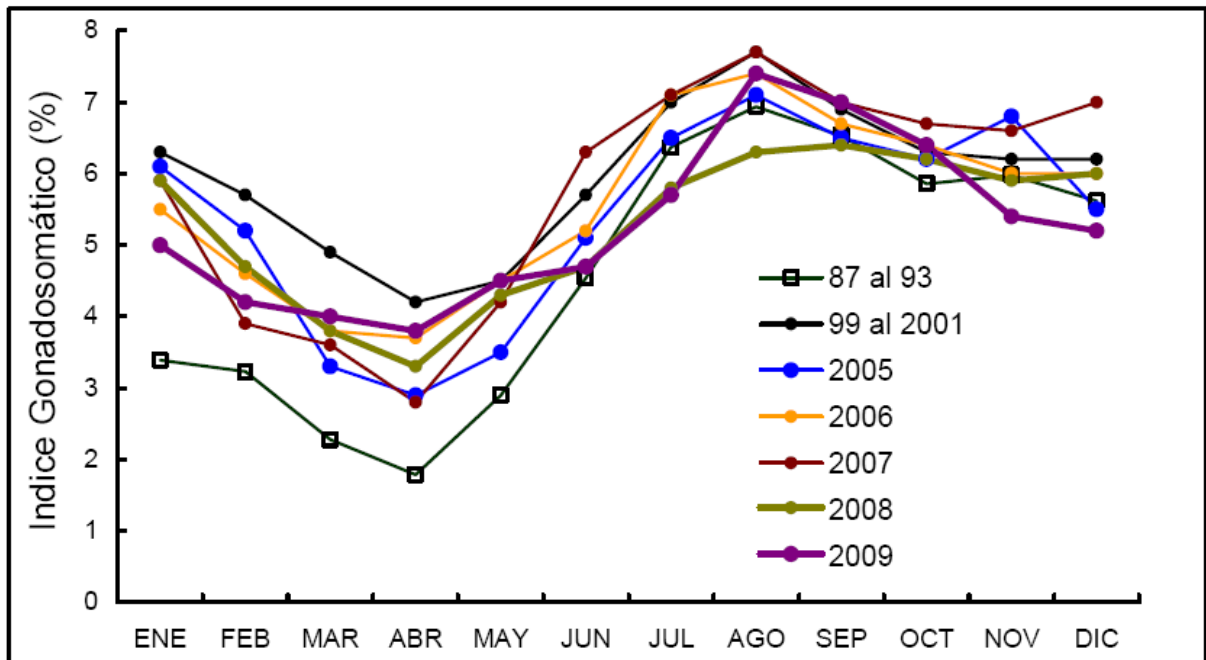


Figure 11. Monthly pattern in GSI (from Bohm et al 2010) shows good correspondence with the juvenile hatch date distribution

The age distribution of the adults is shown in Fig. 12. Unlike the case with the juvenile hatch date distribution, mortality correction does not make sense for the adults; the age distribution covers much of the year. Indeed, hatch date distributions for anchovy <250 days old and >250 days old were similar, indicating that mortality correction would not substantially affect the result.

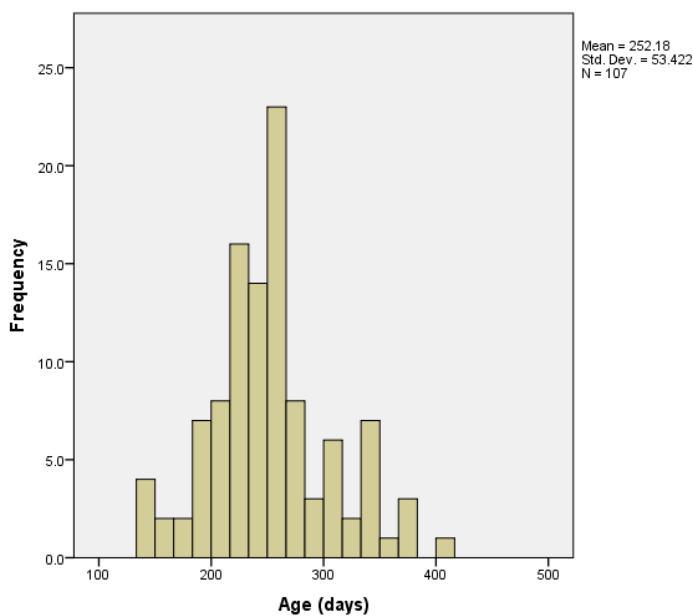


Figure 12. Daily age distribution of adult anchovy

The catch-weighted hatch date distribution of the adult anchovy was bimodal, and broadly similar to that of the juveniles (Fig. 13). The similarity supports the implication that the daily ages of the adults are approximately correct, plus or minus a couple of months. Daily ages that had no relationship with true age would have produced a flat hatch date distribution. It must also be noted that the adult samples were drawn both from 1982 and 2009-2010, which could have confounded the pattern.

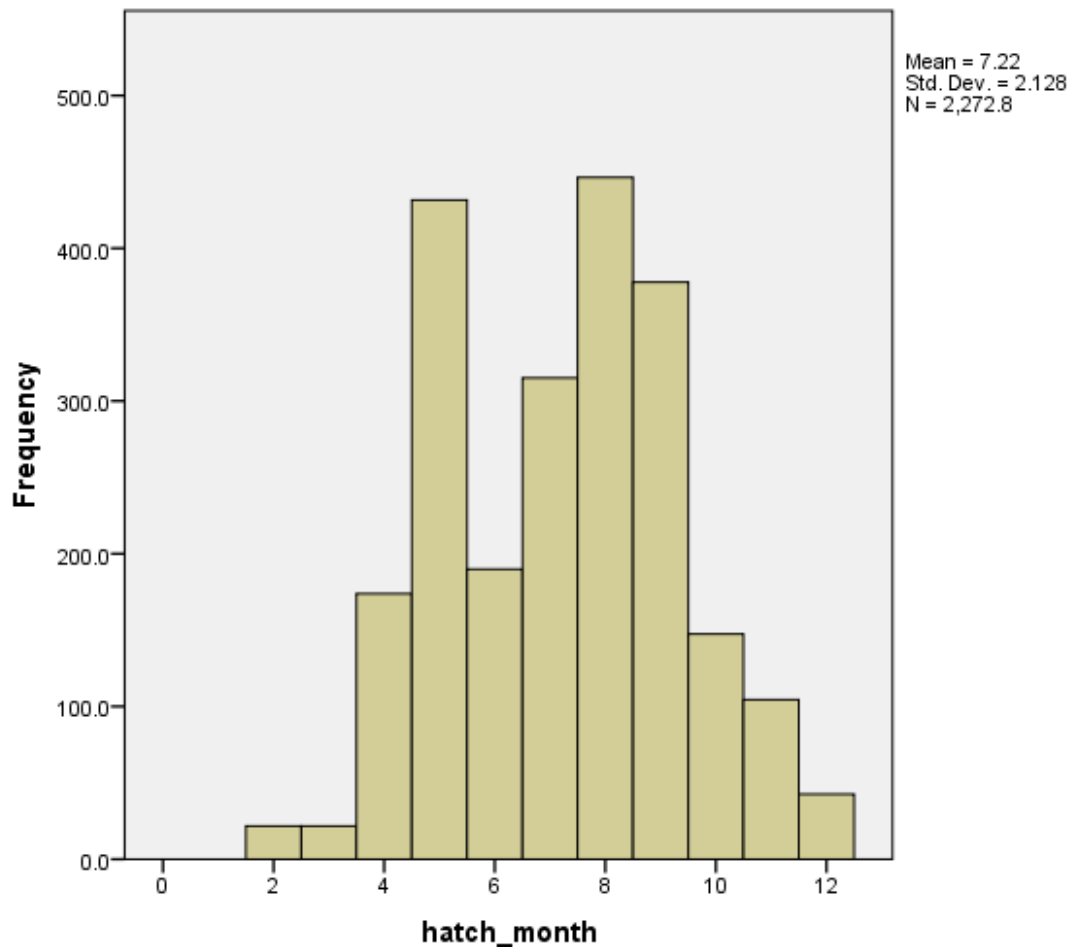


Figure13.. Catch-weighted hatch date distribution of adult anchovy

In summary, the hatch date distributions of the juveniles showed that most hatched in Jan-Mar and July-Dec, which is a bimodal distribution almost identical to that shown by the gonadosomatic index. This result is further confirmation of the accuracy of the juvenile age determinations. The hatch date distribution of the adult anchovy was also bimodal, but with peaks in May and July-Sept. The fact that the adult hatch dates were not uniformly distributed across the year indicates that there was information in the adult ages. However, the difference in peak months between adult and juvenile hatch dates suggests either that the adult ages were not as accurate, or that the combination of 1982 and 2009 samples confounded the pattern, or both. Although the adult hatch dates may be considered encouraging, they are not strong enough to either confirm nor reject the validity of the conventional annulus-based ageing.

CONCLUSIONS

The otolith preparation protocol applied by the Chilean researchers produced polished samples of equivalent quality to those developed by expert international laboratories. The otolith imagery might have benefitted from the consistent use of 10-bit cameras, and from the use of a 40X objective in regions of very narrow increments. However, the difference in age estimates would have been small, and would not have affected any conclusions from previous Chilean projects or this workshop. The interpretation criteria applied to the anchovy otoliths was of high quality and in keeping with international standards.

The workshop review of known-age juvenile anchovy otoliths reared under quasi-natural conditions confirmed that young anchovy could be aged both accurately and precisely using otolith microstructure. Interpretation of the sometimes-ambiguous transition zone indicated that the daily increments in that zone grew quickly with considerable splitting and/or subdaily increments. Such an interpretation is consistent with GBR interpretation; IMR interpretation resulted in age over-estimation. Although anchovy otoliths probably begin to deposit daily increments around 3 days after hatch, the increments are narrow and almost impossible to resolve once the otolith thickens in the juvenile stage. Otolith-specific age adjustments of 7-15 days must be made with a known-age age-otolith radius relationship, as has been described for other small pelagic fish species.

Some previous published studies of anchovy otolith microstructure appear to have been incorrect, since they lacked known-age fish reared outside under natural conditions as a check on their ageing accuracy. Indeed, a previous publication by Plaza and Cerna (2014) can now be updated to report that ageing accuracy is much better than previously indicated, because of the workshop findings on narrow increments around the otolith core.

Wild juvenile anchovy otoliths can be read both accurately and precisely to an age of at least 136 days and a length of about 11.5 mm. There is no doubt about the relative accuracy of the juvenile age determinations.

It was not possible to evaluate the accuracy of either the annuli or the daily growth increments in adult anchovy. The available evidence suggested that the daily increment sequence provides a more reliable indicator of age than do the presumed annuli, and that the adults are mainly about one year old. However, further research will be required to confirm this.

The hatch date distributions showed that most juveniles hatched in Jan-Mar and July-Dec, which is a bimodal distribution almost identical to that indicated by the gonadosomatic index. This result is further confirmation of the accuracy of the juvenile age determinations. The hatch date distribution of the adult anchovy was also bimodal, but with peaks in May and July-Sept. The fact that the adult hatch dates were not uniformly distributed across the year indicates that there was information in the adult ages. However, the difference in peak months between adult and juvenile hatch dates suggests either that the adult ages were not as accurate, or that the combination of 1982 and 2009 samples confounded the pattern, or both. Although the adult hatch dates may be considered encouraging, they are not strong enough to either confirm nor reject the validity of the conventional annulus-based ageing.

RECOMMENDATIONS FOR FUTURE RESEARCH

- Compare increment counts in sagittae and lapilli of the same juvenile fish. If the results are comparable, explore the use of the lapillar daily increment sequence for age determination in adult anchovy, since its small size may improve both the technical preparation and ease the subsequent interpretation
- Compare increment counts along different transects in adult otoliths to determine if the anti-sulcus growth axis (which is relatively short) is providing a similar age result to the longer post-rostral growth axis
- Annotate the remainder of the known-age juvenile otoliths using layers in Photoshop (or equivalent), and retain the imagery for use as a reference collection for subsequent training and testing
- As an unequivocal test of the GBR interpretation of the transition zone, carry out a similar age validation study of known-age fish reared under quasi-natural conditions, but sample the larvae for their otoliths at 5-day intervals right from the time of hatch. This will not only confirm the presence of narrow increments around the core, but also can be used to completely reject the IMR interpretation of the transition zone
- Validate the formation of a continuous sequence of daily growth increments in adult anchovy otoliths over an extended period of time, in adult fish of varying sizes.
- Carry out parallel stock assessments of the northern Chile anchovy stock using the same base and catch data, but with one assessment based on daily ages and the other based on the presumed annular ages. The relative fit to the assessment model will provide a good indication of the most accurate method of age interpretation

REFERENCES

- Aldanondo, N., Cotano, U., and Etxebeste, E. (2011). Growth of young-of-the-year European anchovy (*Engraulis encrasicolus*, L.) in the Bay of Biscay. *Scientia Marina* **75**, 227-235.
- Basilone G, Patti B, Mazzola S, Cuttitta A, Bonanno A, Sposito P, Kallianiotis A (2000). Growth of the European anchovy (*Engraulis encrasicolus*) in the Strait of Sicily. MedSudMed Technical Documents No.5. 79-89.
- Campana, S. E., J.A. Gagne and J. Munro. 1987. Otolith microstructure of larval herring (*Clupea harengus*): image or reality? *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 44:1922-1929.
- Campana, S.E. and C. Jones. 1992. Analysis of otolith microstructure data. P. 73-100. In: D.K. Stevenson and S.E. Campana [eds]. *Otolith microstructure examination and analysis*. *Can. Spec. Publ. Fish. Aquat. Sci.* 117.
- Campana, S.E. 1992. Measurement and interpretation of the microstructure of fish otoliths. P. 59-71. In: D.K. Stevenson and S.E. Campana [eds]. *Otolith microstructure examination and analysis*. *Can. Spec. Publ. Fish. Aquat. Sci.* 117.

- La Mesa, M., Donato, F., Giannetti, G., and Arneri, E. (2009). Growth and mortality rates of European anchovy (*Engraulis encrasicolus*) in the Adriatic Sea during the transition from larval to juvenile stages. *Fisheries Research* **96**, 275-280.
- Vidal-Talamantes R (1991). Variations in the age composition of catch of anchovy (*Engraulis mordax*) and alternatives for the management of the resource. *Ciencias Marinas* Vol. 17, No. 3, pp. 73-89.
- Waldron, M.E. (1994). Validation of annuli of the South African anchovy, *Engraulis capensis*, using daily otolith growth increments. *ICES Journal of Marine Science* **51**, 233–234.



ANEXO 9.4: TALLER DE IMPLICANCIAS

INFORME DEL TALLER

“ESTADO DE SITUACIÓN Y PERSPECTIVAS DE LA EVALUACIÓN DE STOCK DE LA ANCHOVETA *Engraulis ringens*, EN UN ESCENARIO DE CRECIMIENTO SOMATICO ACELERADO”.

FIP 2014-31

“Revisión experta de la estimación y asignación de edad de la anchoveta XV-II región”

Organizadores:

Guido Plaza Pasten

Escuela de Ciencias del Mar, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso (PUCV).

Francisco Cerna Troncoso

División de Investigación Pesquera, Instituto de Fomento Pesquero (IFOP).

Valparaíso, 16 junio del 2016



INTRODUCCIÓN

La anchoveta de la zona norte es un recurso compartido con el Perú puesto que constituye una unidad de stock que se distribuye entre 16°S y 24°S, zona geográfica que contiene las pesquerías del sur del Perú y del norte de Chile.

Debido a que surgieron dudas sobre la estimación de la edad de la anchoveta del norte de Chile (XV-II regiones) se han realizado durante los últimos años dos proyectos de investigación orientados a la revisión de los criterios para la determinación y asignación de la edad, y la validación de los micro-incrementos primarios. Los resultados obtenidos en el primer proyecto mostraron una alta tasa de crecimiento en juveniles, cuando se utilizaron criterios de estimación de micro-incrementos diarios. En un segundo proyecto quedó demostrada la periodicidad diaria de los micro-incrementos primarios empleados en el proyecto inicial, confirmando además la alta tasa de crecimiento de juveniles ($< 11,5$ cm LT) la cual se mantiene en ejemplares adultos ($\geq 11,5$ cm LT). Utilizando estos resultados se obtuvieron nuevas estimaciones para la tasa de crecimiento la que alcanza un valor de K del orden de 1,3 (año^{-1}) que es extraordinariamente alto. Por otra parte estudios de longitud media de madurez determinan que esta se alcanza a los 11,5 cm LT para la anchoveta del norte, tamaño que coincide con especies del género *Engraulis* en otras regiones del mundo y que correspondería al primer año de vida según estudios realizados sobre estas otras especies (Butler 1989; Waldron et al. 1992), validados también con la técnica de anillos diarios y no a 5-6 meses según el estudio en discusión para la anchoveta del norte de Chile. Esta inconsistencia entre fuentes información y el impacto que las nuevas estimaciones de K tienen en los niveles de mortalidad natural y en la dinámica del recurso, crea la necesidad de llevar a cabo una revisión que busque la consistencia entre distintas piezas de información biológica y de esta forma tender a clarificar la dinámica de la anchoveta de la XV-II Regiones.

El crecimiento y longevidad de la anchoveta son elementos fundamentales en la evaluación de stock, pues estos definen el valor de la mortalidad natural, el patrón de explotación y con ello la escala de los reclutamientos. Sin lugar a dudas estas variables son relevantes a la hora de establecer el diagnóstico de su condición virginal y esta situación será considerada en la evaluación



de stock.

OBJETIVO

El taller tuvo como objetivo proveer una instancia de discusión y análisis sobre el estado actual del conocimiento sobre edad y crecimiento de anchoveta *Engraulis ringens* de la zona norte de Chile, en función de los resultados emanados del Taller de Expertos internacionales, con el fin de proveer una primera aproximación de la evaluación de stock con la información de edad y crecimiento a nivel diario, en un escenario de crecimiento acelerado.

La idea central de este taller es discutir las implicancias del crecimiento y los resultados y los cambios que debieran introducirse en la evaluación del stock y el manejo del recurso.

RESULTADOS

En este Taller se hicieron las siguientes presentaciones:

- Resultados los proyectos de edad de anchoveta.
- Resultados del Taller de expertos internacionales en edad de anchoveta.
- Resultados de la Evaluación de stock ante el nuevo escenario de crecimiento de anchoveta.

Resultados los proyectos de edad de anchoveta

La primera presentación dio cuenta de los resultados alcanzados en los proyectos de investigación realizados hasta la fecha, correspondientes a la revisión de los criterios de lectura de anchoveta (FIP 2009-17) y la validación en exactitud de la micro-estructura y macro-estructura del otolito sagita (SEBPESCA 4728-31 LP 11). Ambos proyectos muestran la existencia de un rápido crecimiento individual durante la etapa juvenil que se proyecta hasta los ejemplares adultos. Esto genera una inconsistencia entre la lectura tradicional de macro-anillos y la lectura de microincrementos diarios, que muestra una subestimación de la edad al utilizar el primero de estos métodos. Este nuevo escenario de crecimiento muestra un cambio significativo en los parámetros de crecimiento y sugiere una probable menor longevidad de la anchoveta de la zona norte, o al menos por efecto de la pesca,



una población en la que cohabitan peces reclutas y de un año de edad, siendo poco probable o inexistente la presencia de peces de dos años y más.

Se mostraron también ajustes de crecimiento estacional para las cohortes de invierno-otoño, primavera-verano y anual, derivados de la información recopilada en el actual proyecto en ejecución (FIP 2014-31) y proyectos previos (**Ver Anexo**).

Resultados del taller de expertos internacionales en edad de anchoveta

La segunda presentación dio cuenta de los resultados alcanzados en el taller de expertos internacionales realizado en diciembre del 2015 y que corresponde a una de las actividades del proyecto FIP 2014-31 en actual ejecución (**Ver Anexo**).

Los evaluadores externos entregaron las siguientes opiniones y recomendaciones:

- El protocolo de preparación de otolitos aplicado por investigadores chilenos que produce muestras pulidas, es de equivalente calidad a la desarrollada por laboratorios expertos internacionales.
- Los criterios empleados en la interpretación de anillos diarios en otolitos de anchoveta son de alta calidad y siguen los estándares internacionales.
- Otolitos de juveniles de anchoveta del medio natural se pueden leer con exactitud y precisión a una edad de al menos 136 días y una longitud aproximada de 11,5 cm. No hay duda acerca de la exactitud relativa de las determinaciones de edad juvenil.
- La evidencia disponible sugiere que la secuencia de microincrementos diarios proporciona un indicador más confiable de la edad que la lectura de los presuntos *annuli*.
- La distribución de fechas de eclosión muestra un patrón casi idéntico que el índice gonadosomático. Este resultado es una confirmación adicional de la exactitud de la determinación de edad de juveniles.
- La distribución de fechas de eclosión de la anchoveta adulta se diferencian en los meses pico de las fechas de eclosión juveniles. Esto sugiere que o bien las edades adultas no son



tan precisas, o que la combinación de muestras de 1982 y 2009 confunden el patrón, o ambos. Aunque las fechas de eclosión de adultos pueden considerarse prometedoras, no son lo suficientemente fuertes para confirmar ni rechazar la validez de la estimación de edad anual convencional.

- Se recomienda comparar el conteo de micro-incrementos de un mismo pez en otolitos *sagitta* y *lapillus*, ya que este último tipo de otolito es de fácil interpretación.
- Validar la formación de una secuencia continua de incrementos diarios en anchovetas adultas durante un periodo de tiempo extenso y variedad de longitudes.
- Realizar en paralelo la evaluación de stock de la anchoveta de la zona norte de Chile, usando la misma base de datos de captura a la edad, derivada de edades en días y otra evaluación basada en la edad anual de los presuntos *annuli* (método tradicional). El ajuste en relación con el modelo de evaluación proporcionará un buen indicativo del método más preciso de determinación de edad.

Resultados de la Evaluación de stock ante el nuevo escenario de crecimiento de anchoveta

Se realizó una presentación referido al impacto que genera el nuevo escenario de crecimiento rápido, parámetros de crecimiento, en la evaluación de stock de la anchoveta de la zona norte.

Utilizando los nuevos parámetros de crecimiento del modelo de von Bertalanffy tradicional, a saber: $L_{\infty}=19,3$ cm, $k=1,3$ y $t_0=-0,28$, se reestimó la mortalidad natural, ensayando distintas ecuaciones empíricas (**Tabla 1**).

Considerando el actual modelo de evaluación de stock, que se basa en una dinámica de tiempo semestral que incluye: la serie de desembarques, composición de tallas e índices de abundancia de Chile y Perú, se procedió a explorar el impacto de los nuevos parámetros de crecimiento de vB y la mortalidad natural sobre las variables de respuesta del modelo como son la biomasa desovante, biomasa total, la serie de reclutamientos, mortalidad por pesca y biomasa desovante en relación a sus referencias del rendimiento máximo sostenido (RMS).

Tabla 1. Estimaciones de la mortalidad natural a través de distintos modelos empíricos basado en los nuevos parámetros de crecimiento de von Bertalanffy.

Método	Anchoveta	
	1	2
Rikhter y Efanov (1976)	2.78	
Pauly (1980)	1.74	
Taylor (1958,1960)	2.16	1.99
Hoening (1983)	2.16	2.14
Alverson y Carney (1975)	2.33	2.28
Alagaraja (1984)	2.33	2.30
Hewitt y Hoening (2005)	2.14	2.11
Promedio	2.26	2.17

(1) $T_{\max} = t_0 + \frac{3}{k}$

Los resultados presentados muestran que el cambio de los parámetros de crecimiento principalmente el aumento del coeficiente de crecimiento K, y a partir de esto el aumento de la mortalidad originan un re-escalamiento de las variables de respuesta en un aumento del reclutamiento y la biomasa total, y una disminución de la biomasa desovante (BD) asociada esta última al aumento de la mortalidad natural al doble de su valor original. La mortalidad por pesca (F) en relación con la mortalidad de referencia del RMS (F_{rms}) se mantiene, y la relación de la BD con la biomasa desovante de referencia aumenta debido al re-escalamiento de Biomasa virginal que aumenta en el nuevo escenario. En definitiva se concluye en esta presentación que pasamos de una reducción del stock era de 38% en este nuevo escenario de crecimiento individual la reducción de stock esta en torno al 58% (**ver Anexo**).

Se presenta también la posibilidad de aplicar métodos más simples empleados en especies de vida corta.

DISCUSIÓN

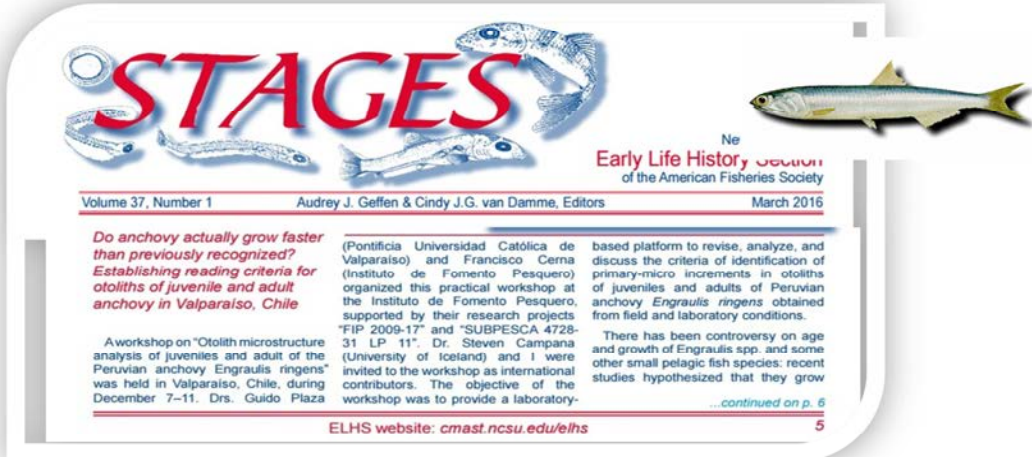
Algunos de los aspectos discutidos durante el taller se resumen a continuación:

- ❖ En el actual modelo se debiera probar también una dinámica en escala mensual o modificar el modelo talla-talla, porque a priori no se debería descartar el actual modelo y si es necesario hacerlo bajo que condiciones se haría.
- ❖ Es probable que el M más alto permita capturar de mejor forma la variabilidad de los índices como por ejemplo el MPH, lo cual también debiera explorarse.
- ❖ Una alternativa discutida fue la posibilidad de utilizar modelos más simples, comúnmente usadas en especies semélparas, como calamares, o especies de vida corta como en algunos invertebrados. Sin embargo, en estos modelos no se utilizaría la información de crecimiento individual, restando una pieza importante de información.
- ❖ En general los recursos con una clase de edad y media se deberían manejar de forma diferente. En este sentido se debiera construir una clave talla-edad con la información de la lectura en días, considerando por ejemplo grupos de edad de medio año, esto permitiría tener la variación de la talla con respecto a la edad en forma discreta.
- ❖ La forma de buscar como hacer operativo un modelo de evaluación de stock con este nuevo patrón de crecimiento y longevidad de la anchoveta de la zona norte, es a través de un estudio que permita probar las distintas alternativas de evaluación que incluyan una mesa de trabajo (talleres) en que se discutan los resultados e implicancias de estos nuevos modelos para el manejo.
- ❖ Se plantea que ante el nuevo escenario de crecimiento acelerado y reclutamiento variable de la anchoveta, es mandatorio tener indicadores alternativos, que se determinen de forma independiente al proceso de evaluación de stock tradicional. Estos indicadores podrían extraerse del monitoreo de aspectos biológicos, ecológicos y/o ambientales asociados a la historia de vida del recurso en sus estadios tempranos, con el fin de otorgar una señal anticipada de la fuerza de la clase anual.
- ❖ Desde la subsecretaría surge la preocupación por el nivel de desarrollo del objetivo específico “3.5” del proyecto “Evaluar las implicancias del crecimiento en la modelación poblacional del recurso” y se recomienda fortalecerlo en el informe pre-informe final.

ANEXO 9.5: TALLER DE DIFUSION DE RESULTADOS

PROYECTO FIP 2014-31

“Revisión experta de la estimación y asignación de edad de la anchoveta XV-II región”



STAGES
Ne
Early Life History Section
of the American Fisheries Society

Volume 37, Number 1 Audrey J. Geffen & Cindy J.G. van Damme, Editors March 2016

Do anchovy actually grow faster than previously recognized? Establishing reading criteria for otoliths of juvenile and adult anchovy in Valparaíso, Chile

A workshop on "Otolith microstructure analysis of juveniles and adult of the Peruvian anchovy *Engraulis ringens*" was held in Valparaíso, Chile, during December 7–11. Drs. Guido Plaza

(Pontificia Universidad Católica de Valparaíso) and Francisco Cerna (Instituto de Fomento Pesquero) organized this practical workshop at the Instituto de Fomento Pesquero, supported by their research projects "FIP 2009-17" and "SUBPESCA 4728-31 LP 11". Dr. Steven Campana (University of Iceland) and I were invited to the workshop as international contributors. The objective of the workshop was to provide a laboratory-

based platform to revise, analyze, and discuss the criteria of identification of primary-micro increments in otoliths of juveniles and adults of Peruvian anchovy *Engraulis ringens* obtained from field and laboratory conditions.

There has been controversy on age and growth of *Engraulis* spp. and some other small pelagic fish species: recent studies hypothesized that they grow

...continued on p. 6

ELHS website: cmast.ncsu.edu/elhs 5

Valparaíso, 26 de agosto de 2016

Organizadores

Guido Plaza & Francisco Cerna

Escuela de Ciencias del Mar
Pontificia Universidad Católica de Valparaíso
Instituto de Fomento Pesquero

1. OBJETIVO

Difundir los principales hallazgos derivados de la ejecución del proyecto FIP 2014-31 “.Revisión experta de la estimación y asignación de edad de la anchoveta XV-II región”

2. FECHA Y LUGAR DE REALIZACION

EL taller se llevó cabo el día viernes 26 de agosto de 2016, en la Sala Aula Media de la Escuela de Ciencias del Mar de la Pontificia Universidad Católica de Valparaíso.

3. PROGRAMA

Horario	PRESENTACION
9:30-9:35	Palabras de bienvenida. Director Escuela de Ciencias del Mar, PUCV. (Dr. Samuel Hormazábal)
9:35-9:45	Introducción al taller (Guido Plaza) Jefe de Proyecto
9:45-10:15	Presentación: Guido Plaza (PUCV) Introducción a los resultados derivados del Taller Internacional y recomendaciones emanadas de su desarrollo.
10:15-10:45	Presentación: Jorge Contreras (PUCV) Crecimiento larval y aspectos de historia de vida de la anchoveta <i>Engraulis ringens</i> en la zona norte de Chile
10:45-11:00	Coffee Break
10:00-11:30	Presentación: Alejandra Hernández (PUCV) Patrones de edad y crecimiento y aspectos de historia de vida de pre-reclutas y reclutas la anchoveta <i>Engraulis ringens</i> en la zona norte de Chile
11:30-12:00	Presentación: Francisco Cerna (IFOP) Análisis integrado de modelos de crecimiento de la anchoveta <i>Engraulis ringens</i> a nivel diario en la zona norte de Chile y sus implicancias en el manejo
12:00: 12:30	Discusión y análisis
12:30-13:00	Cocktail de Cierre

4. RESUMEN DE LAS PRESENTACIONES Y DISCUSION DERIVADA DE ELLAS

Presentación: Guido Plaza (PUCV)

Introducción a los resultados derivados del Taller Internacional y recomendaciones emanadas de su desarrollo.

G. Plaza resumen los principales hallazgos derivados del taller internacional denominado “*Otolith microstructure analysis of juveniles and adults of the Peruvian anchovy Engraulis ringens*” que se llevó a cabo

en el Instituto de Fomento pesquero entre los días 7 y 11 de diciembre de 2015. Algunos de los resultados expuestos se resumen a continuación:

- ❖ Los expertos internacionales destacan la preocupación del estado de Chile, a través de Subsecretaría de Pesca, por realizar investigación que fortalezca sus procesos de manejo y gestión de este importante recurso comercial.
- ❖ En la parte de laboratorio destacan que los procedimientos de preparación de otolitos para análisis micro-estructural, llevados a cabo en el marco de los proyectos FIP 2009-16 y SUBPESCA, poseen un nivel de calidad comparable con los estándares internacionales.
- ❖ Se confirmó que los experimentos de producción de juveniles en confinamiento, llevados a cabo durante el desarrollo del proyecto "SUBPESCA N° 4728-31 LP 11", permitieron validar la periodicidad de formación de los micro-incrementos con confiabilidad y elevados niveles de reproducibilidad, aunque se destacó que se puede arribar a estas conclusiones si se utiliza el criterio de lectura de bandas (GBR)
- ❖ Se confirmó también que la edad diaria reportada en los proyectos FIP 2009-16 y SUBPESCA N° 4728-31 LP 11, para ejemplares silvestres de alrededor de 12 cm son confiables.
- ❖ A través de un análisis de fechas de nacimiento en ejemplares adultos se logró determinar que la lectura de micro-incremento diario puede arrojar resultados más confiables que la lectura de anillos, para la determinación de edad en esta especie.

Desde los participantes se valora la realización de este workshop internacional, que contribuyó a resolver las disyuntivas que se plantearon como fundamento para realizar este proyecto.

Sobre la base de la información de edad en peces silvestres se pregunta si las características asociadas al crecimiento se ha explorado en otros periodos, debido a que potenciales forzantes del crecimiento como la surgencia y la variabilidad ambiental son muy variables tanto a corto como a largo plazo. Se responde que se han venido realizando este tipo de estudios desde hace algunos años para confirmar estas características del crecimiento somático en esta especie. Sin embargo, se cree que este esfuerzo es insuficiente aún y que se requiere un monitoreo continuo.

Presentación: Jorge Contreras (PUCV)

Crecimiento larval y aspectos de historia de vida de la anchoveta *Engraulis ringens* en la zona norte de Chile

J. Contreras presentaron los principales resultados sobre crecimiento larval de *Engraulis ringens*, recolectas en invierno en una zona somera de Antofagasta, haciendo hincapié que es el primer estudio de esta naturaleza en el norte de Chile para esta especie. Se destaca que en este estudio se lograron procesar 325 ejemplares, las que fluctuaron entre 2 y 17 mm de LT y edades de entre 2 y 34 días y con una distribución de fechas de nacimientos polimodal, con nacimientos concentrados en entre junio y julio.

Se subraya que la relación talla-edad para el rango de edad y longitud de los ejemplares recolectados mostraron una tendencia lineal, con tasas de crecimiento de alrededor de 5 mmd^{-1} , enfatizando que no se observaron grandes diferencias en las tasas de crecimiento durante el periodo de muestreo. Se pregunta por las razones de la linealidad sabiendo que en peces el crecimiento es alométrico en las etapas larvales. Se responde que esto puede deberse a la ausencia de larvas de mayor tamaño en los análisis.

Se pregunta si el análisis incluyó otro tipo de otolitos, que podrían complementar el análisis. Se responde que se hicieron extracciones del lapillus, pero que el número de incrementos primarios fue significativamente menor en lapillus que en sagittae. Se argumenta que esto puede ser causa de una formación tardía de la en la estructura más pequeña.

Presentación: Alejandra Hernández (PUCV)

Patrones de edad y crecimiento y aspectos de historia de vida de pre-reclutas y reclutas la anchoveta *Engraulis ringens* en la zona norte de Chile.

A. Hernández presentó los principales hallazgos sobre juveniles de la anchoveta de la zona norte, incluyendo información de los pre-reclutas que por primera vez se analizan en la zona de estudio. Se destaca que se hizo un esfuerzo por caracterizar la micro-estructura de los otolitos lapillus y asteriscos en los juveniles, con el objeto de verificar los criterios de interpretación de micro-incrementos primarios diarios en otra estructura distinta del sagita. Las principales conclusiones asociadas a la presentación se resumen a continuación:

Los otolitos lapillus y asteriscus de pre-reclutas, reclutas y adultos son factibles de ser extraídos satisfactoriamente y preparados para análisis micro-estructural.

Se demostró la existencia de los dos tipos de micro-incrementos (finos e irregulares vs gruesos y definidos) que se presentan en otolitos sagitales en esta especie y otros engraulidos, y que se observan también en los pares de otolitos de menor tamaño (lapillus vs asteriscus) en *E. ringens*. Estos resultados confirman que estas estructuras no dependen ni el tipo de estructura ni del grado de preparación de las muestras y que tienen una periodicidad de formación desconocida, no constituyendo anillos diarios.

El perfil del grosor de los micro-incrementos de los sobrevivientes definitivos (reclutas), como proxy del crecimiento, demostraron que el crecimiento alcanza un máximo cercano a los $20 \mu\text{m}$, entre los 30 y 50 días dependiendo de la cohorte. Este patrón de perfil ontogenético de crecimiento, sumado a los resultados derivados de los modelos de talla edad, demuestran que el segundo mes de vida parece ser fundamental en términos de crecimiento somático para esta especie.

La relación entre el tamaño del otolito (radio) y el tamaño del pez de *E. ringens* fue significativamente descrita por un modelo logarítmico para el estado larval temprano (pre y flexión), mientras que la relación se tornó lineal para ejemplares pre-reclutas y reclutas. Por lo tanto, el retro-cálculo para esta especie se puede efectuar de forma confiable desde ejemplares más viejos hasta incluso los primeros 30 días de vida.

El retro-cálculo permitió estimar tasas de crecimiento diaria retro- calculadas y tasas máximas al punto de inflexión de modelos Laird-Gompertz que fueron similares a las tasas de crecimiento derivadas de modelos talla-edad a la fecha de captura para cada estado ontogénico.

Surge una discusión sobre qué tan representativos son los resultados considerando el potencial efecto perturbador de un año Niño. Se plantea que en años en que el evento El Niño ha estado involucrado se ha visto un patrón de mayor crecimiento en la etapa juvenil de esta especie. Incluso en el presente año se observó una gran cantidad de anillos subdiarios que son característicos cuando existe un periodo de crecimiento acelerado. Por otra parte se plantea que es necesario también avanzar en caracterizar otros indicadores de la calidad de la progenie. En este sentido se plantea si el diámetro a la marca de eclosión pudiese estar relacionado con el tamaño de la larva al nacer. Se destaca que se están tomando registros de este indicador en las muertas de otolitos que han sido preparadas, donde la resolución es elevada.

Presentación: Francisco Cerna (IFOP)

Análisis integrado de modelos de crecimiento de la anchoveta *Engraulis ringens* a nivel diario en la zona norte de Chile y sus implicancias en el manejo.

F. Cerna presentó los resultados sobre el ajuste de modelos clásicos a la relación talla-edad, considerando todos los estados ontogénicos de larva a adulto. También se presentaron los resultados derivados del taller de evaluación. A continuación se resumen las principales conclusiones derivadas de su presentación:

- ❖ Cuando se integró toda la historia de vida, a nivel global y separados por estación de nacimiento (invierno y primavera), los modelos Laird Gompertz y von Bertalanffy tradicional fueron los que mejor recogieron la variabilidad de la relación talla edad a la fecha de captura, a pesar de la aparente alometría que fue evidente en cada estado ontogénico.
- ❖ El ajuste de modelos von Bertalanffy tradicional a la información de edad y talla a nivel global y de cohortes estimó coeficientes de crecimiento (K) 2-4 año⁻¹ muy superiores a los registrados hasta la fecha para la especie. Por otra parte las longitudes asintóticas estimadas por ambos modelos fluctuaron entre 14 y 16 cm LT, sub-estimación que pareció estar asociada a la ausencia de ejemplares mayores a 15 cm en los análisis.
- ❖ El análisis del crecimiento, para distintas cohortes del 2014 y 2015, utilizando la relación talla-edad al momento de la captura o las estimadas desde el retro-cálculo, confirman el patrón de crecimiento de anchoveta estimado anteriormente, para los años 2009 y 2010, al menos para la fracción juvenil (pre-reclutas y reclutas) y adulta temprana.
- ❖ Los parámetros de crecimiento y mortalidad natural producen una disminución del 56% (± 17 d.e) de la biomasa desovante y un aumento del reclutamiento en un 52% (± 40 d.e), sin embargo para algunos años la nueva serie de reclutamientos presenta valores hasta seis veces más que los estimados para la serie original.

- ❖ El nuevo patrón de crecimiento y la mortalidad natural de la anchoveta del sur del Perú y norte de Chile, hacen necesario evaluar modificaciones en la configuración del modelo (i.e. selectividad, ojiva de madurez a la talla o edad, etc.) o analizar el uso de un enfoque de modelación alternativo para especies de vida corta.

Surge una discusión al interior del taller sobre las implicancias de los resultados obtenidos. Por una parte se plantea el nuevo escenario obliga a pasar a procedimientos más simples de evaluación, debido a que parte de la población es vulnerable a la pesquería en su primer año de vida. Surgen dudas también sobre cuál debería ser la forma de operar en la determinación de edad de esta especie. Por una parte se sostiene que el análisis micro-estructural demanda una gran cantidad de recursos que podría hacer impracticable un procedimiento de determinación de edad a nivel rutinario de la misma forma como se realiza a nivel anual. Se contra-argumenta que es factible monitorear una fracción aleatoria de la población, porque ya se encuentran instaladas las competencias para este fin en el Instituto de Fomento Pesquero. De todas formas se reconoce que reconoce que primero es fundamental resolver la forma de evaluación de este recurso, tarea que actualmente se está llevándose a cabo. Por otra parte se plantea que podrían efectuarse bajo ciertos supuestos, series históricas de clases de edad a nivel diario, usando ciertas aproximaciones, y de esta forma evaluar el desempeño de los modelos. Se subraya que en este contexto parece crucial tener información que integre varios años.

5. LISTA DE PARTICIPANTES

NOMBRE	INSTITUICION
Silvia Hernández	Subsecretaría de Pesca y Acuicultura
Alejandra Ordenes	Subsecretaría de Pesca y Acuicultura
Francisco Cerna	Instituto de Fomento Pesquero
Maximiliano Alarma	Independiente
Jorge Oliva	Centro de Investigación Aplicada del Mar
Samuel Hormazabal	Pontificia Universidad Católica de Valparaíso
Guido Plaza	Pontificia Universidad Católica de Valparaíso
Gabriela Böhm	Instituto de Fomento Pesquero
Jorge Castillo	Instituto de Fomento Pesquero
Carolina Hernández	Instituto de Fomento Pesquero
Michael Dapremont†	Fondo de Investigación Pesquero y Acuicultura
Vilma Ojeda	Instituto de Fomento Pesquero
Antonio Aranís	Instituto de Fomento Pesquero
Patricio Arana	Pontificia Universidad Católica de Valparaíso
Mackarena Gómez	Instituto de Fomento Pesquero
Cecilia Machuca	Instituto de Fomento Pesquero
Amalia López	Instituto de Fomento Pesquero
Alejandra Hernández	Pontificia Universidad Católica de Valparaíso
Jorge Contreras	Universidad de Valparaíso
Camilo Rodríguez	Universidad de Valparaíso



ANEXO 9.6: RESPUESTA AL EVALUADOR

PROYECTO FIP 2014-31: INFORME FINAL

Debido a que no existieron observaciones de la parte del evaluador al informe final corregido, no fue necesario incorporar esta sección en el Informe Final.