



Universidad Austral de Chile

UNIVERSIDAD DE LOS LAGOS

*Programa de Investigación Pesquera UACH-ULAGOS*

*Informe Final*

*Proyecto FIPA 2018-38*

***“DETERMINACIÓN DE UNIDADES DEMOGRÁFICAS DE SARDINA AUSTRAL EN LAS X Y XI REGIONES”***

EDITADO POR:

Edwin Niklitschek, Pamela Toledo.

Universidad de Los Lagos, Centro i~mar

***Puerto Montt, 16 de junio de 2021***





## TABLA DE CONTENIDOS

I. RESUMEN EJECUTIVO.....	16
II. EXECUTIVE SUMMARY.....	20
III. ANTECEDENTES.....	24
IV. OBJETIVOS.....	25
V. ENFOQUE METODOLÓGICO.....	25
VI. DESARROLLO Y RESULTADOS POR OBJETIVO.....	26
Desarrollo de un diseño experimental geográfico, temporal y biológicamente adecuado para la identificación de las unidades demográficas de sardina austral en las regiones de Los Lagos y Aysén (objetivo 1).....	26
Metodología.....	26
Área de estudio.....	26
Periodo de estudio.....	27
Tamaño y criterios de selección de muestras.....	31
Análisis comparativo con datos previamente disponibles.....	32
Análisis de la composición elemental e isotópica de otolitos de sardina austral (Objetivo 2).....	33
Antecedentes.....	33
Metodología de trabajo.....	34
Composición elemental.....	35
Isótopos estables.....	36
Análisis estadísticos.....	37
Resultados.....	38
Composición elemental.....	38
Composición isotópica.....	47
Discusión.....	53
Conclusiones.....	55
Análisis de la microestructura de otolitos (Objetivo 2).....	56
Antecedentes.....	56

Metodología.....	58
Preparación de otolitos.....	58
Registro de variables morfométricas microestructurales.....	59
Variables discriminantes potenciales.....	60
Resultados.....	62
Variables de tamaño del otolito derivadas del análisis microestructural.....	62
Caracterización de la microestructura.....	64
Edad a la fecha de captura.....	65
Fechas de nacimiento.....	68
Evaluación de variables potencialmente discriminantes en juveniles.....	68
Análisis de la microestructura de los otolitos de adultos.....	71
Discusión.....	75
Conclusiones.....	79
Morfometría, morfología y bio-cronología de otolitos (Objetivo 2).....	80
Antecedentes.....	80
Metodología.....	80
Análisis morfométrico de los otolitos.....	80
Resultados.....	88
Análisis morfométrico de los otolitos.....	88
Análisis de crecimiento somático.....	97
Discusión.....	101
Índices de forma.....	101
Análisis de Fourier y ondeletas.....	102
Análisis del crecimiento.....	103
Conclusiones.....	104
Estimación del grado de mezcla entre unidades demográficas (Objetivo 3).....	105
Introducción.....	105
Metodología.....	105
Análisis de conglomerados espaciales.....	105
Análisis del potencial discriminante.....	106
Análisis de consistencia entre elipses de predicción y distribución de los adultos.....	106

Resultados.....	107
Análisis de conglomerados espaciales.....	107
Análisis del potencial discriminante.....	109
Estimación de las contribuciones de cada área de crianza a cada unidad de manejo.....	112
Discusión.....	114
Conclusiones.....	115
Migraciones ontogénicas, posibles procesos de conectividad y su relación con variables ambientales: modelo conceptual (objetivo 4).....	116
Introducción.....	116
Metodología.....	116
Resultados.....	117
Áreas de desove y transporte larval.....	117
Periodos de desove.....	120
Áreas de crianza.....	120
Áreas de alimentación de adultos.....	121
Estructura de unidades demográficas.....	124
Discusión.....	124
Conclusiones.....	126
VII. CONCLUSIONES GENERALES.....	127
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	129

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Otolitos de sardina austral analizados por aproximación metodológica, etapa, unidad de manejo y cohorte. Juveniles: $LT \leq 11$ cm, sub-adultos y adultos: $LT \geq 11.5$ cm), En gris se destacan cohortes 2014-2016.....	30
Tabla 2: Configuraciones de pre-ablación y ablación láser utilizadas para la determinación de la composición elemental de otolitos de sardina austral <i>Sprattus fuegensis</i> .....	35
Tabla 3: Medias ajustadas de las concentraciones de Li, B, Mg, Mn, Sr y Ba relativas a $^{43}\text{Ca}$ en secciones nucleares de otolitos de juveniles de sardina austral según cohorte y unidad de manejo. EE=error estándar. Valores entre paréntesis indican tamaño muestral. Todos los cocientes corresponden a $\mu\text{moles}\cdot\text{mol Ca}^{-1}$ , excepto para Mg y Sr, los que corresponden a $\text{mmoles}\cdot\text{mol Ca}^{-1}$ ..	39
Tabla 4: Análisis comparativo de distintos modelos multivariados utilizados para explicar la variabilidad observada en las medias de las concentraciones relativas de Li, B, Mg, Mn, Sr y Ba en secciones nucleares de otolitos de juveniles de sardina austral <i>Sprattus fuegensis</i> . K=número de parámetros estimados, $\text{Log}V$ =logaritmo natural de la verosimilitud, DIC=Criterio de Información de la devianza, $\Delta\text{DIC}$ =diferencia en DIC respecto del modelo más informativo, wDIC=soporte relativo dado por los datos al modelo.....	39
Tabla 5: Análisis comparativo de distintos modelos (número de conglomerados) de agrupamiento espacial de las concentraciones relativas de Li, Mg, Mn, Sr y Ba observadas en secciones nucleares de otolitos de juveniles de sardina austral, según cohorte. $\text{Log}_eV$ =logaritmo natural de la verosimilitud, DIC=Criterio de Información de la devianza, $\Delta\text{DIC}$ =diferencia en DIC respecto del modelo más informativo, wDIC=soporte relativo dado por los datos al modelo.....	41
Tabla 6: Medias ajustadas de las concentraciones de Li, B, Mg, Mn, Sr y Ba relativas a $^{43}\text{Ca}$ en secciones nucleares de otolitos de adultos de sardina austral <i>Sprattus fuegensis</i> según cohorte y unidad de manejo. EE=error estándar. Valores entre paréntesis indican tamaño muestral. Todos los cocientes corresponden a $\mu\text{moles}\cdot\text{mol Ca}^{-1}$ , excepto para Mg y Sr, los que corresponden a $\text{mmoles}\cdot\text{mol Ca}^{-1}$ . Celdas sombreadas indican mayor soporte relativo (peso $\text{DIC} > 0.67$ ) a hipótesis de medias distintas entre adultos y juveniles.....	43
Tabla 7: Comparación de modelos multivariados seleccionados para explicar la variabilidad observada en las concentraciones relativas de Li, B, Mg, Mn, Sr y Ba entre regiones nucleares de juveniles y adultos de sardina austral <i>Sprattus fuegensis</i> por cohorte y unidad de manejo. K=número de parámetros estimados, $\text{Log}V$ =logaritmo natural de la verosimilitud, DIC=Criterio de Información de la devianza, $\Delta\text{DIC}$ =diferencia en DIC respecto del modelo más informativo, wDIC=soporte relativo dado por los datos al modelo.....	43
Tabla 8: Comparación de modelos multivariados seleccionados para explicar la variabilidad observada en las concentraciones relativas de Li, B, Mg, Mn, Sr y Ba entre regiones nucleares de juveniles y adultos de sardina austral <i>Sprattus fuegensis</i> por cohorte y unidad de manejo. K=número de parámetros estimados, $\text{Log}V$ =logaritmo natural de la verosimilitud, DIC=Criterio de Información de la	

devianza, $\Delta$ DIC=diferencia en DIC respecto del modelo más informativo, wDIC=soporte relativo dado por los datos al modelo.....	45
Tabla 9: Medias ajustadas de las relaciones isotópicas $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{18}\text{O}$ observadas en secciones nucleares de otolitos de juveniles de sardina austral <i>Sprattus fuegensis</i> según cohorte y unidad de manejo. EE=error estándar.....	49
Tabla 10: Comparación de modelos multivariados seleccionados para explicar la variabilidad observada en las relaciones isotópicas $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{18}\text{O}$ observadas en regiones nucleares de juveniles de Chiloé y Aysén. K=número de parámetros estimados, LogV=logaritmo natural de la verosimilitud, DIC=Criterio de Información de la devianza, $\Delta$ DIC=diferencia en DIC respecto del modelo más informativo, wDIC=soporte relativo dado por los datos al modelo.....	49
Tabla 11: Comparación de modelos multivariados seleccionados para explicar la variabilidad observada en las relaciones isotópicas $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{18}\text{O}$ observadas en regiones nucleares de otolitos entre etapas de vida (juveniles v/s adultos) de Chiloé y Aysén. K=número de parámetros estimados, LogV=logaritmo natural de la verosimilitud, DIC=Criterio de Información de la devianza, $\Delta$ DIC=diferencia en DIC respecto del modelo más informativo, wDIC=soporte relativo dado por los datos al modelo.....	50
Tabla 12: Comparación de modelos multivariados seleccionados para explicar la variabilidad observada en las relaciones isotópicas $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{18}\text{O}$ observadas en regiones nucleares de otolitos entre etapas de vida (juveniles v/s) adultos de Chiloé y Aysén. K=número de parámetros estimados, LogV=logaritmo natural de la verosimilitud, DIC=Criterio de Información de la devianza, $\Delta$ DIC=diferencia en DIC respecto del modelo más informativo, wDIC=soporte relativo dado por los datos al modelo.....	52
Tabla 13: Coeficientes de regresión de modelos líneas de la forma $Y= \alpha+\beta X$ , entre las dimensiones del tamaño del otolito de reclutas de sardina austral <i>Sprattus fuegensis</i> , recolectados en las unidades de manejo de Chiloé (n=233) y de Aysén (n=144). LO=longitud antero-posterior del otolito; RR: radio rostral; RC: radio caudal; RV. Radio ventral; RD: radio dorsal; EE: error estándar.....	62
Tabla 14: Estadísticas derivadas de dos modelos lineales generales, donde la Longitud antero-posterior del otolito (LO) fue usada como variable dependiente y el Radio Rostral (a) y Radio Caudal (b) como variables independientes. La interacción corresponde a la prueba de igualdad de pendiente.....	63
Tabla 15: Estadísticas generales de longitud total (TL; cm), edad (días) y tasa de crecimiento global (GR: $\text{mm}\cdot\text{d}^{-1}$ ) de ejemplares de sardina austral menores a 9 cm LT, para cada cohorte y zona de estudio. CV= coeficiente de variación; DE=desviación estándar. *: Todos los ejemplares tuvieron el mismo tamaño. ....	68
Tabla 16: Estadísticas generales de la longitud total (LT) de reclutas de sardina austral, procesados para análisis microestructural, por zona, estrato y año. CV: coeficiente de variación.....	69
Tabla 17: Estadísticas derivadas del análisis de varianza multivariado para poner a prueba la hipótesis de igualdad de medias en el grosor medio de los micro-incrementos y radio medio de los otolitos sagitales (transformados a logaritmo natural), de juveniles de sardina austral en cada cohorte y zona	

medidos a los 25, 30, 35, 40, 45 y 50 días. WL: Wilks's Lambda; gl: grados de libertad; F: estadístico F-Fisher aproximado.....	70
Tabla 18: Estadísticas generales de la longitud de sub-adultos y adultos de sardina austral > 11 cm, procesados para análisis microestructural, por zona y cohorte. DE=desviación estándar.....	73
Tabla 19: Análisis multivariado de varianza de las medias de grosores y radios de otolitos de sardina austral medidos cada cinco días, entre los días 21 y 50 después de la eclosión. Hipótesis nula corresponde a igualdad de medias entre zonas (Chiloé v/s Aysén).....	73
Tabla 20: Variables morfométricas e índices descriptores de forma del otolito. Se incluyen las ecuaciones de cada índice. Modificado de Tuset et al. (2006).....	82
Tabla 21: Número de lecturas de otolitos de sardina austral, por cada zona (regiones de Chiloé y Aysén), edad y año de captura, utilizadas en el análisis de los <i>annuli</i> como indicador del crecimiento somático.....	85
Tabla 22: Descripción de los modelos ensayados para determinar las variaciones los incrementos anuales ( <i>annulus</i> ), como indicador de crecimiento somático.....	86
Tabla 23: Número de lecturas de otolitos de sardina austral, por cada zona (Chiloé y Aysén), edad y año de captura, utilizadas en el análisis de los <i>annuli</i> como indicador del crecimiento somático.....	87
Tabla 24: Variables morfométricas básicas e índices de forma de los otolitos por grupo de edad de sardina austral para cada zona de muestreo: Chiloé y Aysén.....	89
Tabla 25: Coeficientes de modelos aditivos generalizados (GAM) donde la variabilidad de distintos índices de forma fue explicada por la longitud del pez, zona de muestreo y cohorte. E.E: error estándar, long: longitud del pez.....	91
Tabla 26: Análisis permutacional de varianza (perAnova) sobre las puntuaciones canónicas de los coeficientes de Fourier que describen la forma de los otolitos de juveniles de sardina austral entre Chiloé y Aysén para las cohortes 2015 y 2016. gl=grados de libertad; F=Estadístico F de Fisher; P>F=probabilidad empírica de obtener valores mayores a F.....	93
Tabla 27: Resultado de las pruebas permutacionales (perAnova) sobre las puntuaciones canónicas de los coeficientes de las ondeletas que describen la forma de los otolitos de juveniles de sardina austral entre Chiloé y Aysén, para las cohortes 2015 y 2016. gl=grados de libertad; F=Estadístico F de Fisher; P>F=probabilidad empírica de obtener valores mayores a F.....	93
Tabla 28: Análisis permutacional de varianza (perANOVA) de las puntuaciones canónicas de los coeficientes de Fourier que describen la forma de los otolitos de adultos de sardina austral entre Chiloé y Aysén, para las cohortes 2015 y 2014. gl=grados de libertad; F=Estadístico F de Fisher; P>F=probabilidad empírica de obtener valores mayores a F.....	95
Tabla 29: Análisis permutacional de varianza (perANOVA) sobre las puntuaciones canónicas de los coeficientes de las ondeletas de la forma de los otolitos de adultos de sardina austral entre Chiloé y Aysén, para las cohortes 2015 y 2014. gl=grados de libertad; F=Estadístico F de Fisher; P>F=probabilidad empírica de obtener valores mayores a F.....	96

Tabla 30: Indicadores de desempeño de modelos utilizados para explicar el crecimiento de sardina austral a partir de distintas variables predictivas: gl: grados de libertad empleados para el ajuste del modelo; AICc: criterio de información de Akaike corregido para muestras de pequeño tamaño; $\Delta$ AICc: diferencia entre cada modelo y el modelo con menor AICc; LL: likelihood (verosimilitud).....	97
Tabla 31: Análisis de devianza del modelo lineal generalizado de efectos mixtos ajustado a la variabilidad observada en las tasas individuales de crecimiento (análisis macro-estructural) de sardina austral. gl=grados de libertad; SC=suma de cuadrados; CM=cuadrados medios.....	98
Tabla 32: Coeficientes del modelo lineal generalizado de efectos mixtos ajustado para explicar la variabilidad observada en las tasas individuales de crecimiento (análisis macro-estructural) de sardina austral. ACC=edad al momento de la captura; EE=error estándar; gl=grados de libertad.....	98
Tabla 33: Coeficientes del modelo de covarianza ajustado para evaluar la relación entre la longitud individual de sardina austral (variable respuesta) y las variables explicativas longitud del otolito (LO), zona y cohorte. EE=error estándar, $t_{valor}$ =estadístico t de student, $P>t$ =probabilidad de observar valores mayores al estadístico t dada la hipótesis nula de $t_{valor}=0$ .....	99
Tabla 34: Análisis de covarianza de la relación entre la longitud individual de sardina austral (variable respuesta) y las variables explicativas longitud del otolito (LO), zona y cohorte. gl=grados de libertad; SC=suma de cuadrados,CM=cuadrados medios; $F_{valor}$ =estadístico F de Fisher, $P>F$ =probabilidad de observar valores mayores al estadístico F dada la hipótesis nula de que la variable explicativa evaluada no explica la varianza observada en la variable respuesta.....	100
Tabla 35: Test de razón de verosimilitud utilizado para evaluar diferencias entre zonas respecto de los parámetros del modelo de crecimiento individual de von Bertalanffy ajustado a valores de edad y longitud de sardina austral capturada en Chiloé y Aysén.....	100
Tabla 36: Métricas de evaluación del potencial discriminante de las concentraciones relativas de Li, Mg, Mn, Sr y Ba, considerando los siguientes errores: i) estimación de las contribuciones estimadas de cada origen a cada mezcla de juveniles (valor esperado=1.0), ii) auto-asignación corregida considerando correlación dentro de lances y validada mediante una aproximación “de navaja”, excluyendo una observación a la vez, y iii) consistencia, definida como el porcentaje de adultos cuyas distancias de Mahalanobis al centroide más cercano fue inferior a 2,5.....	110
Tabla 37: Métricas de evaluación del potencial discriminante de las concentraciones relativas $\delta^{13}C$ y $\delta^{18}O$ , considerando los siguientes errores: i) estimación de las contribuciones estimadas de cada origen a cada mezcla de juveniles (valor esperado=1.0), ii) auto-asignación corregida considerando correlación dentro de lances y validada mediante una aproximación “de navaja”, excluyendo una observación a la vez, y iii) consistencia, definida como el porcentaje de adultos cuyas distancias de Mahalanobis al centroide más cercano fue inferior a 2,5.....	111
Tabla 38: Métricas de evaluación del potencial discriminante de los índices microestructurales $G_{21-50}$ (grosor medio anillos diarios 21-50) y $R_{21-50}$ (radio medio anillos diarios 21-50), considerando los siguientes errores: i) estimación de las contribuciones estimadas de cada origen a cada mezcla de juveniles (valor esperado=1.0), ii) auto-asignación corregida considerando correlación dentro de	

lances y validada mediante una aproximación “de navaja”, excluyendo una observación a la vez, y iii) consistencia, definida como el porcentaje de adultos cuyas distancias de Mahalanobis al centroide más cercano fue inferior a 2,5.....112

Tabla 39: Contribución estimada de las áreas de crianza de Aysén y Chiloé a las mezclas de adultos de sardina austral *Sprattus fuegensis* correspondientes a cada unidad de manejo y cohorte analizada. Estimaciones del modelo de mezcla de distribuciones finitas basada en valores isotópicos  $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{18}\text{O}$ . Ajustes mediante algoritmo EM condicionado a las medias observadas en los juveniles. Errores estándar estimados por *bootstrap*.....113

Tabla 40: Contribución estimada de las áreas de crianza de Aysén y Chiloé a las mezclas de adultos de sardina austral *Sprattus fuegensis* correspondientes a cada unidad de manejo y cohorte analizada. Estimaciones del modelo de mezcla de distribuciones finitas obtenidas combinando valores isotópicos  $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{18}\text{O}$  e índices microestructurales  $G_{21-50}$  (grosor medio anillos diarios 21-50) y  $R_{21-50}$  (radio medio anillos diarios 21-50). Ajustes mediante algoritmo EM condicionado a las medias observadas en los juveniles. Errores estándar estimados por *bootstrap*.....114

## INDICE DE FIGURAS

Figura 1: División del área de estudio en dos zonas: Chiloé y Aysén y en cuatro estratos: A, B, C y D, definidos con base en características oceanográficas e indicados con línea segmentada (roja para zonas, púrpura para estratos). Lances de obtención de muestras en azul para adultos y rojo para juveniles.....	28
Figura 2: Distribución de tallas (LT) de individuos juveniles de sardina austral (cohortes 2015 y 2016) provenientes de cruceros hidroacústicos 2016 y 2017. Muestras corresponden a la selección realizada para los distintos enfoques metodológicos.....	29
Figura 3: Distribución de tallas (LT) de individuos adultos de sardina austral (cohortes 2015 y 2016) provenientes de Cruceros Hidroacústicos y de Programa de Seguimiento de Pequeños Pelágicos 2017-2018. Se muestra tallas de los grupos de edad 2+ y 3+ para la cohorte 2015.....	31
Figura 4: Concentraciones de Li, B, Mn, Zn, Sr y Ba relativas a Ca, en secciones nucleares de otolitos de juveniles de sardina común por unidad de manejo y cohorte. Todos los cocientes corresponden a $\mu\text{moles}\cdot\text{mol Ca}^{-1}$ , excepto para Mg y Sr, los que corresponden a $\text{mmoles}\cdot\text{mol Ca}^{-1}$ . Letras sombreadas indican $\geq 67\%$ de soporte relativo (peso del AIC) a alguna de las dos hipótesis alternativas de i) medias iguales (letras iguales) o ii) medias diferentes (letras distintas) entre unidades de manejo, evaluadas dentro de cohortes.....	40
Figura 5: Diagrama de los primeros dos componentes principales obtenidos a partir de las concentraciones relativas de Li, B, Mg, Mn, Sr y Ba, en secciones nucleares de otolitos de juveniles de sardina austral <i>Sprattus fuegensis</i> , de Chiloé y Aysén (cohortes 2014-2016).....	41
Figura 6: Concentraciones de Li, B, Mg, Mn, Sr y Ba relativas al $^{43}\text{Ca}$ observadas en regiones nucleares de otolitos de juveniles y adultos de sardina austral <i>Sprattus fuegensis</i> , dentro de cada unidad de manejo. Todos los cocientes corresponden a $\mu\text{moles}\cdot\text{mol Ca}^{-1}$ , excepto en el caso de Mg y Sr, que corresponden a $\text{mmoles}\cdot\text{mol Ca}^{-1}$ .....	44
Figura 7: Diagrama de los dos primeros componentes principales de la concentración relativa de Li, B, Mg, Mn, Sr, y Ba en regiones nucleares de otolitos de juveniles y adultos de sardina austral <i>Sprattus fuegensis</i> en Chiloé y Aysén, según cohorte.....	45
Figura 8: Concentraciones de Li, B, Mg, Mn, Sr y Ba relativas al $^{43}\text{Ca}$ observadas en regiones nucleares y marginales de otolitos de adultos de sardina austral <i>Sprattus fuegensis</i> , dentro de cada unidad de manejo. Todos los cocientes corresponden a $\mu\text{moles}\cdot\text{mol Ca}^{-1}$ , excepto en el caso de Mg y Sr, que corresponden a $\text{mmoles}\cdot\text{mol Ca}^{-1}$ .....	46
Figura 9: Diagrama de los dos primeros componentes principales de las concentraciones relativas de Li, Mg, Mn, Sr y Ba en regiones nucleares y marginales de otolitos de adultos de sardina austral <i>Sprattus fuegensis</i> en Chiloé y Aysén, según cohorte.....	47
Figura 10: Valores isotópicos $\delta^{13}\text{C}$ (panel derecho) y $\delta^{18}\text{O}$ (panel izquierdo) en regiones nucleares de otolitos de juveniles de sardina austral <i>Sprattus fuegensis</i> en Chiloé y Aysén, por cohorte.....	48
Figura 11: Diagrama bivariado de los valores $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{18}\text{O}$ observados en regiones nucleares de otolitos de juveniles de sardina austral <i>Sprattus fuegensis</i> en Chiloé y Aysén, por cohorte.....	48

Figura 12: Comparación de valores isotópicos $\delta^{18}\text{O}$ (panel superior) y $\delta^{13}\text{C}$ (panel inferior) en regiones nucleares de otolitos entre juveniles y adultos de sardina austral <i>Sprattus fuegensis</i> en Chiloé y Aysén.	50
Figura 13: Diagrama bivariado que compara los valores isotópicos estandarizados $\delta^{18}\text{O}$ (panel superior) y $\delta^{13}\text{C}$ (panel inferior) en regiones nucleares de otolitos entre peces juveniles y adultos de sardina austral <i>Sprattus fuegensis</i> en Chiloé y Aysén.	51
Figura 14: Valores isotópicos $\delta^{18}\text{O}$ (panel superior) y $\delta^{13}\text{C}$ (panel inferior) en regiones nucleares y marginales de otolitos de peces adultos de sardina austral <i>Sprattus fuegensis</i> en Chiloé y Aysén.	52
Figura 15: Diagrama bivariado que compara los valores isotópicos $\delta^{18}\text{O}$ (panel superior) y $\delta^{13}\text{C}$ (panel inferior) en regiones nucleares y marginales de otolitos de peces adultos de sardina austral <i>Sprattus fuegensis</i> en Chiloé y Aysén.	53
Figura 16: Ilustración de micro-incrementos en peces teleósteos, extraído de Plaza <i>et al.</i> , (2001). P: primordio; me: marca de eclosión; pa: marca de primera alimentación.	56
Figura 17: Preparación de otolitos para el análisis de micro-incrementos. a y b: montaje de otolito (sulcus hacia arriba) en Crystalbond; c: primer pulido con lija 2500 $\mu\text{m}$ ; d: pulido con lija de limpieza; e: cambio de posición del otolito para segundo pulido (c,d); f: montaje final (sulcus hacia abajo) para revisión de microestructura.	58
Figura 18: Fotografías bajo luz transmitida de otolitos pulidos en posición sagital de un juvenil de <i>S. fuegensis</i> de 8 cm LT. (a) Otolito completo a 4X; (b) zona del primordio a 40X; (c) zona media a 20X; (d) borde del otolito a 40X.	59
Figura 19: Ilustración del proceso de medición de variables morfométricas microestructurales en un otolito de <i>S. fuegensis</i> de 6.5 cm LT, en el programa IMAGE-pro-plus.	60
Figura 20: Ilustración del proceso de medición de micro-incrementos diarios con el analizador de imágenes "Otolith Reading System" (RATOC Ltd), en un ejemplar adulto de sardina austral.	61
Figura 21: Relaciones morfométricas entre dimensiones del tamaño del otolito y el tamaño de ejemplares juveniles de <i>S. fuegensis</i> , recolectados en las unidades de manejo de Chiloé y Aysén.	63
Figura 22: Microestructura de un recluta de sardina austral (6 cm LT) colectado en la unidad de manejo de Chiloé en abril de 2016, ilustrando la existencia de las tres zonas microestructurales.	64
Figura 23: Perfiles: a) Radios y b) Grosos de los primeros 50 anillos para 22 individuos de sardina austral <i>S. fuegensis</i> provenientes de Chiloé. Las barras de error representan la desviación estándar.	65
Figura 24: Imagen ilustrativa de la secuencia de micro-incrementos a 40X de magnificación en dirección rostral en un ejemplar de 8,2 cm LT de sardina austral, recolectado en la unidad de manejo de Chiloé durante el crucero abril de 2017. (b) Secuencia de mayor magnificación de los micro-incrementos cerca del primordio.	66
Figura 25: Imagen ilustrativa de la secuencia de micro-incrementos a 40X de magnificación en dirección rostral en un ejemplar de 8,5 cm LT de sardina austral, recolectado en la unidad de manejo de Chiloé.	66

Figura 26: Perfil de reproducibilidad mediante el porcentaje de error promedio (APE), asociado a la determinación de edad a nivel diario en otolitos sagitales de sardina austral <9 cm LT, para las unidades de manejo de Chiloé (a) y Aysén (b). Las líneas rojas segmentadas representan el IAPE.....	67
Figura 27: Distribución de frecuencia de ejemplares de sardina austral < 9 cm LT, datados a nivel diario y recolectados en Chiloé (barras rojas) y Aysén (barras verdes) para las cohortes 2015 y 2016.....	69
Figura 28: Perfiles promedios de radios (a) y grosores (b) por cohorte y zona geográfica de otolitos sagitales de reclutas de entre 6 y 9 cm de sardina austral.....	70
Figura 29: Medias marginales derivadas de un modelo lineal general multivariado del grosor de los micro-incrementos de otolitos sagitales de sardina austral, medidos a intervalos de 5 días en el periodo de mayor crecimiento, analizados por zona geográfica para pre-reclutas cohorte 2015 y reclutas de las cohortes 2015 (c) y 2016 (d). Los números al interior de la figura corresponden a la probabilidad de cometer error tipo I, en un modelo univariado a cada intervalo.....	71
Figura 30: Fotografías ilustrativas a 4X (a) y 40X (b) de magnificación, de una sección de un otolito sagital con mayor calcificación en la región nuclear de un ejemplar adulto de sardina austral preparado para análisis microestructural; Pr: Primordio; An: Anulo.....	72
Figura 31: Fotografías ilustrativas a 4X (a) y 40X (b) de magnificación de una sección de un otolito sagital con menor calcificación en la región nuclear de un ejemplar adulto de sardina austral preparado para análisis microestructural; Pr: Primordio; An: Anulo.....	74
Figura 32: Fotografías ilustrativas (magnificación 40X) de secciones de dos otolitos sagitales de adultos de <i>S. fuegensis</i> , donde la microestructura presento baja resolución en zona nuclear, con interrupciones y discontinuidades (a; ds) y áreas difusas (b; ad); Pr: Primordio; Is: Micro-incremento sobresaliente.....	74
Figura 33: Perfiles promedios de radios (a) y grosores (b) por zona geográfica, para ejemplares sub-adultos y adultos > 11 cm de sardina austral, por zona geográfica y cohorte anual de nacimiento.....	75
Figura 34: Distribución de la longitud total de ejemplares de sardina austral para las cohortes 2014, 2015 y 2016, por estrato y zona de muestreo, utilizados en el análisis morfométrico de otolitos. Los estratos corresponden a subdivisiones de cada zona de norte a sur.....	81
Figura 35: Diagrama de la secuencia de pasos realizados para obtener la reconstrucción de la forma del otolito, basada en elípticas de Fourier y análisis de ondeletas (Libungan & Pálsson, 2015).....	83
Figura 36: Gráficas de la izquierda ilustran el efecto en cada uno de los índices de forma como una función no-lineal de la longitud total de sardina austral a través del GAM, para Chiloé y Aysén. Los gráficos de la derecha muestran la influencia del factor zona y cohorte.....	90
Figura 37: Calidad de la reconstrucción del contorno del otolito utilizando elípticas de Fourier y ondeletas. La línea roja vertical muestra el número de ondeletas y de armónicos de Fourier necesarios para reconstruir el contorno del otolito con una exactitud del 98,5%.....	92
Figura 38: Contorno promedio de los otolitos de sardina austral de Chiloé y Aysén, basados en la reconstrucción mediante ondeletas, para juveniles de las cohortes 2015 y 2016. El número representa el ángulo en grados basado en las coordenadas polares. El punto central de los ejes es el centroide del otolito o punto central de las coordenadas polares.....	92

Figura 39: Promedio y desviación estándar de los coeficientes de las ondeletas con el ángulo en grados para todos los otolitos combinados de juveniles de las cohortes 2015 y 2016.....	93
Figura 40: Puntuaciones canónicas del análisis CAP de los coeficientes de Fourier y de las ondeletas (wavelets) del contorno de los otolitos de juveniles de sardina austral para las cohortes 2015 y 2016. ....	94
Figura 41: Contorno promedio de los otolitos de sardina austral de Chiloé y Aysén, basados en la reconstrucción del contorno mediante ondeletas, para los peces adultos de las cohortes 2015 y 2014. El número representa el ángulo en grados basado en las coordenadas polares. El punto central de los ejes es el centroide del otolito o punto central de las coordenadas polares.....	95
Figura 42: Promedio con su desviación estándar de los coeficientes de las ondeletas para todos los otolitos combinados con el ángulo en grados para adultos de las cohortes 2015 y 2014.....	95
Figura 43: Puntuaciones canónicas del análisis CAP de los coeficientes de Fourier y de las ondeletas (wavelets) del contorno de los otolitos de adultos de sardina austral para las cohortes 2015 y 2014...	96
Figura 44: Relación entre la longitud del pez y la longitud del otolito de sardina austral de Chiloé y Aysén, correspondientes a las cohortes 2014 a 2016.....	99
Figura 45: Relación longitud-edad y parámetros de crecimiento de von Bertalanffy de sardina austral para Chiloé y Aysén. Cohortes 2014 a 2017.....	101
Figura 46: Distribución de lances con presencia de juveniles para las cohortes 2015 y 2016, coloreados según su pertenencia a los conglomerados espaciales identificados a partir de las concentraciones relativas ( $\mu\text{mol}\cdot\text{mol Ca}^{-1}$ ) de Li, B, Mg, Mn, Sr y Ba, observadas en secciones nucleares de otolitos de juveniles de sardina austral <i>Sprattus fuegensis</i> , procedentes de Chiloé y Aysén.....	107
Figura 47: Distribución de lances con presencia de juveniles para las cohortes 2015 y 2016, coloreados según su pertenencia a los conglomerados espaciales identificados a partir de las concentraciones relativas $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{18}\text{O}$ , observadas en secciones nucleares de otolitos de juveniles de sardina austral <i>Sprattus fuegensis</i> , procedentes de Chiloé y Aysén.....	108
Figura 48: Distribución de lances con presencia de juveniles para las cohortes 2015 y 2016, coloreados según su pertenencia a los conglomerados espaciales identificados a partir de los índices microestructurales G21-50 (grosor medio anillos diarios 21-50) y R21-50 (radio medio anillos diarios 21-50), observados en secciones nucleares de otolitos de juveniles de sardina austral <i>Sprattus fuegensis</i> , procedentes de Chiloé y Aysén.....	109
Figura 49: Distribución (densidad media) de probabilidad de ocurrencia (Prob) de adultos de sardina austral <i>Sprattus fuegensis</i> durante su etapa juvenil inferida a partir de la comparación de valores observados y esperados de $\delta^{18}\text{O}$ en regiones nucleares de otolitos de peces adultos pertenecientes a las cohortes 2014-2016.....	118
Figura 50: Modelo conceptual del ciclo de vida de la unidad demográfica “Chiloé” de sardina austral <i>Sprattus fuegensis</i> . Distribución tentativa de etapas de vida y hábitats basada en una interpretación especulativa de estudios previos de distribución y dispersión de huevos y larvas en evaluaciones hidroacústicas y en análisis de geolocalización basado en la distribución esperada y observada de $\delta^{18}\text{O}$ en regiones nucleares de otolitos. Intensidad de los colores indica abundancia relativa de cada sub-área para cada etapa. Flechas verdes indican posibles desplazamientos desde áreas de desove a áreas	

de crianza. Flechas azules indican contribución estimada de las áreas de crianza de Chiloé y Aysén a las áreas de alimentación en Chiloé. Flechas rojas indican posibles desplazamientos a áreas de desove.  
.....122

Figura 51: Modelo conceptual del ciclo de vida de la unidad demográfica “Aysén” de sardina austral *Sprattus fuegensis*. Distribución tentativa de etapas de vida y hábitats basada en una interpretación especulativa de estudios previos de distribución y dispersión de huevos y larvas en evaluaciones hidroacústicas y en análisis de geolocalización basado en la distribución esperada y observada de  $\delta^{18}O$  en regiones nucleares de otolitos. Intensidad de los colores indica abundancia relativa de cada sub-área para cada etapa. Flechas verdes indican posibles desplazamientos desde áreas de desove a áreas de crianza. Flechas azules indican contribución estimada de las áreas de crianza de Chiloé y Aysén a las áreas de alimentación en Aysén. Flechas rojas indican posibles desplazamientos a áreas de desove.....123

## ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1.- Personal participante por actividad.....	140
Anexo 2.- Taller de difusión de resultados Proyecto FIPA 2018-38.....	141

## I. RESUMEN EJECUTIVO

### **Objetivo 1: Desarrollar un diseño experimental geográfico, temporal y biológicamente adecuado para la identificación de las unidades demográficas de sardina austral en las regiones de Los Lagos y Aysén**

Siguiendo lo propuesto en nuestra oferta técnica se seleccionaron todos los otolitos de peces juveniles y adultos pertenecientes a las colecciones muestreadas durante los cruceros de evaluación hidroacústica 2016-2019, que pudieran ser atribuibles a las cohortes 2015 y 2016. Lo anterior fue complementado con muestras de otolitos provenientes del Programa de Seguimiento de Pequeños Pelágicos 2017-2019. A partir de una selección inicial (por talla de captura) de 780 muestras potenciales, se llegó a una selección final, basada en lectura de anillos macroscópicos, de 766 muestras (93 lances) efectivamente analizadas, distribuidas en tres cohortes: 2014, 2015 y 2016. De estas, 421 correspondieron a otolitos de peces juveniles (Chiloé=240, Aysén=181) y 345 a otolitos de peces adultos (Chiloé=216, Aysén=129). Dentro de cada zona, se buscó representar al menos dos estratos definidos latitudinal y oceanográficamente. Dada la dependencia de una colección de muestras ya existentes, el balance entre estratos fue inferior al esperado, con una menor representación de los estratos correspondientes al sur de Chiloé y al norte de Aysén.

Los otolitos antes mencionados fueron analizados químicamente respecto de su composición elemental e isotópica, microscópicamente para determinar sus patrones de crecimiento diario y/o morfométricamente. Dado el pequeño tamaño y masa de los otolitos, no se contó con material biológico suficiente para poder efectuar todos los análisis anteriores simultáneamente sobre un mismo individuo. Por esta razón se asignó cada otolito a uno de los dos análisis químicos de manera aleatoria, pero balanceada. A la cifra anterior, se agregaron otros 766 otolitos, correspondientes a 421 juveniles y 345 adultos, pertenecientes a las cohortes 2012-2017, cuyas macroestructuras fueron analizadas para fines bio-cronológicos.

### **Objetivo 2: Determinar las unidades demográficas de sardina austral y sus límites espaciales a través de análisis multi-metodológicos de marcadores ecológicos.**

#### *Análisis de composición elemental e isótopos estables*

Una vez seccionados y pulidos hasta el primordio, la concentración relativa de diversos elementos fue determinada mediante ablación láser de barrido continuo y análisis mediante procedimientos estandarizados de espectrometría de masa con plasma inducido (ICPMS), desde el primordio hasta el borde del otolito. Del subconjunto de metales detectados consistentemente sobre el límite de detección, la mayor variabilidad fue observada en los metales Li, B, Mg, Mn, Sr y Ba. Para el análisis de isótopos estables se utilizó las mismas secciones transversales (~200  $\mu\text{m}$ ) empleadas para el análisis elemental para representar el primer año de vida de juveniles y adultos, y secciones de los últimos 290-550  $\mu\text{m}$  del rostrum, para representar el último año de vida adulta. El análisis isotópico fue conducido mediante espectrometría de gases digestión ácida en  $\text{HPO}_4$ .

La composición elemental de las regiones nucleares de otolitos de peces juveniles mostró diferencias importantes entre zonas y dentro de zonas, las que permitirían incluso identificar sub-áreas oceánicas y costeras dentro de Chiloé y de Aysén. Sin embargo, estas diferencias estuvieron sujetas, lo que limitaría su aplicación, a individuos de una misma cohorte. A lo anterior se sumó una evidente discrepancia en la composición elemental de regiones nucleares de otolitos de adultos y de juveniles, cuyo origen es incierto y alcanza una magnitud que, de momento, invalida la utilización de esta información para alcanzar el objetivo principal de este proyecto.

La composición isotópica de las regiones nucleares de los otolitos de individuos juveniles mostró diferencias que resultaron importantes en magnitud y espacialmente consistentes entre zonas. En el caso del  $\delta^{18}\text{O}$  fueron, además, relativamente consistentes entre cohortes. Si bien se detectaron diferencias no explicadas entre los valores isotópicos de las regiones nucleares de los otolitos de peces juveniles y de adultos, estas diferencias fueron sustancialmente menores que en el caso de los metales, manteniéndose la mayoría de los valores de los adultos dentro de las elipses de distribución definidas por los juveniles.

Se encontró diferencias importantes tanto en composición elemental como en valores isotópicos entre secciones nucleares y marginales de otolitos de peces adultos, consistentes con desplazamientos ontogenéticos a hábitats de alimentación ubicados en aguas más oceánicas y/o profundas que las áreas de crianza. En función de los resultados expuestos, solo se recomendó la utilización de valores isotópicos para la identificación del origen de adultos de fuentes desconocidas y/o para la estimación de tasas de mezcla o contribución de áreas de crianza a áreas de alimentación de adultos.

#### *Microestructura de otolitos*

Los otolitos sagitales de esta especie presentaron tres zonas microestructurales características, donde la primera de ellas, que comprendió los primeros 50 días de vida ( $2.49 \pm 0.86 \mu\text{m}$ ), presentó micro-incrementos primarios de elevada resolución, altamente variables y potencialmente útiles para fines de identificación de grupos demográficos. Se analizaron dos grupos de índices microestructurales derivados de estos micro-incrementos: grosores y radios promedios, tanto cada 10 días, como para todo el período comprendido entre los días 20 y 50, el que correspondió al periodo de mayor variación entre grupos. Los resultados de estos análisis indicaron importantes diferencias entre Chiloé y Aysén, tanto en reclutas, como en adultos, pero no así para los pre-reclutas. Las importantes diferencias encontradas entre etapas, particularmente entre pre-reclutas y reclutas, dentro de zonas y cohortes, sugieren gran variabilidad estacional y/o posibles relaciones entre sobrevivencia e índices microestructurales. Estas fuentes de incertidumbre requieren ser resueltos para validar la comparabilidad de estos índices entre peces de distintas edades y orígenes. Sin perjuicio de lo anterior, las diferencias encontradas en los adultos confirman que cada unidad demográfica utiliza hábitats de crianza suficientemente distintos como para afectar los índices microestructurales de los otolitos formados allí y niveles de mezcla suficientemente bajos como para mantener cada grupo separado a través del tiempo.

### *Morfometría, morfología y bio-cronología de otolitos*

Se analizó cinco índices de forma (factor de forma, circularidad, redondez, elipticidad y rectangularidad) y su variación en función a la longitud individual para cada zona de estudio con el uso de un modelo aditivo generalizado (GAM). Para cuatro de estos cinco índices, la forma del otolito se estabilizó a partir de los 13 cm de longitud total (LT), es decir, en torno a la talla media de madurez sexual. Ninguno de estos índices mostró, sin embargo, diferencias importantes entre zonas. El análisis morfológico del contorno de los otolitos, basado en los métodos de Fourier y ondeletas (wavelets) y en el análisis canónico de coordenadas principales no mostró diferencias importantes entre los juveniles de Chiloé y Aysén (cohortes 2015 y 2016). Este resultado resultó ser consistente con la estabilización tardía encontrada en la forma del otolito. Los adultos de las cohortes 2014 y 2015, por el contrario, mostraron diferencias de forma entre zonas, las que resultaron mayores en el rostro y cauda ( $0^\circ$  y  $360^\circ$  de las coordenadas polares de las ondeletas), siendo los otolitos de los peces de Chiloé más grandes y elípticos que en los peces muestreados en Aysén.

Tanto el análisis macroestructural (*annuli*) de los otolitos como el análisis de las relaciones longitud-talla mostraron mayores tasas de crecimiento individual en Chiloé que en Aysén. Estos resultados sugieren diferencias fenotípicas importantes que denotan una exposición sistemática de los adultos de cada zona a condiciones ambientales distintas a lo largo de su vida, las que junto a las diferencias morfológicas antes señaladas dan soporte a la existencia de dos unidades demográficas en la zona de estudio.

### **Objetivo 3: Estimar el grado de mezcla entre las unidades demográficas.**

De manera previa a la estimación de las tasas de mezcla, se procedió a evaluar la exactitud, precisión y consistencia entre juveniles y adultos de cada conjunto de datos, utilizando estándares de calidad definidos ex-ante, orientados a seleccionar los conjuntos de datos más adecuados para lograr el objetivo planteado. De los tres conjuntos de datos analizados, solo los datos de isótopos estables cumplieron a cabalidad los criterios de exactitud, precisión y consistencia entre juveniles y adultos requeridos para su incorporación en el modelo final de estimación de tasas de auto-reclutamiento y mezcla. Los valores observados de composición elemental estuvieron afectados por una baja consistencia entre juveniles y adultos (4-46%), mientras que los índices microestructurales, por una alta variabilidad entre sub-etapas y por niveles relativamente altos de sesgo e incertidumbre. Sin perjuicio de la integración de índices microestructurales e isótopos estables en un modelo de carácter referencial, se propone la utilización, para fines de manejo y toma de decisiones del modelo de mezcla basado en valores isotópicos ( $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{18}\text{O}$ ). Los niveles de auto-reclutamiento estimados por este modelo se encontraron entre 65 y 88% en Aysén y entre 89 y 100% en Chiloé, dependiendo de la cohorte analizada. De esta manera, se observó una clara asimetría en las contribuciones estimadas de cada zona de crianza a cada área de manejo, siendo mayores las contribuciones de Chiloé a Aysén (12-35%), que de Aysén a Chiloé (0-11%). En ambos casos, las menores contribuciones cruzadas correspondieron a la cohorte 2015, año en que Chiloé no habría recibido reclutas procedentes de Aysén.

**Objetivo 4: Desarrollar un modelo conceptual respecto de las migraciones ontogénicas de los individuos, los posibles procesos de conectividad y su relación con las variables ambientales.**

Para la evaluación del presente modelo conceptual se recurrió, fundamentalmente, a información nueva generada por el presente proyecto, complementada con información previa recopilada y/o generada por estudios anteriores encomendados por el Estado de Chile, por los cruceros hidroacústicos y por el programa de seguimiento de las pesquerías de pequeños pelágicos en el sur de Chile. La información anterior fue complementada con un análisis a través de un enfoque de geolocalización basado en valores observados y esperados de  $\delta^{18}\text{O}$ , orientado a identificar áreas potenciales de crianza en cada zona. Este análisis concluyó que la información recabada en el marco del presente proyecto soporta de manera contundente la existencia de dos unidades demográficas discretas, coincidentes con las actuales unidades de manejo y con las divisiones político-administrativas del área de estudio. Cada una de estas unidades demográficas poseería áreas separadas de desove, crianza y alimentación, cuya ubicación tentativa puede ser inferida, no sin niveles elevados de incertidumbre, a partir de la información disponible sobre presencia y abundancia de huevos, larvas, juveniles y adultos.

La principal área de desove de la unidad demográfica Chiloé se encontraría en la costa insular de Chiloé, entre Punta Tenaún y Punta Queilen. En el caso de la unidad demográfica Aysén, esta área se ubicaría en el Archipiélago de los Chonos, entre las islas Leucayec y Tránsito. Las principales áreas de crianza de la unidad demográfica Chiloé se encontrarían ubicadas a lo largo de la costa oriental del Golfo de Ancud y del Seno de Reloncaví. En el caso de la unidad demográfica Aysén, corresponderían a la costa oriental del Canal de Moraleda y a los canales Errázuriz y Costa, incluyendo las áreas adyacentes y bocas de los fiordos y canales Jacaf, Puyuhuapi, Aysén y Quitralco. Las principales áreas de alimentación de adultos de la unidad demográfica Chiloé se encontrarían ubicadas a lo largo de la costa oriental de la Isla de Chiloé. En el caso de la unidad demográfica Aysén, corresponderían a un área comprendida entre el sur del Canal de Moraleda y el norte de los canales Errázuriz y Costa, en torno a la boca del Fiordo Aysén.

## II. EXECUTIVE SUMMARY

**Objective 1: To develop a geographical, temporal and biologically appropriate experimental design for the identification of the demographic units of Patagonian sprat in the regions of Chiloé and Aysén.**

Following what was proposed in our technical offer, all the otoliths of juvenile and adult fish belonging to the collections sampled during the hydro-acoustic evaluation cruises 2016-2019 which could be attributable to the 2015 and 2016 cohorts, were selected. This was complemented with otolith samples from the Small Pelagic Monitoring Program 2017-2019. From an initial selection (by size at catch) of 780 potential samples, a final selection of 766 samples (93 sets), based on the reading of macroscopic rings, were effectively analysed, distributed in three cohorts: 2014, 2015 and 2016. Of these, 421 corresponded to otoliths of juvenile fish (Chiloé=240, Aysén=181) and 345 to otoliths of adult fish (Chiloé=216, Aysén=129). Within each zone, it was sought to represent at least two latitudinally and oceanographically defined strata. Given the dependence on a collection of existing samples, the balance between strata was lower than expected, with a lower representation of the strata corresponding to the south of Chiloé and north of Aysén.

The afore mentioned otoliths were analysed chemically for their elemental and isotopic composition, microscopically to determine their daily growth patterns, and/or morphometrically. Given the small size and mass of these otoliths, there was not enough biological material to perform all previous analyses simultaneously on the same individual. For this reason, each otolith was assigned to one of the two chemical analyses in a random but balanced manner. To the previous figure, another 766 otoliths were added, from 421 juveniles and 345 adults, belonging to the 2012-2017 cohorts, whose macro-structures were analysed for bio-chronological purposes.

**Objective 2: To determine the demographic units of Patagonian sprat and their spatial limits through multi-methodological analysis of ecological markers.**

### *Elemental composition and stable isotope analysis*

Once sectioned and polished to the primordium, the relative concentration of various elements was determined by continuous laser ablation (raster mode) from the primordium to the edge of the otolith. Ablated samples were gas-transferred and analysed by induced plasma mass spectrometry (ICPMS) following standardized procedures. A set of six metals consistently exceeded detection limits and exhibited large variability: Li, B, Mg, Mn, Sr, and Ba. For stable isotope analysis, we used the same cross-sections (200 µm) sampled for elemental analysis to represent the first year of juvenile and adult life, and sections from the last 290-550 µm of the rostrum, to represent the last year of adult life. These isotopic analyses were conducted by acid digestion gas spectrometry in HPO<sub>4</sub>.

The elemental composition of the nuclear regions of juvenile fish otoliths showed important differences between and within zones, which would even allow for the identification of oceanic and coastal sub-areas within Chiloé and Aysén. However, these differences were subjected to large inter-annual variability, which would limit their application to individuals from the same cohort. Moreover,

there was an evident discrepancy in the elemental composition of nuclear regions of otoliths from adults and juveniles, whose origin was uncertain and reached a magnitude that, for the moment, invalidates the application of this information to achieve the main objective of this project.

The isotopic composition of the nuclear regions of juvenile fish otoliths showed spatially consistent differences between zones. In the case of  $\delta^{18}\text{O}$ , they were also relatively consistent between cohorts. Although unexplained differences were also detected between the isotopic values of the nuclear regions of juvenile and adult fish otoliths, these differences were substantially smaller than for metals, with most adult values remaining within the distribution ellipses defined by juveniles.

Significant differences in both elemental composition and isotopic values were found between nuclear and marginal sections of otoliths from adult fish, consistent with ontogenetic shifts to feeding habitats located in more oceanic and/or deeper waters than the nursery areas. Based on the above results, only the use of isotopic values was recommended for the identification of the origin of adults from unknown sources and/or for the estimation of mixing rates or contribution of nursery areas to adult feeding areas.

#### *Otolith microstructure*

The sagittal otoliths of this species presented three characteristic microstructural zones, where the first one, which comprised the first 50 days of life ( $2.49 \pm 0.86 \mu\text{m}$ ), presented high-resolution, highly variable primary micro-increments, potentially useful for demographic group identification purposes. Two groups of micro-structural indices derived from these micro-increments were analysed: mean thicknesses and radii, both every 10 days and for the entire period between days 20 and 50, which corresponded to the period of the greatest variation between groups. The results of these analyses indicated important differences between Chiloé and Aysén, both in recruits and in adults, but not in the case of pre-recruits. The important differences found between stages, particularly between pre-recruits and recruits, within zones and cohorts, suggest great seasonal variability and/or possible relationships between survival and microstructural indices. These sources of uncertainty need to be resolved to validate the comparability of these indices between fish of different ages and origins. Notwithstanding this, the differences found in adults confirm that each demographic unit uses sufficiently different nursery habitats to affect the microstructural indices of the otoliths formed there, and mixing levels sufficiently low to keep each group separate through time.

#### *Otolith morphometry, morphology and bio-chronology*

Five shape indices (shape factor, circularity, roundness, ellipticity, and rectangularity) and their variation as a function of individual length were analysed for each study zone with the use of a generalized additive model (GAM). For four of these five indices, the shape of the otolith stabilized from 13 cm in total length (TL), that is, around the mean length at sexual maturity. However, none of these indices showed important differences between zones. The morphological analysis of the otolith contour, based on the Fourier and wavelet methods and the canonical analysis of principal coordinates, did not show evidence of important differences between juveniles from Chiloé and Aysén (cohorts 2015 and 2016). This result turned out to be consistent with the late stabilization found in the otolith shape. The adults of the 2014 and 2015 cohorts, on the contrary, showed consistent

differences in shape between zones, which were greater in rostrum and cauda ( $0^\circ$  and  $360^\circ$  of the polar coordinates of the wavelets), where otoliths from fish from Chiloé were larger and more elliptical than the ones sampled from Aysén.

The bio-chronological analysis of otolith *annuli* and length-age relationships showed greater growth rates in Chiloé than in Aysén for both juvenile and adult fish. These results suggest important phenotypical differences that denote a systematic exposure of the adults of each zone to different environmental conditions throughout their lives, which together with the aforementioned morphological differences support the existence of two demographic units in Chiloé and Aysén.

**Objective 3: Estimate the degree of mixing between demographic units.**

Prior to estimating the mixing rates, the accuracy, precision, and consistency between juveniles and adults of each data set were evaluated, using quality standards defined ex-ante, aimed at selecting the most suitable data sets to achieve the stated objective. Of the three data sets analysed, only the stable isotope data fully met the criteria for accuracy, precision, and consistency between juveniles and adults required for their incorporation into the final self-recruitment and mixing rate estimation model. The observed values of elemental composition were affected by a low consistency between juveniles and adults (4-46%), while the microstructural indices, by high variability between sub-stages and by relatively high levels of bias and uncertainty. Notwithstanding the integration of microstructural indices and stable isotopes in a referential model, the use of the mixing model based on isotopic values ( $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{18}\text{O}$ ) is proposed for management and decision-making purposes. The levels of self-recruitment estimated by this model ranged between 65 and 88% in Aysén and between 89 and 100% in Chiloé, depending on the analysed cohort. In this way, a clear asymmetry was observed in the estimated contributions of each nursery area to each management area, with the contributions from Chiloé to Aysén (12-35%) being greater than from Aysén to Chiloé (0-11%). In both cases, the lowest cross-contributions corresponded to the 2015 cohort, a year in which Chiloé would not have received recruits from Aysén.

**Objective 4: To develop a conceptual model regarding the ontogenetic migrations of individuals, the possible processes of connectivity and their relationship with environmental variables.**

For the evaluation of the present conceptual model, new information generated by this project was used, complemented with previous information collected and/or generated by previous studies commissioned by the State of Chile, by the hydro-acoustic cruises, and by the monitoring program of small pelagic fisheries in southern Chile. The previous information was complemented with an analysis through a geolocation approach based on observed and expected values of  $\delta^{18}\text{O}$ , aimed at identifying potential nursery areas in each zone. This analysis concluded that the information collected in the framework of this project strongly supports the existence of two discrete demographic units, coinciding with the current management units and with the political-administrative divisions of the study area. Each of these demographic units would have separate spawning, nursery and feeding areas, the tentative location of which can be inferred, not without high levels of uncertainty, from the information available on the presence and abundance of eggs, larvae, juveniles, and adults.

The main spawning area of the Chiloé demographic unit would be on the insular coast of Chiloé,

between Punta Tenaún and Punta Queilen. In the case of the Aysén demographic unit, this area would be located in the Chonos Archipelago, between the Leucayec and Transition islands. The main nursery areas of the Chiloé demographic unit would be located along the eastern coast of the Gulf of Ancud and the Reloncaví Sound. In the case of the Aysén demographic unit, they would correspond to the eastern coast of the Moraleda Canal and the Errázuriz and Costa channels, including the adjacent areas and mouths of the Jacaf, Puyuhuapi, Aysén and Quitralco fjords. The main adult feeding areas of the Chiloé demographic unit would be located along the eastern coast of Chiloé Island. In the case of the Aysén demographic unit, they would correspond to an area between the south of the Moraleda Canal and the north of the Errázuriz and Costa channels, around the mouth of the Aysén Fjord.

### III. ANTECEDENTES

Sardina austral *Sprattus fuegensis* es un pequeño pez pelágico de rápido crecimiento y corto periodo de vida, explotado en Chile comercialmente en las regiones de Los Lagos y de Aysén (Cerna et al. 2014, Cerna & Plaza 2015). Esta especie presenta una distribución costera alrededor del cono sur americano, siendo descrita desde los 40°S en la costa de Argentina hasta el límite sur del continente y alrededor de las Islas Malvinas. En el Océano Pacífico Sureste, sardina austral se distribuiría a lo largo (y exclusivamente) del Sistema de Fiordos y Canales Patagónicos, donde el Fiordo de Reloncaví (41°5' S) sería el área que representa el límite norte de su distribución (Aranis et al. 2007, Leal et al. 2011).

Sardina austral representa el principal recurso de la pesquería de pequeños pelágicos en las aguas interiores de las regiones de Los Lagos y de Aysén. El desembarque promedio anual entre 2010 y 2015 fue de 26 mil toneladas aproximadamente, donde las capturas en la Región de Los Lagos representó cerca del 80% del desembarque total anual (Sernapesca 2016). Con el fin de proteger las agregaciones reproductivas de la explotación comercial, esta especie cuenta con una veda biológica que se extiende entre el 15 de septiembre y 15 de noviembre de cada año. La mayor parte de las capturas se realizan entre los meses de diciembre y marzo.

Se ha definido a sardina austral como un desovante parcial, cuya actividad reproductiva ocurre en primavera, con una mayor actividad entre septiembre y octubre (Leal et al. 2011, Cerna & Plaza 2015). La dieta de esta especie consiste principalmente en crustáceos zooplanctónicos como copépodos, eufausidos y anfípodos (Neira et al. 2014), mientras que ella formaría parte de la dieta de una amplia gama trófica de depredadores tales como salmónidos asilvestrados (Ciancio et al. 2008, Niklitschek et al. 2011); gadiformes: *Merluccius australis* y *Macruronus magellanicus* (Neira et al. 2014); condrictios: *Squalus achantias* (Laptikhovsky et al. 2001); aves marinas: *Spheniscus magellanicus* (Radl & Culik 1999), *Spheniscus humboldti* (Herling et al. 2005), *Phalacrocorax atriceps* (Ferrari et al. 2004), *Phalacrocorax gaimardi* (Millones et al. 2005) y mamíferos marinos: *Lagenorhynchus australis* (Schiavini et al. 1997), *Pocoena spinipinnis* (Riccialdelli et al. 2010).

El conocimiento de la estructura poblacional de sardina austral en aguas jurisdiccionales de Chile, proviene principalmente del trabajo realizado por Galleguillos et al. (2012). Estos autores, luego de integrar múltiples marcadores naturales y fenotípicos (morfología de otolitos, morfología corporal, parámetros de historia de vida, parásitos e isótopos estables en otolitos), identificaron la existencia de dos unidades demográficas, las que se encontrarían relacionadas, en términos generales, con las dos regiones administrativas analizadas. El nivel de mezcla estimado fue moderado (16-32%), suficientemente bajo como para mantener dinámicas poblacionales separadas, pero suficientemente alto como para considerar este intercambio en los modelos de evaluación de stock. Sin perjuicio de lo anterior, el análisis molecular basado en microsatélites no permitió descartar la hipótesis nula de panmixia entre las regiones de Los Lagos y Aysén, llevando a concluir que estas podrían formar parte de una única unidad evolutiva, es decir, un área donde, a pesar de la segregación demográfica, existiría suficiente intercambio reproductivo como para mantener cohesión genética en una escala evolutiva (miles de años).

Actualmente no se ha identificado con claridad las principales zonas de desove y crianza de sardina austral. Sin embargo, estudios de ictioplancton han identificado zonas que, con frecuencia interanual, presentan importantes concentraciones de huevos y larvas de esta especie en ambas regiones (Castro et al. 2015):

- Región de Los Lagos: Estuario de Reloncaví, Costa Oriental de Chiloé entre Islas Chauques e Isla Lemuy, y Bahía Tic-Toc.
- Región de Aysén: Canal Moraleda, entre el Archipiélago de las Guaitecas y la boca del Canal Puyuhuapi.

#### **IV. OBJETIVOS**

##### **Objetivo general**

Determinar las unidades demográficas de sardina austral en las regiones de Los Lagos y de Aysén.

##### **Objetivos específicos**

- Objetivo 1: Desarrollar un diseño experimental geográfico, temporal y biológicamente adecuado para la identificación de las unidades demográficas en las regiones de Los Lagos y de Aysén.
- Objetivo 2: Determinar las unidades demográficas de sardina austral y sus límites espaciales a través de análisis multi-metodológicos de marcadores ecológicos.
- Objetivo 3: Estimar el grado de mezcla entre las unidades demográficas.
- Objetivo 4: Desarrollar un modelo conceptual respecto de las migraciones ontogénicas de los individuos, los posibles procesos de conectividad y su relación con las variables ambientales.

#### **V. ENFOQUE METODOLÓGICO**

El presente proyecto buscó evaluar la hipótesis de trabajo que reconoce a las unidades de manejo de sardina austral de las regiones de Los Lagos y Aysén, como dos unidades demográficas independientes. Buscó también evaluar la estabilidad interanual de marcadores naturales y fenotípicos en otolitos, y seleccionar aquellos más adecuados para diferenciar unidades demográficas en la zona de estudio. Para esto, analizamos: i) composición elemental (metales), ii) composición isotópica ( $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{18}\text{O}$ ), iii) patrones microestructurales del crecimiento temprano, iv) patrones macroestructurales de crecimiento (bio-cronología) y v) morfometría. Integrando la información de los marcadores seleccionados, se estimó el grado de mezcla entre unidades demográficas identificadas. Finalmente, considerando el conocimiento existente a la fecha y la información entregada por el presente proyecto se desarrolló un modelo conceptual respecto de la distribución espacial y de los patrones migratorios de sardina austral en el área de estudio.

## VI. DESARROLLO Y RESULTADOS POR OBJETIVO

### DESARROLLO DE UN DISEÑO EXPERIMENTAL GEOGRÁFICO, TEMPORAL Y BIOLÓGICAMENTE ADECUADO PARA LA IDENTIFICACIÓN DE LAS UNIDADES DEMOGRÁFICAS DE SARDINA AUSTRAL EN LAS REGIONES DE LOS LAGOS Y AYSÉN (OBJETIVO 1)

Cristóbal Garcés & Edwin Niklitschek, Centro i~mar, Universidad de Los Lagos

#### METODOLOGÍA

##### Área de estudio

El área de estudio correspondió al Sistema de Fiordos y Canales Patagónicos entre Puerto Montt (41° 30'S) y Laguna San Rafael (46° 35'S). Esta área se dividió en dos zonas, siguiendo la división político-administrativa vigente las unidades de manejo utilizadas para la administración de la pesquería de sardina austral (Figura 1):

- Chiloé: Aguas Interiores de la Región de Los Lagos, entre Puerto Montt y el límite sur de la región (cuadra de Isla Guafo)
- Aysén: Aguas Interiores de la Región de Aysén, entre el límite norte de la región (Cuadra de Isla Guafo y Laguna San Rafael).

Con el fin de procurar una distribución más adecuada del esfuerzo de muestreo, cada una de las dos zonas fue subdividida en dos estratos (Figura 1). En el caso de Chiloé, el límite entre estratos correspondió a la constricción del paso Desertores-Apiao que divide el Mar Interior de Chiloé en dos grandes sub-cuencas: (i) la sub-cuenca norte (Seno de Reloncaví y Golfo de Ancud), caracterizada por una mayor influencia estuarina y una marcada estratificación de la columna de agua, y (ii) la sub-cuenca sur (Golfo del Corcovado), que presenta una mayor influencia oceánica y escasa estratificación vertical (Sievers & Silva 2008, Carrasco & Silva 2010). En el caso de Aysén, se tomó como referencia la isolínea de salinidad 30.5, calculada con base en el promedio anual de salinidad a 12 m de profundidad, considerando un umbral de salinidad <31 para discriminar entre masas de agua oceánicas y estuarinas (Calvete & Sobarzo 2011). Como resultado, el primer estrato de la Región de Aysén abarcó el Canal de Moraleda hasta Punta San Andrés (73° 21.5' W, 44° 57.5' S) y los canales occidentales comprendidos entre el límite norte de la región y el Canal Ninualac (Figura 1). El segundo estrato incluyó los Fiordos Piti-Palena, Jacaf y Puyuhuapi y todos los fiordos y canales ubicados al sur de Punta San Andrés y del Canal Ninualac (Figura 1). En resumen:

- Estrato A: Fiordo y Seno de Reloncaví hasta Islas Desertores
- Estrato B: Islas Desertores hasta límite sur de la Región de Los Lagos
- Estrato C: Canal Moraleda y canales orientales desde el límite Norte de la Región de Aysén hasta Punta San Andrés/Canal Ninualac

- Estrato D: Fiordos Interiores de la Región de Aysén (Puyuhuapi, Jacaf y Aysén) y canales y fiordos al sur de Punta San Andrés/Canal Ninualac.

### **Periodo de estudio**

La aplicación ideal de métodos basados en marcadores naturales que utilizan otolitos conlleva dos pasos fundamentales. Primero, se estiman los valores medios y covarianzas de estos marcadores en cada zona y año de crianza (líneas-base), utilizando para ello las señales químicas observadas en regiones nucleares de otolitos de individuos juveniles de origen conocido y de la menor edad posible, esto a fin de minimizar posibles sesgos derivados de procesos migratorios o advectivos. Luego, se comparan estas líneas-base con las señales químicas observadas en las regiones nucleares de otolitos de adultos, de origen desconocido, muestreados en sus zonas de alimentación, captura o reproducción. En lo posible, se busca que los juveniles utilizados para construir la línea-base pertenezcan a la misma cohorte que los adultos cuya mezcla se desea estimar. Esto con el fin de minimizar posibles sesgos derivados de la variabilidad ínter-anual de las señales químicas registradas en las regiones nucleares de los otolitos analizados.

Considerando los principios metodológicos antes descritos y el ciclo de vida de sardina austral, se buscó muestrear juveniles de edad 0+ y adultos de edad 2+ pertenecientes a la misma cohorte, pero capturados en años posteriores. Dado que los tiempos disponibles para la ejecución del proyecto (15 meses efectivos) hicieron imposible realizar y analizar un muestreo secuencial como el indicado, debimos recurrir a la colección de muestras históricas disponibles en el Instituto de Fomento Pesquero (IFOP). Dentro de esta colección, se destacan dos fuentes principales de muestras de otolitos de *S. fuegensis*:

- Cruceros de evaluación hidroacústica, efectuados entre abril y mayo de cada año, período que coincide con la edad a la que los juveniles comienzan a ser vulnerables al arte de pesca (cerco). A pesar de que el crucero cubre toda el área de estudio, existe un gran desbalance espacial en cuanto a la distribución de lances exitosos, particularmente en áreas donde la operación es más compleja y existe una menor abundancia de *S. fuegensis*, tales como el Golfo de Corcovado.
- Actividad comercial monitoreada por el Programa de Seguimiento, estos están mejor distribuidas a lo largo del año, al menos en el caso de Chiloé, pero limitadas a solo dos zonas puntuales de pesca Golfo de Ancud y sur de Puerto Aguirre, las que son utilizadas de manera recurrente por las flotas de cada área de manejo.

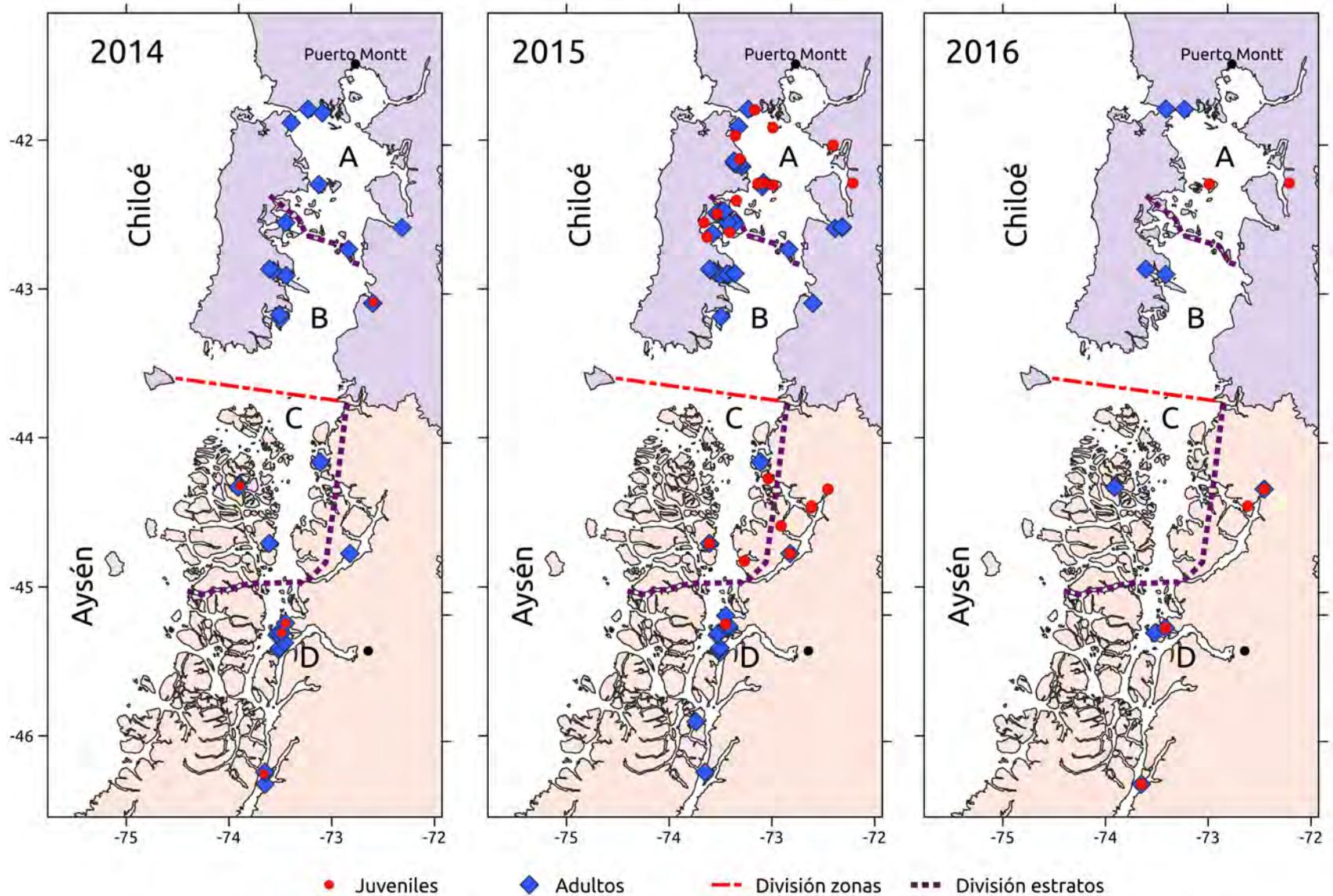


Figura 1: División del área de estudio en dos zonas: Chiloé y Aysén y en cuatro estratos: A, B, C y D, definidos con base en características oceanográficas e indicados con línea segmentada (roja para zonas, púrpura para estratos). Lances de obtención de muestras en azul para adultos y rojo para juveniles.

Dados los requerimientos de nuestro enfoque metodológico y las limitaciones de la serie de datos histórica ya señaladas, se decidió focalizar nuestro estudio en dos de las cohortes que parecían estar mejor representadas en las colecciones disponibles: 2015 y 2016. Se buscó con ello, contar con dos estimaciones independientes de líneas-base y de tasas de mezcla, contrastando un año “normal” (cohorte 2016) con un año afectado por el fenómeno de “El Niño” (cohorte 2015). Para ello se procedió a seleccionar y analizar un total de 779 muestras, las cuales representaron casi la totalidad de las muestras de juveniles (Figura 2), sub-adultos y adultos (Figura 3) asignables a las cohortes ya indicadas. Sin embargo, luego de una acuciosa verificación de sus edades biológicas, se pudo constatar una estructura más compleja y desbalanceada que la esperada, caracterizada por la presencia de 92 adultos pertenecientes a la cohorte 2014, los cuales fueron incorporados a los análisis que así lo permitieron (Tabla 1). En el caso del análisis de macro-estructural, el rango de cohortes analizados se expandió intencionadamente al período comprendido entre 2012 y 2017.

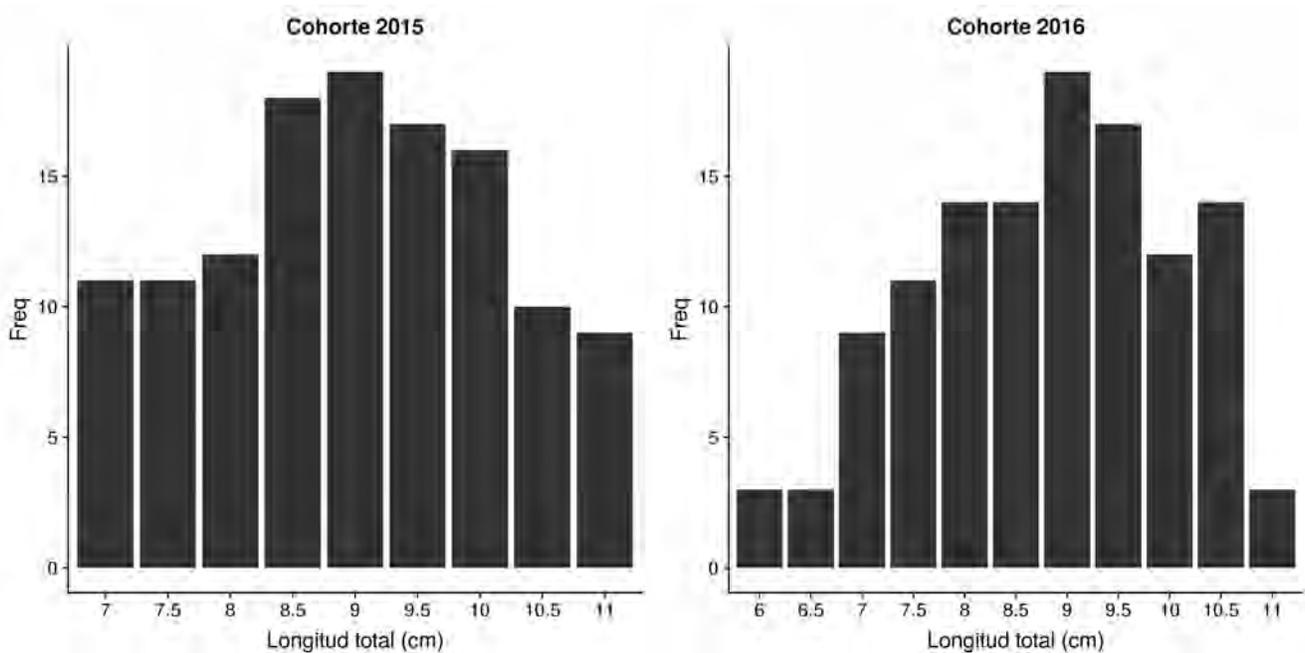


Figura 2: Distribución de tallas (LT) de individuos juveniles de sardina austral (cohortes 2015 y 2016) provenientes de cruceros hidroacústicos 2016 y 2017. Muestras corresponden a la selección realizada para los distintos enfoques metodológicos.

Tabla 1: Otolitos de sardina austral analizados por aproximación metodológica, etapa, unidad de manejo y cohorte. Juveniles:  $LT \leq 11$  cm, sub-adultos y adultos:  $LT \geq 11.5$  cm), En gris se destacan cohortes 2014-2016.

Aproximación metodológica	Etapa	Unidad de manejo	Cohorte					
			2012	2013	2014	2015	2016	2017
Isótopos estables	Sub-adulto y adulto	Chiloé	0	0	66	181	103	6
		Aysén	0	0	62	130	27	1
	Juvenil	Chiloé	0	0	3	102	71	0
		Aysén	0	0	11	50	85	0
Composición elemental	Sub-adulto y adulto	Chiloé	0	0	32	91	48	2
		Aysén	0	0	33	63	15	0
	Juvenil	Chiloé	0	0	4	78	67	0
		Aysén	0	0	11	43	70	0
Macroestructuras	Sub-adulto y adulto	Chiloé	1	4	7	18	7	0
		Aysén	4	29	73	36	24	37
	Juvenil	Chiloé	0	0	0	10	132	70
		Aysén	0	0	15	67	113	6
Microestructuras	Sub-adulto y adulto	Chiloé	0	1	14	74	55	0
		Aysén	0	0	18	49	16	0
	Juvenil	Chiloé	0	0	0	66	86	0
		Aysén	0	0	6	35	74	0
Morfometría	Sub-adulto y adulto	Chiloé	0	0	0	99	51	0
		Aysén	0	0	0	74	14	0
	Juvenil	Chiloé	0	0	0	82	92	0
		Aysén	0	0	0	35	83	0
Total de individuos	Sub-adulto y adulto	Chiloé	1	5	40	129	71	7
		Aysén	4	29	102	97	42	38
	Juvenil	Chiloé	0	0	4	123	194	70
		Aysén	0	0	15	67	147	6
Número de lances	Sub-adulto y adulto	Chiloé	1	3	14	39	34	4
		Aysén	2	3	13	15	14	5
	Juvenil	Chiloé	0	0	1	6	14	2
		Aysén	0	0	4	5	9	4

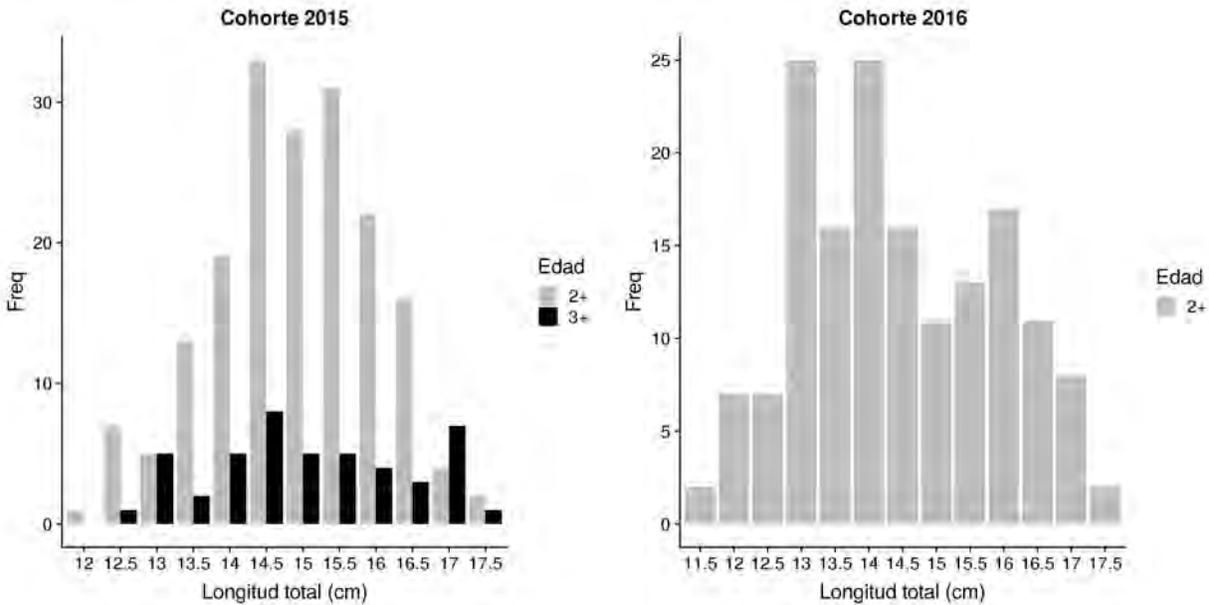


Figura 3: Distribución de tallas (LT) de individuos adultos de sardina austral (cohortes 2015 y 2016) provenientes de Cruceros Hidroacústicos y de Programa de Seguimiento de Pequeños Pelágicos 2017-2018. Se muestra tallas de los grupos de edad 2+ y 3+ para la cohorte 2015.

### Tamaño y criterios de selección de muestras

Dadas las características de la licitación del presente proyecto, se hizo necesario definir un tamaño muestral *a priori*, adecuado para construir una oferta económica razonable, sin poseer ni toda la información (muestreos-piloto, datos crudos de estudios anteriores o similares), ni el tiempo de análisis requeridos para efectuar un análisis de potencia adecuado. El proceso de selección de muestras antes resumido estuvo orientado a compatibilizar esos objetivos muestrales con tres criterios principales de selección, definidos *a priori* y resumidos a continuación:

- i. Número similar de muestras entre cohortes, zonas y estratos.
- ii. Muestras de cada año, zona y estrato deben proceder de al menos tres lances independientes (separados en espacio y/o tiempo por al menos 10 millas y/o 24 horas).
- iii. Aplicación de todas las metodologías de análisis a cada ejemplar analizado.

Como ya se ha indicado, el balance entre cohortes, zonas y estratos fue inferior al esperado dadas las limitaciones propias de la colección de otolitos disponibles y de discrepancias entre la cohorte asignada *a priori* al seleccionar la muestra y aquella asignada *a posteriori* al leer la edad efectiva de muestras no leídas previamente. La representación de al menos tres lances independientes dentro de cada cohorte, zona y estrato analizados se logró adecuadamente (Tabla 1, Figura 1), permitiendo así analizar la correlación dentro de lances y ajustar modelos mixtos adecuados para corregir los efectos de la falta de independencia entre observaciones sobre medias y errores estándar (Pennington & Volstad 1994, Biro 2013). La aplicación de todas las técnicas a cada individuo fue imposible dado que el material biológico contenido en

un mismo par de otolitos no resultó suficiente para alimentar todas las técnicas destructivas: análisis microestructural, análisis elemental y análisis isotópico. Frente a esta situación se optó por combinar aleatoriamente las distintas técnicas destructivas y no destructivas, maximizando el solapamiento de las mismas entre individuos.

### **Análisis comparativo con datos previamente disponibles**

Según lo comprometido en nuestra oferta técnica, se realizó un análisis comparativo de los resultados del presente proyectos con los siguientes conjuntos de datos previamente disponibles:

- i. Índices microestructurales disponibles para la cohorte 2012 en Chiloé (n=30) y para la cohorte 2013 en Aysén (n=109) (Cerna & Plaza 2015)
- ii. Señales isotópicas disponibles para la cohorte 2010 (Niklitschek et al. 2012), tanto en Chiloé (n=33), como en Aysén (n=54).

## ANÁLISIS DE LA COMPOSICIÓN ELEMENTAL E ISOTÓPICA DE OTOLITOS DE SARDINA AUSTRAL (OBJETIVO 2)

Edwin Niklitschek<sup>1,2</sup>, Cristóbal Garcés<sup>1</sup>, Paulina Carimán<sup>1</sup>, Rurik Romero<sup>3,4</sup> & Fernando Barra<sup>3,4</sup>

<sup>1</sup>Centro i~mar, Universidad de Los Lagos; <sup>2</sup>Programa de Investigación Pesquera Universidad Austral de Chile-Universidad de Los Lagos; <sup>3</sup>Departamento de Geología, Universidad de Chile, <sup>4</sup>Centro de Excelencia en Geotermia de Los Andes

### ANTECEDENTES

Los principales métodos de identificación de unidades demográficas a partir del análisis químico de otolitos se basan en la cuantificación de las concentraciones de metales, principalmente Ba, Sr, Mg y Mn, y de las concentraciones relativas de isótopos estables, principalmente de carbono ( $\delta^{13}\text{C}$ ), oxígeno ( $\delta^{18}\text{O}$ ) y estroncio ( $\delta^{87}\text{Sr}$ ). La concentración relativa de estroncio (Sr/Ca) es un indicador de salinidad y temperatura, existiendo una relación positiva, relativamente generalizable respecto de la salinidad, pero una relación más compleja, probablemente no-lineal y especie-específica respecto de la temperatura (Elsdon & Gillanders 2003, 2006). Lo contrario ocurre con Ba, cuya presencia en otolitos (Ba/Ca) mantiene una relación negativa con la salinidad del ambiente, dando cuenta de ambientes con baja concentración salina (Elsdon & Gillanders 2005). Los niveles de  $\delta^{18}\text{O}$  en el otolito son directamente proporcionales a su concentración en el hábitat y, de esta manera, se encuentra positivamente correlacionada con la salinidad, pero negativamente correlacionado con la temperatura del mar. Aunque los niveles de  $\delta^{13}\text{C}$  en el otolito son afectados por su concentración en el agua de mar, no existe una proporcionalidad directa, ya que el  $\delta^{13}\text{C}$  en el otolito es afectado también fuertemente por la composición de la dieta, el metabolismo y la actividad reproductiva (Kalish 1991, Wurster et al. 1999, Rooker & Secor 2004).

Aunque existen muy pocas comparaciones disponibles en la literatura de corriente principal sobre la potencia discriminante de metales e isótopos estables, existe evidencia no publicada que, al menos en ciertas poblaciones y hábitats, los isótopos estables tienden a alcanzar mayor potencia estadística con un número equivalente de muestras. Este ha sido, por ejemplo, el caso de la merluza de tres aletas alrededor de Sudamérica (Niklitschek et al. 2008), del atún de aleta amarilla en el Atlántico norte (D. Secor, com. pers.). El alto potencial resolutivo de esta técnica ha sido también destacado por otros autores, incluyendo los trabajos de Thresher (1999) y Volpedo et al. (2006).

El uso de metales e isótopos estables para la identificación de unidades demográficas es de uso relativamente reciente en Chile. Niklitschek et al. (2010) combinaron estas técnicas junto con el análisis de fauna parasitaria para discriminar unidades demográficas de merluza de tres aletas *Micromesistius australis* capturadas en los océanos Atlántico y Pacífico, encontrando diferencias importantes de potencia entre técnicas, favoreciendo el uso de isótopos estables, al menos para esta especie y lugar geográfico. Otros estudios más recientes, desarrollados en Chile bajo este enfoque, han incluido especies como bacalao de profundidad *Disosstichus eleginoides* (Niklitschek & Toledo 2011), sardina austral *Sprattus fuegensis* (Niklitschek et al. 2012), jurel

*Trachurus murphyi* (Serra, com. pers.), merluza de cola *Macruronus magellanicus* (Niklitschek et al. 2014), salmón chinook *Oncorhynchus tshawytscha* (Araya et al. 2014), reineta *Brama australis* (Niklitschek et al. 2015), anchoveta *Engraulis ringens* (Garcés et al. 2019) y merluza austral *Merluccius australis* (Toledo et al. 2019).

En el presente proyecto, se utilizó el análisis elemental e isotópico de otolitos para someter a prueba la actual hipótesis de trabajo que segrega la población de sardina austral de la eco-región Chilense (Spalding et al. 2007) en dos unidades demográficas y de manejo, distribuidas en Chiloé (Puerto Montt-Isla Guafo) y Aysén (Isla Guafo-Laguna San Rafael), respectivamente. Esto mediante el análisis isotópico ( $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{18}\text{O}$ ) de las secciones nucleares y borde de otolitos de juveniles y adultos de *S. fuegensis*, y mediante la determinación de perfiles radiales de concentración elemental (relativas al Ca) de Ba, Mg, Mn, Sr y otros metales que resultaron detectables y de interés.

#### **METODOLOGÍA DE TRABAJO**

Los otolitos derechos de los ejemplares seleccionados fueron almacenados en tubos Eppendorf y trasladados a dependencias del Centro i-mar para su posterior preparación y análisis, siguiendo protocolos estandarizados de trabajo limpio. Como primer paso, cada otolito fue sonicado en agua ultrapura (18,2 M $\Omega$ ), asegurándose de extraer cualquier tejido remanente, fue sonicado otra vez en agua ultrapura durante 5 minutos y secado bajo campana de flujo laminar. Luego, cada otolito fue fotografiado para luego ser embebido en resina epóxica de alta pureza (Buehler), con ayuda de moldes plásticos y secado a temperatura constante (50 °C) por cinco horas. Posteriormente, fue seccionado transversalmente utilizando una sierra de corte lento (ISOMET Buehler), obteniendo una sección central de 600-900  $\mu\text{m}$ .

Cada sección fue pre-pulida con paños de carburo de silicio de graduación 1500, 2000 y 2400, para incrementar su transparencia y reducir su espesor a unos 200-400  $\mu\text{m}$  con el fin de observar los anillos cercanos al primordio. Para evitar posibles fracturas del otolito y facilitar el pulido final, las secciones pre-pulidas fueron pegadas con resina epóxica (Buehler) a secciones de vidrio de aproximadamente 1000  $\mu\text{m}$  de grosor, previamente descontaminadas con etanol y agua ultrapura. El pulido final se realizó utilizando paños recubiertos de polvo de diamante (Diamond Lapping Film Buehler®) de 3  $\mu\text{m}$  de grano, utilizando un paño por cada otolito. Todo esto con el fin de minimizar la contaminación de la muestra y remover cualquier contaminación previa derivada de los paños de carburo de silicio. El pulido se detuvo al visualizar el primordio a una distancia de 10-20  $\mu\text{m}$ , bajo la superficie. Una vez finalizado el pulido, las secciones fueron sonicadas por 5 minutos en agua ultrapura, secadas bajo campana de flujo laminar y montadas en portaobjetos, utilizando pegamento termoplástico (Crystalbond®), siendo almacenadas para su posterior análisis químico en la Universidad de Chile. Toda manipulación de las muestras fue efectuada con guantes, pinzas y material plástico esterilizado. Todo el material no desechable fue descontaminado mediante baños de ácido nítrico ultrapuro al 4%, enjuagado con agua ultrapura y secado en cámara de flujo laminar.

## Composición elemental

Para el análisis de composición elemental se realizó un barrido continuo (“raster”) en cada muestra. El análisis de composición elemental de las secciones de otolitos, se realizó a través de una transecta lineal, desde el núcleo del otolito (idealmente desde el primordio) hasta el borde dorsal. La extracción de las muestras por otolito, consistió en una pre-ablación (Tabla 2) cuyo objetivo fue la remoción superficial de contaminantes ajenos a la matriz del otolito, seguida de dos ablaciones cuantitativas (Tabla 2) y paralelas, a manera de duplicados, las cuales fueron posteriormente promediadas. Antes y después de cada serie de 6-8 otolitos, se aplicó idénticos procesos de pre-ablación y ablación (Tabla 2) sobre el estándar de silicato de vidrio NIST SRM 612 (Jochum et al. 2011) y una sobre un segundo material de referencia de carbonato de calcio sintético MACS-3 (Jochum et al. 2012), producido por el Servicio Geológico de los Estados Unidos (USGS). Todos los análisis fueron realizados en el Laboratorio de Espectrometría de Masas del Centro de Excelencia de Geotermia de los Andes (CEGA), utilizando un sistema de ablación láser 193 nm ArF (Photon Machines Analyte G2) acoplado a un espectrómetro de masas ICP-MS (iCapQ ThermoScientific).

El post-proceso de los datos generados por el espectrómetro de masas fue realizado mediante el paquete lolite V2.5 (Paton et al. 2011), utilizando el método de estándares internos y externos (esquema de reducción “Trace Elements IS”).  $^{43}\text{Ca}$  fue usado como estándar interno, asumiendo un valor estequiométrico de 38.8% de  $\text{CaO}_3$  en la matriz de aragonita (Yoshinaga et al. 2000). En total, se determinó la concentración de 11 elementos:  $^7\text{Li}$ ,  $^{11}\text{B}$ ,  $^{24}\text{Mg}$ ,  $^{44}\text{Ca}$ ,  $^{55}\text{Mn}$ ,  $^{67}\text{Zn}$ ,  $^{85}\text{Rb}$ ,  $^{88}\text{Sr}$ ,  $^{118}\text{Sn}$ ,  $^{138}\text{Ba}$ ,  $^{139}\text{La}$ . Se eliminaron todos los puntos con posible contaminación, utilizando como criterio, altas concentraciones de  $^{27}\text{Al}$  y  $^{57}\text{Fe}$  ( $P_{99}$ ). Se calculó el cociente entre cada elemento y el calcio y finalmente se calculó la media de los puntos de ablación que representaron la fase juvenil y adulta en cada otolito.

Tabla 2: Configuraciones de pre-ablación y ablación láser utilizadas para la determinación de la composición elemental de otolitos de sardina austral *Sprattus fuegensis*.

Parámetro	Pre-ablación	Ablación
Diámetro ( $\mu\text{m}$ )	85	50
Velocidad ( $\mu\text{m/s}$ )	30	5
Intensidad ( $\text{j/cm}^2$ )	6	7
Frecuencia (Hz)	30	10

Para representar la fase juvenil de sardina austral, se utilizaron las medianas de las señales registradas entre los primeros 80 y 280  $\mu\text{m}$  de cada transecta, equivalentes, aproximadamente, al período comprendido entre los 30 y los 90 días de vida (contados desde la eclosión). Para representar la fase adulta se utilizaron las medianas de las razones elementales registradas en los últimos 50  $\mu\text{m}$  de cada transecta. Las relaciones entre número de puntos de ablación y días de vida, se estimó con base en el grosor medio de los micro-

incrementos observados en esta misma especie, período y zona de estudio (ver sección de análisis microestructural).

Excluyendo los isótopos de Ca, solo ocho de los 11 elementos e isótopos analizados presentaron >90% del total de mediciones realizadas por sobre el límite de detección de la concentración de cada elemento: Li, B, Mg, Mn, Zn, Sr, Sn y Ba. Dada la imposibilidad de ajustar las distribuciones observadas o transformadas de valores de Zn y Sn al modelo de distribución normal multivariada seleccionado para el desarrollo de nuestros modelos de mezcla, se excluyó también estas respuestas de nuestros análisis posteriores. Finalmente, luego de un análisis mediante “fuerza bruta” del poder discriminante de todas las combinaciones posibles de estos seis elementos, concluimos que la combinación más informativa (menor error en auto-clasificación) fue la formada por los elementos: Li, Mg, Mn, Sr y Ba.

### **Isótopos estables**

Dado que solo se contó con el otolito derecho tanto para el análisis de composición elemental como de isótopos estables, ya que el otro fue destinado al análisis de morfometría y micro-incrementos; se hizo necesario seguir un procedimiento secuencial, donde el análisis isotópico solo fue realizado, una vez finalizado el análisis elemental (LA-ICPMS) de cada otolito, con el consiguiente problema de disponer de poco material para ser analizado y alcanzar la masa mínima (30  $\mu\text{g}$ ) requerida para el análisis de isótopos estables. Dadas estas limitaciones, se tomó ventaja del patrón de crecimiento antero-posterior, que a partir del primer año de vida se concentra de manera importante en el *rostrum*.

A partir de lo anterior, nos permitimos asumir que las secciones transversales de 200  $\mu\text{m}$  centradas en torno al primordio utilizadas para el análisis elemental se encuentran dominadas por material depositado durante el primer año de vida y representan un material de referencia válido y comparable para este período. De manera similar, asumimos que el *rostrum* se encuentra libre de señales químicas atribuibles al primer año de vida y constituye, por ende, un material de referencia válido y comparable para analizar la etapa sub-adulta y adulta de los ejemplares investigados. Lamentablemente, la masa promedio individual de las secciones de *rostrum* obtenidas (mediante bisturí, 290-550  $\mu\text{m}$  de largo) tampoco permitió alcanzar la masa mínima (30  $\mu\text{g}$ ) requerida para su análisis. Lo anterior obligó a combinar muestras formando grupos de tres individuos procedentes de una misma zona y lance, y cuyo tamaño no difiriera en más de 0,5 cm.

Las secciones transversales y *rostrum* seleccionados para análisis isotópico fueron almacenados en microtubos Eppendorf limpios, previamente descontaminados en ácido nítrico ( $\text{HNO}_3$ , 5%) y fueron enviados a analizar al Laboratorio Ambiental de Geoquímica de Isótopos de la Universidad de Arizona mediante un dispositivo automatizado de preparación de carbonato KIEL-III, acoplado a un espectrómetro de radio-gas Finnigan MAT 252. Los prismas o polvo de otolitos se digirieron con ácido fosfórico deshidratado en vacío, a 70 °C,

donde el  $\text{CO}_2$  generado por la reacción determina la concentración de isótopos  $\delta^{18}\text{O}$  y  $\delta^{13}\text{C}$ . Los resultados se expresaron en partes por mil relativas a un estándar (Vienna Pee Dee Belemnite, VPDB), utilizando los estándares internacionales NBS-19 y NBS-18.

### **Análisis estadísticos**

En general, tanto para el análisis univariado como multivariado, se utilizó un enfoque de modelos lineales mixtos (Littel et al. 1996, Pinheiro & Bates 2000). Los primeros implementados en la librería “lme4” de R (Bates et al. 2015) y los segundos en la librería MCMCglmm del mismo entorno de programación (Hadfield 2010). El uso de modelos lineales mixtos buscó corregir los sesgos en medias y errores estándar derivados de la falta de independencia entre observaciones procedentes de un mismo lance de pesca y del desbalance en tamaños muestrales entre lances de pesca. Para tales fines, la identidad de cada lance fue incorporada como variable categórica de tipo aleatoria en cada modelo evaluado.

Para llevar a cabo el contraste de hipótesis se utilizó el enfoque de Burnham & Anderson (2002) basado en el análisis del soporte relativo de los datos a múltiples modelos alternativos. Para guiar este análisis se utilizó el criterio de información de Akaike (1973) para el caso univariado y el criterio de información de devianza (Hadfield 2010) para el caso multivariado. Siguiendo las recomendaciones de la Sociedad Estadística de América (Wasserstein & Lazar 2016) y de un número relevante y creciente de científicos (Amrhein et al. 2019), se evitó explícita e intencionadamente el uso del concepto de significancia basado en la interpretación dicotómica de valores p, u otros estadísticos equivalentes (Wasserstein et al. 2019). En su reemplazo, se enfatizó la magnitud de los efectos (diferencias) y el peso de la evidencia de los datos en favor de distintos modelos alternativos.

Los supuestos de normalidad univariada y multivariada fueron verificados gráficamente, comparando las distribuciones teóricas y observadas de los residuales mediante diagramas cuantil-cuantil (Q-Q) (Venables & Ripley 2002). Los supuestos de homocedasticidad fueron evaluados mediante las pruebas de Levene (1960), para el caso univariado, y de homogeneidad de dispersiones beta (Anderson 2006), para el caso multivariado. Frente a la falta de normalidad y homocedasticidad observada en los datos (residuales) de las concentraciones elementales, se procedió a transformarlos utilizando la versión multivariada del algoritmo de Box-Cox (Box & Cox 1964) implementada en el paquete R “car” (Fox & Weisberg 2011).

## RESULTADOS

### Composición elemental

#### i. Análisis de líneas-base en juveniles

Las concentraciones elementales de las regiones nucleares de otolitos de peces juveniles fueron altamente variables entre y dentro de unidades de manejo y cohortes (Figura 4). Dependiendo de la cohorte analizada, los datos dieron mayor soporte relativo ( $p > 0.67$ ) a las hipótesis de medias distintas entre Chiloé y Aysén para el caso de los metales Li, Mn y Ba (Tabla 3, Figura 4). Las concentraciones relativas medias de Li correspondientes a las cohortes 2015 y 2016 fueron 47% y 90% mayores en las muestras procedentes Chiloé que en aquellas procedentes de Aysén. De manera similar, las concentraciones relativas medias de Ba fueron un 35% mayores (cohorte 2016) en las muestras de Chiloé que en Aysén. Las muestras de Aysén mostraron, en contraste, mayores concentraciones relativas de Mn, particularmente en el caso de las cohortes 2014 y 2015, cuyas medias fueron 2.3 y 1.26 veces mayores que en Chiloé (Tabla 3).

A diferencia del caso univariado, el análisis multivariado mostró un soporte contundente de los datos a las hipótesis que prescribieron diferencias de medias entre zonas y entre cohortes dentro de zonas (Tabla 4). Se encontró, así mismo, evidencia clara ( $\Delta DIC = 141,3$ ; Tabla 4) acerca de la necesidad de considerar la correlación dentro de lances (variable aleatoria), cuya omisión (exploratoria, no presentada aquí) alteró sustancialmente los resultados tanto del análisis univariado como multivariado. Los datos no dieron soporte a la existencia de diferencias importantes entre sub-etapas, pero si mostraron que una estratificación alternativa basada en la Constricción de Meninea (Sievers & Silva 2008) resultaría más informativa que aquella basada en la isoclina de salinidad 31 que propusiéramos en nuestra oferta técnica para la Región de Aysén. Sin perjuicio de ello, encontramos evidencia sugerente ( $\Delta DIC = 1,3$ ) de la conveniencia de omitir el estrato de muestreo como variable explicativa.

El análisis de conglomerados espaciales mostró que las concentraciones elementales de las secciones nucleares de los juveniles de la cohorte 2015 ( $n=9$  lances) permitirían identificar cuatro orígenes espacial y químicamente discretos (Tabla 5): i) NW del Golfo de Ancud, (ii) Península Huequi-Chonchi, (iii) Chaitén-Puyuhuapi y (iv) Meninea-Elefantes. En la cohorte 2016, a pesar del mayor número de lances analizados ( $n=17$ ), el número más informativo de conglomerados se redujo a solamente dos: i) Chacao-Chonchi y ii) Jacaf-Aysén (Tabla 5).

Tabla 3: Medias ajustadas de las concentraciones de Li, B, Mg, Mn, Sr y Ba relativas a  $^{43}\text{Ca}$  en secciones nucleares de otolitos de juveniles de sardina austral según cohorte y unidad de manejo. EE=error estándar. Valores entre paréntesis indican tamaño muestral. Todos los cocientes corresponden a  $\mu\text{moles}\cdot\text{mol Ca}^{-1}$ , excepto para Mg y Sr, los que corresponden a  $\text{mmoles}\cdot\text{mol Ca}^{-1}$ .

Elemento	Cohorte 2014				Cohorte 2015				Cohorte 2016			
	Chiloé (3)		Aysén (10)		Chiloé (76)		Aysén (39)		Chiloé (59)		Aysén (68)	
	Media	EE	Media	EE	Media	EE	Media	EE	Media	EE	Media	EE
Li	3.97	1.765	4.04	1.031	4.98	0.747	2.85	0.644	12.84	1.24	6.77	0.806
B	29.71	5.755	21.55	2.681	27.48	1.975	28.49	2.628	27.41	1.586	26.31	1.57
Mg	0.29	0.109	0.34	0.07	0.42	0.043	0.52	0.074	0.4	0.037	0.41	0.037
Mn	0.64	0.223	1.48	0.241	1.23	0.132	1.55	0.202	1.47	0.121	1.41	0.122
Sr	1.15	0.102	1.1	0.056	1.04	0.03	1.02	0.039	1.08	0.026	1.07	0.027
Ba	0.31	0.068	0.27	0.034	0.26	0.021	0.26	0.026	0.31	0.021	0.23	0.015

Tabla 4: Análisis comparativo de distintos modelos multivariados utilizados para explicar la variabilidad observada en las medias de las concentraciones relativas de Li, B, Mg, Mn, Sr y Ba en secciones nucleares de otolitos de juveniles de sardina austral *Sprattus fuegensis*. K=número de parámetros estimados, LogV=logaritmo natural de la verosimilitud, DIC=Criterio de Información de la devianza,  $\Delta\text{DIC}$ =diferencia en DIC respecto del modelo más informativo, wDIC=soporte relativo dado por los datos al modelo.

Variables fijas	Variables aleatorias	K	LogV	DIC	$\Delta\text{DIC}$	wDIC
Unidad manejo/cohorte	Lance	206	-1,448.5	3,044.4	0.0	0.576
Unidad manejo+cohorte	Lance	196	-1,448.6	3,045.1	0.7	0.409
Unidad manejo/cohorte + Unidad manejo/sub-etapa	Lance	216	-1,448.2	3,051.7	7.4	0.015
Unidad manejo	Lance	86	-1,492.8	3,107.7	63.3	<0.001
Unidad manejo/estrato	Lance	101	-1,492.4	3,109.0	64.6	<0.001
Cohorte	Lance	116	-1,496.0	3,123.1	78.7	<0.001
Estrato	Lance	71	-1,525.1	3,160.9	116.5	<0.001
Nulo	Lance	51	-1,526.7	3,162.1	117.7	<0.001
Unidad manejo/cohorte	Ninguno	181	-1,551.6	3,185.7	141.3	<0.001

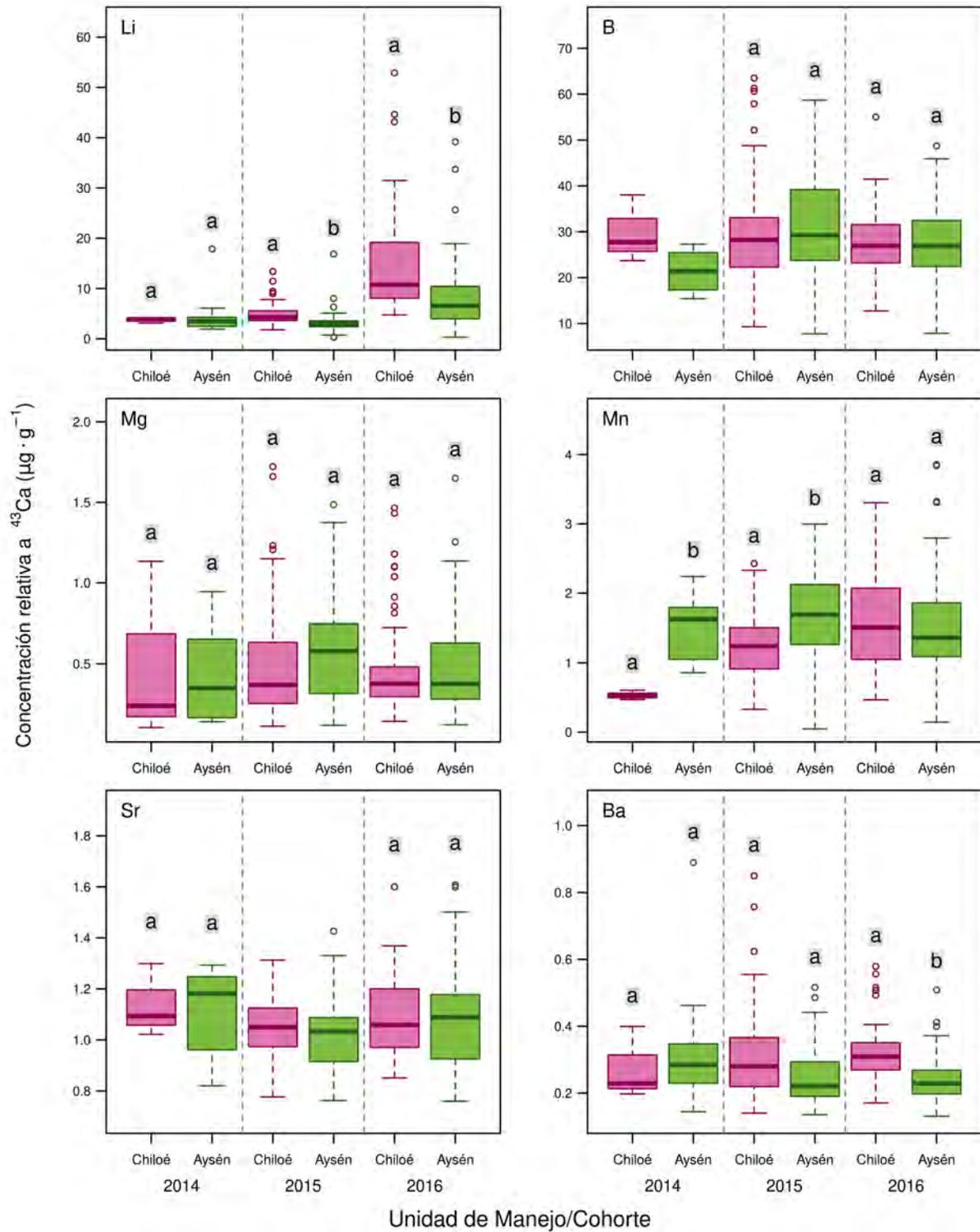


Figura 4: Concentraciones de Li, B, Mn, Zn, Sr y Ba relativas a Ca, en secciones nucleares de otolitos de juveniles de sardina común por unidad de manejo y cohorte. Todos los cocientes corresponden a  $\mu\text{moles} \cdot \text{mol Ca}^{-1}$ , excepto para Mg y Sr, los que corresponden a  $\text{mmoles} \cdot \text{mol Ca}^{-1}$ . Letras sombreadas indican  $\geq 67\%$  de soporte relativo (peso del AIC) a alguna de las dos hipótesis alternativas de i) medias iguales (letras iguales) o ii) medias diferentes (letras distintas) entre unidades de manejo, evaluadas dentro de cohortes.

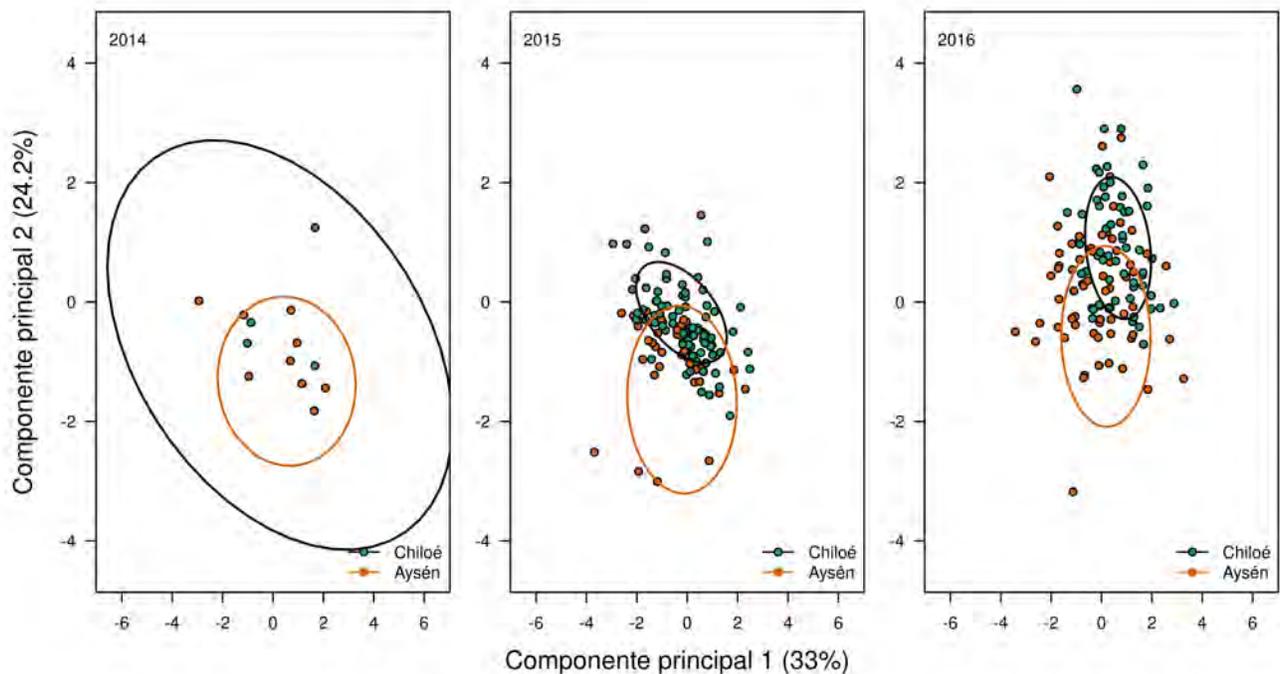


Figura 5: Diagrama de los primeros dos componentes principales obtenidos a partir de las concentraciones relativas de Li, B, Mg, Mn, Sr y Ba, en secciones nucleares de otolitos de juveniles de sardina austral *Sprattus fuegensis*, de Chiloé y Aysén (cohortes 2014-2016).

Tabla 5: Análisis comparativo de distintos modelos (número de conglomerados) de agrupamiento espacial de las concentraciones relativas de Li, Mg, Mn, Sr y Ba observadas en secciones nucleares de otolitos de juveniles de sardina austral, según cohorte.  $\text{Log}_e V$ =logaritmo natural de la verosimilitud, DIC=Criterio de Información de la devianza,  $\Delta\text{DIC}$ =diferencia en DIC respecto del modelo más informativo,  $w\text{DIC}$ =soporte relativo dado por los datos al modelo.

Cohorte	Número de conglomerados	Número de parámetros	$\text{Log}_e V$	DIC	$\Delta\text{DIC}$	$w\text{DIC}$
2015	4	146	-619.9	1307.5	0.0	0.982
	3	116	-629.2	1315.5	8.0	0.018
	2	86	-635.7	1329.9	22.4	0.000
	1	51	-663.3	1372.3	64.8	0.000
2016	2	86	-738.8	1562.9	0.0	0.998
	4	146	-735.5	1577.7	14.8	0.001
	3	116	-741.2	1577.7	14.8	0.001
	1	51	-752.9	1577.9	15.0	0.001

## **ii. Comparación de la composición elemental de las regiones nucleares de los otolitos de peces juveniles y adultos, dentro de unidades de manejo y cohortes**

Se observaron diferencias univariadas importantes en las concentraciones elementales relativas de Li, B, Mg y Mn entre las regiones nucleares de otolitos de peces juveniles y adultos (Tablas 3 y 6). Estas diferencias, sin embargo, fueron más bien inconsistentes entre zonas y cohortes, salvo en el caso del Mg, cuyas concentraciones fueron siempre más bajas (31-65%) en las secciones nucleares de los adultos que en las de los juveniles (Tablas 3 y 6). El análisis multivariado, por su parte, mostró un fuerte soporte relativo de los datos (peso acumulado del DIC >0,999) a la hipótesis de diferentes medias entre juveniles y adultos de sardina austral dentro de cada zona analizada (Tabla 7, Figura 7).

## **iii. Comparación de la composición elemental de otolitos entre regiones nucleares y marginales de adultos, dentro de unidades de manejo y cohortes**

Se observaron importantes diferencias en la composición elemental entre regiones nucleares y marginales de otolitos de peces adultos, siguiendo patrones similares entre ambas unidades de manejo y cohortes analizadas (Figura 8). De este modo, las concentraciones relativas de Mg, Mn y Ba fueron notoriamente mayores (hasta un 85%) en las secciones nucleares que en las marginales, dentro de todas las cohortes y zonas, con evidencia clara ( $p > 0.67$ ) en favor de la hipótesis de medias distintas para todos los casos, excepto para Ba en Aysén, dentro de la cohorte 2016 (Figura 8). Aunque existió cierta tendencia a observar mayores concentraciones relativas de Sr, sugerentes de hábitats más salinos, en secciones marginales, estas diferencias fueron relativamente menores y no siempre evidentes.

Los análisis multivariados mostraron, al igual que los univariados, una clara segregación entre regiones del otolito, dentro de unidades de manejo (Figura 9). De esta manera, el modelo multivariado que consideró la región del otolito como variable explicativa dentro de zona y cohorte, fue claramente más informativo que aquellos que ignoraron este efecto ( $\Delta AIC > 130$ , Tabla 8).

Tabla 6: Medias ajustadas de las concentraciones de Li, B, Mg, Mn, Sr y Ba relativas a  $^{43}\text{Ca}$  en secciones nucleares de otolitos de adultos de sardina austral *Sprattus fuegensis* según cohorte y unidad de manejo. EE=error estándar. Valores entre paréntesis indican tamaño muestral. Todos los cocientes corresponden a  $\mu\text{moles}\cdot\text{mol Ca}^{-1}$ , excepto para Mg y Sr, los que corresponden a  $\text{mmoles}\cdot\text{mol Ca}^{-1}$ . Celdas sombreadas indican mayor soporte relativo (peso DIC>0.67) a hipótesis de medias distintas entre adultos y juveniles.

Elemento	Cohorte 2014				Cohorte 2015				Cohorte 2016			
	Chiloé (3)		Aysén (10)		Chiloé (76)		Aysén (39)		Chiloé (59)		Aysén (68)	
	Media	EE	Media	EE	Media	EE	Media	EE	Media	EE	Media	EE
Li	7.28	1.003	5.52	1.012	7.85	0.774	5.17	0.815	10.45	1.194	6.62	1.332
B	24.94	2.249	27.18	3.376	24.5	1.859	24.81	2.923	22.72	1.972	25.66	3.492
Mg	0.20	0.029	0.20	0.036	0.24	0.025	0.18	0.027	0.20	0.026	0.18	0.035
Mn	0.92	0.08	1.29	0.100	0.99	0.052	1.55	0.085	1.11	0.075	1.53	0.169
Sr	1.06	0.028	1.07	0.028	1.03	0.017	1.06	0.020	1.09	0.023	1.04	0.039
Ba	0.26	0.016	0.29	0.018	0.24	0.009	0.27	0.012	0.28	0.014	0.23	0.020

Tabla 7: Comparación de modelos multivariados seleccionados para explicar la variabilidad observada en las concentraciones relativas de Li, B, Mg, Mn, Sr y Ba entre regiones nucleares de juveniles y adultos de sardina austral *Sprattus fuegensis* por cohorte y unidad de manejo. K=número de parámetros estimados, LogV=logaritmo natural de la verosimilitud, DIC=Criterio de Información de la devianza,  $\Delta\text{DIC}$ =diferencia en DIC respecto del modelo más informativo, wDIC=soporte relativo dado por los datos al modelo.

Variables fijas	K	LogV	DIC	$\Delta\text{DIC}$	wDIC
Zona/cohorte + Zona/etapa	517	-3,636.1	7,738.3	0.0	>0.999
Zona/cohorte/etapa	541	-3,643.3	7,754.0	15.7	<0.001
Zona/etapa	205	-3,745.6	7,857.2	118.9	<0.001
Zona/cohorte	289	-3,716.5	7,858.6	120.3	<0.001
Zona + etapa	127	-3,801.8	7,934.8	196.5	<0.001
Zona	121	-3,798.2	7,936.9	198.6	<0.001
Nulo	73	-3,819.4	7,964.7	226.4	<0.001

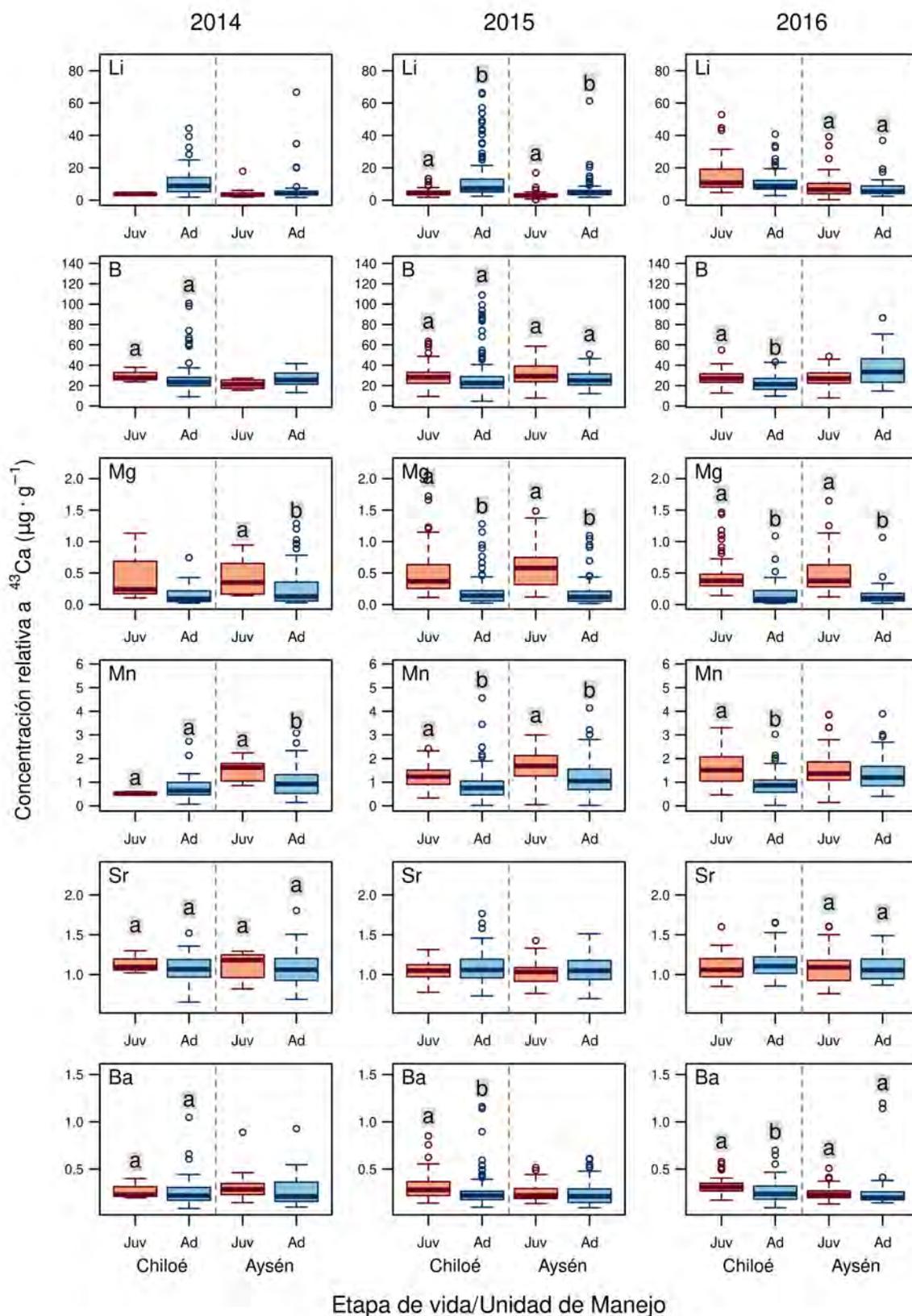


Figura 6: Concentraciones de Li, B, Mg, Mn, Sr y Ba relativas al  $^{43}\text{Ca}$  observadas en regiones nucleares de otolitos de juveniles y adultos de sardina austral *Sprattus fuegensis*, dentro de cada unidad de manejo. Todos los cocientes corresponden a  $\mu\text{moles} \cdot \text{mol Ca}^{-1}$ , excepto en el caso de Mg y Sr, que corresponden a  $\text{mmoles} \cdot \text{mol Ca}^{-1}$ .

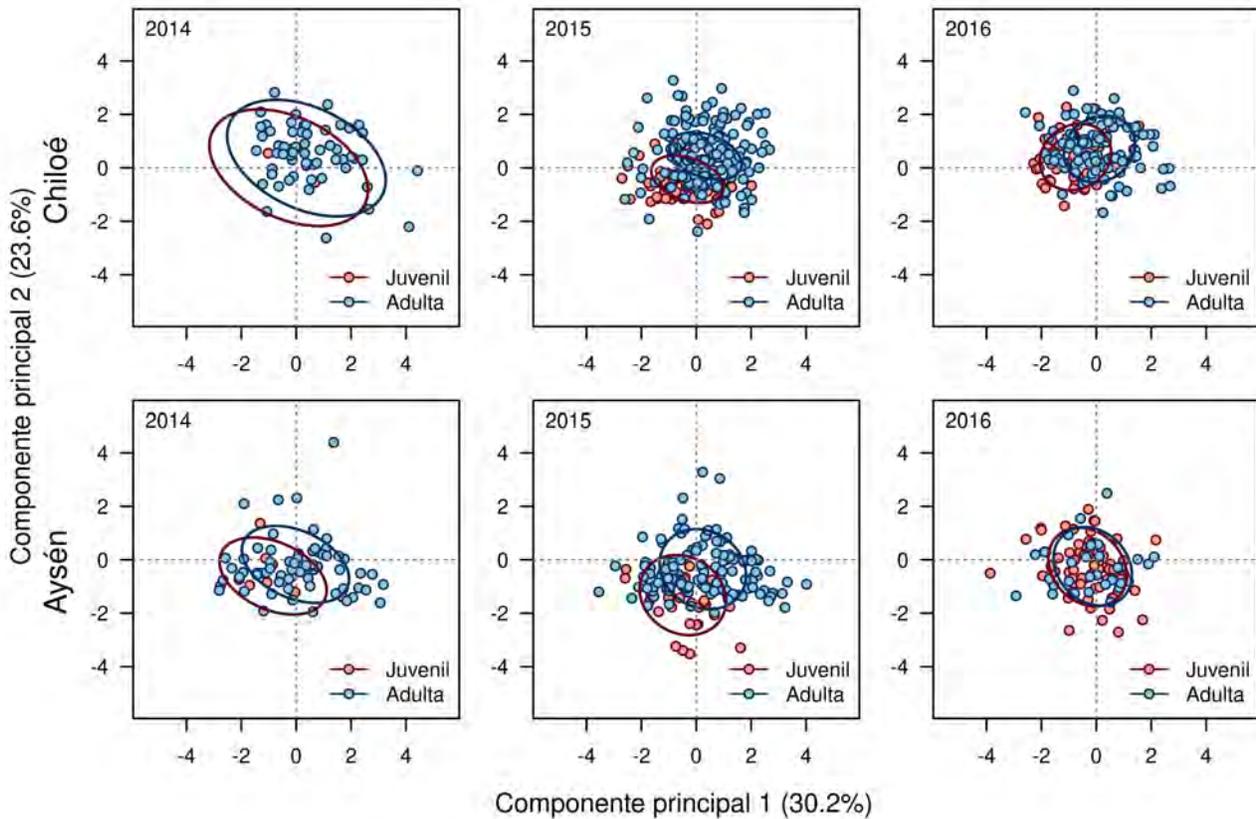


Figura 7: Diagrama de los dos primeros componentes principales de la concentración relativa de Li, B, Mg, Mn, Sr, y Ba en regiones nucleares de otolitos de juveniles y adultos de sardina austral *Sprattus fuegensis* en Chiloé y Aysén, según cohorte.

Tabla 8: Comparación de modelos multivariados seleccionados para explicar la variabilidad observada en las concentraciones relativas de Li, B, Mg, Mn, Sr y Ba entre regiones nucleares de juveniles y adultos de sardina austral *Sprattus fuegensis* por cohorte y unidad de manejo. K=número de parámetros estimados, LogV=logaritmo natural de la verosimilitud, DIC=Criterio de Información de la devianza,  $\Delta$ DIC=diferencia en DIC respecto del modelo más informativo, wDIC=soporte relativo dado por los datos al modelo.

Variables fijas	K	LogV	DIC	$\Delta$ DIC	wDIC
Zona/cohorte/región	325	-2,883.8	6,814.5	0.0	>0.999
Zona/región	133	-2,969.7	6,945.1	130.6	<0.001
Zona + región	127	-2,996.1	6,984.1	169.7	<0.001
Zona	121	-3,311.8	7,533.7	719.2	<0.001
Región	121	-3,716.8	7,700.8	886.3	<0.001
Zona/cohorte + Zona/región	301	-3,688.5	7,732.9	918.4	<0.001
Zona/cohorte	289	-3,976.4	8,288.8	1,474.3	<0.001
Nulo	73	-4,043.2	8,318.8	1,504.4	<0.001

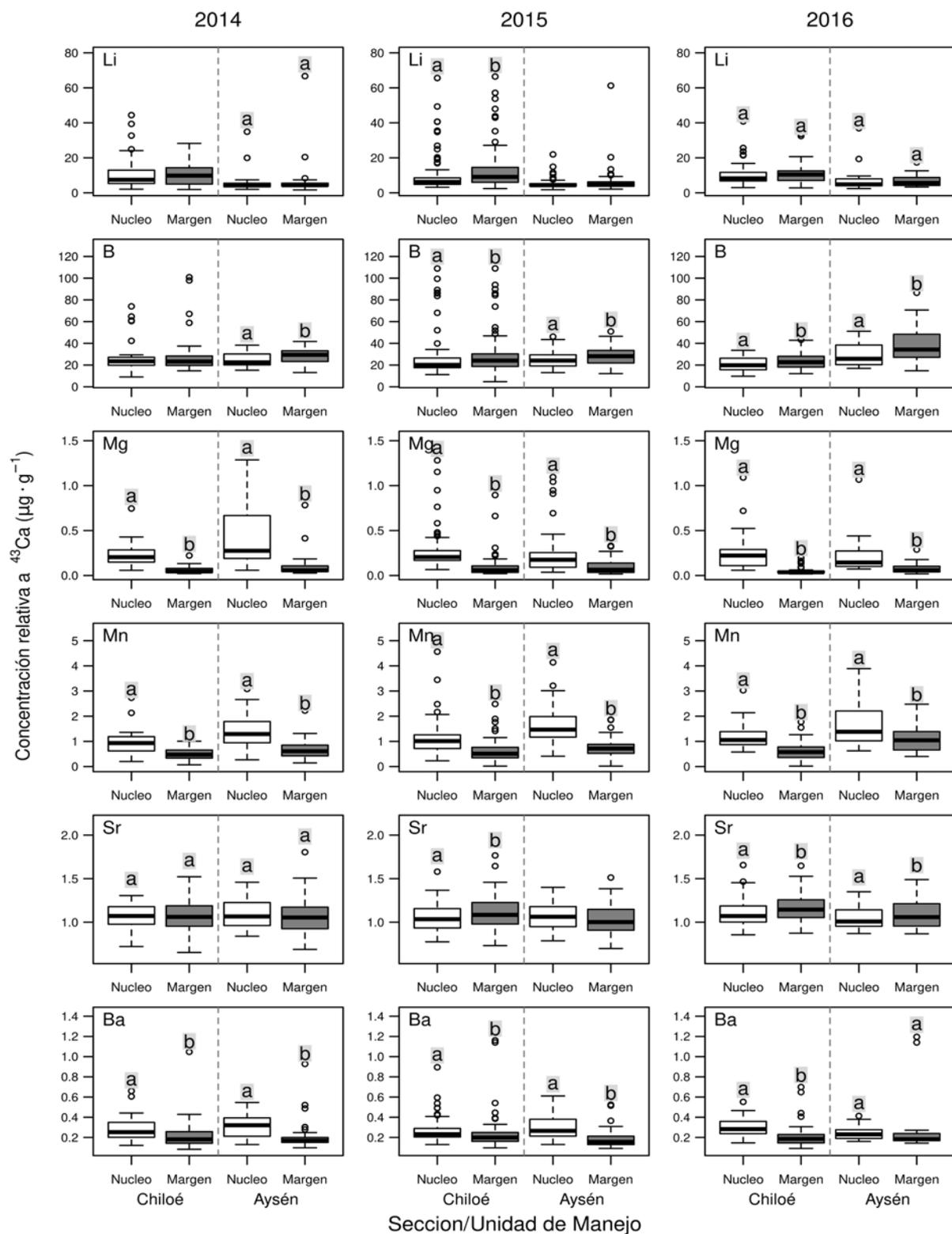


Figura 8: Concentraciones de Li, B, Mg, Mn, Sr y Ba relativas al  $^{43}\text{Ca}$  observadas en regiones nucleares y marginales de otolitos de adultos de sardina austral *Sprattus fuegensis*, dentro de cada unidad de manejo. Todos los cocientes corresponden a  $\mu\text{moles} \cdot \text{mol Ca}^{-1}$ , excepto en el caso de Mg y Sr, que corresponden a  $\text{mmoles} \cdot \text{mol Ca}^{-1}$ .

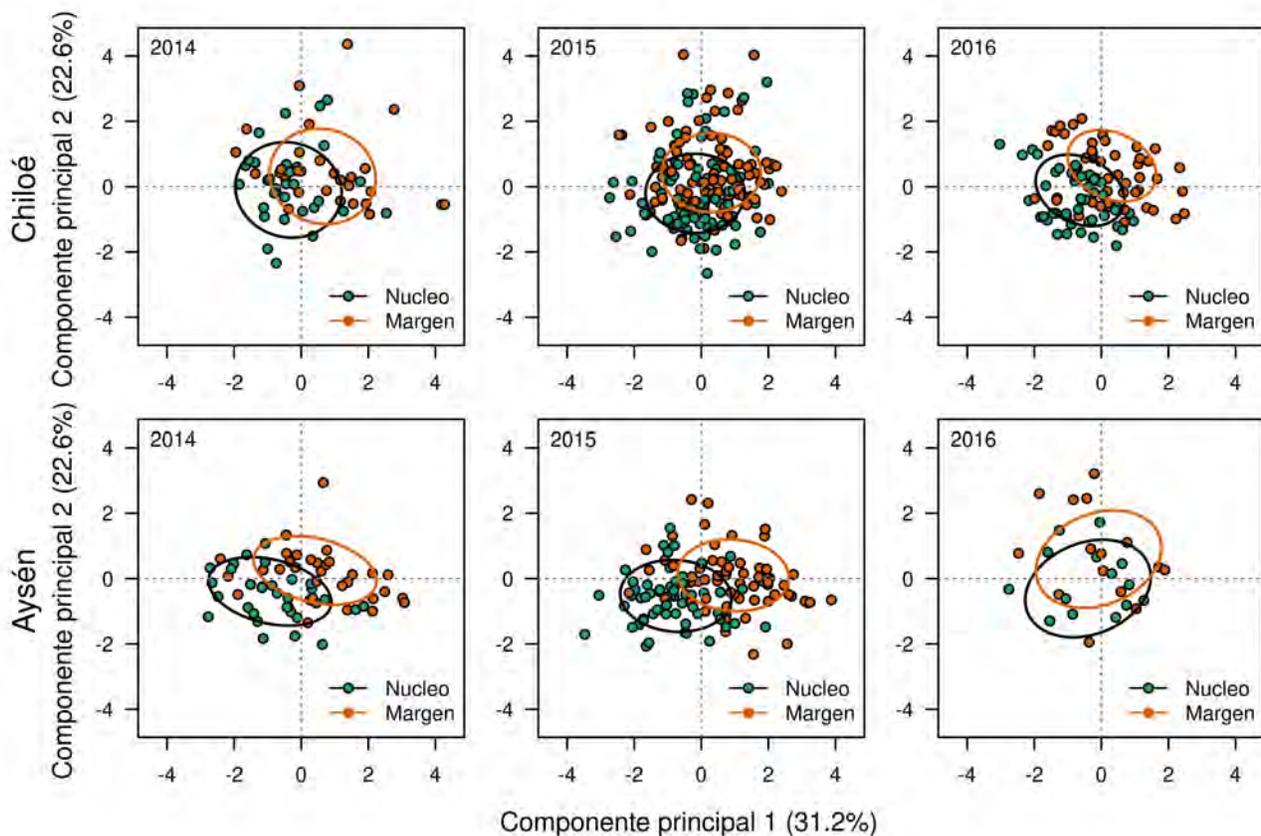


Figura 9: Diagrama de los dos primeros componentes principales de las concentraciones relativas de Li, Mg, Mn, Sr y Ba en regiones nucleares y marginales de otolitos de adultos de sardina austral *Sprattus fuegensis* en Chiloé y Aysén, según cohorte.

## Composición isotópica

### i. Comparación de regiones nucleares de otolitos de peces juveniles entre regiones, dentro de cohortes

Las concentraciones isotópicas analizadas mostraron gran variabilidad entre unidades de manejo y cohortes (Figura 10). En el caso del  $\delta^{13}\text{C}$ , este mostró valores medios 0,6-0,9‰ superiores en Aysén que en Chiloé en el caso de las cohortes 2014 y 2015, pero prácticamente idénticos en la cohorte 2016. Los valores de  $\delta^{18}\text{O}$ , por su parte, mostraron un patrón mucho más claro, con valores medios 0,1-0,52‰ mayores y menor variabilidad en Chiloé que en Aysén (Figura 10, Tabla 9).

Las diferencias univariadas antes indicadas se reflejaron también en diferencias bivariadas consistentes, con baja sobre-posición de las elipses de distribución (Figura 11), sin perjuicio de la gran dispersión presentada por la cohorte 2016 en el caso de Aysén. Dentro de las hipótesis evaluadas, la hipótesis de medias bivariadas distintas para cada zona y cohorte recibió mucho mayor soporte ( $p=0.78$ ,  $\Delta\text{DIC}\geq 2,7$ ) que las restantes hipótesis (Tabla 10).

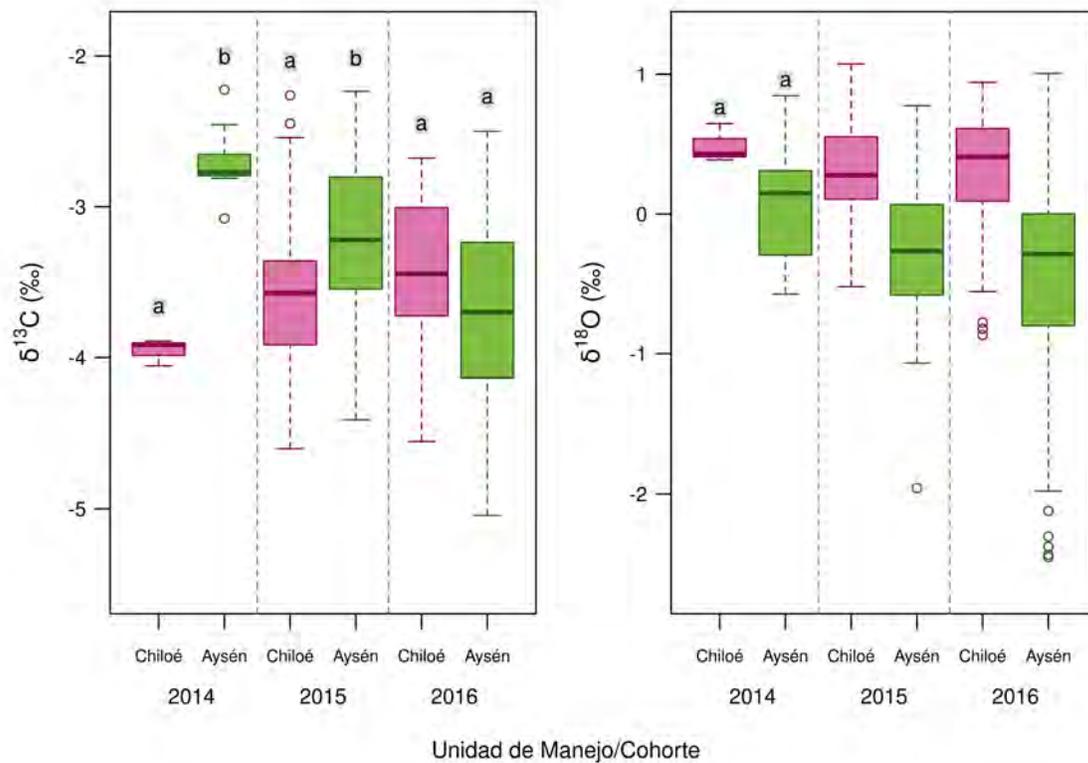


Figura 10: Valores isotópicos  $\delta^{13}\text{C}$  (panel derecho) y  $\delta^{18}\text{O}$  (panel izquierdo) en regiones nucleares de otolitos de juveniles de sardina austral *Sprattus fuegensis* en Chiloé y Aysén, por cohorte.

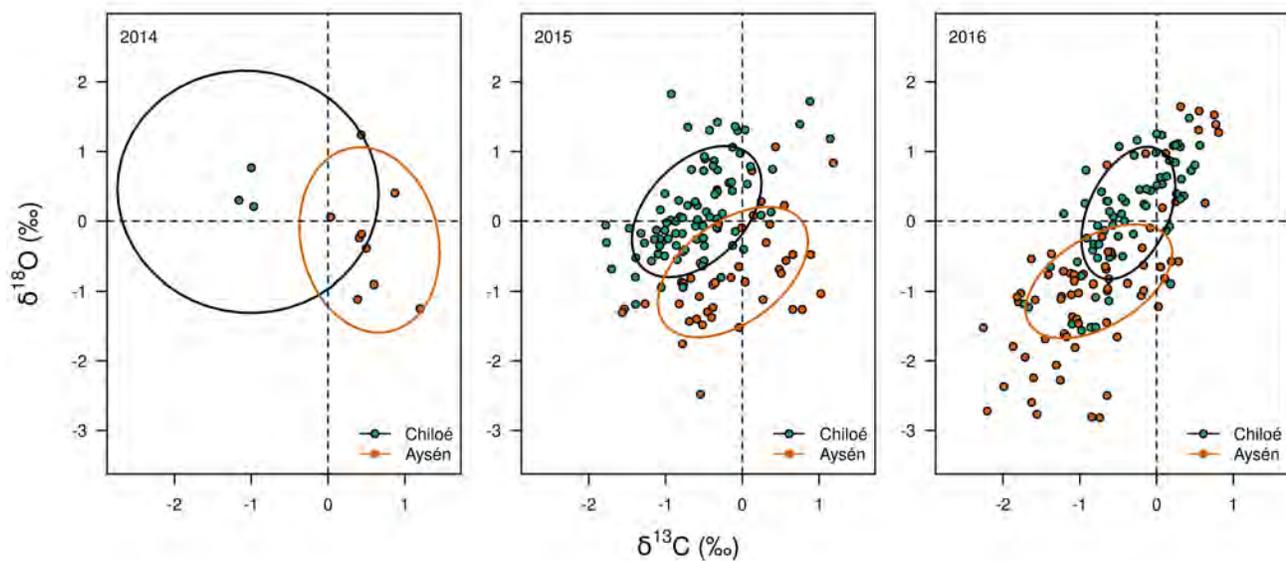


Figura 11: Diagrama bivariado de los valores  $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{18}\text{O}$  observados en regiones nucleares de otolitos de juveniles de sardina austral *Sprattus fuegensis* en Chiloé y Aysén, por cohorte.

Tabla 9: Medias ajustadas de las relaciones isotópicas  $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{18}\text{O}$  observadas en secciones nucleares de otolitos de juveniles de sardina austral *Sprattus fuegensis* según cohorte y unidad de manejo. EE=error estándar.

Relación isotópica	Cohorte 2014				Cohorte 2015				Cohorte 2016			
	Chiloé		Aysén		Chiloé		Aysén		Chiloé		Aysén	
	Media	EE	Media	EE	Media	EE	Media	EE	Media	EE	Media	EE
$\delta^{13}\text{C}$	-3.91	0.356	-2.82	0.254	-3.40	0.223	-2.87	0.227	-3.43	0.209	-3.66	0.217
$\delta^{18}\text{O}$	0.44	0.312	0.34	0.308	0.43	0.267	-0.08	0.369	0.30	0.269	-0.22	0.377

Tabla 10: Comparación de modelos multivariados seleccionados para explicar la variabilidad observada en las relaciones isotópicas  $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{18}\text{O}$  observadas en regiones nucleares de juveniles de Chiloé y Aysén. K=número de parámetros estimados, LogV=logaritmo natural de la verosimilitud, DIC=Criterio de Información de la devianza,  $\Delta\text{DIC}$ =diferencia en DIC respecto del modelo más informativo, wDIC=soporte relativo dado por los datos al modelo.

Variables fijas	K	LogV	DIC	$\Delta\text{DIC}$	wDIC
Zona/cohorte	53	-390.8	838.5	0.0	0.780
Zona + cohorte	49	-391.3	841.2	2.7	0.197
Zona/subetapa +cohorte	53	-391.8	845.8	7.3	0.020
Zona	29	-397.6	851.7	13.2	0.001
Cohorte	23	-396.2	852.4	14.0	0.001
Nulo	9	-400.2	857.1	18.6	<0.001

## ii. Comparación de valores isotópicos en regiones nucleares de otolitos entre peces juveniles y adultos, dentro de unidades de manejo y cohortes

En general, las señales isotópicas de  $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{18}\text{O}$  en regiones nucleares de otolitos tendieron a ser similares entre juveniles y adultos (Figura 12), aunque con una cierta tendencia a observarse mayores valores de  $\delta^{18}\text{O}$  en adultos que en juveniles, particularmente en Aysén en el caso de las cohortes 2015 y 2016, donde los datos presentaron mayor soporte a la hipótesis de medias distintas entre juveniles y adultos. Al presentar los datos en un espacio bivariado (Figura 13), es posible observar una gran sobre-posición entre las señales de adultos y juveniles, incluso cuando los centroides y elipses de dispersión llegan a segregarse considerablemente, como es el caso de la cohorte 2016 en Aysén. Sin perjuicio de lo anterior, los datos dan mayor soporte (peso>0.68,  $\Delta\text{DIC}$ >10.4) a las hipótesis que prescriben diferencias en la composición isotópica de las regiones nucleares de los otolitos entre etapas de vida (Tabla 11).

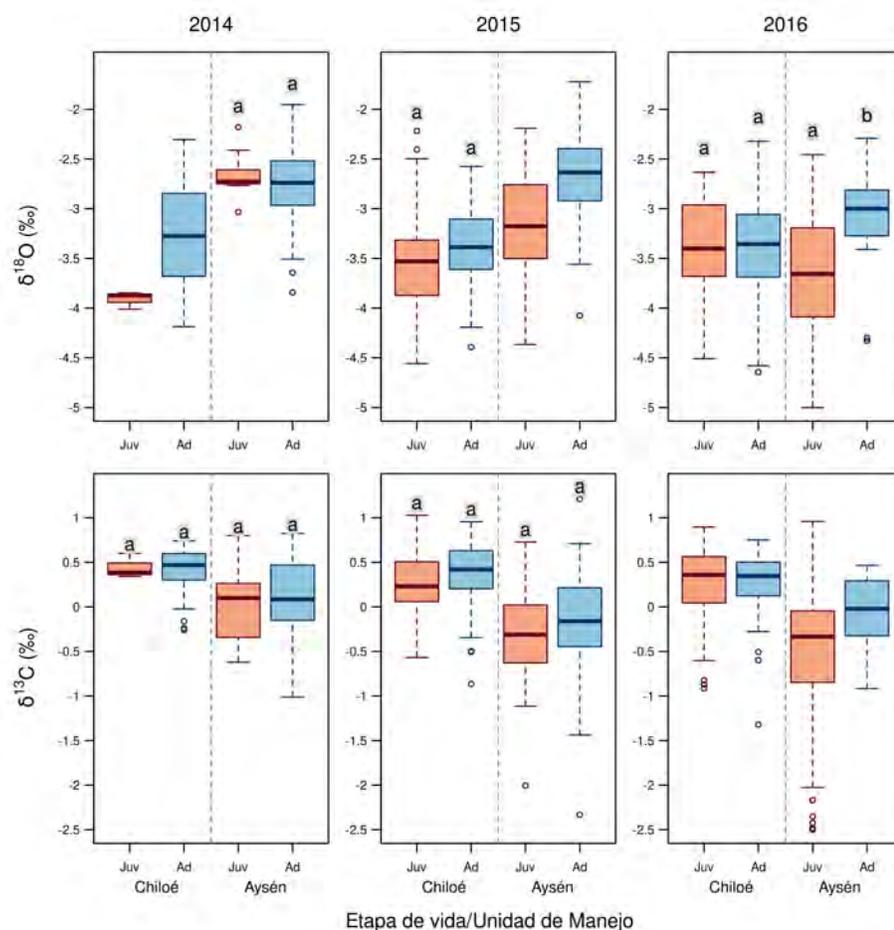


Figura 12: Comparación de valores isotópicos  $\delta^{18}\text{O}$  (panel superior) y  $\delta^{13}\text{C}$  (panel inferior) en regiones nucleares de otolitos entre juveniles y adultos de sardina austral *Sprattus fuegensis* en Chiloé y Aysén.

Tabla 11: Comparación de modelos multivariados seleccionados para explicar la variabilidad observada en las relaciones isotópicas  $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{18}\text{O}$  observadas en regiones nucleares de otolitos entre etapas de vida (juveniles v/s adultos) de Chiloé y Aysén. K=número de parámetros estimados, LogV=logaritmo natural de la verosimilitud, DIC=Criterio de Información de la devianza,  $\Delta\text{DIC}$ =diferencia en DIC respecto del modelo más informativo, wDIC=soporte relativo dado por los datos al modelo.

Variables fijas	K	LogV	DIC	$\Delta\text{DIC}$	wDIC
Zona/etapa de vida	28	-104.4	339.7	0.0	0.681
Zona + etapa de vida	26	-105.0	341.2	1.5	0.317
Zona/cohorte	40	-109.0	351.6	11.9	0.002
Zona	16	-113.7	357.9	18.2	0.000
Zona + cohorte	36	-115.5	364.2	24.5	0.000
Nulo	10	-117.6	372.7	33.0	0.000
Zona/etapa de vida/cohorte	76	-123.1	375.1	35.5	0.000

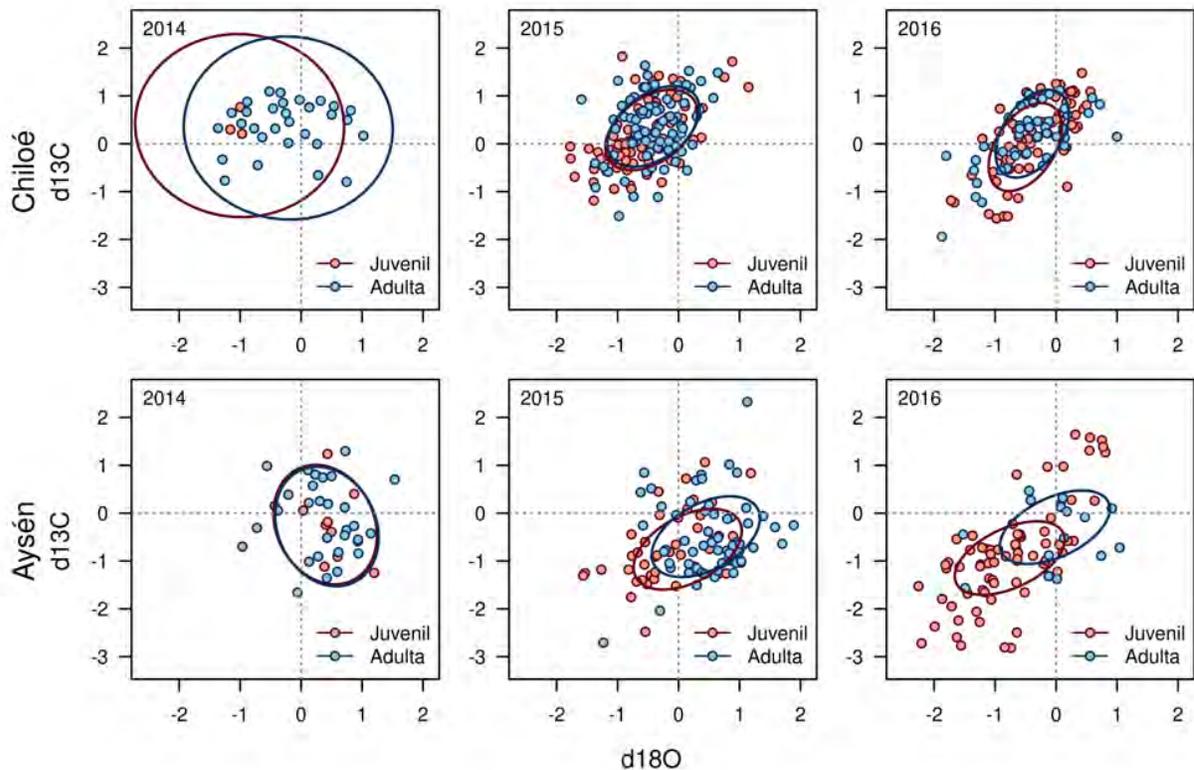


Figura 13: Diagrama bivariado que compara los valores isotópicos estandarizados  $\delta^{18}\text{O}$  (panel superior) y  $\delta^{13}\text{C}$  (panel inferior) en regiones nucleares de otolitos entre peces juveniles y adultos de sardina austral *Sprattus fuegensis* en Chiloé y Aysén.

### iii. Comparación de la composición elemental de otolitos entre regiones nucleares y marginales de adultos, dentro de unidades de manejo y cohortes

Se observaron diferencias muy claras y consistentes de 0,8-1,5‰ entre los valores de  $\delta^{18}\text{O}$  observados en regiones nucleares y marginales de otolitos de peces adultos (Figura 14). las cuales entregaron evidencia sustancial en favor de las hipótesis de medias distintas dentro de cada cohorte y zona. Los valores de  $\delta^{13}\text{C}$  mostraron una tendencia similar, pero mucho menos pronunciada (diferencias  $\leq 0,5\text{‰}$ ) que terminó disipándose en 2016, particularmente en Aysén, donde se contó con solo 15 muestras de adultos, provenientes de apenas dos lances. El análisis bivariado mostró elipses completamente separadas, para la mayoría de los casos (Figura 15), dando fuerte soporte ( $\text{DIC}_w > 0,998$ ,  $\Delta\text{DIC} > 13,3$ ) a la hipótesis de medias distintas entre regiones nucleares y marginales, dentro de zonas,

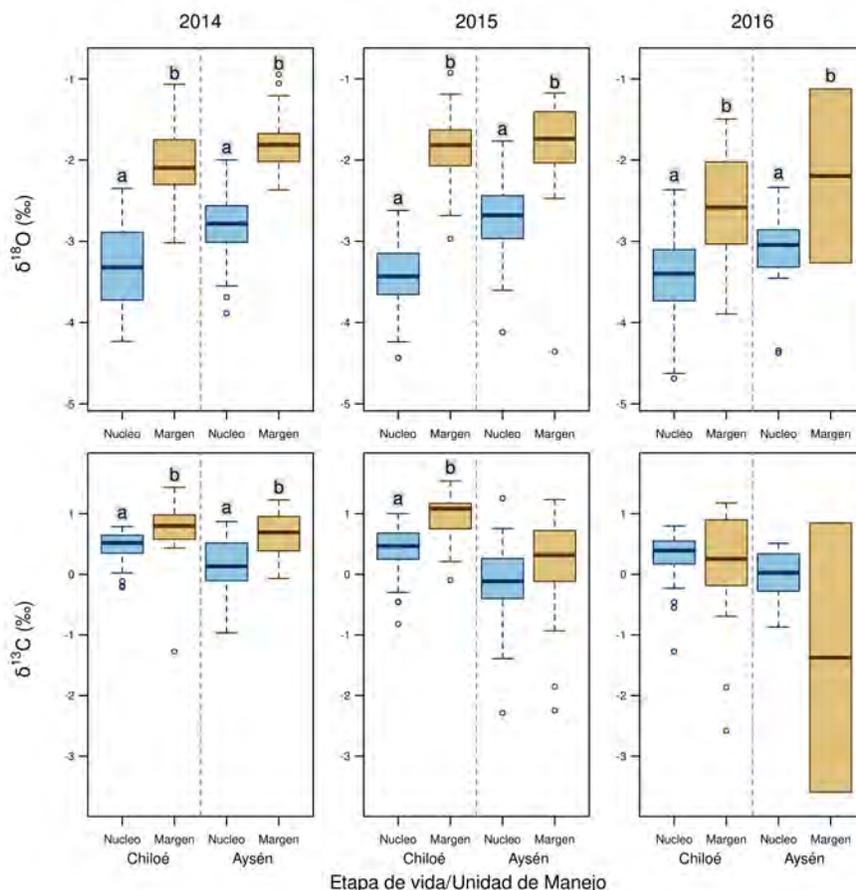


Figura 14: Valores isotópicos  $\delta^{18}\text{O}$  (panel superior) y  $\delta^{13}\text{C}$  (panel inferior) en regiones nucleares y marginales de otolitos de peces adultos de sardina austral *Sprattus fuegensis* en Chiloé y Aysén.

Tabla 12: Comparación de modelos multivariados seleccionados para explicar la variabilidad observada en las relaciones isotópicas  $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{18}\text{O}$  observadas en regiones nucleares de otolitos entre etapas de vida (juveniles v/s) adultos de Chiloé y Aysén. K=número de parámetros estimados, LogV=logaritmo natural de la verosimilitud, DIC=Criterio de Información de la devianza,  $\Delta\text{DIC}$ =diferencia en DIC respecto del modelo más informativo, wDIC=soporte relativo dado por los datos al modelo.

Variables fijas	K	LogV	DIC	$\Delta\text{DIC}$	wDIC
Zona/región del otolito	32	-529.6	1,324.3	0.0	0.9987
Zona + región del otolito	30	-539.9	1,337.6	13.3	0.0013
Zona/región del otolito/cohorte	80	-569.1	1,358.5	34.2	<0.0001
Zona + cohorte	40	-840.4	1,849.2	524.9	<0.0001
Zona/cohorte	44	-841.2	1,851.1	526.7	<0.0001
Zona	20	-843.2	1,853.2	528.9	<0.0001
Nulo	14	-845.0	1,866.0	541.7	<0.0001

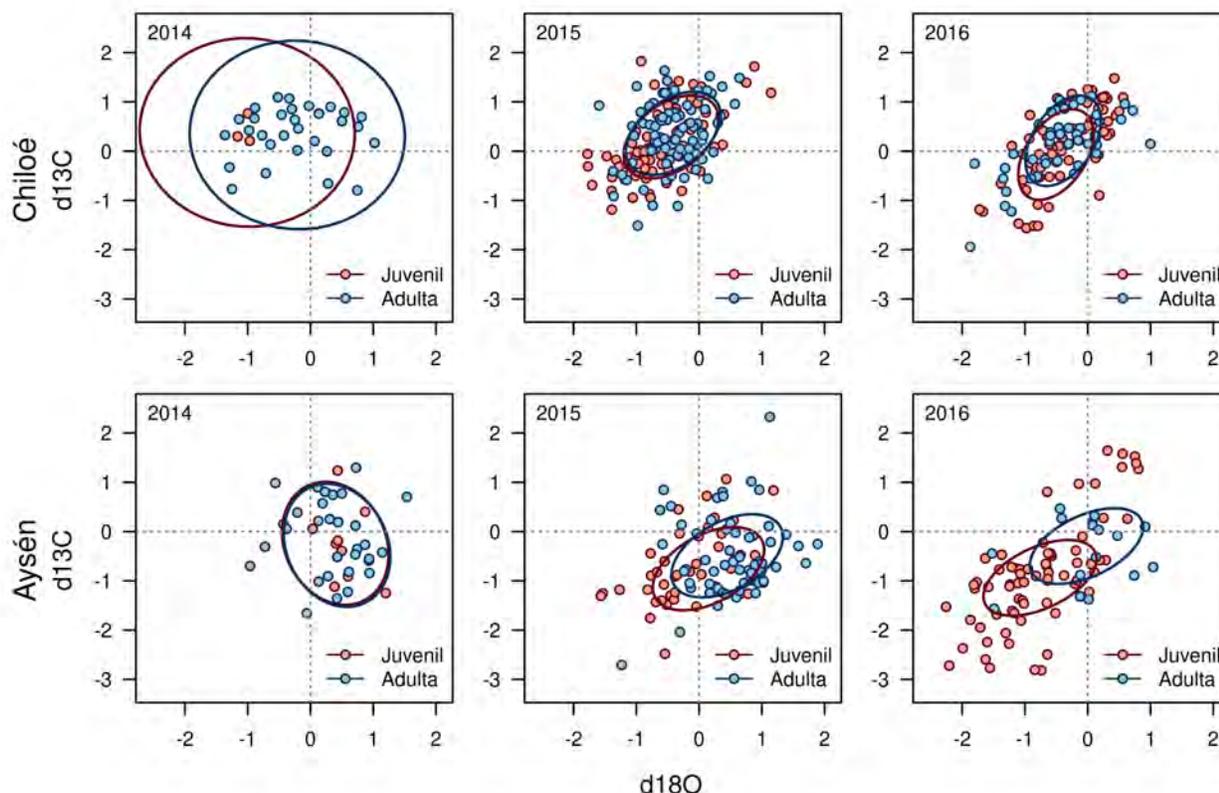


Figura 15: Diagrama bivariado que compara los valores isotópicos  $\delta^{18}\text{O}$  (panel superior) y  $\delta^{13}\text{C}$  (panel inferior) en regiones nucleares y marginales de otolitos de peces adultos de sardina austral *Sprattus fuegensis* en Chiloé y Aysén.

## DISCUSIÓN

Las diferencias encontradas en la composición elemental y señales isotópicas de las regiones nucleares de otolitos de peces juveniles de sardina austral, procedentes de Chiloé y de Aysén, confirman la existencia de diferencias ambientales lo suficientemente pronunciadas y prolongadas como para inducir marcas químicas reconocibles y propias de cada zona (Campana 1999). La variabilidad observada en cuanto a la composición elemental de estas muestras, con mayores niveles de Li, Mn y Ba en Chiloé, en algunos años, son difíciles de interpretar biológicamente, más aún cuando la magnitud e incluso el sentido de las diferencias entre zona mostró cambios importantes entre años. Más aún la magnitud de esta variabilidad limitará, muy probablemente, la aplicación de estos marcadores a individuos de una misma cohorte.

La variabilidad observada entre zonas respecto de las señales isotópicas mostró mayor consistencia interanual, particularmente en el caso del  $\delta^{18}\text{O}$ , cuyos mayores valores medios y menor variabilidad en Chiloé dan cuenta de la utilización de hábitats de crianza más oceánicos y

menos variables (espacial y/o temporalmente) que en Aysén. La mayor variabilidad interanual observada en los valores de  $\delta^{13}\text{C}$  sugieren cambios interanuales importantes en la productividad del ecosistema (Quay et al. 2003) y/o en la disponibilidad relativa de presas (Gauldie 1996) para sardina austral en cada área de estudio. Esta misma variabilidad limita la utilización de marcadores isotópicos para identificación de origen y/o estimación de tasas de mezcla en adultos procedentes de cohortes distintas a las de los juveniles analizados.

Las diferencias encontradas en composición elemental y valores isotópicas de regiones nucleares del otolito entre juveniles y adultos de la misma cohorte y zona fue altamente inesperada. Más aún dado que las diferencias encontradas no correspondieron a valores intermedios que pudieran ser atribuibles a la simple mezcla de ambos orígenes. Las regiones nucleares de los adultos se encontraron, por el contrario, fuera de las elipses de dispersión definidas por los juveniles de ambas zonas, particularmente en el caso de los metales. Esta discrepancia podría explicarse por una fuerte variabilidad intra-estacional, conducente a un desacople entre las fechas de nacimiento de juveniles y adultos, dentro de una misma cohorte anual, o por una fuerte variabilidad espacial, conducente a un desacople entre las subáreas representadas en los juveniles y en las subáreas efectivamente utilizadas por los adultos muestreados. Ambas explicaciones parecen más plausibles en el caso del análisis elemental que reflejó un periodo más corto de vida (30-90 primeros días de vida) y mostró mucho mayor variabilidad espacial dentro de zonas que los isótopos estables.

De manera alternativa a las explicaciones ya formuladas, las diferencias encontradas entre las medias de las regiones nucleares de los juveniles y los adultos podrían resultar de procesos selectivos asociados a la menor o mayor sobrevivencia de juveniles que utilicen determinados fragmentos del hábitat de crianza. Por ejemplo, el mayor valor medio de  $\delta^{18}\text{O}$  observado en las regiones nucleares de los otolitos de los adultos podría reflejar una mayor sobrevivencia de los juveniles que hubieran utilizado aguas más saladas durante su vida temprana. A lo anterior, es necesario también agregar la posibilidad de errores en la asignación de las cohortes derivados de la incertidumbre propia de la asignación macroscópica de edad basada en lectura e interpretación de anillos invernales.

Las claras diferencias químicas encontradas entre las regiones nucleares y marginales de los otolitos adultos muestran evidencia sustancial de migraciones ontogénicas entre hábitats de crianza y alimentación, las cuales podrían tener un sentido horizontal hacia aguas más oceánicas y/o vertical hacia aguas más profundas, pero en cualquier caso más saladas que las áreas de crianza. Ambas migraciones serían consistentes con el conocimiento disponible para esta especie en Chile (Castillo et al. 2019), y la costa atlántica (Sánchez et al. 1995), y para *S. sprattus* en el Mar Báltico (Nilsson et al. 2003, Baumann et al. 2006).

De cualquier manera, la información obtenida resulta fundamental para evaluar la factibilidad de utilizar marcadores químicos del otolito para la identificación del origen probable de peces adultos y/o para la estimación de la contribución de estas áreas de crianza a determinadas zonas de alimentación. En este sentido, mientras no sea posible explicar la inconsistencia encontrada

entre la composición elemental de las regiones nucleares de otolitos de peces juveniles y adultos, no se recomienda la utilización de estos marcadores para identificación de origen y/o estimación de tasas de mezcla o contribución de áreas de crianza a áreas de alimentación de adultos.

## CONCLUSIONES

- La composición elemental de las regiones nucleares de otolitos de peces juveniles mostró diferencias importantes entre zonas y dentro de zonas, las que permitirían incluso identificar sub-áreas oceánicas y costeras dentro de Chiloé y de Aysén
- Las diferencias en composición elemental antes señaladas estuvieron sujetas, no obstante a gran variabilidad interanual, lo que limitaría su aplicación a individuos de una misma cohorte.
- A lo anterior se suma una evidente discrepancia en la composición elemental de regiones nucleares de otolitos de adultos y de juveniles, cuyo origen es incierto y alcanza una magnitud que, de momento, invalida la aplicación de esta información para alcanzar el objetivo principal de este proyecto.
- La composición isotópica de las regiones nucleares de los otolitos de individuos juveniles mostró diferencias que resultaron importantes en magnitud y espacialmente consistentes entre zonas. En el caso del  $\delta^{18}\text{O}$  fueron además relativamente consistentes entre cohortes.
- Si bien se detectaron diferencias no explicadas entre los valores isotópicos de las regiones nucleares de los otolitos de peces juveniles y de adultos, estas diferencias fueron sustancialmente menores que en el caso de los metales, manteniéndose la mayoría de los valores de los adultos dentro de las elipses de distribución definidas por los juveniles.
- Se encontró diferencias importantes tanto en composición elemental como en valores isotópicos entre secciones nucleares y marginales de otolitos de peces adultos, consistentes con desplazamientos ontogenéticos a hábitats de alimentación ubicados en aguas más oceánicas y/o profundas que las áreas de crianza.
- En función de los resultados expuestos, solo se recomienda la utilización de valores isotópicos para la identificación del origen de adultos de fuentes desconocidas y/o para la estimación de tasas de mezcla o contribución de áreas de crianza a áreas de alimentación de adultos

## ANÁLISIS DE LA MICROESTRUCTURA DE OTOLITOS (OBJETIVO 2)

Guido Plaza<sup>1</sup>, Camilo Rodríguez<sup>1</sup> & Ana María Galeano<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Escuela de Ciencias del Mar, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso

### ANTECEDENTES

Los anillos de crecimiento diario (o micro-incrementos, Pannella 1971) son generalmente visibles a través de un microscopio durante el primer año de vida del pez, debido a que su crecimiento es mayor durante dicho período. Los incrementos diarios (Figura 16) son formados por la sucesiva deposición de una capa rica en carbonato de calcio y de una capa rica en proteína pero de baja concentración en carbonato de calcio. Ambas capas son denominadas zonas L y D (Figura 16.2), apareciendo como una zona clara y oscura bajo luz transmitida, respectivamente. Pannella (1971) fue quien descubrió estas estructuras y fue el primer en sugerir que su frecuencia de producción era diaria. El grosor de los incrementos primarios puede fluctuar desde menos de 1  $\mu\text{m}$  hasta acerca de 15  $\mu\text{m}$  o más. El grosor de la zona "L" es de alrededor de 1  $\mu\text{m}$ , mientras que el grosor de la zona "D" puede ser más variable. Sin embargo, debido a que el crecimiento del otolito no es uniforme, el grosor de los incrementos primarios dependerá del radio a través del cual el incremento es medido. Los otolitos se desarrollan de una o más estructuras parcialmente calcificadas denominada "*primordium*" (Figura 16.3; pr), formado en el oído interno (Mann et al. 1983), estos centros de crecimiento pueden ser circulares, elongados o múltiples, dependiendo de la especie. En el caso de *primordium* múltiples, estos se fusionan para formar el centro del otolito. La MO no solo registra edad y crecimiento, sino también patrones de movimientos, y/o interacción de hábitat (e.g., patrones de asentamiento) que son registrados a diferentes escalas temporales (Victor 1982, Sponaugle & Cowen 1994, Hamer & Jenkins 1997, Raventós & Macpherson 2001).

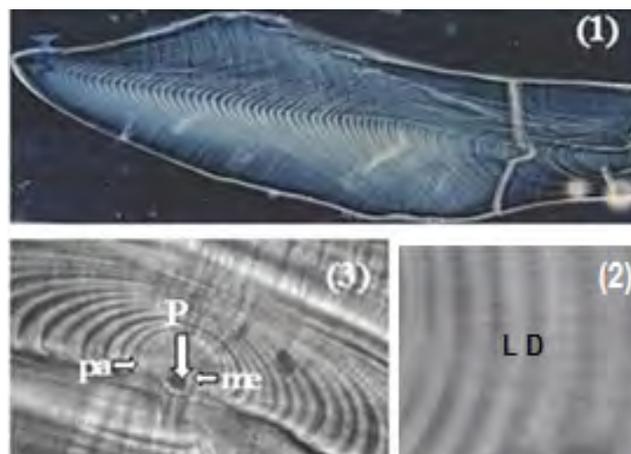


Figura 16: Ilustración de micro-incrementos en peces teleósteos, extraído de Plaza *et al.*, (2001). P: primordio; me: marca de eclosión; pa: marca de primera alimentación.

El potencial de la MO para ser usada como marcador natural de eventos de la historia de vida temprana de peces teleósteos también puede extenderse a la identificación de unidades demográficas discretas, asociadas a la fidelidad de los individuos por zonas de desove y/o crianza características. Parte de esta información vinculada al origen es registrada en la microestructura de sus otolitos durante su desarrollo larval u juvenil temprano. El principio de esta aproximación es simple: “El crecimiento somático durante los estadios tempranos de peces teleósteos es principalmente afectado por dos controladores, la temperatura y la productividad (Miller et al. 1988, Houde & Zastrow 1993). Si uno de estos factores y/o ambos varían entre una zona y otra, es razonable esperar variaciones sustantivas en las tasas de crecimiento diarias de los individuos que en dichas zonas ocurren”. Como estas variaciones quedan registradas en la MO, tanto los grosores de los micro-incrementos como los radios medidos a cada edad diaria se transforman en potentes variables discriminantes, que permitirían construir algoritmos de clasificación.

Es importante destacar que hasta la fecha varios estudios han considerado a la MO con propósitos de identificación de stock (Neilson et al. 1985, Stenevik et al. 1996, Husebø et al. 2005, Brophy et al. 2006, Volkoff & Titus 2007). Más aún, diversos estudios han demostrado la utilidad de la microestructura para identificar stock en una escala estacional para separar arenques del atlántico (*Clupea harengus*) que desovan en diferentes estaciones del año (Clausen et al. 2007) y resultados similares han sido reportados para el arenque *Etremeus teres* (Plaza et al. 2006). En este mismo contexto, es importante destacar los resultados del proyecto FIPA 2015-22 (Niklitschek et al. 2018), donde se utilizaron distintos marcadores ecológicos de forma simultánea para identificar unidades demográficas de anchoveta *Engraulis ringens* en la costa de Chile. Adicionalmente, es importante destacar que una de las ventajas adicionales de usar la MO como marcador natural unidades demográficas es que las mismas variables discriminatorias que se utilizan para construir los modelos de clasificación a partir de ejemplares juveniles de origen conocido, pueden también cuantificarse en otolitos de adultos de origen desconocido, lo que permite evaluar su origen y los niveles de mezcla. Para este propósito es necesario obtener secciones finas que permitan revelar los micro-incrementos. En el caso de peces con otolitos delgados como en peces pelágicos pequeños, la MO puede ser implementada con mayor facilidad que en especies con otolitos más voluminosos.

En la presente sección se resumen los principales resultados asociados al uso de la microestructura de otolitos como marcador de unidades demográficas, dentro del marco de la ejecución del Proyecto FIPA 2018-38 “Determinación de unidades demográficas de sardina austral (*Sprattus fuegensis*) en la X y XI regiones”, asociado al subcontrato establecido entre la Universidad de Los Lagos y la Pontificia Universidad Católica de Valparaíso.

## METODOLOGÍA

### Preparación de otolitos

El otolito derecho fue cuidadosamente limpiado de tejido residual y fotografiado para análisis morfométrico en el Laboratorio de Edad y Crecimiento del Instituto de Fomento Pesquero (ver sección correspondiente). Posteriormente cada otolito fue derivado al Laboratorio de Esclero-cronología de la Escuela de Ciencias del Mar, de la Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, donde se prepararon para análisis microestructural.

El otolito sagital derecho de ejemplares entre 5 y 8.5 cm de LT fueron embebidos con la cara proximal hacia abajo en portaobjetos, utilizando una pequeña porción de Crystalbond transparente. Posteriormente, el otolito fue pulido suavemente con lijas de 2500  $\mu\text{m}$  de tamaño de grano y lijas de limpieza de 1  $\mu\text{m}$  hasta obtener una primera aproximación al primordio. Posteriormente el portaobjetos fue calentado para girar el otolito y realizar un segundo pulido que permitió observar mejor el primordio (Figura 17). Finalmente, el otolito fue revisado bajo microscopio para observar la resolución del primordio y los micro-incrementos diarios (Figura 18).

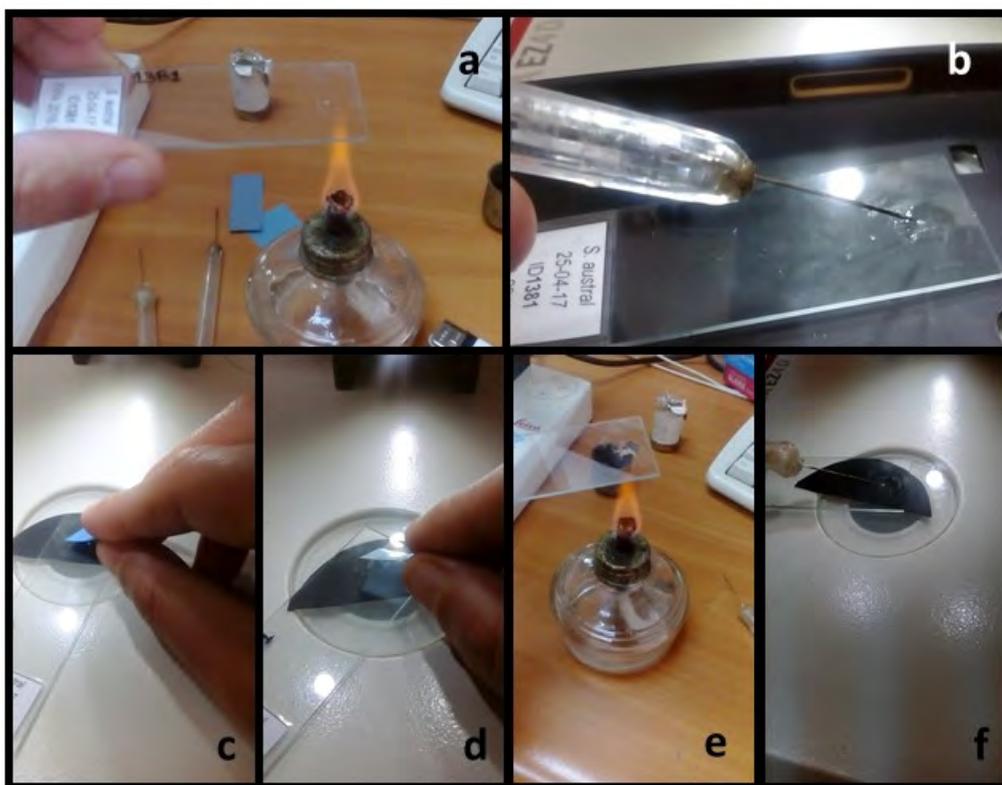


Figura 17: Preparación de otolitos para el análisis de micro-incrementos. a y b: montaje de otolito (sulcus hacia arriba) en Crystalbond; c: primer pulido con lija 2500  $\mu\text{m}$ ; d: pulido con lija de limpieza; e: cambio de posición del otolito para segundo pulido (c,d); f: montaje final (sulcus hacia abajo) para revisión de microestructura.

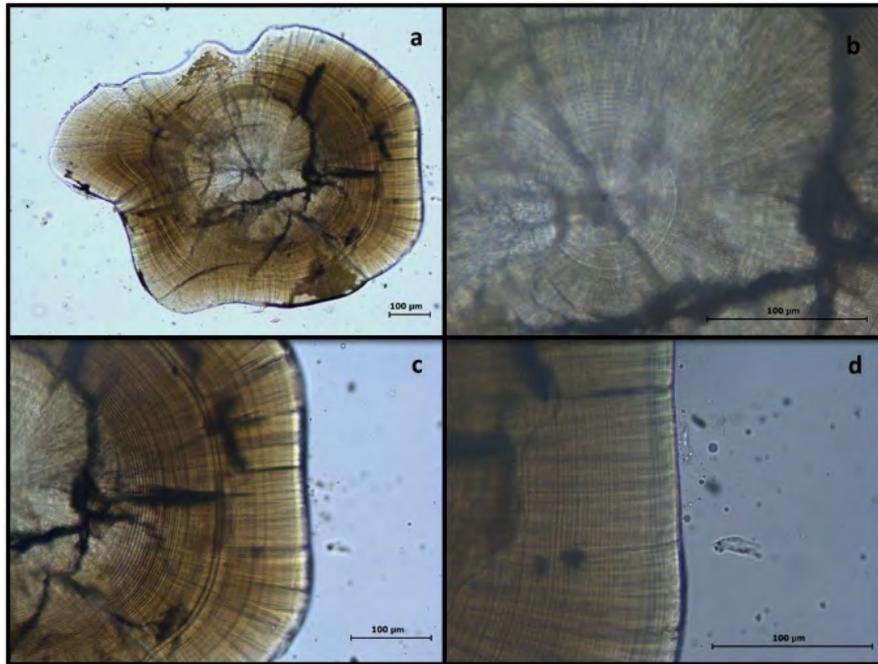


Figura 18: Fotografías bajo luz transmitida de otolitos pulidos en posición sagital de un juvenil de *S. fuegensis* de 8 cm LT. (a) Otolito completo a 4X; (b) zona del primordio a 40X; (c) zona media a 20X; (d) borde del otolito a 40X.

Los otolitos entre 9 y 12 cm LT fueron preparados para análisis microestructural, siguiendo el método SGEM descrito por Plaza et al., (2005) y adaptado para sardina austral (Cerna et al. 2014). En este método los otolitos fueron montados en pequeños bloques de resina epóxica y pulidos hasta lograr una resolución adecuada del primordio, utilizando lijas entre 800-1000 µm de tamaño de grano. Un procedimiento similar fue implementado en otolitos de ejemplares adultos, combinado también con la metodología basada en Crystalbond, cuando los otolitos tuvieron menores niveles de calcificación.

### Registro de variables morfométricas microestructurales

El uso de la MO como marcador ecológico de unidades demográficas, supone que las mismas características microestructurales (e.g. el grosor) que se formaron en la etapa larval, se mantengan inalteradas a medida que el ejemplar crece y que no son afectadas por potenciales influencias del desarrollo ontogénico de la cavidad craneal, que puede imponer restricciones de espacio que pudiesen afectar la proporcionalidad entre los ejes de crecimiento del otolito. Para evaluar este supuesto se analizó la relación entre 4 mediciones morfométricas y el largo total del otolito (LT: antero-posterior). Estas variables correspondieron al radio caudal (RC), radio rostral (RR), radio dorsal (RD) y radio ventral (RV). Para ello los otolitos preparados fueron digitalizados utilizando un sistema de análisis de imágenes, compuesto por un microscopio LEICA DM 1000 LED, una cámara digital MC 120 HD de 2.5 megapíxeles (MP) y el programa de captura LAS EZ 3.2 (*Leica Application Suite*). La digitalización de imágenes se realizó a una magnificación de 4X para tener una secuencia

completa del otolito. Después de la digitalización, las imágenes fueron procesadas en el programa IMAGE pro-plus para obtener las siguientes mediciones morfométricas: largo total del otolito (LT: antero-posterior), radio caudal (RC), radio rostral (RR), radio dorsal (RD) y radio ventral (RV) (Figura 19).

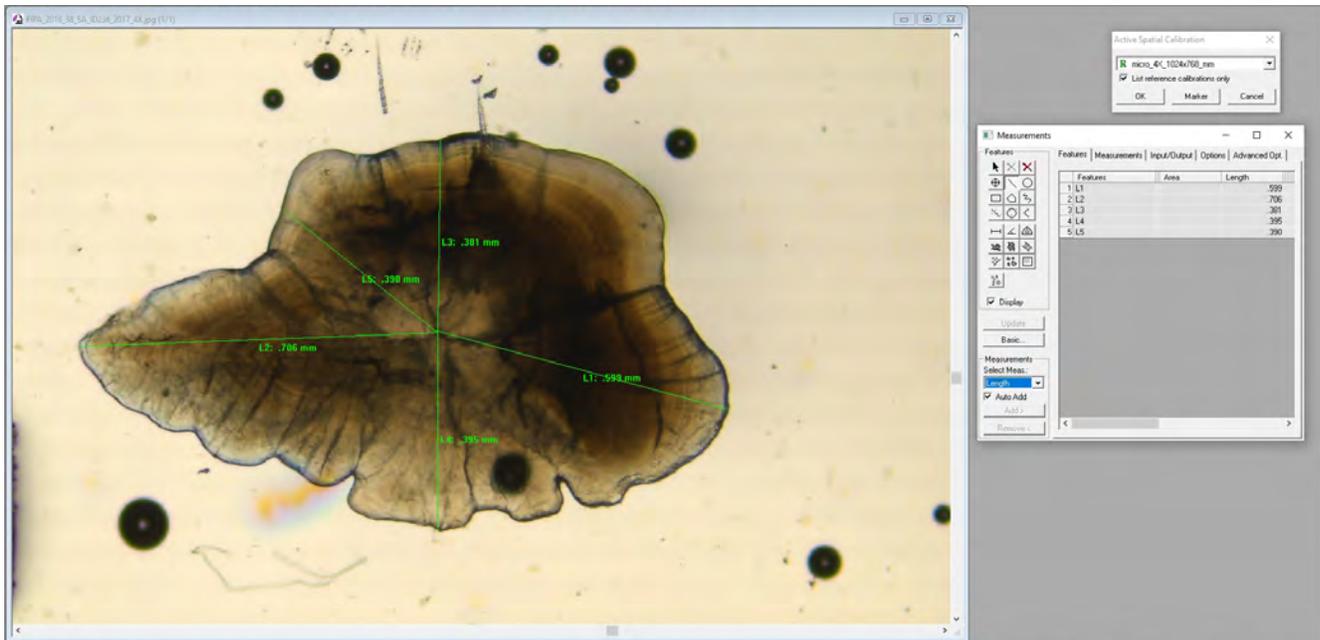


Figura 19: Ilustración del proceso de medición de variables morfométricas microestructurales en un otolito de *S. fuegensis* de 6.5 cm LT, en el programa IMAGE-pro-plus.

Las lecturas de los anillos de crecimiento (micro-incrementos) y la medición de radios de los otolitos derechos se realizó usando el analizador de imágenes “Otolith Reading System” (RATOC System Engineering Co. Ltd., Tokio, Japón) que permitió trabajar con las imágenes en vivo. El procedimiento consistió en trazar una transecta desde el primordio hasta el borde de la cauda utilizando el objetivo de menor magnificación (4X). Posteriormente, se hicieron mediciones de los micro-incrementos a mayor magnificación (20 y 40X), registrando la mayor cantidad posible de anillos visibles. Cuando los micro-incrementos fueron difíciles de identificar en la transecta principal, se registraron a través de una sub-transecta, y posteriormente fueron traspasados automáticamente a la transecta principal (Figura 20).

### Variables discriminantes potenciales

Se debe subrayar que el análisis de la MO de los juveniles en las zonas analizadas permitió obtener información con propósitos de clasificación. Esta información fue cuantificable como variables discriminatorias independientes para cada individuo juvenil, y que fueron las variables que también pudieron ser registradas en el microestructura de otolitos de ejemplares adultos.

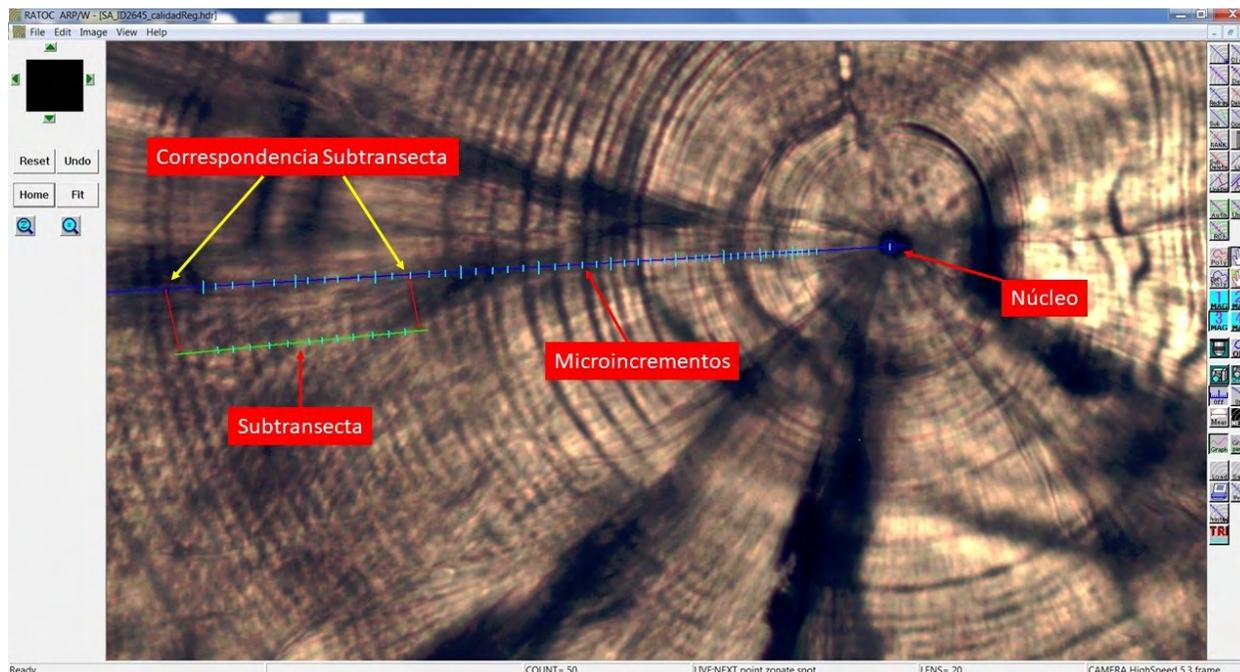


Figura 20: Ilustración del proceso de medición de micro-incrementos diarios con el analizador de imágenes “Otolith Reading System” (RATOC Ltd), en un ejemplar adulto de sardina austral.

Durante el periodo larval y juvenil temprano existe una mayor probabilidad de que los ejemplares permanezcan retenidos en las zonas de desove y/o crianza y por consiguiente se presume que el grosor ( $G_i$ ) y el radio ( $R_i$ ), utilizados como indicadores de la tasa de crecimiento somático y tamaño del ejemplar, respectivamente, actúen como un marcador ecológico. Para el caso del presente estudio la capacidad discriminatoria de estas variables se evaluó en muestras de origen conocido, en ejemplares <8.5 cm LT, definidos como “pre-reclutas” y en ejemplares entre 9 y 11 cm LT definidos como “reclutas”, para cada cohorte analizada (2015 & 2016).

En una fase analítica inicial se probaron diferentes modelos de discriminación, considerando la naturaleza longitudinal y correlacional de las variables derivadas de la microestructura, y finalmente se eligieron los dos enfoques más parsimoniosos, utilizando la información registrada entre los días 21 y 50, que fue el periodo donde se observó la mayor variabilidad entre factores. La elección de estos enfoques se realizó combinando los resultados de la potencia discriminatoria y el número de variables independientes. Además, se consideró la factibilidad de que las mismas variables pudiesen ser también determinadas a partir del análisis microestructural de otolitos de peces sub-adultos y adultos >11 cm LT, para posteriormente aplicar un enfoque de clasificación. En el primer enfoque se utilizaron los grosores promediados cada 10 días a partir del día 21 y en el segundo se utilizó el promedio del grosor y radio para el periodo de mayor variabilidad contrastado (i.e. 21-50 días).

Para evaluar diferencias en radio y grosor medio entre zonas geográficas se llevó a cabo un análisis de varianza multivariado, asumiendo un diseño balanceado, donde las variables de interés fueron transformadas a su logaritmo natural.

## RESULTADOS

### Variables de tamaño del otolito derivadas del análisis microestructural

Las relaciones entre las medidas morfométricas de tamaño del otolito sagital para ejemplares entre 5 y 8.5 cm LT fueron directamente proporcionales ( $p < 0.05$ ) para ambas regiones, especialmente para las relaciones entre la longitud antero-posterior (LO) y los radios rostrales y caudales de los otolitos analizados (Tabla 13; Figura 21). La incorporación de ejemplares de mayor talla incrementó notablemente la bondad de ajuste, particularmente cuando los radios caudales y rostrales fueron usados como variables independientes, explicando más del 90% de la variabilidad en la LO. Un análisis de covarianza para dichas variables, que fueron medidas con mayor precisión debido a la agudeza de los extremos de los otolitos, no evidenció diferencias mayores ( $p > 0.05$ ) ni en las pendientes ni en las medias corregidas (Tabla 14).

Tabla 13: Coeficientes de regresión de modelos líneas de la forma  $Y = \alpha + \beta X$ , entre las dimensiones del tamaño del otolito de reclutas de sardina austral *Sprattus fuegensis*, recolectados en las unidades de manejo de Chiloé ( $n=233$ ) y de Aysén ( $n=144$ ). LO=longitud antero-posterior del otolito; RR: radio rostral; RC: radio caudal; RV: Radio ventral; RD: radio dorsal; EE: error estándar.

Unidad de Manejo	Modelo	$\alpha$	$\pm$	EE	$\beta$	$\pm$	EE	F	r <sup>2</sup>
Chiloé	LO vs RR	-0.056	$\pm$	0.012	1.883	$\pm$	0.014	18203.93	0.99
	LO vs RC	0.05	$\pm$	0.014	2.117	$\pm$	0.018	13212.13	0.98
	LO vs RV	-0.46	$\pm$	0.047	4.385	$\pm$	0.1	1926.80	0.89
	LO vs RD	-0.10	$\pm$	0.038	3.299	$\pm$	0.073	2043.79	0.90
Aysén	LO vs RR	0.017	$\pm$	0.016	1.802	$\pm$	1.802	8498.84	0.98
	LO vs RC	-0.006	$\pm$	0.022	2.198	$\pm$	0.03	5668.13	0.98
	LO vs RV	-0.205	$\pm$	0.053	3.826	$\pm$	0.111	1191.94	0.89
	LO vs RD	0.086	$\pm$	0.039	2.919	$\pm$	0.074	1570.64	0.92

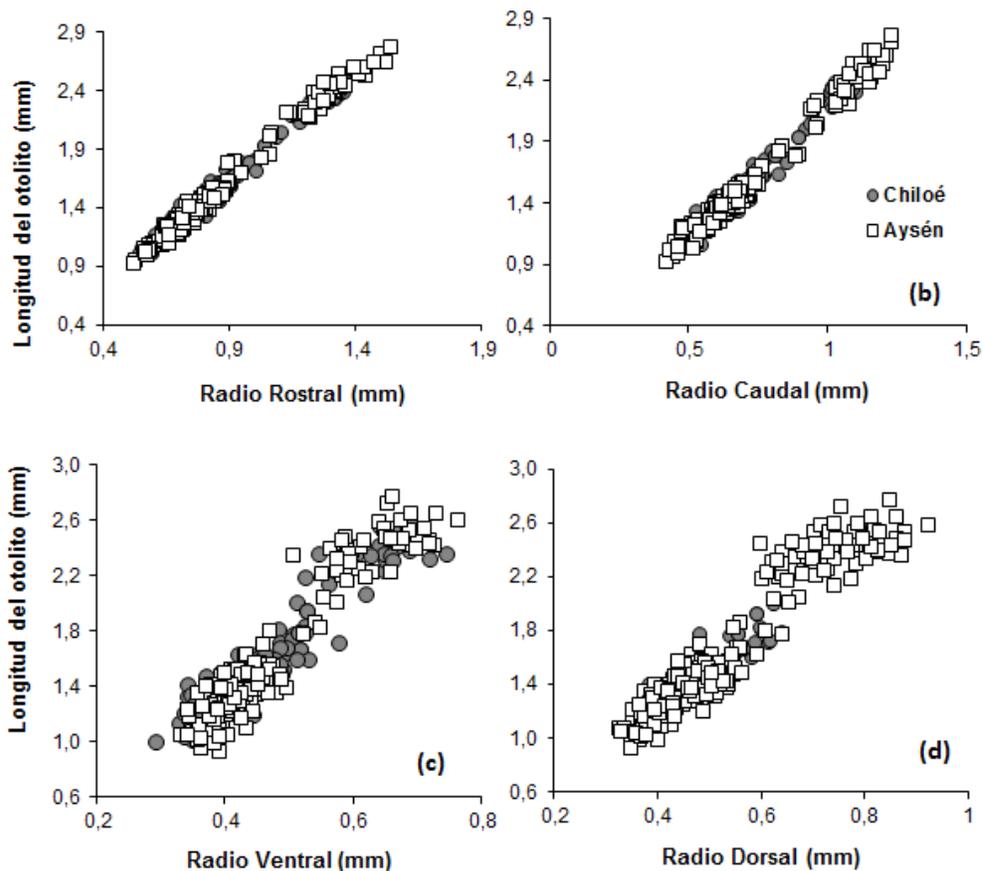


Figura 21: Relaciones morfométricas entre dimensiones del tamaño del otolito y el tamaño de ejemplares juveniles de *S. fuegensis*, recolectados en las unidades de manejo de Chiloé y Aysén.

Tabla 14: Estadísticas derivadas de dos modelos lineales generales, donde la Longitud antero-posterior del otolito (LO) fue usada como variable dependiente y el Radio Rostral (a) y Radio Caudal (b) como variables independientes. La interacción corresponde a la prueba de igualdad de pendiente.

Modelo	Fuente de Variación	SCE	DF	CM	F	P
(a)	RR	2,507	1	2,507	1088,97	<0,001
	Zona	0,001	2	0,000	0,135	0,874
	Zona x RR	0,002	2	0,001	0,339	0,713
	Error	0,325	141	0,002		
(b)	RC	2.469	1	2.469	813,05	<0,001
	Zona	0,014	2	0,007	2,24	0,110
	Zona x RC	0,016	2	0,008	2,58	0,080
	Error	0,428	141	0,003		

## Caracterización de la microestructura

La microestructura de los otolitos sagitales de ejemplares de sardina austral < 8,5 cm LT se caracterizaron por presentar tres zonas microestructurales características (Figura 22). Una primera zona caracterizada por la presencia de micro-incrementos primarios (MP) finos ( $2.49 \pm 0.86 \mu\text{m}$ ; rango: 0,63-9,5  $\mu\text{m}$ ; CV=14%), aunque bastante distintivos y concéntricos, circundando una área central compuesta por un único primordio opaco, rodeado por una perturbación definida (Figura 22). Los MP mostraron un patrón relativamente homogéneo para los primeros 50 días en esta zona, sobre todo hacia el eje caudal, con una ligera tendencia a incrementar en grosor y escasa ocurrencia de perturbaciones y discontinuidades. Luego se observó una segunda zona donde los anillos fueron difusos, con menor resolución ( $4,08 \pm 0.17 \mu\text{m}$ ; rango: 1,41 - 9,50  $\mu\text{m}$ ; CV=6,28 %), mayor cantidad de perturbaciones, discontinuidades y ocurrencia de macro-bandas, que dificultó la identificación de los MP, particularmente en el eje caudal (Figura 22). Los MP, solo pudieron ser distinguidos con algún grado de resolución hacia el eje rostral (Figura 22). En la tercera zona los MP fueron homogéneos y resolubles ( $3,12 \pm 0.18 \mu\text{m}$ ; rango: 1,12 -3,62  $\mu\text{m}$ ; CV=4,23 %), pero con una disminución notoria de grosor, que tendió a coincidir con el inicio de una zona translúcida (Figura 22).

La totalidad de los perfiles de radios y grosores de los ejemplares pudieron ser registrados en algunos ejemplares que mostraron una secuencia bien definida hacia la zona caudal, que fue donde los micro-incrementos en la Zona A, mostraron la mayor resolución. En general, se observó una tendencia alométrica y parabólica, respectivamente, aunque con una marcada variabilidad individual, principalmente en los grosores promedios (Figura 23).

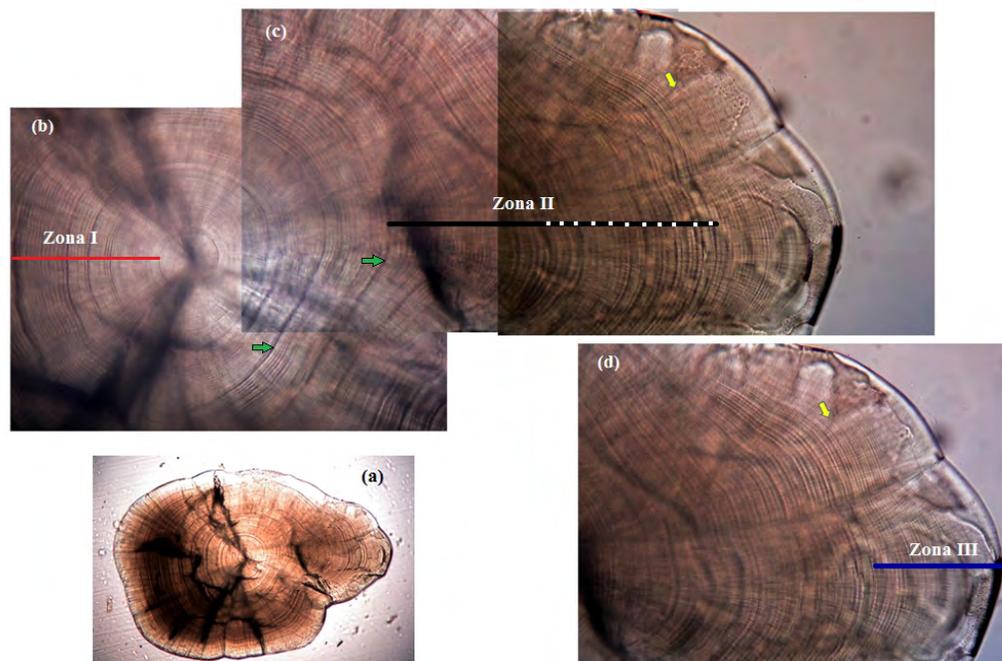


Figura 22: Microestructura de un recluta de sardina austral (6 cm LT) colectado en la unidad de manejo de Chiloé en abril de 2016, ilustrando la existencia de las tres zonas microestructurales

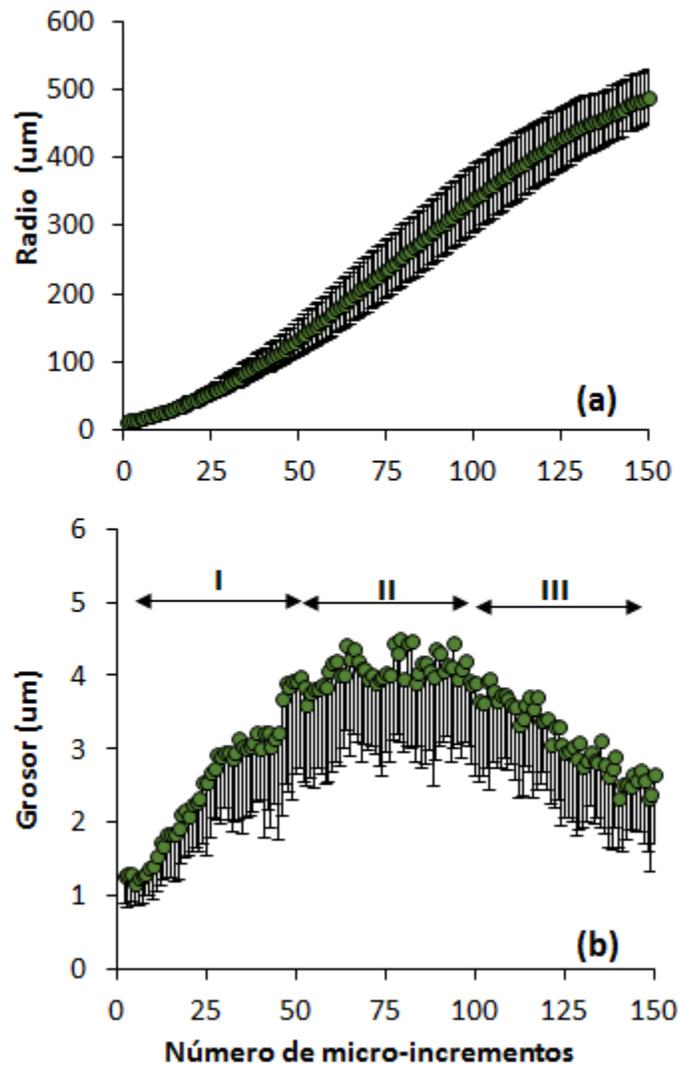


Figura 23: Perfiles: a) Radios y b) Grosos de los primeros 50 anillos para 22 individuos de sardina austral *S. fuegensis* provenientes de Chiloé. Las barras de error representan la desviación estándar.

### Edad a la fecha de captura

En un total de 83 juveniles recolectados en ambas zonas geográficas y que presentaron la mayor resolución en los micro-incrementos de sus otolitos, fue posible efectuar un recuento completo desde el primordio hasta el borde rostral, en imágenes combinadas (Figuras 24 y 25). Estos ejemplares fluctuaron entre 7 y 9 cm LT y entre 124 y 207 días (Tabla 15), mostrando bajos niveles de variabilidad en general menor al 10% en ambas variables. El nivel de reproducibilidad en la identificación de los micro-incrementos diarios fluctuó entre 0,5 y 14,2% cuando se compararon las lecturas entre lectores, alcanzando un IAPE global de 4.47 %. Aunque los micro-incrementos se tornaron menos resolubles y disminuyeron su grosor hacia la parte posterior del eje rostral en Aysén (Figura 25), lo que produjo un incremento en el AIEP promedio desde 3,85 en Chiloé a 5,09 en Aysén (Figura 26; ANOVA  $F_{1,64}=3,54$ ;  $P=0,064$ ).

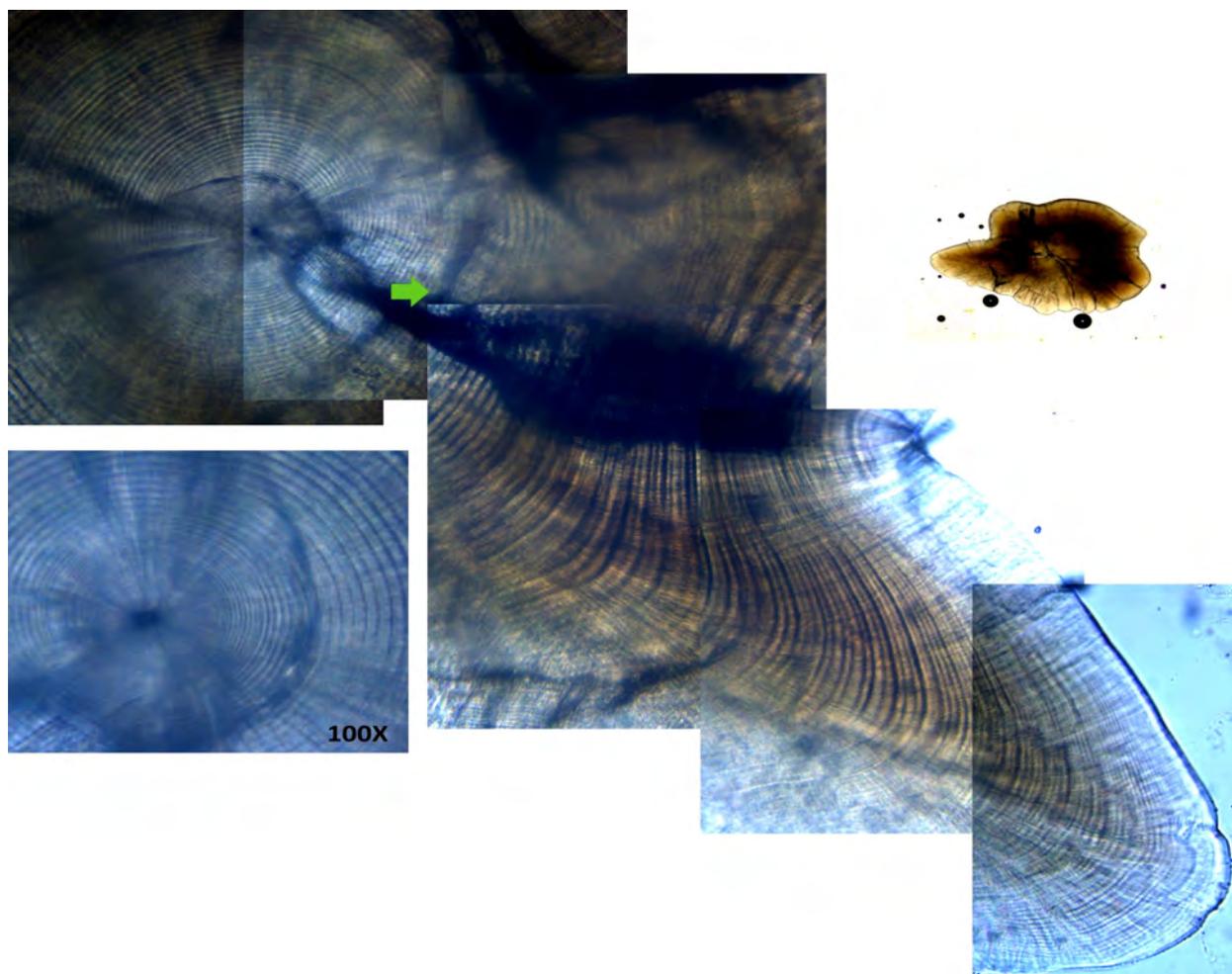


Figura 24: Imagen ilustrativa de la secuencia de micro-incrementos a 40X de magnificación en dirección rostral en un ejemplar de 8,2 cm LT de sardina austral, recolectado en la unidad de manejo de Chiloé durante el crucero abril de 2017. (b) Secuencia de mayor magnificación de los micro-incrementos cerca del primordio.

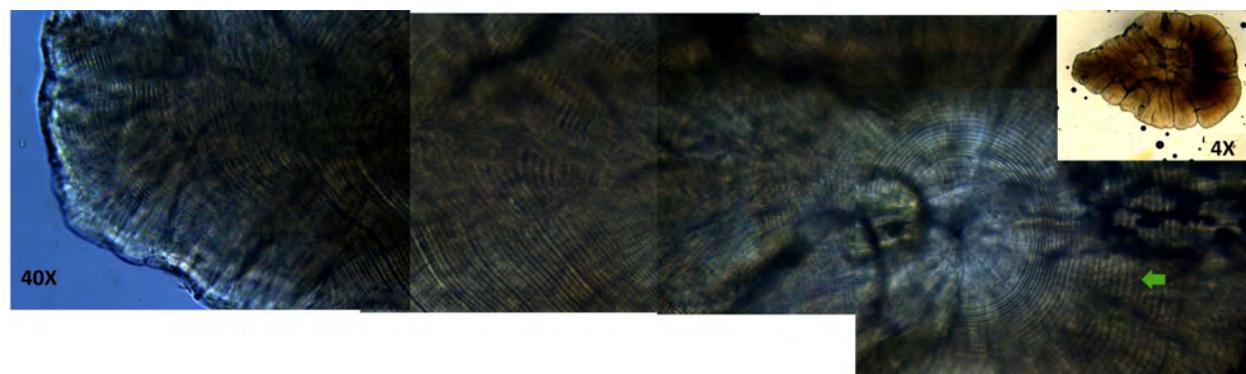


Figura 25: Imagen ilustrativa de la secuencia de micro-incrementos a 40X de magnificación en dirección rostral en un ejemplar de 8,5 cm LT de sardina austral, recolectado en la unidad de manejo de Chiloé.

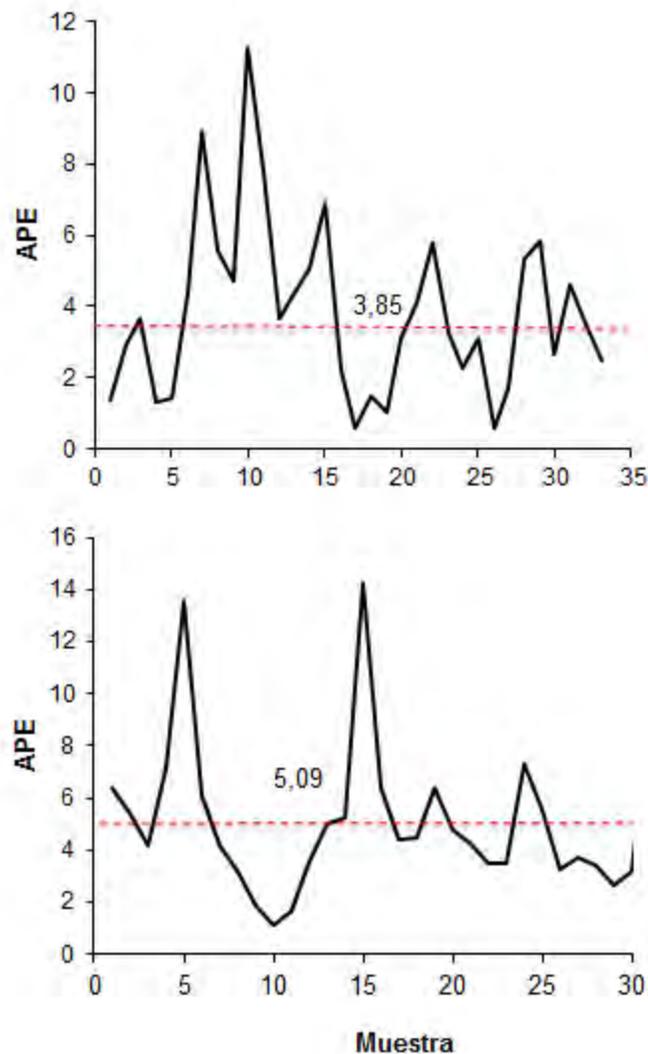


Figura 26: Perfil de reproducibilidad mediante el porcentaje de error promedio (APE), asociado a la determinación de edad a nivel diario en otolitos sagitales de sardina austral <9 cm LT, para las unidades de manejo de Chiloé (a) y Aysén (b). Las líneas rojas segmentadas representan el IAPE.

Debido al rango estrecho de longitud analizado no se pudieron ajustar modelos talla - edad, aunque se lograron calcular las fechas de nacimiento de estos ejemplares. Para ejemplares >9 cm LT la secuencia de micro-incrementos se vio interrumpida por una gran cantidad de discontinuidades, perturbaciones y zonas de fusión de micro-incrementos, las que impidieron llevar a cabo un proceso de determinación de edad diaria total. Los ejemplares datados no evidenciaron diferencias consistentes en su tamaño medio (ANOVA  $F_{1,79}=0,01$ ;  $P=0,89$ ), pero alcanzaron edades medias consistentemente mayores (ANOVA  $F_{1,79}=153,49$ ;  $P<0,001$ ) en la cohorte 2016 (155 días) que en la cohorte 2015 (162 días). La tasa de crecimiento global, fluctuó entre  $0,37$  y  $0,61 \text{ mm}\cdot\text{d}^{-1}$  y mostró valores medios mayores en la unidad de manejo de Chiloé, en ambas cohortes (Tabla 15; ANOVA 2015:  $F_{1,29}=44,74$ ;  $P<0,001$ ; ANOVA 2016:  $F_{1,50}=71,047$ ;  $P<0,001$ ).

Tabla 15: Estadísticas generales de longitud total (LT; cm), edad (días) y tasa de crecimiento global (GR: mm·d<sup>-1</sup>) de ejemplares de sardina austral menores a 9 cm LT, para cada cohorte y zona de estudio. CV= coeficiente de variación; DE=desviación estándar. \*: Todos los ejemplares tuvieron el mismo tamaño.

Cohorte	Unidad de Manejo	LT ± DE	Rango	CV	Edad ± DE	Rango	CV	GR ± DE	Rango	CV	N
2015	Total	7.9 ± 0.68	7-8.5	8.64	147 ± 12.5	124-174	8.50	0.52 ± 0.06	0.37-0.61	12.20	31
	Chiloé	7.8 ± 0.69	7-8.5	8.92	145 ± 12.3	124-174	8.53	0.55 ± 0.04	0.49-0.61	6.63	23
	Aysén	8.50 ± *	8.5-8.5		155 ± 9.7	142-171	6.24	0.44 ± 0.05	0.37-0.51	11.71	8
2016	Total	7.9 ± 0.78	6-9	9.90	171 ± 15.2	142-207	8.92	0.43 ± 0.08	0.29-0.54	17.74	52
	Chiloé	8.2 ± 0.50	7-9	6.14	167 ± 15.2	142-198	9.12	0.48 ± 0.03	0.43-0.54	6.79	27
	Aysén	7.5 ± 0.86	6-8.5	11.49	175 ± 14.5	149-207	8.30	0.37 ± 0.06	0.29-0.51	16.96	25
	Global	7.9 ± 0.74	6-9	9.40	162 ± 18.2	124-207	11.27	0.46 ± 0.08	0.29-0.61	18.06	83

### Fechas de nacimiento

La determinación de edad diaria total permitió obtener un estimado de las fechas de nacimiento de los ejemplares analizados, las que fluctuaron entre septiembre y diciembre, evidenciando diferencias importantes entre zonas geográficas dentro de cada cohorte analizada (Kolmogorov-Smirnov  $Z_{2015}=2,44$ ,  $P<0,001$ ;  $Z_{2016}=3,31$ ,  $P<0,001$ ). De acuerdo a estos resultados, las unidades de manejo de Chiloé y Aysén presentarían eventos de desove desfasados a inicio y término de primavera, respectivamente (Figura 27).

### Evaluación de variables potencialmente discriminantes en juveniles

Después del proceso de preparación microestructural un total de 272 otolitos de juveniles entre 6,5 y 11 cm LT fueron utilizados para el registro del grosor y radio (Tabla 16) de los micro-incrementos. Se pudo observar que ambas variables mostraron una tendencia incremental para los primeros 50 días de vida, independiente de la cohorte analizada, la zona de estudio y la fracción de juveniles analizada (pre-reclutas v/s reclutas, Figura 28). El patrón más consistente fue la existencia de una sobre-posición marcada en los grosores y radio en las primeras tres semanas de vida y una gradual diferenciación a edades posteriores.

Un análisis de varianza multivariada efectuada cada 5 días a partir del día 25 evidenció diferencias tanto en los grosores y radios, en la mayoría de los casos analizados, con excepción de los pre-reclutas de la cohorte 2015 para ambas variables y en el caso del radio para la misma cohorte (Tabla 17; Figura 29).

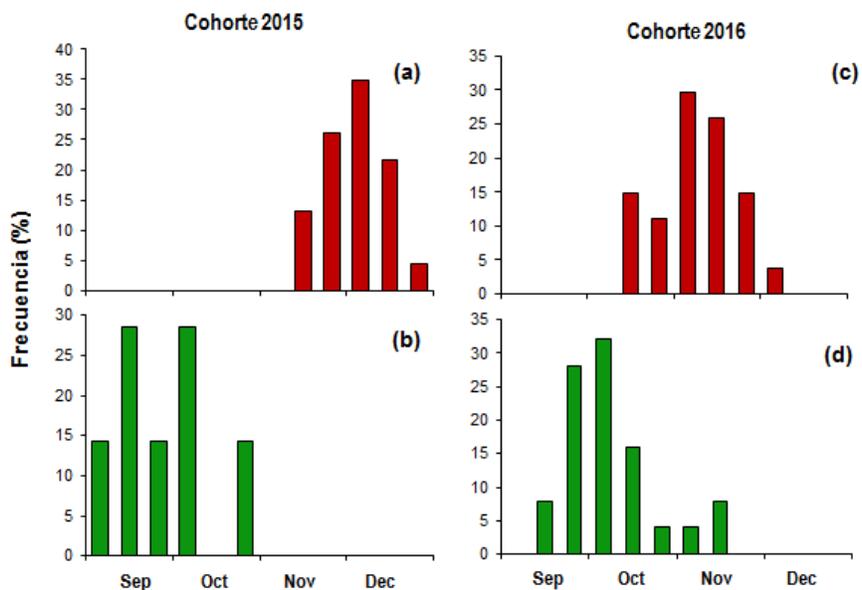


Figura 27: Distribución de frecuencia de ejemplares de sardina austral < 9 cm LT, dados a nivel diario y recolectados en Chiloé (barras rojas) y Aysén (barras verdes) para las cohortes 2015 y 2016.

Tabla 16: Estadísticas generales de la longitud total (LT) de reclutas de sardina austral, procesados para análisis microestructural, por zona, estrato y año. CV: coeficiente de variación.

Cohorte	Unidad Manejo	Media $\pm$ DE	Rango	N	CV (%)
2014	Aysén	11.00 $\pm$ 0.00	11 - 11	3	
2015	Chiloé	8.98 $\pm$ 1.27	7 - 11	66	14.17
	Aysén	9.34 $\pm$ 0.98	8 - 11	35	10.53
	Total	9.10 $\pm$ 1.19	7 - 11	101	13.05
2016	Chiloé	8.90 $\pm$ 0.92	6.5 - 10.5	93	10.28
	Aysén	8.76 $\pm$ 1.28	6 - 11	75	14.64
	Total	8.84 $\pm$ 1.09	6 - 11	168	12.37
Global		8.96 $\pm$ 1.15	6 - 11	272	12.82

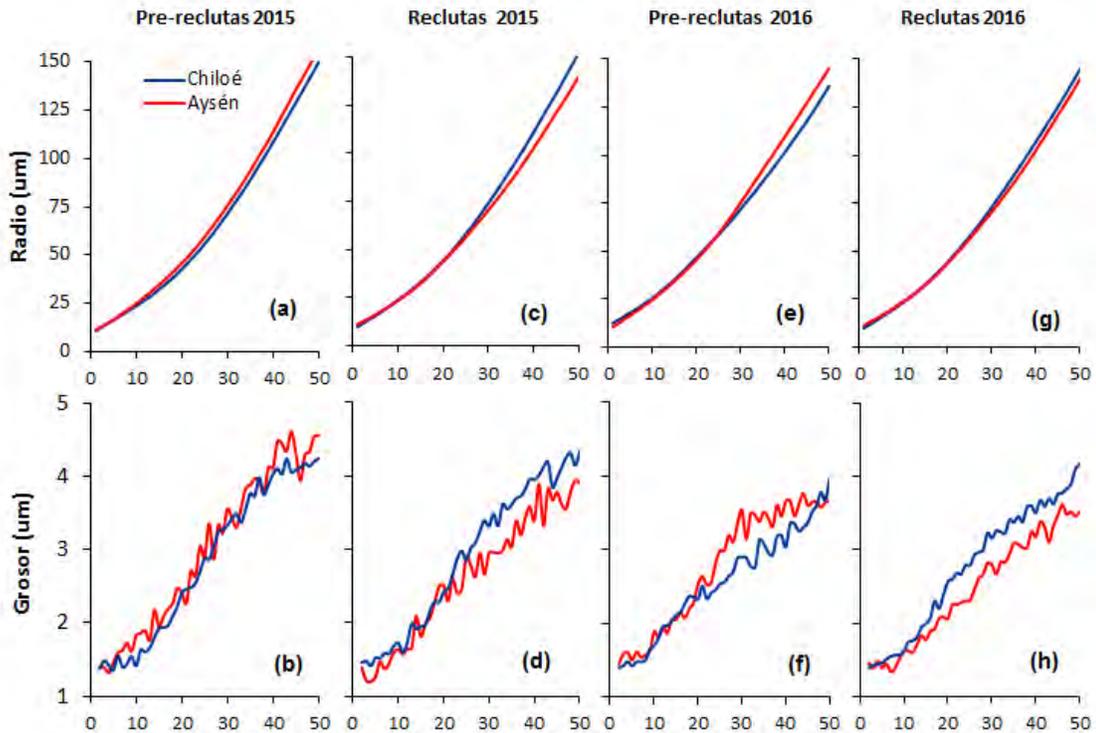


Figura 28: Perfiles promedios de radios (a) y grosores (b) por cohorte y zona geográfica de otolitos sagitales de reclutas de entre 6 y 9 cm de sardina austral.

Tabla 17: Estadísticas derivadas del análisis de varianza multivariado para poner a prueba la hipótesis de igualdad de medias en el grosor medio de los micro-incrementos y radio medio de los otolitos sagitales (transformados a logaritmo natural), de juveniles de sardina austral en cada cohorte y zona medidos a los 25, 30, 35, 40, 45 y 50 días. WL: Wilks's Lambda; gl: grados de libertad; F: estadístico F-Fisher aproximado.

Cohorte	Estado	Variable	WL	F	gl	P
2015	Pre-reclutas	G	0.94	0.37	6.36	0.896
	Pre-reclutas	R	0.88	0.86	6.36	0.533
	Reclutas	G	0.77	2.53	6.51	0.032
	Reclutas	R	0.81	2.01	6.51	0.082
2016	Pre-reclutas	G	0.80	2.79	6.67	0.018
	Pre-reclutas	R	0.83	2.27	6.67	0.047
	Reclutas	G	0.82	3.21	6.88	0.007
	Reclutas	R	0.86	2.37	6.88	0.036

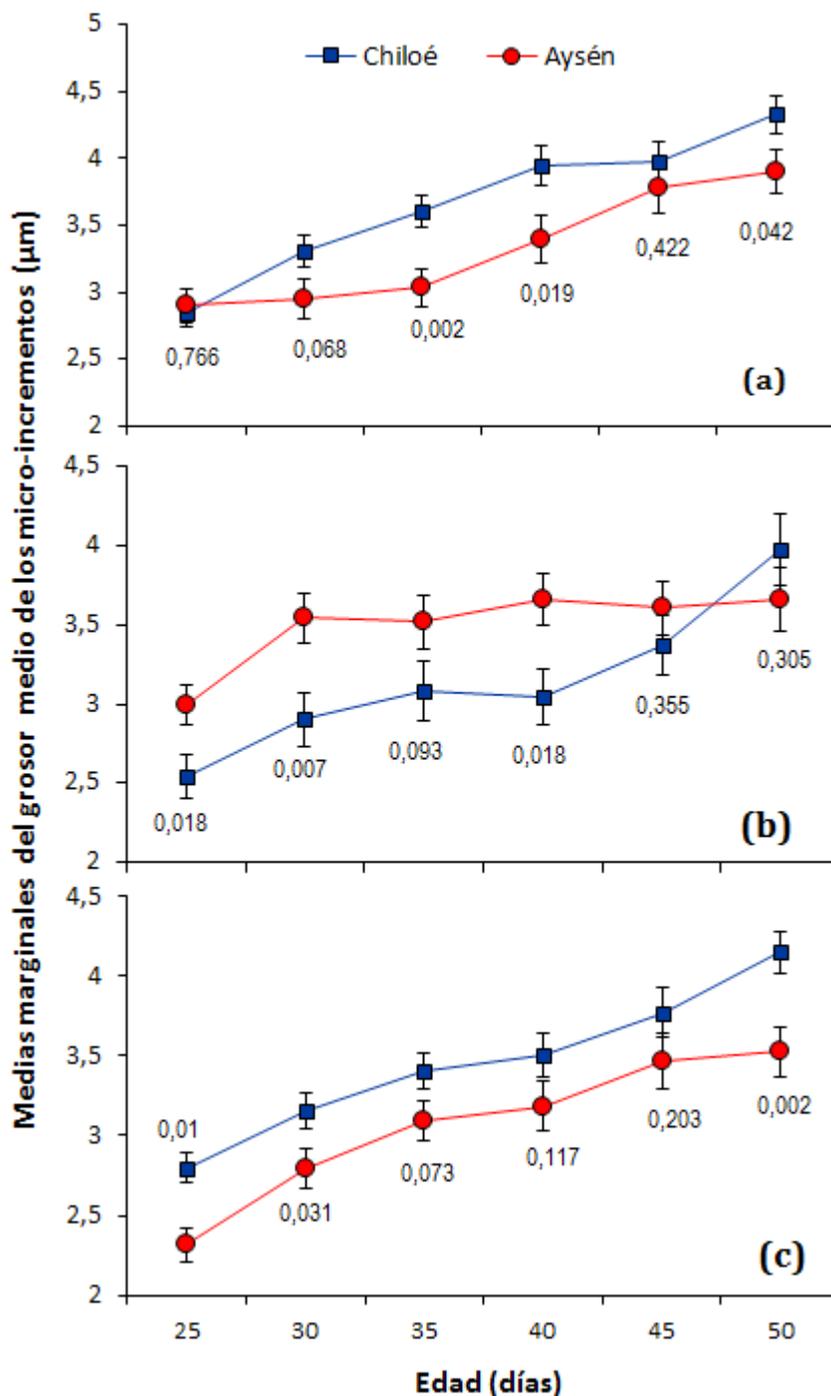


Figura 29: Medias marginales derivadas de un modelo lineal general multivariado del grosor de los micro-incrementos de otolitos sagitales de sardina austral, medidos a intervalos de 5 días en el periodo de mayor crecimiento, analizados por zona geográfica para pre-reclutas cohorte 2015 y reclutas de las cohortes 2015 (c) y 2016 (d). Los números al interior de la figura corresponden a la probabilidad de cometer error tipo I, en un modelo univariado a cada intervalo.

### Análisis de la microestructura de los otolitos de adultos

La microestructura de los otolitos sagitales de ejemplares sub-adultos y adultos de sardina austral >11cm LT mostraron en general dos tipos de estructura, una con mayor nivel de

calcificación (Figura 30a) en la región nuclear previo a la formación del primer *annulus* y un segundo tipo de otolito mucho más translúcido (Figura 31a), aunque en ambos casos los anillos aparecieron muy bien diferenciados, aunque altamente hialinizados. En ambos tipos de otolitos los micro-incrementos fueron bien definidos hacia eje caudal para los primeros 50 días (Figura 30b y Figura 31b) y perdieron resolución de forma progresiva hasta fundirse en agregados de micro-incrementos a edades superiores. En algunas secciones se observó un patrón de micro-incrementos bien definidos durante los primeros 15 días de vida, después de los cuales se evidenciaron cambios bruscos en la consistencia de los micro-incrementos y en ocasiones se observó presencia de discontinuidades (Figura 32a). En otros casos una primera fase de micro-incrementos resolubles estuvo rodeada de una zona difusa, que impidió seguir la secuencia y el registro de los grosores (Figura 32b). Este tipo de muestras que representó alrededor del 16% de total de los otolitos preparados para análisis microestructural, no fueron consideradas en los análisis. En general el grosor de los micro-incrementos fluctuaron entre 0,71 y 9,4  $\mu\text{m}$  ( $3,26 \pm 0,87 \mu\text{m}$ ; CV=26%), evidenciando un incremento gradual a medida que se alejan del primordio en dirección caudal.

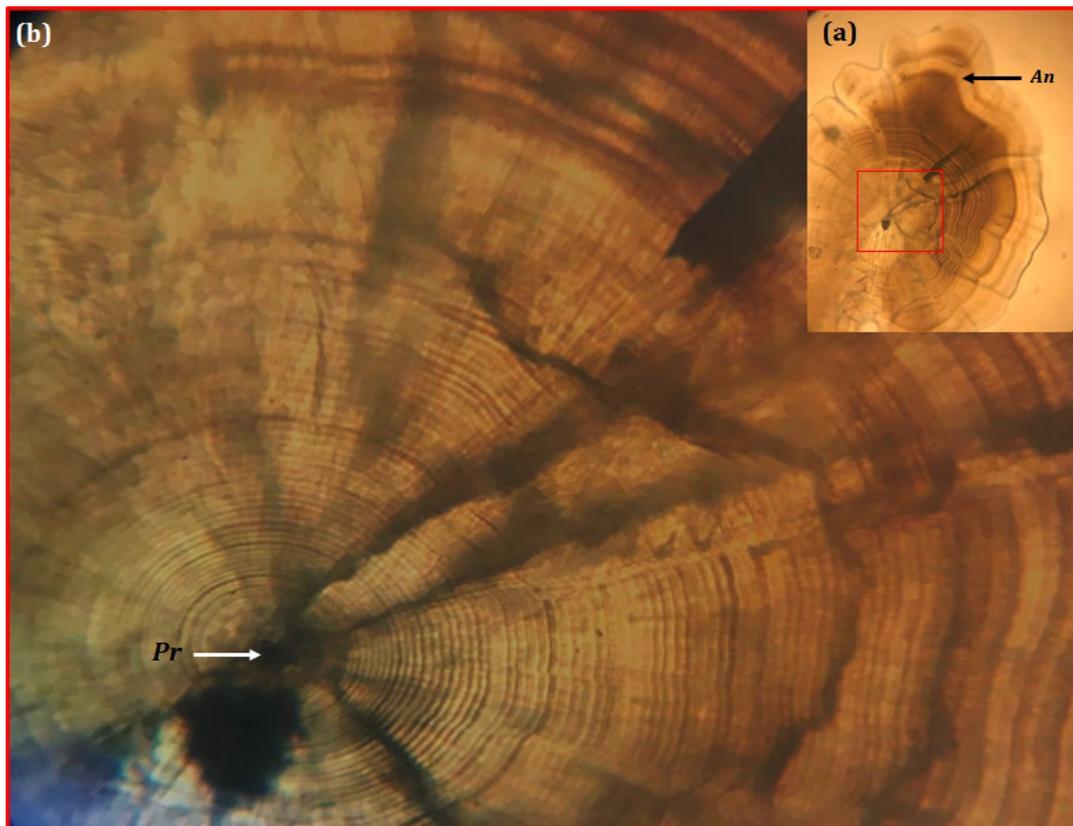


Figura 30: Fotografías ilustrativas a 4X (a) y 40X (b) de magnificación, de una sección de un otolito sagital con mayor calcificación en la región nuclear de un ejemplar adulto de sardina austral preparado para análisis microestructural; Pr: Primordio; An: Anulo.

Para el registro de grosores y radios se dispuso de 237 otolitos preparados a nivel microestructural de ejemplares adultos que fluctuaron entre 11 y 18 cm LT y que se distribuyeron en tres cohortes anuales 4 (Tabla 18). Los perfiles de grosores y radios promedios evidenciaron un patrón incremental similar al observado en juveniles para los primeros 50 días de vida (Figura 33). Al contrastar las medias de ambas variables medidas cada 5 días dentro del periodo de mayor variación (21-50 días), se encontró evidencia de diferencias importantes y valores consistentemente mayores en Chiloé que en Aysén, dentro de las cohortes 2015 y 2016 (Tabla 19). La cohorte 2014 no fue contrastada entre zonas debido al tamaño de muestra reducido.

Tabla 18: Estadísticas generales de la longitud de sub-adultos y adultos de sardina austral > 11 cm, procesados para análisis microestructural, por zona y cohorte. DE=desviación estándar.

Cohorte	Área de manejo	Media ± DE	Rango	N
2013	Chiloé	15 ±	15 - 15	1
2014	Global	14.70 ± 0.99	12.5 - 16.5	32
	Chiloé	15.43 ± 0.76	14.5 - 16.5	14
	Aysén	14.14 ± 0.76	12.5 - 15.5	18
2015	Global	14.60 ± 1.29	11 - 18	126
	Chiloé	15.26 ± 1.08	11 - 18	77
	Aysén	13.56 ± 0.83	12 - 15.5	49
2016	Global	14.09 ± 1.44	11 - 18	72
	Chiloé	14.43 ± 1.28	12.5 - 18	55
	Aysén	13.00 ± 1.43	11 - 16	17
2017	Chiloé	15.58 ± 0.74	15 - 17	6
Global		14.49 ± 1.32	11 - 18	237

Tabla 19: Análisis multivariado de varianza de las medias de grosores y radios de otolitos de sardina austral medidos cada cinco días, entre los días 21 y 50 después de la eclosión. Hipótesis nula corresponde a igualdad de medias entre zonas (Chiloé v/s Aysén).

Variable	Cohorte	Lambda de Wilks	F	Grados de libertad numerador	Grados de libertad denominador	P>F
Grosor	2015	0,791	5,10	6	116	<0,001
	2016	0,666	5,43	6	65	<0,001
Radio	2015	0,840	3,67	6	118	0,002
	2016	0,613	6,83	6	65	<0,001

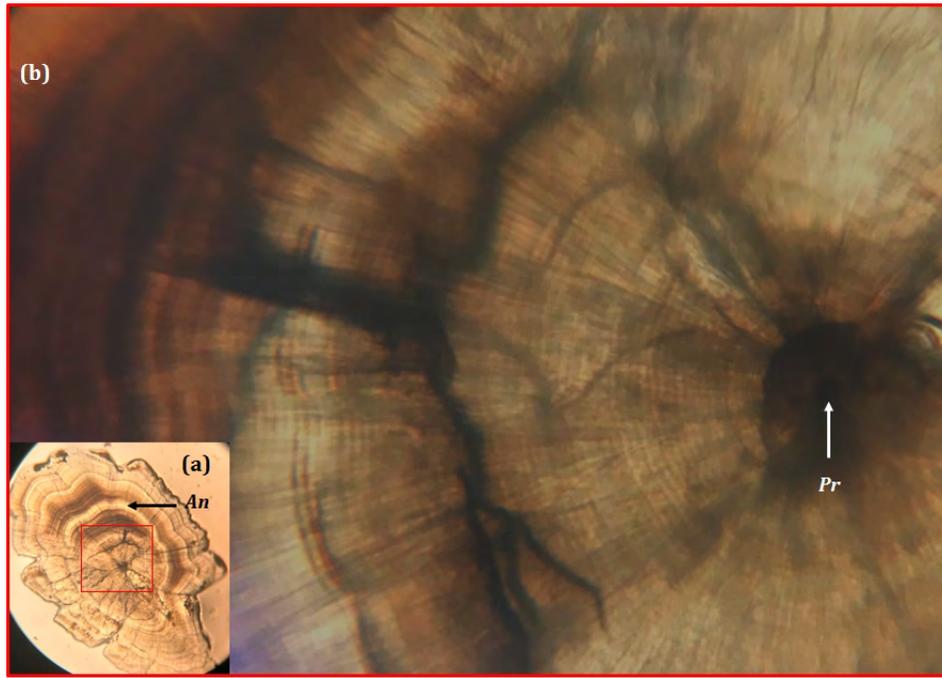


Figura 31: Fotografías ilustrativas a 4X (a) y 40X (b) de magnificación de una sección de un otolito sagital con menor calcificación en la región nuclear de un ejemplar adulto de sardina austral preparado para análisis microestructural; Pr: Primordio; An: Anulo.

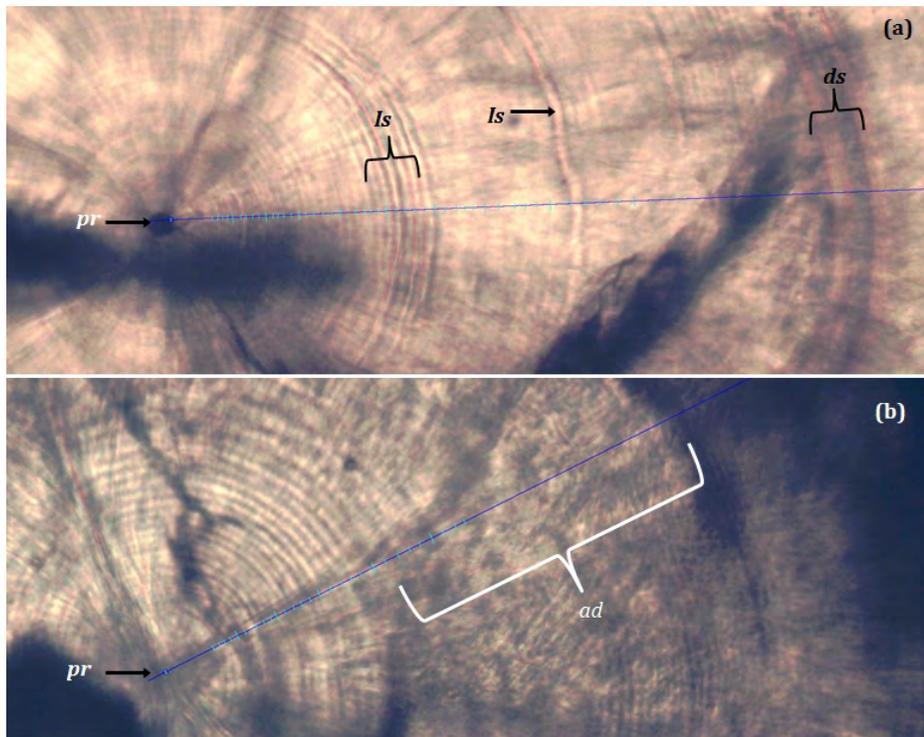


Figura 32: Fotografías ilustrativas (magnificación 40X) de secciones de dos otolitos sagitales de adultos de *S. fuegensis*, donde la microestructura presenta baja resolución en zona nuclear, con interrupciones y discontinuidades (a; ds) y áreas difusas (b; ad); Pr: Primordio; Is: Micro-incremento sobresaliente.

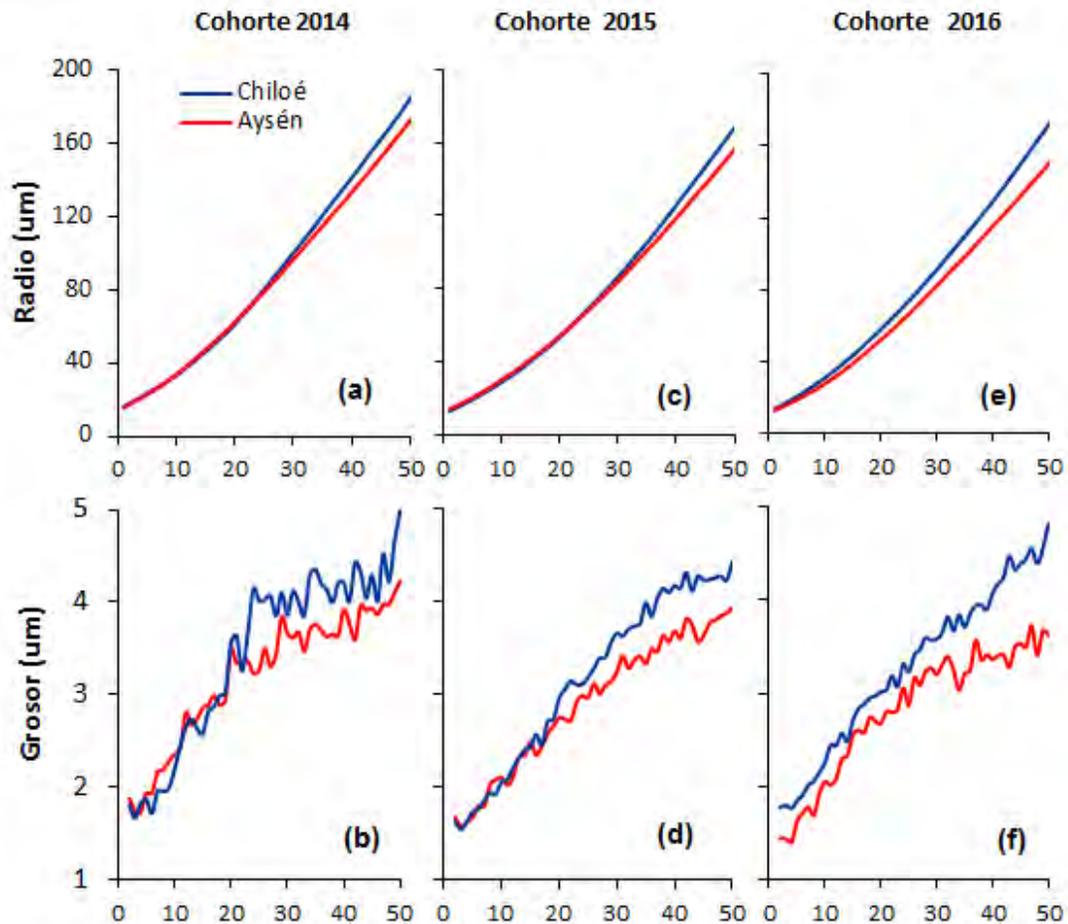


Figura 33: Perfiles promedios de radios (a) y grosores (b) por zona geográfica, para ejemplares sub-adultos y adultos > 11 cm de sardina austral, por zona geográfica y cohorte anual de nacimiento.

## DISCUSIÓN

Un hallazgo distintivo encontrado en el presente estudio fue la elevada proporcionalidad encontrada entre las dimensiones de tamaño del otolito, particularmente cuando se utilizó el radio rostral y el radio caudal como variables independientes. Es importante subrayar que estas relaciones fueron evidentes, a pesar de que el rango de longitud de los ejemplares reportados fue bastante estrecho. Estos resultados son muy similares a los reportados por Niklitschek *et al.* (2018) para la anchoveta a lo largo de la costa chilena. Hasta la fecha varios estudios han registrado estas medidas morfométricas en varias especies, tanto en juveniles como en adultos de peces teleósteos, pero estos registros han estado orientados a describir la relación entre índices de tamaño del otolito y la longitud del pez, ya sea con propósitos de retro-cálculo del crecimiento somático o con fines de caracterización de aspectos de historia de vida de las especies entre poblaciones y/o zonas geográficas (*e.g.*, (Zabel *et al.* 2010, Battaglia *et al.* 2015, Zan *et al.* 2015). Por el contrario, hasta la fecha no se han reportados resultados similares en otros peces teleósteos. Por lo tanto, estos hallazgos sumados a los reportados en *E. ringens*,

confirman la naturaleza conservativa del otolito y que su capacidad de registro microestructural no es afectada por el proceso de expansión del otolito en sus cavidades óticas.

Otro rasgo distintivo en el análisis de la microestructura de los otolitos sagitales para sardina austral, en juveniles menores a 9 cm LT de las dos zonas analizadas (Chiloé y Aysén), fue la presencia de tres zonas microestructurales bien definidas. La presencia de micro-incrementos bastante homogéneos, presentes en la primera y tercera zona, contrastó con la mayor variabilidad observada en una zona intermedia de transición. Estos resultados concuerdan con los hallazgos reportados por Cerna et al. (2015) para la misma especie y para otras especies de clupeidos (e.g. Plaza et al. 2001, Raventós & Macpherson 2001). Más allá de la tercera zona fue evidente una caída gradual en el grosor de los micro-incrementos, que tendió a ser mucho más marcada en ejemplares de Aysén y se tradujo en tasas de crecimiento globales menores ( $0.37 \text{ mm}\cdot\text{d}^{-1}$ ) que en Chiloé ( $0.48 \text{ mm}\cdot\text{d}^{-1}$ ) para la cohorte de 2016 que pudo ser contrastada.

La tasa de crecimiento diaria global observada, en el presente estudio, en Aysén fue similar a aquella reportada por Cerna et al. (2014) para pre-reclutas de una cohorte de primavera en el año 2013 ( $\sim 0.33 \text{ mm}\cdot\text{d}^{-1}$ ) y levemente inferiores a los  $0.45 \text{ mm}\cdot\text{d}^{-1}$  reportados por Landaeta et al., (2012) para larvas en post-flexión de *S. fuegensis*, recolectadas entre los  $47^\circ$  y  $50^\circ\text{S}$  en primavera de 2008, para un rango de temperatura de entre 8 y  $11^\circ\text{C}$ . Contrariamente, las tasas de crecimiento para Aysén fueron muy superiores a las reportadas para postlarvas de una cohorte de primavera de la costa sur de Argentina, donde se reportaron valores promedios de  $0.15 \text{ mm}\cdot\text{d}^{-1}$  para un rango de temperatura entre 5 y  $7^\circ\text{C}$  (García Alonso et al. 2020). Por lo tanto, es razonable inferir que los resultados obtenidos para Aysén son consistentes, ubicándose en un rango medio, entre los valores estimados para Chiloé y el Océano Atlántico. Es importante destacar, sin embargo, que el crecimiento de la cohorte de primavera de Chiloé ( $0.48 \text{ mm}\cdot\text{d}^{-1}$ ), obtenida en el presente estudio, fue menor que la observada en una cohorte de la misma zona en el año 2012 (i.e.  $0.57 \text{ mm}/\text{d}$ ; Cerna et al. 2014).

Las diferencias menos pronunciadas encontradas en las tasas de crecimiento globales entre ambas regiones en pre-reclutas, es consistente con los resultados derivados de los perfiles de grosores y radios que mostraron valores muy similares entre regiones para los 50 primeros días de vida. A diferencia de lo encontrado en muestras de reclutas, estos valores fueron incluso mayores en Aysén que en Chiloé para la cohorte 2016, aunque estas diferencias estuvieron solo restringidas a una ventana de 25 días. Por consiguiente, parece razonable hipotetizar que la inconsistencia en los perfiles de grosores encontrada en los pre-reclutas resulta de comparar cohortes nacidas en distintas temporadas (inicios de primavera vs finales de primavera e inicios de verano). Para el caso de los reclutas no fue posible determinar edad a nivel diario para determinar la estación de nacimiento de origen, aunque es razonable inferir que pudieron provenir de la misma cohorte de nacimiento, debido a que las diferencias encontradas en el crecimiento del otolito en ambas zonas fueron consistentes entre las cohortes anuales contratadas (2015 y 2016).

De los resultados del presente estudio y de los derivados de Cerna et al. (2014) es posible inferir que el crecimiento en los primeros dos meses de vida pareciera maximizarse en primavera en ambas áreas geográficas. Esta inferencia tiene asidero debido a que es precisamente a fines de invierno e inicios de primavera donde esta especie concentra de forma consistente su mayor actividad de desove en Chiloé (Sánchez et al. 1995, Leal et al. 2011, Aranís et al. 2018). Para Aysén, la información sobre época de desove es muy escasa y parcial y se desconoce si existe un gradiente de extensión de la época de desove hacia las regiones meridionales. Por lo tanto, la especie pareciera haber adaptado su época de desove para que la progenie pueda transitar por sus estadios tempranos principalmente en primavera donde ocurre la mayor productividad en el ecosistema de fiordos del sur de Chile (Iriarte et al. 2007, Montero et al. 2011). Como los pre-reclutas de Aysén, para ambas clases anuales (2015 & 2016), provinieron de una cohorte de mediados de primavera e inicios de verano, es factible inferir que hubo una mayor sobrevivencia de los ejemplares desovados al finalizar la estación o que esos ejemplares tuvieron un origen más meridional.

El análisis de grosores y radios para los primeros 50 días de vida evidenció que los juveniles de sardina austral mostraron diferencias consistentes entre regiones para las cohortes 2015 y 2016, con excepción de la cohorte de 2015 de pre-reclutas donde ambas variables se sobrepusieron. Estos resultados confirman la capacidad del otolito de actuar como marcador natural, capturando en su microestructura los cambios producidos por los controladores del crecimiento (e.g. Clausen et al. 2007, Niklitschek et al. 2018, Garcés et al. 2019), incluso en zonas geográficas menos distanciadas, donde es razonable esperar menor variabilidad en los forzantes ambientales, pero a su vez menor perturbación en el patrón secuencial de los micro-incrementos, debido al crecimiento reducido. Es importante subrayar que la existencia de perturbaciones y anillos subdiarios, estructuras dobles y/o triples en peces teleósteos, es un rasgo microestructural característico de periodos de crecimiento muy acelerado (e.g. Palomera et al. 1988, Tanabe et al. 2003, Cermeño et al. 2006, 2008, Cerna & Plaza 2016), lo que introduce mayor variabilidad al momento de registrar el grosor de cada micro-incremento. Contrariamente, los micro-incrementos fueron bien definidos en la sardina austral, hacia el eje caudal durante los primeros 50 días de vida, lo que puede explicar la capacidad discriminadora del grosor y radio, cuando ambas variables fueron promediadas en el periodo de mayor variabilidad entre zonas (i.e., 25-50 días). Es importante destacar que diferencias relevantes en el grosor medio de micro-incrementos han sido también reportadas recientemente para *S. fuegensis* en el Océano Atlántico, entre cohortes de nacimiento y áreas geográficas (García Alonso et al. 2020). En este estudio los grosores promedios fluctuaron entre 0.72 y 1,92  $\mu\text{m}$ , lo que reafirma que incluso a niveles de crecimiento muy reducido del otolito, el grosor de los micro-incrementos logra registrar la potencial variabilidad espacial y/o temporal a las que los juveniles están expuestos.

Un hallazgo importante fue que las diferencias en el grosor y radio comenzaron a ser distintivas después de la tercera semana de vida entre las áreas geográficas, el cual fue similar a lo reportado para las unidades demográficas de la anchoveta en un estudio previo en la costa

chilena (Niklitschek et al. 2018, Garcés et al. 2019), a pesar de existir evidencia de que las poblaciones permanecieron separadas, debido a que mostraron señales químicas distintas en sus otolitos. Ciertamente podría contra-argumentarse que un patrón de grosores homogéneos sustentaría un origen común en las etapas larvales iniciales y una posterior segregación en etapas más avanzadas. No obstante es importante destacar en las primeras fases, las larvas de peces pelágicos pequeños en latitudes templadas y altas, crecen muy lentamente debido que eclosionan muy poco desarrolladas y a un tamaño muy pequeño (Campana et al. 1987, Garrido et al. 2015). Ello debiese necesariamente conducir a la formación de micro-incrementos muy finos y homogéneos, que están muy influenciados por la ontogenia, debido a que las larvas requieren transitar aceleradamente por los estados vulnerables iniciales, independiente del ambiente donde habitan. Los resultados derivados de la comparación microestructural del grosor medio entre juveniles y adultos en ambas especies (*E. ringens* y *S. fueguensis*) otorgan evidencia a favor de este mecanismo ecológico en estas especies, y permite explicar la ausencia de capacidad discriminatoria del grosor y radio en las etapas iniciales, para aplicaciones de identificación de unidades poblacionales.

Una pregunta ecológica inmediata que surge independiente del nivel de conectividad que pueda existir, es cuáles son los mecanismos ecológicos que sustenten la existencia de unidades discretas de esta especie en un ecosistema tan complejo y dinámico como los fiordos australes, pero donde barreras hidrodinámicas advectivas que limiten el proceso de movimiento y/o migración de ejemplares adultos son mucho menos que el océano abierto. Estos ambientes se caracterizan por tener una gran influencia de procesos físicos que modulan la productividad biológica como por ejemplo la influencia de agua dulce por deshielo, descargas de ríos y precipitaciones, pero también reciben la influencia de aguas marinas continentales (Palma & Silva 2008, Iriarte et al. 2014, Jacob et al. 2014). Como resultado se genera una circulación estuarina mucho más estratificada que puede contribuir a potenciar mecanismos de retención de huevos y larvas, debido que estos ecosistemas son muchos más protegidos que los ambientes marinos costeros (Cubillos et al. 2015). Estos mecanismos pueden ser útiles para explicar una potencial segregación en larvas y juveniles tempranos, los cuales tienen menor capacidad para soslayar el efecto de procesos advectivos. No obstante, en el presente estudio la segregación espacial basada en los grosores medios fue evidente incluso en juveniles y peces adultos sugiriendo que una fracción sustantiva de ellos permanecen alrededor de su zona de origen. Por lo tanto los resultados del presente estudio sugieren que esta especie presenta altos niveles de filopatría, mecanismo que en los últimos años ha sido reportado en un número creciente de peces marinos y que pareciera estar explicando la existencia de poblaciones discretas, incluso en peces pelágicos, que presentan mucho mayor potencial de conectividad, debido a sus ciclos de vida (e.g. Bradbury & Laurel 2007, Svedäng et al. 2007, Bentzen & Bradbury 2016). Si a estos resultados se suman a los hallazgos descritos para anchoveta (Niklitschek et al. 2018; Garcés et al. 2019) se puede inferir que este mecanismo ecológico estaría operando en poblaciones de clupeidos en la costa chilena.

## CONCLUSIONES

- Existió una elevada proporcionalidad entre el tamaño y las mediciones radiales derivadas de la microestructura del otolito. Independientemente de la zona analizada y del estado ontogénico de los individuos, la razón entre el crecimiento antero-posterior y dorso ventral del otolito tendió a mantenerse constante.
- Las zonas de Chiloé y Aysén presentarían eventos de desove desfasados a inicio y término de primavera, respectivamente
- Los radios y grosores medios entre los primeros 20 y 50 días de vida de pre-reclutas y reclutas de sardina austral fueron consistentemente mayores en Chiloé que en Aysén (cohortes 2015 y 2016).
- La calidad de los datos obtenidos y las diferencias encontradas en radios y grosores sugiere la consideración de estas variables para la identificación de la zona de origen de peces adultos en el contexto de modelos discriminantes o de mezcla. Esto, habida cuenta de las diferencias no explicadas entre pre-reclutas y reclutas dentro de zonas.

## MORFOMETRÍA, MORFOLOGÍA Y BIO-CRONOLOGÍA DE OTOLITOS (OBJETIVO 2)

José Francisco Cerna Troncoso<sup>1</sup>, Juan Carlos Saavedras-Nievas<sup>1</sup>, Amalia Lourdes López Ahumada<sup>1</sup>, Ana Cecilia Machuca Rodríguez<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Fomento Pesquero, Valparaíso

### ANTECEDENTES

La forma del otolito es, en general, única de cada especie (Hecht & Appelbaum 1982, Gaemers 1983) y puede presentar también diferencias importantes entre poblaciones (Neilson et al. 1985) a lo largo de su distribución geográfica (Bird et al. 1986, Campana & Casselman 1993, Begg & Brown 2000, Turan 2000, Turan et al. 2006). Estas diferencias intra-específicas pueden resultar de diferencias ambientales entre los diferentes hábitats ocupados por cada población a lo largo de su ciclo de vida (Begg et al. 1999, Cadrin 2000, Bergenius et al. 2005).

Las características morfométricas más usadas para identificar distintas poblaciones se agrupan en tres categorías principales: 1) medidas lineales unidimensionales de atributos relativos al tamaño, longitud y ancho del otolito (Begg & Brown 2000, Bolles & Begg 2000), distancias entre puntos específicos (Turan 2000, Turan et al. 2006), y medidas internas del mismo, tales como longitud del núcleo o ancho de bandas hialinas e incrementos; 2) medidas de tamaño en dos dimensiones como área, perímetro (Campana & Casselman 1993, Begg & Brown 2000, Bolles & Begg 2000) y diferentes índices de forma que incluyen la circularidad, rectangularidad, elipticidad, excentricidad, redondez y factores de forma (Pothin et al. 2006) 3) descriptores del contorno del otolito (en dos dimensiones) derivados de análisis de Fourier u ondeletas (*wavelets*) (Bird et al. 1986, Smith 1992, Campana & Casselman 1993, Begg & Brown 2000, Bergenius et al. 2005, Parisi-Baradad et al. 2005, Pothin et al. 2006, Turan et al. 2006).

Una unidad demográfica también puede ser identificada por sus parámetros de historia de vida, los que son una expresión fenotípica de la interacción entre el genotipo y la influencia del ambiente (Begg et al. 1999). El crecimiento somático es un parámetro de la historia de vida, cuyas diferencias entre poblaciones, pueden ser considerados como evidencia de que dichas poblaciones están geográfica y reproductivamente aisladas, y por lo tanto corresponder a unidades discretas para propósitos de manejo (Ihssen et al. 1981).

### METODOLOGÍA

#### **Análisis morfométrico de los otolitos**

##### **i. Muestreo y preparación de otolitos para morfometría**

Se analizaron 611 otolitos de sardina austral de peces juveniles y adultos, para las cohortes 2014, 2015 y 2016. Estos ejemplares estuvieron distribuidos en las dos zonas y cuatro estratos definidos previamente (Figura 1), lo cual permitió un adecuado balance de la muestra al interior de cada región (Tabla 1, Figura 34). Para estimar la cohorte se

utilizaron las determinaciones de edad anual, de acuerdo con el método de lectura de edad validado por Cerna et al (2014).

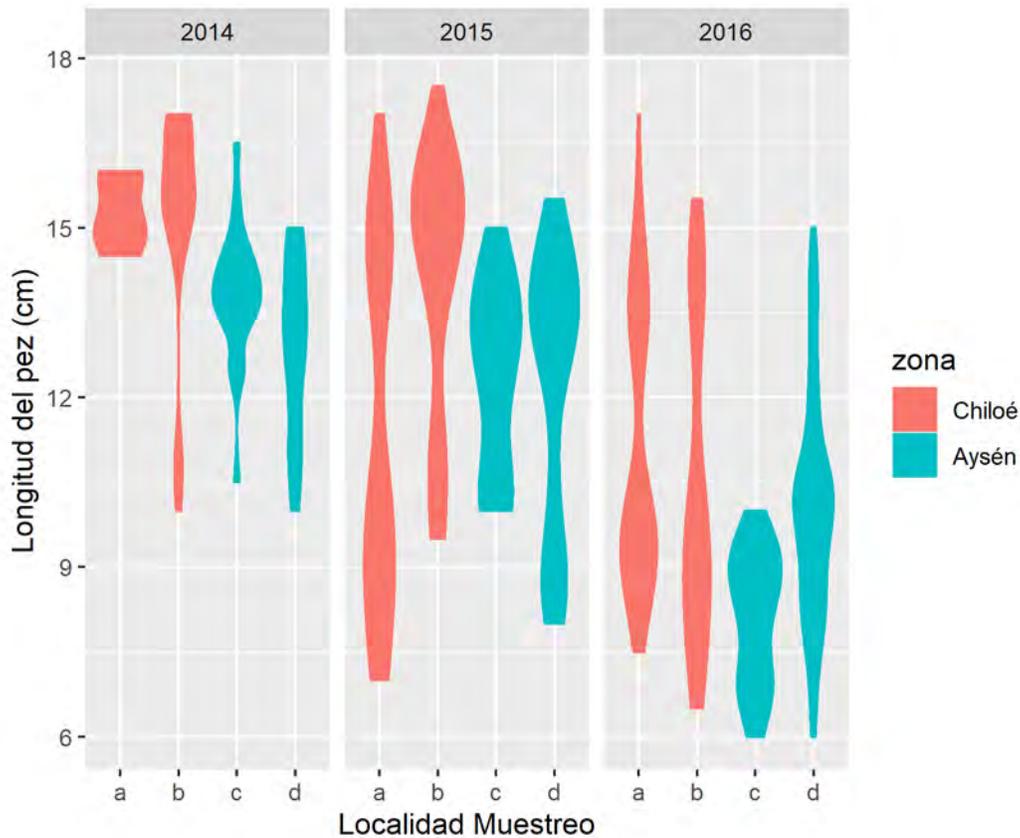


Figura 34: Distribución de la longitud total de ejemplares de sardina austral para las cohortes 2014, 2015 y 2016, por estrato y zona de muestreo, utilizados en el análisis morfométrico de otolitos. Los estratos corresponden a subdivisiones de cada zona de norte a sur.

## ii. Análisis de índices de forma y estabilización de la forma del otolito

Para analizar la variabilidad de la forma del otolito entre zonas y en función al tamaño del pez, y para estimar la talla donde esta estructura se estabiliza, se aplicó un modelo aditivo generalizado (GAM) mediante el uso del paquete de R “mgcv” (Wood 2006), para cada uno de los índices de forma. Este enfoque metodológico, aplicado anteriormente en sardina común (Curin-Osorio et al. 2012) y en anchoveta (Cerna et al. 2019), asume que los índices de forma siguen una distribución gaussiana o gamma con función de enlace la identidad. El predictor aditivo considera la longitud del pez como covariable suavizadora y la zona de procedencia y cohorte como factores. Con esto, es posible evaluar diferencias entre zonas y cohortes. El predictor aditivo es el siguiente:

$$IF_{ijk} = \varphi = \beta_0 + s(lon_{ijk}) + Zona_j + Cohorte_k$$

donde,  $\varphi$  representa la función que permite enlazar la media y el modelo (función de enlace);  $IF_{ijk}$  corresponde al índice de forma del  $i$ -ésimo pez, en la  $j$ -ésima zona ( $j=\{\text{Chiloé, Aysén}\}$ ).

Aysén}} para la  $k$ -ésima cohorte ( $j=\{2014,2015,2016\}$ );  $\beta_0$  es el intercepto del modelo (media global del índice);  $s$  es una función suavizadora;  $zona_j$  la  $j$ -ésima procedencia de la muestra ( $j=\{\text{Chiloé, Aysén}\}$ ) y  $cohorte_k$  la  $k$ -ésima cohorte ( $j=\{2014,2015,2016\}$ ). Este análisis fue realizado para un amplio rango de distribución de tallas, desde 7,0 a 17,0 cm de longitud total para las cohortes 2015 y 2016. Esto permitió verificar la dinámica de la forma del otolito con la talla del pez, para ambas zonas por separado.

Tabla 20: Variables morfométricas e índices descriptores de forma del otolito. Se incluyen las ecuaciones de cada índice. Modificado de Tuset et al. (2006).

Parámetros de tamaño	Índices de Forma
Área (A)	Circularidad = $P^2/A$
Perímetro (P)	Rectangularidad = $A / (FI * Fw)$
Feret weight (Fw)	Factor de forma = $(4\pi * A)/P^2$
Feret Length (FI)	Redondez = $(4A)/(\pi * FI^2)$
	Elipticidad = $(FI - Fw)/(FI + Fw)$

### iii. Análisis de forma utilizando elípticas de Fourier y ondeletas

Para evitar el efecto de la talla sobre los contornos de los otolitos, el análisis de Fourier y ondeletas fue aplicado en juveniles entre 8,0 a 11,0 cm LT y edad 0, para asegurar su pertenencia a cada cohorte analizada. Para los adultos el intervalo de tallas usado en la muestra fue de 13,0 a 15,5 cm LT, es decir, peces sobre la talla media de madurez que correspondió a individuos de 1 y 2 años de edad. Se analizaron los contornos de los otolitos juveniles de las cohortes 2015 y 2016, y los otolitos de adultos de las cohortes 2014 y 2015, grupos que presentaron un mayor número de muestra para los intervalos de talla señalados.

Se tomó una imagen del otolito derecho sobre un fondo negro, usando un microscopio estereoscopio trinocular provisto de una cámara digital. La imagen tomada y guardada en color, asegurando un buen foco y alta resolución en formato (\*.jpg). El otolito fue orientado con su rostro hacia la izquierda, de acuerdo al procedimiento descrito por Libungan & Pálsson (2015), que es requerido para el paquete ShapeR (R Project). La librería ShapeR permitió transformar la imagen en escala de grises para posteriormente obtener el contorno de cada otolito automáticamente. La secuencia de tratamiento de la imagen incluye la extracción de medidas básicas (longitud y ancho máximo, perímetro y área del otolito), los coeficientes de Fourier y de las ondeletas, fueron estandarizados con la longitud del pez de acuerdo con el procedimiento descrito por Leonart et al. (2000), la reconstrucción del contorno mediante elípticas de Fourier y ondeletas, y la aplicación de análisis multivariado para las diferencias entre grupos (Figura 35).

El análisis elíptico de Fourier consiste en la descripción de una curva cerrada, en este caso el contorno del otolito caracterizado por coordenadas (x, y) equidistantes, por medio de la sumatoria infinita de elipses con diferentes amplitudes y ángulos. El objetivo del análisis es la descripción del contorno del otolito utilizando el mínimo número de elipses. Cada elipse del análisis de Fourier es llamado Descriptor elíptico de Fourier (DF) o simplemente armónico, ya que su forma funcional es por medio de funciones senos y cosenos. Cada armónico tiene cuatro coeficientes, con la excepción del primero que aporta solo uno, debido a que los tres primeros forman parte de la elipse inicial y sus valores son idénticos para todos los otolitos. Inicialmente se obtienen 32 armónicos, los que fueron objeto de un análisis del número necesario de estos para reconstruir el contorno del otolito, eligiendo el número que permitió una menor desviación o error.

El análisis de ondeletas del contorno del otolito fue utilizado como un complemento a las elípticas de Fourier. Este último análisis ocupa funciones de senos y cosenos globales (no-locales) y, por lo tanto, puede dar como resultado aproximaciones menos exactas que las ondeletas para los bordes aguzados del otolito. El análisis de ondeletas utiliza, por el contrario, funciones aproximadas que están contenidas en dominios finitos, haciéndolo muy adecuado para aproximarse a bordes agudos (Graps 1995).

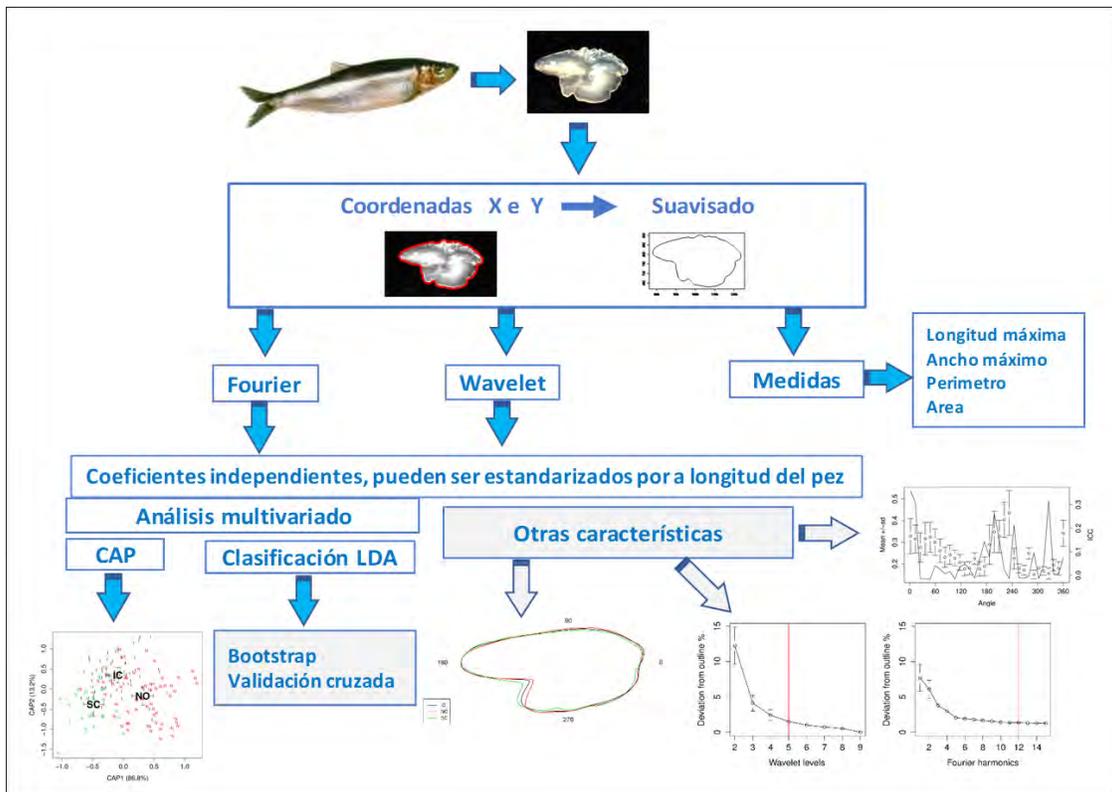


Figura 35: Diagrama de la secuencia de pasos realizados para obtener la reconstrucción de la forma del otolito, basada en elípticas de Fourier y análisis de ondeletas (Libungan & Pálsson, 2015)

Antes del análisis de ondeletas, las imágenes de los otolitos son rotadas para posicionarlas horizontalmente a lo largo del eje más largo y el área es igualada en total (área=1). Las coordenadas polares se recogen luego dibujando un eje polar (radial) horizontalmente desde el centroide del otolito (es decir, la media de las coordenadas x e y del contorno) hacia la derecha que corresponde al ángulo de 0° del contorno del otolito. Desde el ángulo de 0°, los radiales se recogen en sentido anti-horario hacia el ángulo de 360°, con ángulos equidistantes entre radiales sucesivos. Los coeficientes de las ondeletas se obtienen usando las funciones *wd* y *wr* en el paquete 'wavethresh' (Nason 2012), ya incluido en el paquete 'ShapeR'. Las diferencias entre las zonas de muestreo fueron evaluadas visualmente al graficar el promedio del contorno del otolito sobre el promedio del contorno reconstituido desde los coeficientes normalizados de las ondeletas.

Se aplicó un análisis canónico de coordenadas principales (CAP en inglés) sobre los coeficientes de Fourier y de las ondeletas para testear la existencia de diferencias en la forma del otolito entre zonas (Anderson & Willis 2003), utilizando la función *capscale* del paquete 'vegan' en R (Oksanen et al. 2013). Complementario al CAP, se aplicó un test permutacional (perANOVA, 1000 permutaciones) que utilizó como variable predictiva las medidas de distancias o disimilitud (chi-cuadrado o euclidiana) entre la posición de la forma de cada otolito respecto al centroide de cada zona. La ventaja de este método es que la variable original Y (coeficientes de Fourier y de las ondeletas) son transformados en una variable ortogonal, que considera la estructura de correlaciones, eliminando el efecto de colinealidad entre los coeficientes (Anderson & Willis 2003).

#### **iv. Análisis de crecimiento somático**

- *Análisis de crecimiento de los annuli*

Se exploró la variación del crecimiento somático, a través del análisis de los *annulus* o anillos anuales. La variación del ancho de los incrementos (*annulus*) son informativos acerca de cambios ontogenéticos o ambientales del tamaño del pez a una determinada edad (Francis & Horn 1997). En este análisis se emplearon los datos de lecturas de edad anual de sardina austral de los cruceros de evaluación hidroacústicos de las regiones de Chiloé y Aysén, desde el 2015 al 2019. Cada una de estas lecturas consideró la medición del diámetro de cada uno de los *annuli*, a partir del cual se pudo obtener el ancho de estos. Los datos de lecturas se agruparon por cohortes (año de nacimiento), los que fueron calculadas a partir de la estimación de edad de los mismos peces (Tabla 21).

Tabla 21: Número de lecturas de otolitos de sardina austral, por cada zona (regiones de Chiloé y Aysén), edad y año de captura, utilizadas en el análisis de los *annuli* como indicador del crecimiento somático.

Año	Zona	Edad			Total
		1	2	3	
2015	Chiloé	65	49	5	119
	Aysén	17	2		19
2016	Chiloé	24	92	8	124
	Aysén	71	60	8	139
2017	Chiloé	19	62	15	96
	Aysén	49	75	7	131
2018	Chiloé	47	68	22	137
	Aysén	36	67	35	138
2019	Chiloé	135	130	6	271
	Aysén	36	38	7	81
Total	Chiloé	290	401	56	747
	Aysén	209	242	57	508

Se aplicó un modelo de efectos mixtos para investigar las fuentes intrínsecas y extrínsecas que influyen en la variación del crecimiento anual (ancho de los incrementos o *annuli* en mm) de sardina austral entre Chiloé y Aysén, esto debido a que los datos de crecimiento están formados por medidas repetidas de los anillos dentro de un individuo, tomadas a lo largo de los años, y anidados dentro de las cohortes. El modelo lineal mixto utilizado, adaptado desde Morrongiello & Thresher (2015), fue el siguiente:

$$\log(G_{ijkl}) = \alpha_0 + Z_l + \beta \log(X_{ijkl}) + \beta_l \log(X_{ijkl}) * Z_l + \beta_C \log(C) + \beta_{AAC} \log(AAC) \\ + \alpha_i + \alpha_j + \alpha_k + b_i \log(X_i) + b_j \log(X_j) + b_k \log(X_k) + \epsilon_{ijkl}$$

$$\epsilon_{ijkl} \sim N(0, \sigma^2), [\alpha_i b_i] \sim N(0, \Sigma_i), [\alpha_j b_j] \sim N(0, \Sigma_j), [\alpha_k b_k] \sim N(0, \Sigma_k)$$

donde,  $G_{ijkl}$  es el incremento en el crecimiento anual en el pez  $i$  para el año de formación  $j$  y la cohorte  $k$ ,  $X$  es la edad de formación (covariable),  $C$  es la cohorte (covariable) y  $AAC$  es el año de captura (covariable) y  $Z$  es la zona de captura (factor), donde los  $\beta$  corresponden a las pendientes de cada covariable. Otros componentes del modelo son:  $\alpha_0$  el intercepto que mide la media global en el incremento del crecimiento

anual,  $\alpha_i$  es el intercepto aleatorio intrínseco del  $i$ -ésimo pez,  $\alpha_j$  es el intercepto aleatorio extrínseco del ambiente para el  $j$ -ésimo año, y  $\alpha_k$  es el intercepto aleatorio para la  $k$ -ésima cohorte,  $b_i, b_j, b_k$  son las pendientes aleatorias de la edad de cada pez, el año y la cohorte, respectivamente, que son correlacionadas con sus interceptos al azar.

A partir del modelo global antes indicado se ensayaron distintas combinaciones de efectos aleatorios, todas las cuales incluyeron los efectos fijos de la edad y zona de captura. Como una de las alternativas de ajuste se incluyó la utilización de efectos fijos como el logaritmo de la cohorte y el año de captura. Para los efectos aleatorios se consideró el efecto del pez (ID del individuo), el año de formación del incremento anual y la cohorte o año de nacimiento del individuo (Tabla 22).

Tabla 22: Descripción de los modelos ensayados para determinar las variaciones los incrementos anuales (*annulus*), como indicador de crecimiento somático.

Modelo	Efecto fijo	Efecto aleatorio
M1	$Z + \log(X) + Z \cdot \log(X)$	$\alpha_i$
M2	$Z + \log(X) + Z \cdot \log(X)$	$\alpha_k$
M3	$Z + \log(X) + Z \cdot \log(X)$	$\alpha_j$
M4	$Z + \log(X) + Z \cdot \log(X)$	$\alpha_k + b_k \cdot \log(X)$
M5	$Z + \log(X) + Z \cdot \log(X)$	$\alpha_i + \alpha_k$
M6	$Z + \log(X) + Z \cdot \log(X)$	$\alpha_i + \alpha_j$
M7	$Z + \log(X) + Z \cdot \log(X)$	$\alpha_k + \alpha_j$
M8	$Z + \log(X) + Z \cdot \log(X) + \log(AAC) + \log(C)$	$\alpha_j + b_j \cdot \log(X)$
M9	$Z + \log(X) + Z \cdot \log(X)$	$\alpha_i + \alpha_k + \alpha_j + b_j \cdot \log(X)$
M10	$Z + \log(X) + Z \cdot \log(X)$	$\alpha_i + \alpha_j + \alpha_k + b_j \cdot \log(X) + b_k \cdot \log(X)$

Respuesta:  $\log(\text{incremento del crecimiento anual})$   
 Predictores: X: edad formación de incremento anual - AAC: año de captura - C: cohorte - Z: zona de origen

- *Análisis del crecimiento del otolito entre zonas*

Se evaluó la variación del crecimiento somático con los datos de longitud total versus la longitud del otolito como indicador del crecimiento. Los datos utilizados correspondieron a las cohortes 2014, 2015 y 2016 (Tabla 23). Para evaluar la existencia de diferencias en el crecimiento del otolito entre zonas y cohortes se realizó un análisis de covarianza (ANCOVA) para los modelos longitud total del pez - longitud del otolito. Este análisis correspondió al ajuste de un modelo lineal, que tiene como variable de respuesta la longitud del pez y como variables predictivas la longitud del otolito. En este

modelo, se incorporaron como factores la zona de origen (Chiloé y Aysén) y la cohorte (2014, 2015 y 2016), de acuerdo con la siguiente ecuación general:

$$L_{ijk} = \mu + \alpha_i + \gamma_j + \beta(x_{ijk} - \bar{x}_{..}) + \epsilon_{ijk}$$

donde  $L_{ijk}$  corresponde a la  $k$ -ésima longitud del pez en la  $j$ -ésima cohorte para la  $i$ -ésimo zona,  $x_{ijk}$  es la covariable (longitud del otolito),  $\bar{x}_{..}$  es la media de los valores  $x_{ijk}$ ,  $\mu$  es la media global,  $\alpha_i$  es el efecto de la  $i$ -ésima zona,  $\gamma_j$  es el efecto de la  $j$ -ésima cohorte,  $\beta$  es el coeficiente de regresión que relaciona longitud del pez con la covariable y  $\epsilon_{ijk}$  es el error aleatorio.

Tabla 23: Número de lecturas de otolitos de sardina austral, por cada zona (Chiloé y Aysén), edad y año de captura, utilizadas en el análisis de los *annuli* como indicador del crecimiento somático.

Cohorte	Zona	Edad					Total
		0	1	2	3	4	
2014	Chiloé	118	30	28	5	1	182
	Aysén	30	73	39	5		147
2015	Chiloé	112	45	30	2		189
	Aysén	68	52	37	1		158
2016	Chiloé	68	69	51			188
	Aysén	80	49	16			145
Total	Chiloé	298	144	109	7	1	1130
	Aysén	178	318	201	6		619

Como una prueba alternativa la relación entre la longitud y edad de los ejemplares provenientes de las cohortes 2014, 2015, 2016 y 2017 se ajustaron con el modelo no lineal de von Bertalanffy (vB) para cada una de las regiones. El modelo de vB es el siguiente:

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

donde,  $L_t$  es la longitud del pez a la edad  $t$ ,  $L_\infty$  es la longitud máxima asintótica,  $K$  es el coeficiente de crecimiento velocidad con que se alcanza el  $L_\infty$ ,  $t$  es la edad,  $t_0$  es la edad hipotética cuando la longitud del pez es cero.

Los parámetros de crecimiento de vB de Chiloé y Aysén fueron comparados con el método de máxima verosimilitud desarrollado por Kimura (1980). El método considera como supuesto, independencia y distribución normal del error. El método fue aplicado usando el paquete 'fishmethods' de R-project, desarrollado por Nelson (2014).

## RESULTADOS

### Análisis morfométrico de los otolitos

#### i. Índices de forma y estabilización de la forma del otolito

En la exploración de los datos básicos e índices de forma se consideró la agrupación de la muestra por grupos de edad (GE), estimados desde la lectura de edad de los otolitos, como referencia a estados ontogenéticos. El área, perímetro, largo y ancho del otolito mostraron diferencias entre grupos de edad, siendo directamente proporcionales al tamaño de los peces. La rectangularidad no mostró efectos evidentes ni de la edad ni de la zona de captura (Chiloé v/s Aysén). Todos los otros índices de forma aumentaron con la edad, pero no evidenciaron grandes diferencias entre Chiloé y Aysén. Esto fue particularmente evidente en reclutas (grupo de edad 0), donde el factor de forma, la elipticidad y rectangularidad presentan medias iguales entre zona, en tanto que la circularidad y redondez variaron en solo 0,1, con desviaciones estándar muy similares (Tabla 24).

El análisis de modelos GAM ajustados a los índices de forma de las cohortes 2015 y 2016 mostró una estabilización de la forma del otolito, representado por la asíntota de los índices respecto al tamaño de los peces, a partir de los 13 cm LT, en ambas zonas. Esto se observó en la mayoría de los índices, con excepción de la elipticidad en Aysén y la rectangularidad en Chiloé, donde se observó una relación lineal entre rectangularidad y longitud del pez (Figura 38). Para la mayoría de los índices de forma los modelos GAM explicaron >50% de la devianza, con la sola excepción de la elipticidad donde la devianza explicada llegó a solo 36% (Tabla 24). Se observó, no obstante, efectos moderados a nulos de la zona de muestreo, la cohorte y su interacción sobre estos índices de forma (Tabla 25; Figura 36).

#### ii. Análisis de elípticas de Fourier y ondeletas

La evaluación de la calidad de la reconstrucción del contorno del otolito con el método de Fourier y ondeletas mostró que el otolito de sardina austral puede ser reconstruido con un 98,5% de exactitud, utilizando un número de 12 armónicos de Fourier y 5 ondeletas (Figura 37).

Tabla 24: Variables morfométricas básicas e índices de forma de los otolitos por grupo de edad de sardina austral para cada zona de muestreo: Chiloé y Aysén.

Grupo edad	Zona	Área Media±d.e.	Perímetro Media±d.e.	Largo Media±d.e.	Ancho Media±d.e.	Factor de forma Media±d.e.	Circularidad Media±d.e.	Redondez Media±d.e.	Elipticidad Media±d.e.	Rectangularidad Media±d.e.		
C o h o r t e  2 0 1 5	0	Chiloé	0.78 ± 0.16	3.59 ± 0.44	1.31 ± 0.17	0.84 ± 0.08	0.76 ± 0.04	16.62 ± 0.91	0.58 ± 0.04	0.22 ± 0.03	0.70 ± 0.02	
		Aysén	0.86 ± 0.23	3.76 ± 0.55	1.40 ± 0.19	0.87 ± 0.12	0.76 ± 0.04	16.68 ± 0.84	0.55 ± 0.03	0.23 ± 0.02	0.69 ± 0.02	
	1	Chiloé	1.76 ± 0.13	5.92 ± 0.52	2.12 ± 0.09	1.23 ± 0.05	0.64 ± 0.09	20.00 ± 2.87	0.50 ± 0.03	0.27 ± 0.02	0.67 ± 0.01	
		Aysén	1.59 ± 0.29	5.45 ± 0.67	1.97 ± 0.20	1.18 ± 0.12	0.67 ± 0.06	18.87 ± 1.76	0.52 ± 0.04	0.25 ± 0.02	0.68 ± 0.02	
	2	Chiloé	1.93 ± 0.25	6.27 ± 0.48	2.26 ± 0.15	1.28 ± 0.09	0.62 ± 0.05	20.49 ± 1.65	0.48 ± 0.02	0.28 ± 0.02	0.67 ± 0.02	
		Aysén	1.95 ± 0.22	6.15 ± 0.42	2.20 ± 0.14	1.30 ± 0.07	0.65 ± 0.05	19.52 ± 1.71	0.51 ± 0.03	0.26 ± 0.02	0.68 ± 0.02	
	3	Chiloé	2.48 ± 0.18	7.10 ± 0.36	2.52 ± 0.10	1.46 ± 0.05	0.62 ± 0.06	20.39 ± 2.08	0.50 ± 0.02	0.27 ± 0.01	0.68 ± 0.02	
		Aysén	2.16 ± 0.15	6.53 ± 0.43	2.33 ± 0.05	1.37 ± 0.06	0.64 ± 0.06	19.80 ± 2.19	0.51 ± 0.03	0.26 ± 0.02	0.68 ± 0.02	
	C o h o r t e  2 0 1 6	0	Chiloé	0.80 ± 0.18	3.68 ± 0.43	1.35 ± 0.16	0.85 ± 0.08	0.75 ± 0.04	16.92 ± 0.93	0.56 ± 0.04	0.23 ± 0.02	0.70 ± 0.02
			Aysén	0.79 ± 0.15	3.63 ± 0.42	1.35 ± 0.14	0.84 ± 0.08	0.75 ± 0.04	16.79 ± 0.97	0.55 ± 0.03	0.23 ± 0.02	0.70 ± 0.02
		1	Chiloé	1.38 ± 0.20	5.22 ± 0.48	1.90 ± 0.19	1.08 ± 0.07	0.63 ± 0.03	19.84 ± 0.94	0.48 ± 0.04	0.28 ± 0.03	0.67 ± 0.02
			Aysén	1.72 ± 0.27	5.79 ± 0.20	2.12 ± 0.11	1.18 ± 0.05	0.64 ± 0.07	19.75 ± 2.27	0.48 ± 0.03	0.29 ± 0.01	0.68 ± 0.04
2		Chiloé	1.73 ± 0.20	5.87 ± 0.40	2.12 ± 0.13	1.21 ± 0.08	0.63 ± 0.04	19.95 ± 1.19	0.49 ± 0.03	0.27 ± 0.03	0.67 ± 0.02	
		Aysén	1.55 ± 0.21	5.44 ± 0.37	1.98 ± 0.12	1.13 ± 0.10	0.66 ± 0.05	19.24 ± 1.51	0.50 ± 0.04	0.27 ± 0.03	0.68 ± 0.02	

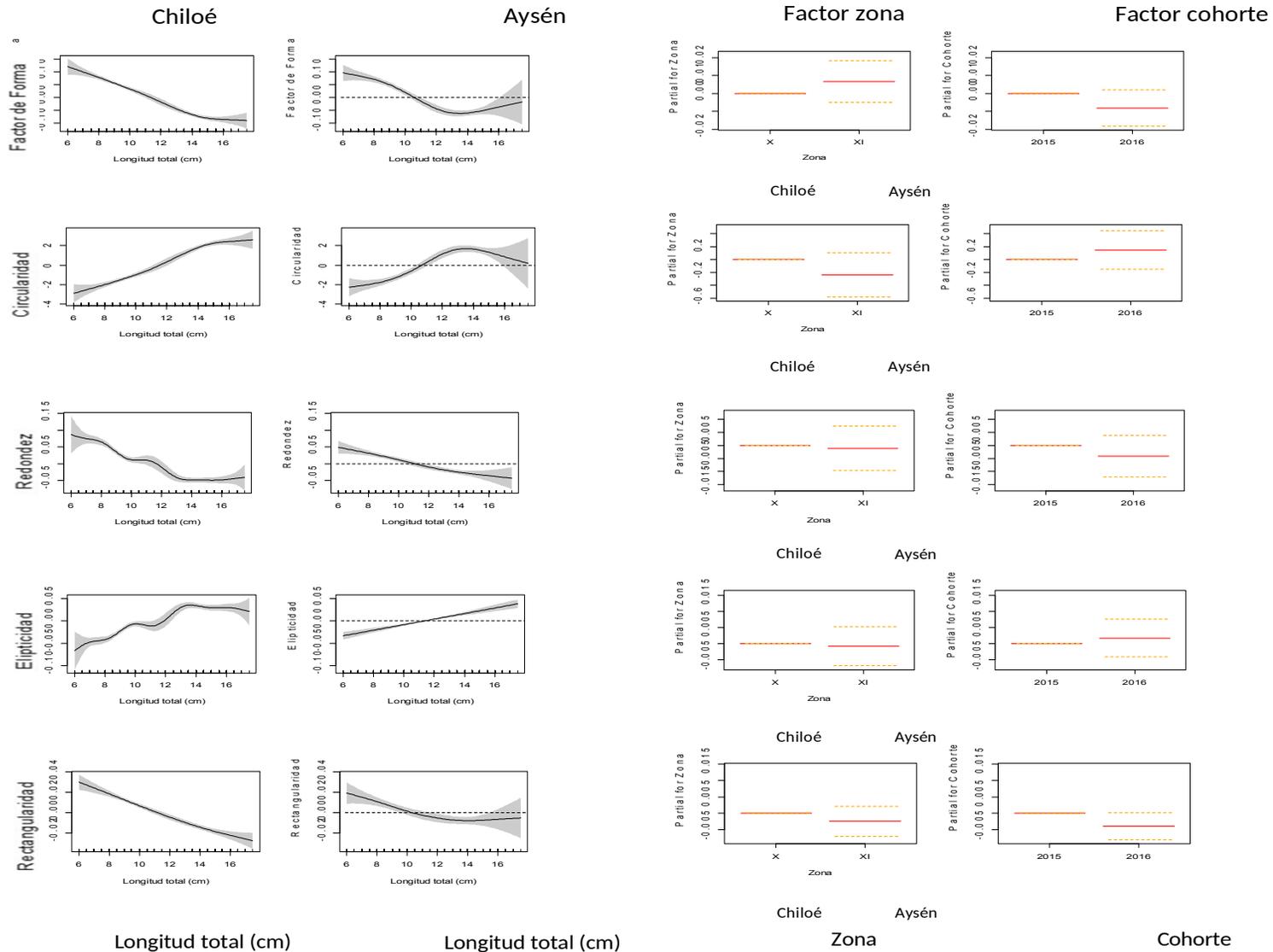


Figura 36: Gráficas de la izquierda ilustran el efecto en cada uno de los índices de forma como una función no-lineal de la longitud total de sardina austral a través del GAM, para Chiloé y Aysén. Los gráficos de la derecha muestran la influencia del factor zona y cohorte.

Tabla 25: Coeficientes de modelos aditivos generalizados (GAM) donde la variabilidad de distintos índices de forma fue explicada por la longitud del pez, zona de muestreo y cohorte. E.E: error estándar, long: longitud del pez.

Índice	Factor	Estimación	E.E	t <sub>valor</sub>	P <sub>valor</sub>	Índice	Factor	Estimación	E.E	t <sub>valor</sub>	P <sub>valor</sub>
Factor de Forma	Intercepto	0,701	0,003	206,67	<2e-16	Elipticidad	Intercepto	0,244	0,002	127,23	<2e-16
	Z. Aysén	0,007	0,006	1,15	0,250		Z. Aysén	-0,001	0,003	-0,26	0,795
	Cohorte 2016	-0,008	0,005	-1,59	0,112		Cohorte 2016	0,002	0,003	0,61	0,543
	Z. Aysén:Cohorte 2016	0,003	0,009	0,37	0,714		Z. Aysén:Cohorte 2016	0,005	0,005	1,09	0,275
	s(long):Z. Chiloé	3,713	4,563	163,30	<2e-16		s(long):Z. Chiloé	7,622	8,487	57,32	<2e-16
	s(long):Z. Aysén	3,805	4,672	53,13	<2e-16		s(long):Z. Aysén	1,000	1,000	65,33	0,00
Verosimilitud		928,0 (gl=12,5)				Verosimilitud		1247,5 (gl=13,6)			
Devianza %		68,5				Devianza %		52,7			
Circularidad	Intercepto	1,818	0,100	182,59	<2e-16	Rectangularidad	Intercepto	0,689	0,001	501,52	<2e-16
	Z. Aysén	-0,241	0,171	-1,41	0,16		Z. Aysén	-0,002	0,002	-1,07	0,286
	Cohorte 2016	0,146	0,150	0,98	0,329		Cohorte 2016	-0,004	0,002	-1,90	0,058
	Z. Aysén:Cohorte 2016	-0,051	0,261	-0,20	0,845		Z. Aysén:Cohorte 2016	0,007	0,004	1,86	0,064
	s(long):Z. Chiloé	3,803	4,671	135,21	<2e-16		s(long):Z. Chiloé	1,915	2,428	98,01	<2e-16
	s(long):Z. Aysén	3,840	4,712	41,15	<2e-16		s(long):Z. Aysén	2,398	3,013	10,17	0,000
Verosimilitud		-862,8 (gl=12,6)				Verosimilitud		1393,9 (gl=9,3)			
Devianza %		64,7				Devianza %		36,3			
Redondez	Intercepto	0,534	0,003	199,90	<2e-16						
	Z. Aysén	-0,001	0,004	-0,26	0,794						
	Cohorte 2016	-0,004	0,004	-1,02	0,31						
	Z. Aysén:Cohorte 2016	-0,002	0,007	-0,29	0,773						
	s(long):Z. Chiloé	7,053	8,048	71,86	<2e-16						
	s(long):Z. Aysén	2,217	2,795	27,22	3,58E-15						
Verosimilitud		1080,2 (gl=14,3)									
Devianza %		58,3									

### iii. Análisis de Juveniles de las cohortes 2015 y 2016

La forma promedio del otolito de sardina austral juvenil fue muy similar entre regiones, tanto para la cohorte 2015 y 2016. Sin embargo, se observaron pequeñas diferencias entre cohortes, aproximadamente en los 200° (cerca del anti-rostro) y entre los 30 y 90° (borde ventral del otolito, Figura 38). Estas diferencias en el contorno, fueron confirmadas por el promedio de los coeficientes de las ondeletas graficados para cada coordenada polar. Los valores más altos mostraron mayores diferencias en los contornos (Figura 39).

El análisis canónico de coordenadas principales de los coeficientes de Fourier y de las ondeletas del contorno de los otolitos de juveniles de sardina austral mostró gran proximidad espacial de la forma de los otolitos entre Chiloé y Aysén, tanto para la cohorte 2015 como para la cohorte 2016 (Figura 40). El test de perANOVA confirmó un efecto moderado a bajo de la zona sobre la forma del otolito de juveniles de sardina austral con valores de  $P > 0,1$  en la mayoría de los casos (Tablas 26 y 27).

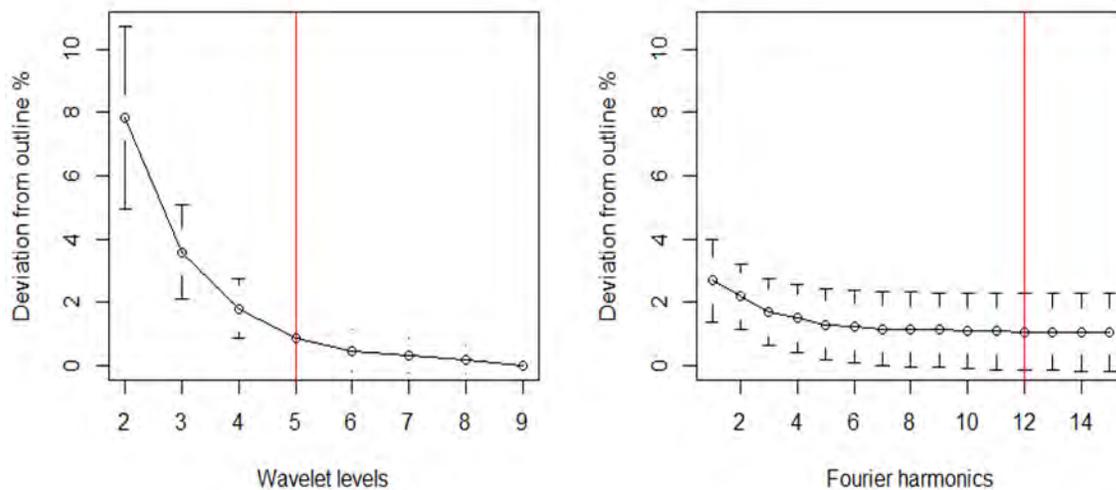


Figura 37: Calidad de la reconstrucción del contorno del otolito utilizando elípticas de Fourier y ondeletas. La línea roja vertical muestra el número de ondeletas y de armónicos de Fourier necesarios para reconstruir el contorno del otolito con una exactitud del 98,5%.

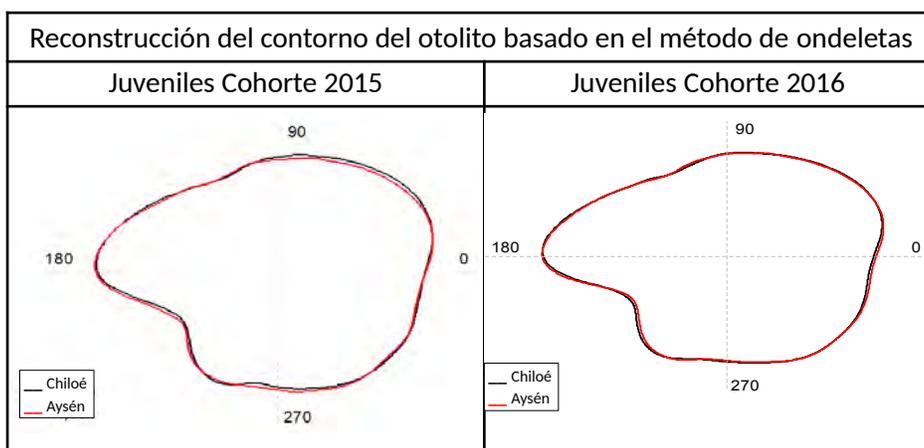


Figura 38: Contorno promedio de los otolitos de sardina austral de Chiloé y Aysén, basados en la reconstrucción mediante ondeletas, para juveniles de las cohortes 2015 y 2016. El número representa el ángulo en grados basado en las coordenadas polares. El punto central de los ejes es el centroide del otolito o punto central de las coordenadas polares.

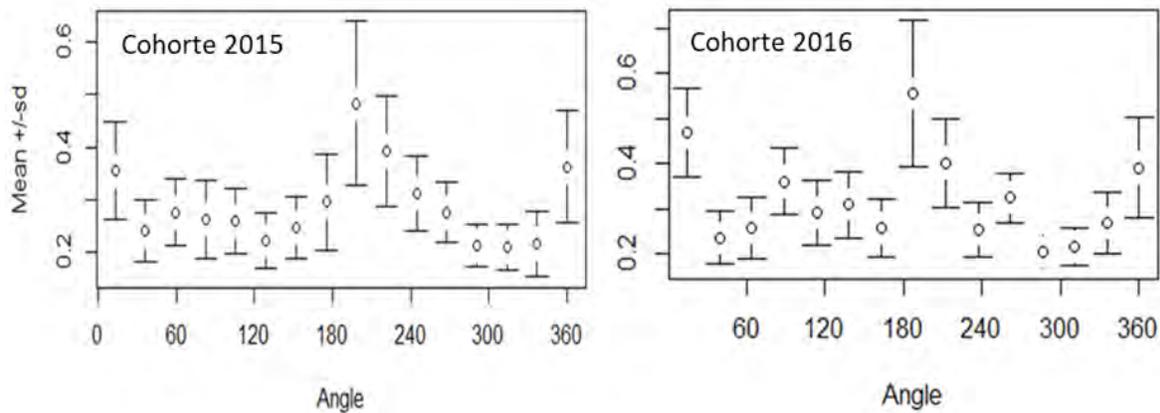


Figura 39: Promedio y desviación estándar de los coeficientes de las ondeletas con el ángulo en grados para todos los otolitos combinados de juveniles de las cohortes 2015 y 2016.

Tabla 26: Análisis permutacional de varianza (perAnova) sobre las puntuaciones canónicas de los coeficientes de Fourier que describen la forma de los otolitos de juveniles de sardina austral entre Chiloé y Aysén para las cohortes 2015 y 2016. gl=grados de libertad; F=Estadístico F de Fisher; P>F=probabilidad empírica de obtener valores mayores a F.

Cohorte	Fuente	gl	Varianza	F	P>F
2015	Modelo	1	0,0051	1,59	0,144
	Residual	94	0,302		
2016	Modelo	1	0,0035	1,77	0,092
	Residual	141	0,283		

Tabla 27: Resultado de las pruebas permutacionales (perAnova) sobre las puntuaciones canónicas de los coeficientes de las ondeletas que describen la forma de los otolitos de juveniles de sardina austral entre Chiloé y Aysén, para las cohortes 2015 y 2016. gl=grados de libertad; F=Estadístico F de Fisher; P>F=probabilidad empírica de obtener valores mayores a F.

Cohorte	Fuente	gl	Varianza	F	P>F
2015	Modelo	1	1,1	1,484	0,159
	Residual	94	72,2		
2016	Modelo	1	0,702	1,237	0,257
	Residual	141	79,9		

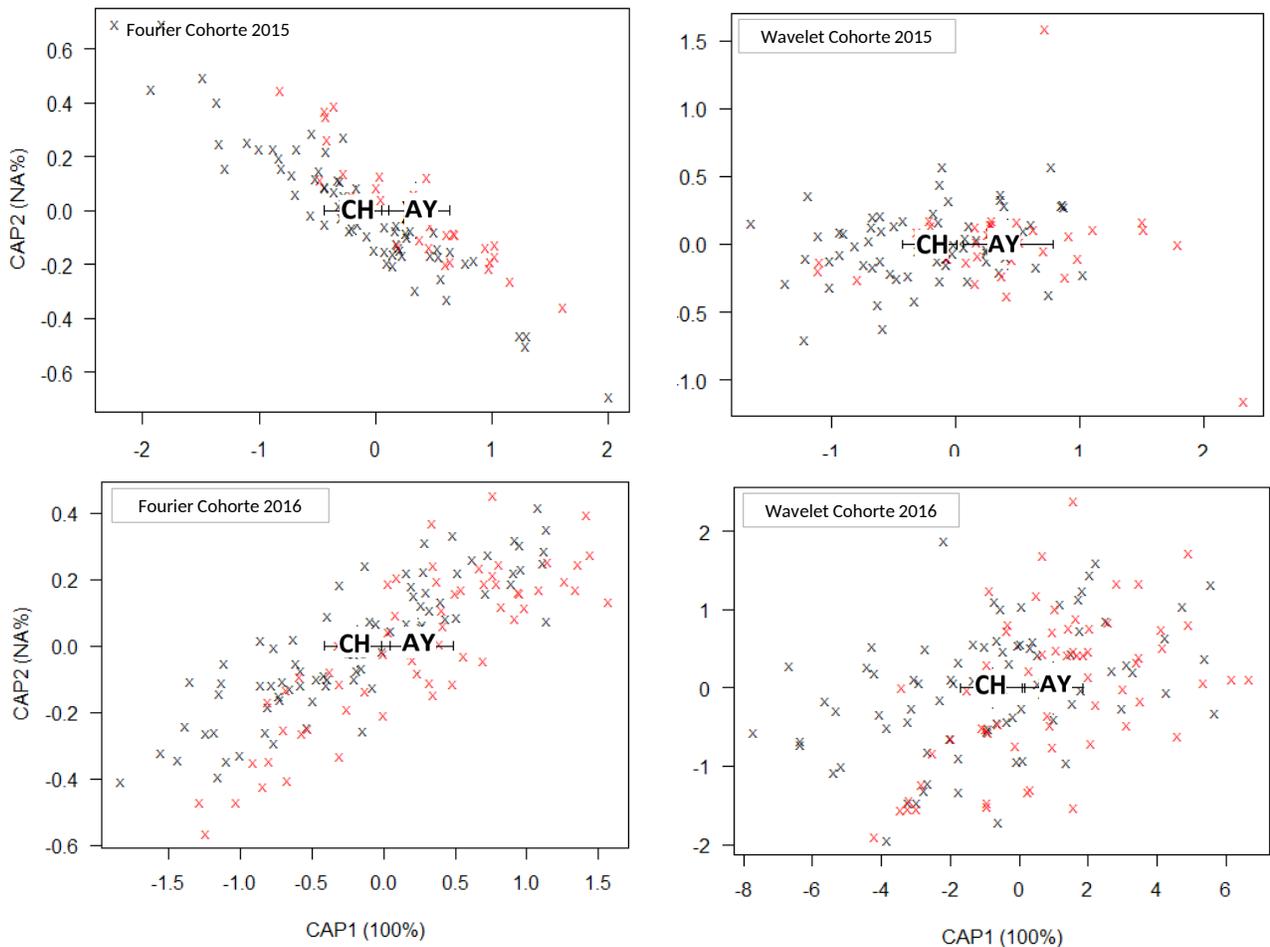


Figura 40: Puntuaciones canónicas del análisis CAP de los coeficientes de Fourier y de las ondeletas (wavelets) del contorno de los otolitos de juveniles de sardina austral para las cohortes 2015 y 2016.

#### iv. Análisis de adultos de las cohortes 2015 y 2014

La forma promedio del otolito de sardina austral de adultos mostró diferencias relevantes entre zonas, tanto para la cohorte 2015 como para la cohorte 2014. Estas diferencias fueron más evidentes en la reconstrucción de los otolitos mediante ondeletas, y fueron mayores en *rostrum*, *cauda* y en la excisura entre el *rostrum* y el *anti-rostrum* (Figura 41). Estas diferencias se hicieron también evidentes al graficar el promedio de los coeficientes de las ondeletas sobre cada coordenada polar (Figura 42). Aquí las mayores diferencias correspondieron a los 180° (*rostrum*), 200° (comisura entre *rostrum* y *anti-rostrum*) y 360° (*cauda*).

El resultado del análisis canónico de coordenadas principales de los coeficientes de Fourier y de las ondeletas del contorno de los otolitos de adultos de sardina austral, mostró una clara segregación espacial de la forma de los otolitos entre Chiloé y Aysén, tanto para la cohorte 2015 como para la cohorte 2014 (Figura 43). El test de perANOVA

confirmó la relevancia de las diferencias de forma observadas entre Chiloé y Aysén, en ambas cohortes (Tabla 28 y 29).

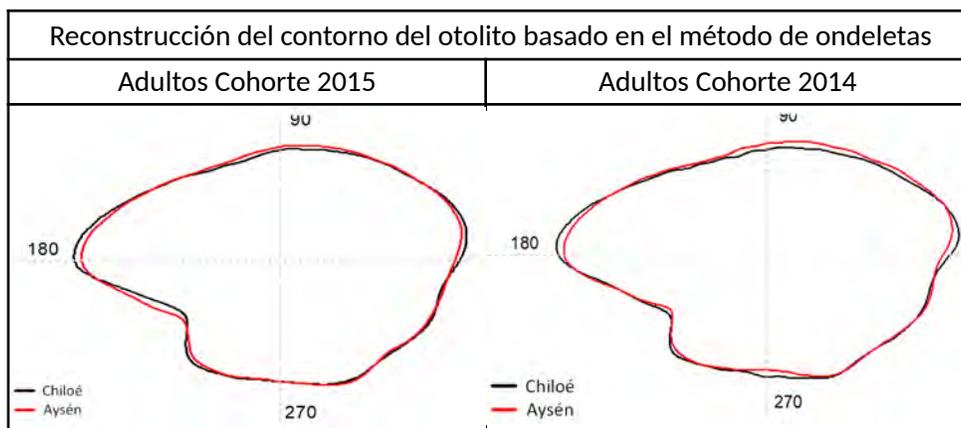


Figura 41: Contorno promedio de los otolitos de sardina austral de Chiloé y Aysén, basados en la reconstrucción del contorno mediante ondeletas, para los peces adultos de las cohortes 2015 y 2014. El número representa el ángulo en grados basado en las coordenadas polares. El punto central de los ejes es el centroide del otolito o punto central de las coordenadas polares.

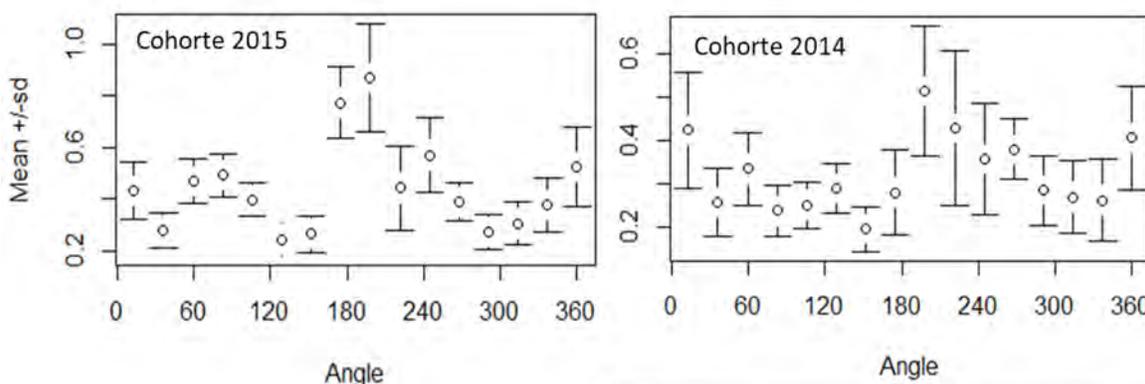


Figura 42: Promedio con su desviación estándar de los coeficientes de las ondeletas para todos los otolitos combinados con el ángulo en grados para adultos de las cohortes 2015 y 2014.

Tabla 28: Análisis permutacional de varianza (perANOVA) de las puntuaciones canónicas de los coeficientes de Fourier que describen la forma de los otolitos de adultos de sardina austral entre Chiloé y Aysén, para las cohortes 2015 y 2014. gl=grados de libertad; F=Estadístico F de Fisher; P>F=probabilidad empírica de obtener valores mayores a F.

Cohorte	Fuente	gl	Varianza	F	P>F
2015	Modelo	1	0,026	5,01	0,001
	Residual	131	0,681		
2014	Modelo	1	0,02	3,19	0,004
	Residual	48	0,27		

Tabla 29: Análisis permutacional de varianza (perANOVA) sobre las puntuaciones canónicas de los coeficientes de las ondeletas de la forma de los otolitos de adultos de sardina austral entre Chiloé y Aysén, para las cohortes 2015 y 2014. gl=grados de libertad; F=Estadístico F de Fisher; P>F=probabilidad empírica de obtener valores mayores a F.

Cohorte	Fuente	gl	Varianza	F	P>F
2015	Modelo	1	7,92	6,38	0,001
	Residual	131	162,59		
2014	Modelo	1	3,45	3,22	0,002
	Residual	48	51,5		

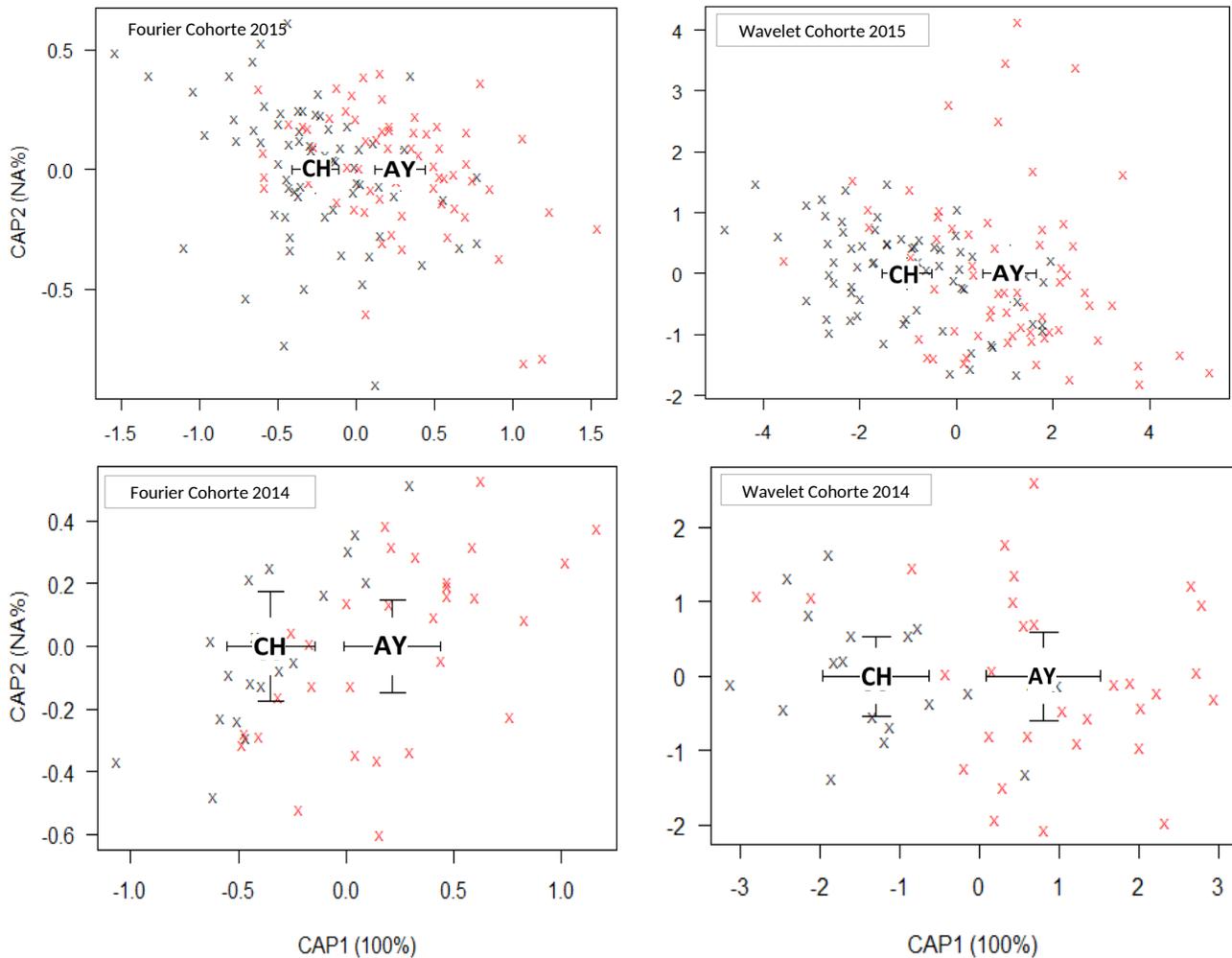


Figura 43: Puntuaciones canónicas del análisis CAP de los coeficientes de Fourier y de las ondeletas (wavelets) del contorno de los otolitos de adultos de sardina austral para las cohortes 2015 y 2014.

## Análisis de crecimiento somático

### i. Análisis de crecimiento usando el ancho de los *annuli*

Como se indicó en la metodología, se ensayaron diez modelos lineales mixtos (Tabla 22) para determinar cuál fue la combinación de variables predictivas, factores fijos y aleatorios, más informativa respecto del crecimiento de sardina austral, usando como variable respuesta el ancho de los *annuli*. Los diez modelos empleados mostraron un alto poder explicativo, ya que en todos los casos la devianza explicada por los factores fue superior al 90%. El modelo M8, que incluyó la edad de formación del *annulus* como efecto fijo y aleatorio, además de los efectos fijos: zona, edad de captura (AAC) y cohorte fue seleccionado (menor AIC<sub>c</sub>; Tabla 30).

Tabla 30: Indicadores de desempeño de modelos utilizados para explicar el crecimiento de sardina austral a partir de distintas variables predictivas: gl: grados de libertad empleados para el ajuste del modelo; AIC<sub>c</sub>: criterio de información de Akaike corregido para muestras de pequeño tamaño;  $\Delta$ AIC<sub>c</sub>: diferencia entre cada modelo y el modelo con menor AIC<sub>c</sub>; LL: likelihood (verosimilitud).

Modelo	gl	AIC <sub>c</sub>	$\Delta$ AIC <sub>c</sub>	LL
M1	6	-1270,53	78,93	641,30
M2	6	-1272,87	76,58	642,47
M3	6	-1309,95	39,51	661,01
M4	9	-1308,09	41,36	663,12
M5	7	-1270,85	78,60	642,47
M6	7	-1307,93	41,53	661,01
M7	7	-1328,23	21,22	671,16
<b>M8</b>	<b>9</b>	<b>-1349,45</b>	<b>0,00</b>	<b>683,80</b>
M9	11	-1345,55	3,91	683,88
M10	14	-1346,93	2,52	687,63

El GLMM seleccionado mostró que el crecimiento de sardina austral (ancho de los *annuli*) estuvo explicado principalmente por la edad de formación del *annulus*, la zona de origen (Chiloé o Aysén) y su interacción (Tabla 31). La edad de captura (ACC) y la cohorte explicaron fracciones menores de la variabilidad del crecimiento ( $P=0,07-0,15$ ; Tabla 31). El análisis de coeficientes de este modelo (Tabla 32) indicó que Aysén presentaría menores tasas de crecimiento que Chiloé, diferencia que aumentaría en individuos de mayor edad. El efecto nominal de la cohorte indicó que las tasas de crecimiento habrían sido menores en la cohorte 2016 que en la cohorte 2015

Tabla 31: Análisis de devianza del modelo lineal generalizado de efectos mixtos ajustado a la variabilidad observada en las tasas individuales de crecimiento (análisis macro-estructural) de sardina austral. gl=grados de libertad; SC=suma de cuadrados; CM=cuadrados medios.

Fuente	gl	SC	CM	F <sub>valor</sub>	P>F
Edad	1	188,79	188,79	992,51	<0,001
Zona	1	0,20	0,20	10,53	0,001
ACC	1	0,04	0,04	2,04	0,153
Cohorte	1	0,09	0,09	4,52	0,078
Edad:Zona	1	11,31	11,31	59,44	<0,001

Tabla 32: Coeficientes del modelo lineal generalizado de efectos mixtos ajustado para explicar la variabilidad observada en las tasas individuales de crecimiento (análisis macro-estructural) de sardina austral. ACC=edad al momento de la captura; EE=error estándar; gl=grados de libertad.

Fuente	Estimación	EE	gl	t <sub>valor</sub>	P>t
Intercepto	1,48E+02	1,90E+01	4,49E+03	7,79	0,001
Edad	-1,57E+03	5,37E+01	6,09E+03	-29,21	<0,001
Zona Aysén	-2,72E+01	8,38E+00	1,12E+06	-3,25	0,001
ACC	1,85E+01	1,30E+01	1,02E+06	1,43	0,153
Cohorte 2016	-2,72E+04	1,28E+04	5,94E+03	-2,13	0,078
Edad: Zona	-1,99E+02	2,58E+01	1,12E+06	-7,71	<0,001

## ii. Análisis del crecimiento del otolito entre zonas

Con el propósito de ver como las variaciones del incremento de los *annuli* se reflejaron en el crecimiento del tamaño del otolito de sardina austral, se analizó el tamaño del otolito con respecto a la longitud del pez y la zona de captura. Este análisis mostró un mayor tamaño de los otolitos de Chiloé respecto de Aysén en el origen (Figura 44) y efectos importantes ( $P < 0,001$ ) tanto de la zona, como de la cohorte y de la interacción entre ambas (Tablas 33 y 34). El ajuste de la relación longitud-edad con el modelo de von Bertalanffy mostró diferencias en los parámetros de crecimiento y en las longitudes medias por edad entre zonas. En Chiloé el modelo predijo una longitud media a la edad consistentemente mayor que en Aysén (Figura 45).

Tabla 33: Coeficientes del modelo de covarianza ajustado para evaluar la relación entre la longitud individual de sardina austral (variable respuesta) y las variables explicativas longitud del otolito (LO), zona y cohorte. EE=error estándar,  $t_{valor}$ =estadístico t de student,  $P>t$ =probabilidad de observar valores mayores al estadístico t dada la hipótesis nula de  $t_{valor}=0$ .

Fuente	Estimación	EE	$t_{valor}$	$P>t$
Intercepto	-338,73	93,82	-3,61	0,000
LO	5,78	0,06	91,81	< 2e-16
Zona Aysén	317,73	143,77	2,21	0,027
Cohorte	0,17	0,05	3,63	0,000
Zona:Cohorte	-0,16	0,07	-2,21	0,027

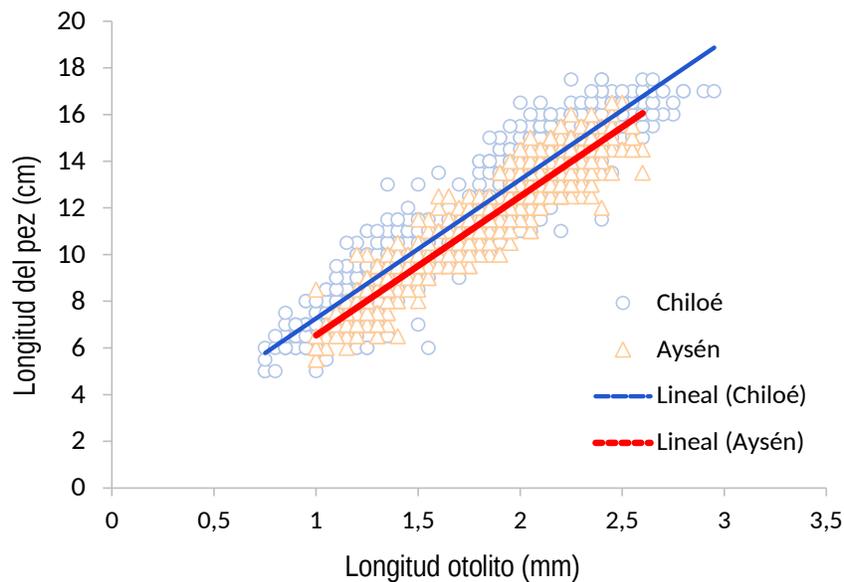


Figura 44: Relación entre la longitud del pez y la longitud del otolito de sardina austral de Chiloé y Aysén, correspondientes a las cohortes 2014 a 2016.

Tabla 34: Análisis de covarianza de la relación entre la longitud individual de sardina austral (variable respuesta) y las variables explicativas longitud del otolito (LO), zona y cohorte. gl=grados de libertad; SC=suma de cuadrados,CM=cuadrados medios;  $F_{valor}$ =estadístico F de Fisher,  $P>F$ =probabilidad de observar valores mayores al estadístico F dada la hipótesis nula de que la variable explicativa evaluada no explica la varianza observada en la variable respuesta.

Fuente	gl	SC	CM	$F_{valor}$	$P>F$
LO	1	7007,80	7007,80	8880,94	< 2,2e-16
Zona Aysén	1	99,60	99,60	126,25	< 2,2e-16
Cohorte	1	6,60	6,60	8,33	0,004
Zona : Cohorte	1	3,90	3,90	4,90	0,027
Residuos	1003	791,50	0,80		

El test de razón de verosimilitud de los parámetros del modelo de crecimiento de von Bertalanffy (Tabla 35) mostró diferencias relevantes entre zonas respecto de los parámetros  $t_0$  ( $p=0,027$ ) y  $K$  ( $p=0,046$ ), pero no así para el parámetro  $L_\infty$  ( $p=0,368$ ). La prueba simultánea de todos los parámetros ( $H_4$ ) mostró mayor evidencia en favor de  $H_0$  (todos los parámetros difieren entre zonas) que en favor de  $H_4$  (todos los parámetros son iguales entre zonas)

Tabla 35: Test de razón de verosimilitud utilizado para evaluar diferencias entre zonas respecto de los parámetros del modelo de crecimiento individual de von Bertalanffy ajustado a valores de edad y longitud de sardina austral capturada en Chiloé y Aysén.

Test	Hipótesis	Chi-cuadrado	gl	$P>\chi^2$	Modelo	SCR
$H_0$	$L_{\infty 1} \neq L_{\infty 2}, K_1 \neq K_2, t_{01} \neq t_{02}$				$H_0$	2.978
$H_0$ vs $H_1$	$L_{\infty 1} = L_{\infty 2}$	0,81	1	0,368	$H_1$	2.980
$H_0$ vs $H_2$	$K_1 = K_2$	3,98	1	0,046	$H_2$	2.987
$H_0$ vs $H_3$	$t_{01} = t_{02}$	4,92	1	0,027	$H_3$	2.989
$H_0$ vs $H_4$	$L_{\infty 1} = L_{\infty 2}, K_1 = K_2, t_{01} = t_{02}$	106,52	3	0,000	$H_4$	3.223

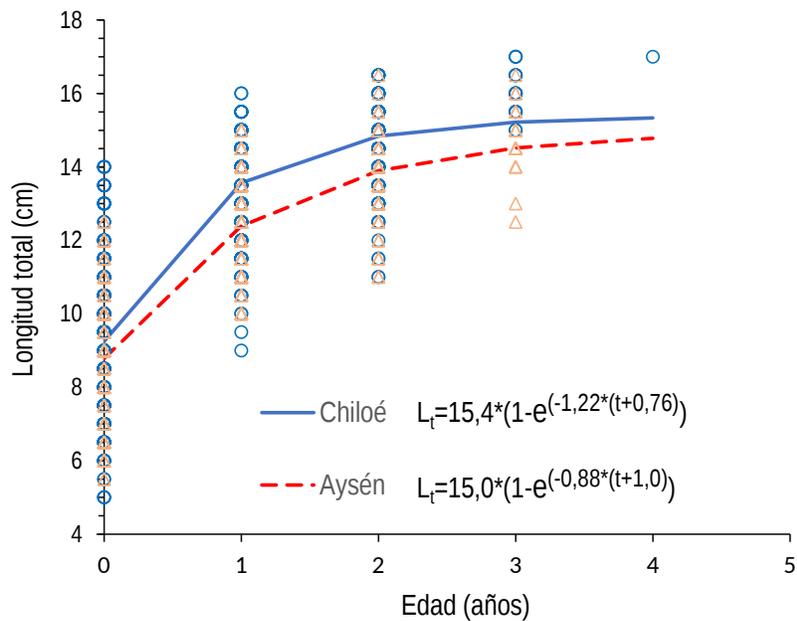


Figura 45: Relación longitud-edad y parámetros de crecimiento de von Bertalanffy de sardina austral para Chiloé y Aysén. Cohortes 2014 a 2017.

## DISCUSIÓN

### Índices de forma

El perfil de cambio de los índices de forma con respecto a la longitud del pez, a través de un modelo GAM, busca identificar la longitud o tamaño del pez en el cual la forma del otolito de sardina austral se estabiliza (Tuset et al. 2003, Curin-Osorio et al. 2012, Cerna et al. 2019). Nuestros resultados sugieren que la forma del otolito de sardina austral se estabilizaría después que el pez alcanza la talla media de madurez sexual, que es de 13,5 cm LT (Leal et al. 2011)). Este resultado confirma que el análisis de forma de los otolitos en peces mayores a 13 cm LT, es decir a partir del primer año de vida, sería adecuado para determinar la existencia de distintas unidades demográficas, lo cual es coherente con los criterios establecidos por Cadrin (2000).

Este resultado contrasta con el obtenido por Galleguillos et al. (2012), quienes establecieron una longitud de estabilización de la forma del otolito en los 10 cm LT. Esto no significa que el indicador haya cambiado en el tiempo, sino más bien que en ese estudio este indicador estuvo limitado por la distribución de tallas de la muestra analizada, no pudiendo los autores establecer una talla mínima de análisis mayor a 10 cm LT. En el presente estudio, la estabilización de la forma del otolito fue evaluada utilizando un amplio rango de tallas (6 a 17 cm LT), para dos cohortes, modelado a través de un GAM para cada una de las zonas de muestreo, obteniendo un resultado que es coherente con la talla y edad media de madurez.

El factor de forma y redondez están asociados a la forma circular perfecta del otolito cuando su valor es cercano a uno. En nuestro estudio los valores medios de estos índices mostraron una media más cercana a uno en otolitos de peces del grupo de edad cero (reclutas), alejándose de este valor los otolitos de peces adultos ( $\geq 1$  año). La circularidad está asociada también al círculo perfecto, aunque en una magnitud cercana a  $8\pi$ , que para sardina austral es propia de reclutas (GE 0), aumentando su valor a partir del año de vida, lo que también ocurre con la elipticidad. Es posible observar que las diferencias importantes en las medias de los índices de forma entre las áreas de Chiloé y Aysén se aprecian a partir del primer año de vida.

La ausencia de diferencias evidentes en los índices de forma analizados entre Chiloé y Aysén (cohortes 2015 y 2016) debe ser tomada con precaución, puesto que podría ser explicada por limitaciones propias del método empleado. Los índices de forma consideran en el cálculo medidas básicas (longitud, ancho, área, perímetro), que contienen poca información sobre la forma o contorno del otolito. Las relaciones entre las variables geométricas, longitud, ancho, área y perímetro, que constituyen los índices de forma, es probable que reflejen en mayor proporción, cambios asociados a la ontogenia del individuo que la influencia ambiental. De acuerdo con Hüsey (2008) la forma del otolito, en cuanto al número de lóbulos que se forman en el contorno, está en relación con el tamaño del pez, la edad, temperatura e historia de la alimentación. Es decir, el contorno de un otolito adulto, y su variación en cuanto al número y tamaño de los lóbulos, está determinado por el ambiente.

### **Análisis de Fourier y ondeletas**

El análisis del contorno del otolito de sardina austral con los métodos de Fourier y ondeletas produjo resultados similares en términos de la comparación general de la forma, lo cual es adecuado para discriminar grupos. Sin embargo, el método de ondeletas permitió también detectar la región específica del otolito donde ocurren las diferencias, usando como referencia el ángulo del contorno del otolito (Libungan & Pálsson 2015).

La estimación de la calidad en la reconstrucción del contorno del otolito a partir de los coeficientes de Fourier y ondeletas fue alta, ya que, solo fue necesario el uso de 12 armónicos de Fourier (45 coeficientes) y 5 niveles de ondeletas para explicar el 98,5% de la varianza. Esto permitió disponer en la mayoría de los casos, de un número de variables predictivas (coeficientes) menor que el número de otolitos usados en la comparación, requisito necesario para la aplicación de los análisis multivariados.

La escasa diferencia encontrada en la forma de otolitos juveniles entre Chiloé y Aysén puede tener dos explicaciones. La primera sería que los peces de ambas zonas formen parte de una misma unidad demográfica, con una zona de origen en común, a partir de la cual ocurriría un posterior desplazamiento temprano de los peces (larvas o pre-reclutas  $< 6$  cm LT) hacia las zonas de Chiloé y Aysén. La segunda sería que la forma del otolito estuviera determinada en mayor proporción por factores genéticos que ambientales durante la etapa juvenil, evitando

encontrar diferencias aunque los peces pertenecieran a unidades demográficas distintas y utilizaran zonas de crianza separadas. Durante la etapa adulta ocurriría lo contrario, permitiendo que el fenotipo exprese diferencias ambientales entre áreas de alimentación.

La forma de los otolitos de los peces adultos mostró diferencias entre Chiloé y Aysén, tanto para la cohorte 2015 como 2014. Estas diferencias que se ubicarían, principalmente, en *rostrum*, *cauda* y entre el *rostrum* y el *anti-rostrum* se traducen en que los otolitos de peces adultos de Chiloé serían más alargados, con *rostrum* y *cauda* más aguzados que en Aysén. Esta caracterización es coincidente con la elipticidad, que presenta valores medios mayores en Chiloé y con la mayor redondez observada en Aysén.

En definitiva, el análisis de forma del contorno de otolito mediante transformaciones de Fourier y ondeletas mostró similitudes en juveniles y claras diferencias en adultos entre Chiloé y Aysén. Los métodos multivariados utilizados aseguran una alta potencia y bajo sesgo de la inferencia, ya que eliminan el efecto de la colinealidad al transformar las variables lineales en ortogonales (Anderson & Willis 2003). El resultado del análisis de contorno con el método de Fourier para adultos fue similar al reportado por Galleguillos et al. (2012) para la misma área de estudio.

### **Análisis del crecimiento**

En este estudio se analizó el crecimiento considerando los incrementos anuales presentes en los otolitos, basado en que este indicador contiene una respuesta biológica que integra los efectos intrínsecos (ontogenéticos) y extrínsecos (ambiental). Se aplicaron modelos de efectos mixtos, debido a que este método es suficientemente flexible para testear variaciones dentro y entre individuos (Dingemanse & Dochtermann 2013), y a nivel poblacional (Leites et al. 2012), permitiendo diferenciar adecuadamente la expresión fenotípica a lo largo de un gradiente ambiental (Morrongiello & Thresher 2015).

El modelo más informativo, de los diez que fueron ensayados para representar las variaciones del crecimiento, fue aquel que incluyó la edad de formación del *annulus*, la zona de captura, la edad de captura, la cohorte y la interacción entre edad y zona. Dentro de estas variables, la edad fue el factor más importante, lo que es común en casi todas las especies de peces dado que el crecimiento disminuye con la edad, lo que es un efecto intrínseco (genético). El segundo factor en importancia fue la zona de captura, indicando que el crecimiento individual de sardina austral fue distinto entre Chiloé y Aysén, lo que resultó coherente con las diferencias observadas en la relación tamaño del otolito y longitud del pez, donde el tamaño promedio del otolito de los peces de Chiloé fue mayor que en aquellos capturados en Aysén a iguales longitudes totales. El menor poder explicativo de la cohorte sugiere una alta variabilidad en tasas de crecimiento individual dentro de años lo que oscurecería diferencias entre años.

La diferencia en tasas de crecimiento entre zonas evidenciada por el análisis de las macroestructuras (*annuli*) del otolito fue corroborada mediante el análisis de los datos de

longitud-edad al momento de la captura. Este análisis mostró diferencias importantes entre zonas respecto del conjunto de parámetros del modelo de crecimiento de von Bertalanffy (ajustado a los datos agrupados de las cohortes 2014 a 2017) y, particularmente, en  $K$  y  $t_0$ . En general, el modelo de crecimiento para Chiloé predijo longitudes medias a la edad 0,5-1,2 cm mayores que en Aysén.

La consistencia en los resultados de la forma de los otolitos con el mayor crecimiento individual de adultos de sardina austral en Chiloé que en Aysén no es extraña, ya que, el crecimiento de los peces es un poderoso conductor de diferencias en la forma de los otolitos (Denechaud et al. 2020). Dentro de las diferencias ambientales entre estas dos zonas, se destaca la temperatura, 2-3°C mayor en Chiloé, cuya influencia sobre el crecimiento está bien documentada (Brander 2000, Björnsson et al. 2001), la que también está vinculada a la variación de la forma del otolito (Lombarte & Leonart 1993, Cardinale et al. 2004). Las variaciones en la temperatura, además de otras variables físicas o condiciones ambientales, puede determinar fisiológicamente las tasas potenciales de consumo y crecimiento, como la abundancia de las presas, lo que podría, a su vez, regular el consumo y crecimiento realizados (Denechaud et al. 2020). El crecimiento del pez, por su parte, determina la forma del otolito, como ha sido probado para el bacalao (Cardinale et al. 2004, Hüsey 2008), varias especies de peces planos y otros (Mille et al. 2016).

## CONCLUSIONES

- Los índices de forma permitieron establecer que la forma del otolito varía con la longitud del pez, mostrando para cuatro de los cinco índices, que la forma del otolito se estabilizó a partir de los 13 cm LT, cuando el pez alcanza la talla media de madurez.
- No se encontró evidencia de diferencias consistentes entre zonas respecto de las medias de los índices de forma de los otolitos analizados
- El análisis de la forma de los otolitos mediante coeficientes de Fourier y ondeletas no mostró diferencias relevantes entre juveniles pero si entre adultos procedentes de Chiloé y de Aysén.
- Tanto el análisis macroestructural de *annuli* en otolitos como el análisis de talla a la edad de captura evidenciaron mayores tasas de crecimiento individual de sardina austral en Chiloé que en Aysén.

## ESTIMACIÓN DEL GRADO DE MEZCLA ENTRE UNIDADES DEMOGRÁFICAS (OBJETIVO 3).

Edwin J. Niklitschek<sup>1,2</sup>, Guido Plaza<sup>3</sup>, Cristóbal Garcés<sup>1</sup>, José Francisco Cerna<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Centro i~mar, Universidad de Los Lagos; <sup>2</sup>Programa de Investigación Pesquera Universidad Austral de Chile-Universidad de Los Lagos; <sup>3</sup>Escuela de Ciencias del Mar, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, <sup>4</sup>Instituto de Fomento Pesquero, Valparaíso

### INTRODUCCIÓN

La existencia de unidades demográficas discretas requiere niveles de aislamiento geográfico y reproductivo suficientes para mantener dinámicas poblacionales relativamente independientes y, eventualmente, asincrónicas, pero no necesariamente completas (Luck et al. 2003). De esta manera, en el área de estudio es posible esperar tasas de mezcla (contribuciones cruzadas entre unidades demográficas) superiores a cero, pero inferiores a 50%. La cuantificación de estas tasas de mezcla no solo permite corroborar la existencia de unidades demográficas discretas, sino que evaluar su grado de inter-dependencia y generar magnitudes útiles para desarrollar modelos de evaluación y manejo que den cuenta de la estructura, dinámica y distribución de las sub-poblaciones que componen una determinada pesquería (Kell et al. 2004).

En la presente sección, nos enfocamos en la estimación de las tasas de auto-reclutamiento y de contribución cruzada de las áreas de crianza de Chiloé y Aysén a las mezclas de adultos presentes en estas mismas zonas. Lo anterior considerando tres cohortes (2014, 2015 y 2016) y tres conjuntos de datos procedentes de igual número de aproximaciones metodológicas: (i) composición elemental de los metales Li, Mg, Mn, Sr y Ba, (ii) razones isotópicas  $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{18}\text{O}$ , e índices microestructurales  $G_{21-50}$  (grosor medio anillos diarios 21-50) y  $R_{21-50}$  (radio medio anillos diarios 21-50), todos analizados en función del Objetivo 2 del presente proyecto. De manera previa a la estimación de las tasas de mezcla se procedió a evaluar la exactitud, precisión y consistencia entre juveniles y adultos de cada conjunto de datos, utilizando estándares de calidad definidos *ex-ante*, orientados a seleccionar los conjuntos de datos más adecuados para lograr el objetivo planteado.

### METODOLOGÍA

#### **Análisis de conglomerados espaciales**

Para evaluar la variabilidad espacial de los datos disponibles, en función de las actuales unidades de manejo o de algunas otras entidades geográficas u oceanográficas de interés, se utilizó un enfoque de conglomerados espaciales, construidos aglomerativa y jerárquicamente a partir de cada conjunto de variables preseleccionadas en el paso anterior. Esto, condicionado a la contigüidad espacial de todos sus miembros, siguiendo el enfoque descrito por Legendre & Legendre (2012). Para este propósito, se utilizó distancias de Mahalanobis y el método de enlace flexible implementado en el paquete R “adespatial” (Dray et al. 2020). Siguiendo este procedimiento, se evaluó y comparó mediante el criterio de información de

devianza la verosimilitud de modelos mixtos multivariados donde los datos disponibles fueron agrupados en un número variable, entre 1 y 4, de conglomerados espaciales por cada tipo metodología y grupo de edad (juveniles v/s adultos).

Es muy importante aclarar que este análisis permite identificar la estructura espacial de las marcas utilizadas para la identificación de unidades demográficas. Esta estructura, da cuenta de la variabilidad ambiental en el área de estudio y de su capacidad de producir diferencias detectables en la microestructura y composición elemental e isotópica de los otolitos de peces juveniles criados en determinadas sub-áreas. De esta manera, permite evaluar la potencial utilidad y grado de resolución espacial de dichas marcas para responder preguntas relacionadas con el origen de los adultos, pero no da información alguna acerca de este último punto, el cual debe ser inferido a partir del análisis de secciones nucleares de otolitos de peces adultos.

### **Análisis del potencial discriminante**

Para evaluar el potencial discriminante de cada método, bajo un enfoque de modelos de mezcla, se procedió primero a ajustar modelos de mezcla para cada cohorte y método, considerando solo datos correspondientes a individuos juveniles. A partir de estos modelos se realizaron dos evaluaciones complementarias.

- Errores de estimación: correspondientes al sesgo observado al aplicar el modelo de mezcla a los datos de los propios juveniles (de origen conocido) disponibles en cada zona, siendo el valor esperado igual a uno.
- Errores de auto-asignación: correspondiente a la proporción de peces juveniles, asignado probabilísticamente por el modelo a una zona distinta de su verdadera zona de origen. Esto siguiendo una aproximación de tipo *cortaplumas* (una-a-la-vez) excluyendo cada muestra clasificada del modelo utilizado para tal propósito.

En general, se consideró inaceptables errores de estimación o auto-asignación superiores al 30%.

### **Análisis de consistencia entre elipses de predicción y distribución de los adultos**

Para evaluar la consistencia entre la distribución de los datos observados en fuentes (peces juveniles) y mezclas (peces adultos), se estimó la distancia de Mahalanobis (Venables & Ripley 2002) entre los datos observados en cada uno de los adultos y los centroides de distribución normal multivariada estimado para cada grupo de juveniles. Con estos datos, se procedió a calcular el porcentaje de adultos exhibiendo distancias superiores a 2,5 respecto del centroide más cercano, dentro de cada zona, cohorte y conjunto de datos. En el caso univariado, esta distancia sería equivalente a la distancia euclidiana re-escalada en términos de la desviación estándar. El criterio de 2,5 correspondió al propuesto por Stauffer & Grimson (2000).

## RESULTADOS

### Análisis de conglomerados espaciales

#### i. Composición elemental

El análisis de la variabilidad espacial de las concentraciones elementales de metales observadas en regiones nucleares de otolitos de peces juveniles, sugieren la existencia de cuatro conglomerados espaciales relativamente discretos, tanto al analizar las cohortes 2015 y 2016 por separado, como en conjunto (Figura 46). Aunque los límites espaciales de estos conglomerados presentaron cierta variabilidad entre análisis (cohortes, global), se apreció un cuadro general de clara segregación entre las muestras de Chiloé y Aysén, con una divergencia más bien longitudinal dentro de Chiloé (costa de la Isla Grande v/s Golfo de Ancud) y latitudinal dentro de Aysén, separando, en general, un grupo SW y otro NE (Figura 46). Es importante hacer notar que la localidad de Chaitén fue asignada a uno de los dos conglomerados de Chiloé en el análisis por cohortes pero a uno de los dos conglomerados de Aysén en el análisis global.

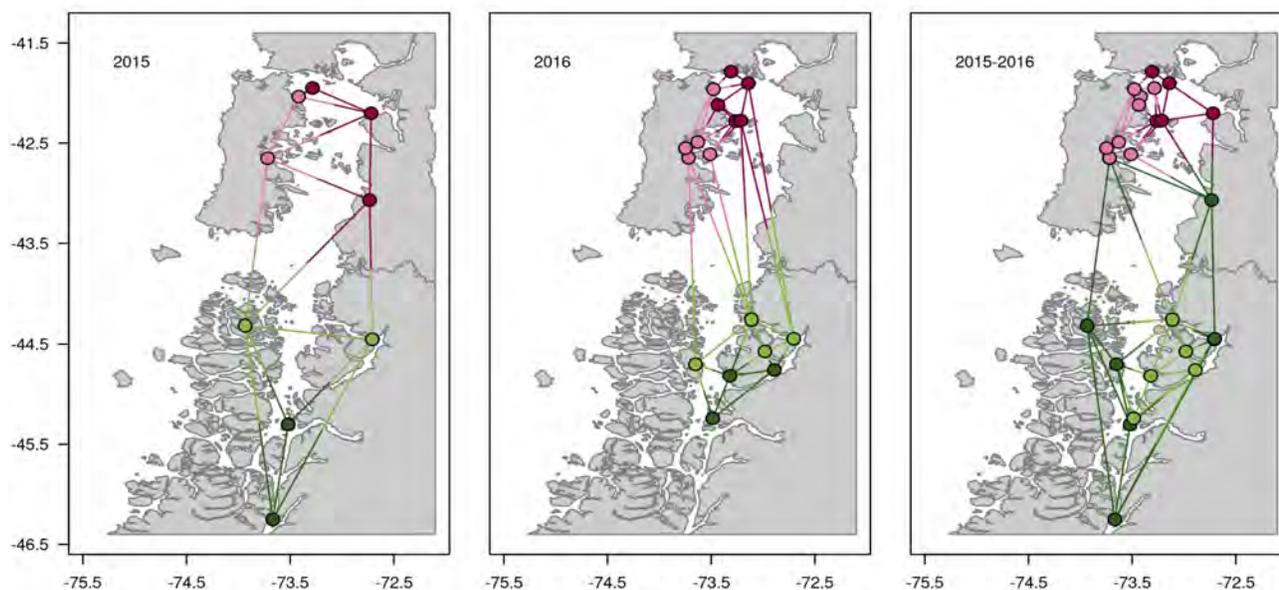


Figura 46: Distribución de lances con presencia de juveniles para las cohortes 2015 y 2016, coloreados según su pertenencia a los conglomerados espaciales identificados a partir de las concentraciones relativas ( $\mu\text{mol}\cdot\text{mol Ca}^{-1}$ ) de Li, B, Mg, Mn, Sr y Ba, observadas en secciones nucleares de otolitos de juveniles de sardina austral *Sprattus fuegensis*, procedentes de Chiloé y Aysén.

#### ii. Isótopos estables

El análisis de conglomerados espaciales de las concentraciones relativas  $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{18}\text{O}$  observadas en regiones nucleares de otolitos de peces juveniles mostró, en todos los casos,

que la variabilidad encontrada permitiría formar dos grupos principales (modelo más informativo), denotando un importante grado de segregación espacial entre Chiloé y Aysén, tanto para la cohorte 2016 (n=18), como para el análisis combinado 2015-2016 (n=26). Para el caso de la cohorte 2015 (n=10), dos lances efectuados hacia el centro y oeste de Aysén mostraron mayor similitud con los datos obtenidos en Chiloé (n=5) que en los restantes lances efectuados hacia la zona más sur-oriental de Aysén (Figura 47).

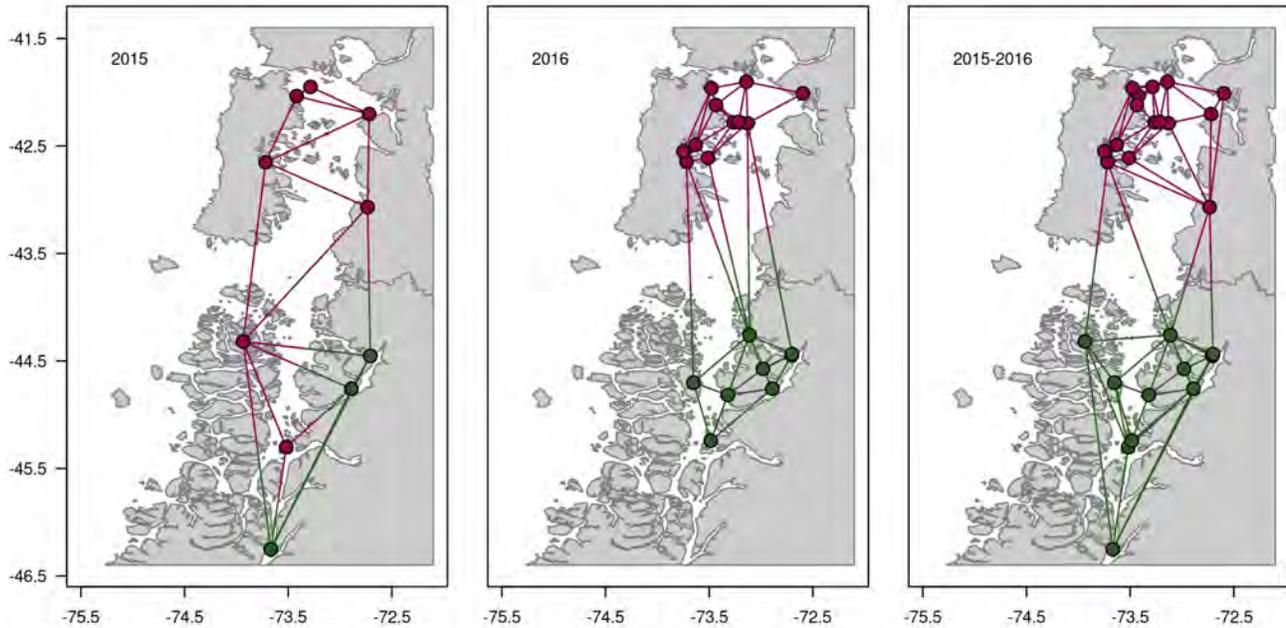


Figura 47: Distribución de lances con presencia de juveniles para las cohortes 2015 y 2016, coloreados según su pertenencia a los conglomerados espaciales identificados a partir de las concentraciones relativas  $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{18}\text{O}$ , observadas en secciones nucleares de otolitos de juveniles de sardina austral *Sprattus fuegensis*, procedentes de Chiloé y Aysén.

### iii. Índices microestructurales

El análisis de conglomerados espaciales de la variabilidad en los índices microestructurales  $G_{21-50}$  (grosor medio anillos diarios 21-50) y  $R_{21-50}$  (radio medio anillos diarios 21-50), no identificó estructuras espaciales claras para el caso de la cohorte 2015, donde el modelo más informativo correspondió al modelo nulo (toda el área de estudio agrupada en un único conglomerado). No obstante lo anterior, tanto el análisis de la cohorte 2016, como el análisis global que combinó ambas cohortes, identificaron la existencia de dos conglomerados, los cuales coincidieron a cabalidad con la segregación administrativa establecida entre Chiloé y Aysén (Figura 48).

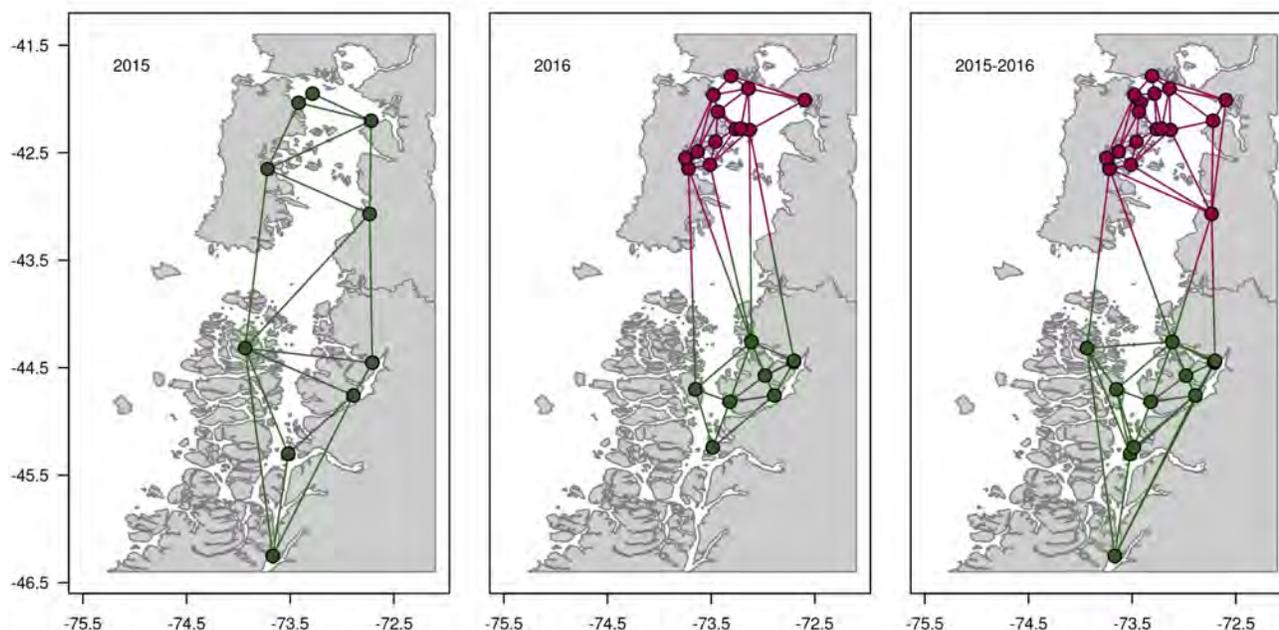


Figura 48: Distribución de lances con presencia de juveniles para las cohortes 2015 y 2016, coloreados según su pertenencia a los conglomerados espaciales identificados a partir de los índices microestructurales  $G_{21-50}$  (grosor medio anillos diarios 21-50) y  $R_{21-50}$  (radio medio anillos diarios 21-50), observados en secciones nucleares de otolitos de juveniles de sardina austral *Sprattus fuegensis*, procedentes de Chiloé y Aysén.

## **Análisis del potencial discriminante**

### **i. Composición elemental**

Dada la ausencia de diferencias relevantes entre subetapas respecto de las composiciones elementales relativas de Li, Mg, Mn, Sr y Ba en otolitos de peces juveniles, los mejores modelos de mezcla y discriminantes fueron aquellos que agruparon pre-reclutas y reclutas por cohorte y origen (Tabla 36). Bajo este escenario, los errores de estimación se encontraron entre 15 y 22%, siendo algo mayores en Aysén que en Chiloé, esto ocurrió para ambas cohortes. Los errores de auto-asignación corregida presentaron un rango entre 17 y 29%, sin patrones claros entre zonas. El análisis de consistencia mostró que la distribución de las marcas elementales de los adultos distó sustancialmente de las medias observadas en los juveniles. De esta manera, entre un 2 y un 14% de los adultos de las cohortes 2015 y 2016 se encontraron a distancias inferiores a 2,5 de los centroides más cercanos de juveniles. En el caso de la cohorte 2014, esta cifra aumentó, no obstante, sustancialmente a frecuencias entre 38 y 46% (Tabla 36).

## ii. Isótopos estables

Al igual que en el caso de los metales, y dada la ausencia de diferencias relevantes entre subetapas respecto de las marcas isotópicas  $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{18}\text{O}$  en otolitos de peces juveniles, los mejores modelos discriminantes fueron aquellos que agruparon pre-reclutas y reclutas por cohorte y origen (Tabla 37). Bajo este escenario, los errores de estimación se redujeron a un rango entre 0 y 20%, dependiendo de la zona y la cohorte. Los errores de auto-asignación corregida alcanzaron un rango entre 7 y 28%, ambos correspondientes a la cohorte 2015 (Chiloé y Aysén, respectivamente). Se observó, asimismo, niveles aceptables de consistencia entre los valores observados en los adultos y los centroides de distribución de los juveniles, con frecuencias de valores aceptables (distancias de Mahalanobis < 2.5) superiores al 50% en la mayoría de los casos. Excepciones importantes al patrón anterior fueron los adultos de Aysén, donde esta frecuencia disminuyó a 40-42% (Tabla 37).

Tabla 36: Métricas de evaluación del potencial discriminante de las concentraciones relativas de Li, Mg, Mn, Sr y Ba, considerando los siguientes errores: i) estimación de las contribuciones estimadas de cada origen a cada mezcla de juveniles (valor esperado=1.0), ii) auto-asignación corregida considerando correlación dentro de lances y validada mediante una aproximación “de navaja”, excluyendo una observación a la vez, y iii) consistencia, definida como el porcentaje de adultos cuyas distancias de Mahalanobis al centroide más cercano fue inferior a 2,5.

Sub-etapa	Cohorte	Zona	i. Contribución estimada			ii. Auto-asignación corregida			iii. Consistencia
			Chiloé	Aysén	Error (%)	Chiloé	Aysén	Error (%)	(%)
Reclutas	2014	Chiloé	1.00	0.00	0.0	3	0	0%	37.5%
Reclutas	2014	Aysén	0.00	1.00	0.0	2	8	20.0%	45.5%
Pre-reclutas	2015	Chiloé	1.00	0.00	0.0%	23	7	23.3%	6.0%
Pre-reclutas	2015	Aysén	0.00	1.00	0.0%	1	9	10.0%	6.7%
Reclutas	2015	Chiloé	1.00	0.00	0.0%	33	13	28.3%	3.6%
Reclutas	2015	Aysén	0.00	1.00	0.0%	10	19	34.5%	13.3%
Ambas	2015	Chiloé	1.00	0.00	0.0%	63	13	17.1%	2.4%
Ambas	2015	Aysén	0.00	1.00	0.0%	8	31	20.5%	11.7%
Pre-reclutas	2016	Chiloé	1.00	0.00	0.0%	14	6	30.0%	18.8%
Pre-reclutas	2016	Aysén	0.02	0.98	1.9%	9	24	27.3%	6.7%
Reclutas	2016	Chiloé	0.87	0.13	12.6%	27	12	30.8%	16.7%
Reclutas	2016	Aysén	0.03	0.97	3.3%	8	27	22.9%	6.7%
Ambas	2016	Chiloé	0.93	0.07	7.3%	42	17	28.8%	14.6%
Ambas	2016	Aysén	0.00	1.00	0.0%	13	55	19.1%	6.7%

Tabla 37: Métricas de evaluación del potencial discriminante de las concentraciones relativas  $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{18}\text{O}$ , considerando los siguientes errores: i) estimación de las contribuciones estimadas de cada origen a cada mezcla de juveniles (valor esperado=1.0), ii) auto-asignación corregida considerando correlación dentro de lances y validada mediante una aproximación “de navaja”, excluyendo una observación a la vez, y iii) consistencia, definida como el porcentaje de adultos cuyas distancias de Mahalanobis al centroide más cercano fue inferior a 2,5.

Sub-etapa	Cohorte	Zona	i. Contribución estimada			ii. Auto-asignación corregida			iii. Consistencia
			Chiloé	Aysén	Error (%)	Chiloé	Aysén	Error (%)	(%)
Reclutas	2014	Chiloé	1.00	0.00	0.0%	3	0	0.0%	100.0%
Reclutas	2014	Aysén	0.00	1.00	0.0%	0	9	0.0%	90.3%
Ambas	2014	Chiloé	1.00	0.00	0.0%	3	0	0.0%	100.0%
Ambas	2014	Aysén	0.00	1.00	0.0%	0	9	0.0%	90.3%
Pre-reclutas	2015	Chiloé	1.00	0.00	0.0%	29	6	17.1%	62.8%
Pre-reclutas	2015	Aysén	0.04	0.96	3.6%	3	8	27.3%	41.7%
Reclutas	2015	Chiloé	1.00	0.00	0.0%	48	4	7.7%	72.1%
Reclutas	2015	Aysén	0.15	0.85	14.6%	9	23	28.1%	71.7%
Ambas	2015	Chiloé	1.00	0.00	0.0%	81	6	6.9%	67.4%
Ambas	2015	Aysén	0.17	0.83	16.5%	12	31	27.9%	68.3%
Pre-reclutas	2016	Chiloé	0.95	0.05	4.6%	25	5	16.7%	81.6%
Pre-reclutas	2016	Aysén	0.32	0.68	32.3%	11	29	27.5%	40.0%
Reclutas	2016	Chiloé	0.89	0.11	11.0%	30	8	21.1%	71.4%
Reclutas	2016	Aysén	0.03	0.97	3.4%	6	25	19.4%	53.3%
Ambas	2016	Chiloé	0.91	0.09	9.0%	56	12	17.6%	59.2%
Ambas	2016	Aysén	0.20	0.80	19.8%	17	54	23.9%	46.7%

### iii. Índices microestructurales

Al contrario de lo sucedido en el caso de las composiciones elementales e isotópicas, y en concordancia con la variabilidad encontrada entre pre-reclutas y reclutas, la combinación de los índices microestructurales entre subetapas dentro de cohortes mostró un muy bajo poder discriminante (Tabla 38). Es así como para las subetapas combinadas, los errores de estimación llegaron al 67% en Aysén (cohorte 2015) y al 35% en Chiloé (Cohorte 2016), con errores de auto-asignación corregida entre 27 y 66%. Sin embargo el potencial discriminante de los índices microestructurales aumento de manera sustancial al ajustar modelos independientes para cada sub-etapa, con la notable excepción de los pre-

reclutas de la cohorte 2015 en Aysén donde se observó errores de estimación y auto-asignación corregida de 100 y 92%, respectivamente. Se observó un elevado grado de consistencia entre las señales de adultos y juveniles, con frecuencias de valores aceptables (<2.5) entre 55 y 100%, predominando valores por sobre el 70%.

Tabla 38: Métricas de evaluación del potencial discriminante de los índices microestructurales  $G_{21-50}$  (grosor medio anillos diarios 21-50) y  $R_{21-50}$  (radio medio anillos diarios 21-50), considerando los siguientes errores: i) estimación de las contribuciones estimadas de cada origen a cada mezcla de juveniles (valor esperado=1.0), ii) auto-asignación corregida considerando correlación dentro de lances y validada mediante una aproximación “de navaja”, excluyendo una observación a la vez, y iii) consistencia, definida como el porcentaje de adultos cuyas distancias de Mahalanobis al centroide más cercano fue inferior a 2,5.

Sub-etapa	Cohorte	Zona	i. Contribución estimada			ii. Auto-asignación corregida			iii. Consistencia
			Chiloé	Aysén	Error (%)	Chiloé	Aysén	Error (%)	(%)
Pre-reclutas	2015	Chiloé	1.00	0.00	0.0%	21	8	27.6%	93.2%
Pre-reclutas	2015	Aysén	1.00	0.00	100.0%	12	1	92.3%	87.8%
Reclutas	2015	Chiloé	1.00	0.00	0.0%	26	9	25.7%	82.4%
Reclutas	2015	Aysén	0.06	0.94	5.7%	10	12	45.5%	87.8%
Ambas	2015	Chiloé	1.00	0.00	0.0%	47	17	26.6%	82.4%
Ambas	2015	Aysén	0.67	0.33	66.6%	23	12	65.7%	87.8%
Pre-reclutas	2016	Chiloé	0.86	0.14	13.6%	19	12	38.7%	74.5%
Pre-reclutas	2016	Aysén	0.00	1.00	0.0%	5	28	15.2%	100.0%
Reclutas	2016	Chiloé	1.00	0.00	0.0%	42	11	20.8%	60.0%
Reclutas	2016	Aysén	0.09	0.91	8.6%	23	18	56.1%	93.8%
Ambas	2016	Chiloé	0.65	0.35	35.1%	33	51	60.7%	54.5%
Ambas	2016	Aysén	0.00	1.00	0.0%	29	45	39.2%	93.8%

### Estimación de las contribuciones de cada área de crianza a cada unidad de manejo

De los tres conjuntos de datos analizados, solo los datos de isótopos estables cumplieron a cabalidad los criterios de exactitud, precisión y consistencia entre juveniles y adultos definidos previamente para su incorporación en el modelo final de estimación de tasas de auto-reclutamiento y mezcla. Por el contrario, dadas la baja consistencia encontrada entre juveniles y adultos respecto de los valores observados de composición elemental de metales (4-46% de valores con distancias de Mahalanobis<2.5), no se consideró adecuado incorporar, en modo alguno, estos valores en la estimación de tasas de mezcla entre unidades demográficas. En el caso de los índices microestructurales, afectados por alta variabilidad

entre subetapas y por altos niveles de sesgo e incertidumbre, se optó, igualmente, por evitar su uso directo para cualquier estimación de tasas de mezcla. No obstante, se les consideró dentro de un modelo integrado, junto a los datos de isótopos estables. En este modelo, cuyo propósito fue más bien referencial y de corroboración de tendencias generales, se esperó que la maximización de la verosimilitud conjunta de ambos set de datos permitiera compensar, al menos parcialmente, los sesgos asociados a cada caso particular.

El modelo de mezcla, basado en los valores isotópicos  $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{18}\text{O}$  y seleccionado para generar estimaciones orientadas al manejo y toma de decisiones, mostró niveles de auto-reclutamiento entre 65 y 88% en Aysén y entre 89 y 100% en Chiloé, dependiendo de la cohorte analizada (Tabla 39). De esta manera, se observó una clara asimetría en las contribuciones estimadas de cada zona de crianza a cada área de manejo, siendo mayores las contribuciones de Chiloé a Aysén (12-35%), que de Aysén a Chiloé (0-11%). En ambos casos, las menores contribuciones cruzadas correspondieron a la cohorte 2015, año en que Chiloé no habría recibido reclutas procedentes de Aysén (Tabla 39).

El modelo referencial, basado en la integración de isótopos estables e índices microestructurales, que solo pudo ser ajustado para las cohortes 2015 y 2016 (Tabla 40), mostró tendencias muy similares a las del modelo isotópico en el caso de Chiloé, aunque tasas de auto-reclutamiento algo menores en el caso de Aysén, sugiriendo que esta zona podría recibir mayores contribuciones desde Chiloé (33-42%), que las estimadas por el modelo isotópico (12-23% para esos mismos años). Este modelo referencial, a pesar del mayor número de variables y datos involucrados, alcanzó niveles de incertidumbre ( $EE \leq 0.14$ ) muy similares a los del modelo isotópico ( $EE \leq 0.15$ ).

Tabla 39: Contribución estimada de las áreas de crianza de Aysén y Chiloé a las mezclas de adultos de sardina austral *Sprattus fuegensis* correspondientes a cada unidad de manejo y cohorte analizada. Estimaciones del modelo de mezcla de distribuciones finitas basada en valores isotópicos  $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{18}\text{O}$ . Ajustes mediante algoritmo EM condicionado a las medias observadas en los juveniles. Errores estándar estimados por *bootstrap*.

Variables	Unidad de manejo	Cohorte	Contribución estimada por área de crianza		
			Aysén	Chiloé	Error estándar
Isótopos estables	Aysén	2014	0.65	0.35	0.105
Isótopos estables	Chiloé	2014	0.11	0.89	0.076
Isótopos estables	Aysén	2015	0.88	0.12	0.056
Isótopos estables	Chiloé	2015	0.00	1.00	0.013
Isótopos estables	Aysén	2016	0.77	0.23	0.153
Isótopos estables	Chiloé	2016	0.04	0.96	0.043

Tabla 40: Contribución estimada de las áreas de crianza de Aysén y Chiloé a las mezclas de adultos de sardina austral *Sprattus fuegensis* correspondientes a cada unidad de manejo y cohorte analizada. Estimaciones del modelo de mezcla de distribuciones finitas obtenidas combinando valores isotópicos  $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{18}\text{O}$  e índices microestructurales  $G_{21-50}$  (grosor medio anillos diarios 21-50) y  $R_{21-50}$  (radio medio anillos diarios 21-50). Ajustes mediante algoritmo EM condicionado a las medias observadas en los juveniles. Errores estándar estimados por *bootstrap*.

Variables	Unidad de manejo	Cohorte	Contribución estimada por área de crianza		
			Aysén	Chiloé	Error estándar
Isótopos estables + índices micro-estruct.	Aysén	2015	0.58	0.42	0.142
Isótopos estables + índices micro-estruct.	Chiloé	2015	0.00	1.00	0.009
Isótopos estables + índices micro-estruct.	Aysén	2016	0.67	0.33	0.131
Isótopos estables + índices micro-estruct.	Chiloé	2016	0.04	0.96	0.068

## DISCUSIÓN

De las tres aproximaciones metodológicas utilizadas, solo el análisis de isótopos estables cumplió con los estándares de precisión, exactitud y consistencia entre juveniles y adultos definidos previamente para seleccionar variables adecuadas para la estimación de tasas de mezcla entre unidades demográficas. Con dichos resultados, fue posible estimar niveles relativamente bajos de mezcla entre 0 y 35% dependiendo de la cohorte y zona (unidad demográfica) analizada, con mayores flujos desde Chiloé hacia Aysén que viceversa. Este cuadro general concuerda con lo encontrado previamente por Niklitschek *et al.* (2012) en un muestro no diferenciado de las cohortes 1996-1999, donde se estimó contribuciones de 26% de Aysén a Chiloé y de 32% de Chiloé a Aysén.

Las menores tasas de mezcla estimadas para la cohorte 2015 coinciden con un año particularmente anómalo, clasificado climáticamente como año El Niño-Godzilla (Paek *et al.* 2017). Sin desconocer que esta coincidencia puede ser simple azar, es posible que las mayores temperaturas superficiales de las áreas de crianza ubicadas en Chiloé (extremo norte de distribución de la especie) hayan reducido la sobrevivencia de huevos, larvas y/o juveniles en esta área y, por ende, la posterior magnitud del contingente de pre-reclutas que migraría, más tarde, hacia el sur.

La utilización de marcas naturales para identificar el origen y estimar las tasas de mezcla de adultos pertenecientes a distintas unidades demográficas requiere de ciertas condiciones sistema-específicas y problema-específicas, las cuales nunca se encuentran garantizadas (Pella & Masuda 2005). En primer lugar, se requiere que estas marcas presenten patrones de variabilidad espacial y temporal acordes con la pregunta o problema que se intenta resolver. En términos ilustrativos, resultará imposible evaluar migraciones norte-sur si la variabilidad de las marcas seleccionadas ocurre principalmente en sentido este-oeste. Tampoco será posible identificar el

origen de un adulto si la variabilidad temporal de las marcas dentro de cada zona de origen es similar o mayor a la variabilidad entre zonas de origen. Por otro lado, es importante que las marcas seleccionadas no estén asociadas a factores que determinen diferencias importantes en sobrevivencia, como por ejemplo, mayores tamaños de eclosión y/o mayor crecimiento. En este caso, los adultos sobrevivientes presentarían una menor variabilidad y, en definitiva, una distribución de marcas distinta (truncada) y no comparable a los juveniles de su respectiva zona de origen, llevando a sobre-estimar las proporciones de mezcla. Si todos los requerimientos anteriores se cumplieran cabalmente y los muestreos de juveniles ya adultos fueran temporal y espacialmente adecuados, se esperarían errores de estimación y auto-asignación similares a cero e indicadores de consistencia entre juveniles y adultos cercanos al 100%.

En el presente proyecto, los requisitos antes descritos fueron cumplidos adecuadamente en el caso de los isótopos estables, pero no así en el caso de las concentraciones elementales de metales e índices microestructurales. En el caso de los metales, los bajos errores de estimación y auto-asignación denotan una fuerte señal espacial, que permite incluso resolver cuatro conglomerados espaciales, dos dentro de cada unidad de manejo. Esta misma variabilidad podría ayudar a explicar, sin embargo, la paradójicamente baja consistencia entre señales de juveniles y adultos, si es que las sub-áreas específicas de crianza de los adultos muestreados no hubieran estado adecuadamente representadas en las muestras de juveniles de cada cohorte. Lo anterior, podría sumarse a niveles elevados de variabilidad inter-anual, los cuales podrían sumarse a sesgos esperables en la asignación de cohortes y generar, de esta manera inconsistencias espurias entre adultos y juveniles entre cohortes. Esta hipótesis encuentra sustento en el hecho de que al combinar todas las cohortes de juveniles y adultos, se alcanza una consistencia cercana al 50% en ambas zonas analizadas.

## CONCLUSIONES

- De las tres aproximaciones metodológicas evaluadas: análisis de la composición elemental de metales, análisis de isótopos estables y análisis de índices microestructurales, solo el análisis de isótopos estables mostró niveles de precisión, certidumbre y consistencia entre juveniles y adultos adecuados para estimar tasas de mezcla entre Chiloé y Aysén.
- Ambas zonas presentan elevadas tasas de auto-reclutamiento, las que alcanzan rangos de 65-88% en Aysén y 89-100% en Chiloé, dependiendo de la cohorte.
- Las contribuciones estimadas de Chiloé a Aysén se encontraron en un rango de 12 a 35%, mientras que las contribuciones estimadas de Aysén a Chiloé fueron menores (0-11%), particularmente en el caso de la cohorte 2015 (0%).

## MIGRACIONES ONTOGÉNICAS, POSIBLES PROCESOS DE CONECTIVIDAD Y SU RELACIÓN CON VARIABLES AMBIENTALES: MODELO CONCEPTUAL (OBJETIVO 4)

Edwin J. Niklitschek<sup>1,2</sup>, Guido Plaza<sup>3</sup>, Francisco Cerna<sup>4</sup> y Antonio Aranís<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Centro i~mar, Universidad de Los Lagos; <sup>2</sup>Programa de Investigación Pesquera Universidad Austral de Chile-Universidad de Los Lagos; <sup>3</sup>Escuela de Ciencias del Mar, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, <sup>4</sup>Instituto de Fomento Pesquero, Valparaíso

### INTRODUCCIÓN

La existencia de unidades demográficas discretas requiere de niveles de aislamiento geográfico y reproductivo suficientes para mantener dinámicas poblacionales relativamente independientes y, eventualmente, asincrónicas, pero no necesariamente completos (Luck et al. 2003). De esta manera, en el área de estudio es posible esperar tasas de mezcla (contribuciones cruzadas entre unidades demográficas) superiores a cero, pero inferiores a 50%. La cuantificación de estas tasas de mezcla no solo permite corroborar la existencia de unidades demográficas discretas, sino que evaluar su grado de inter-dependencia y generar magnitudes útiles para desarrollar modelos de evaluación y manejo que den cuenta de la estructura, dinámica y distribución de las subpoblaciones que componen una determinada pesquería (Kell et al. 2004).

En la presente sección, nos enfocamos en la estimación de las tasas de auto-reclutamiento y de contribución cruzada de las áreas de crianza de Aysén y Chiloé a las mezclas de adultos presentes en estas mismas zonas. Lo anterior considerando tres cohortes (2014, 2015 y 2016) y tres conjuntos de datos procedentes de igual número de aproximaciones metodológicas: (i) composición elemental de los metales Li, Mg, Mn, Sr y Ba, (ii) razones isotópicas  $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{18}\text{O}$ , e índices microestructurales  $G_{21-50}$  (grosor medio anillos diarios 21-50) y  $R_{21-50}$  (radio medio anillos diarios 21-50), todos analizados en función del Objetivo 2 del presente proyecto. De manera previa a la estimación de las tasas de mezcla se procedió a evaluar la exactitud, precisión y consistencia entre juveniles y adultos de cada conjunto de datos, utilizando estándares de calidad definidos *ex-ante*, orientados a seleccionar los conjuntos de datos más adecuados para lograr el objetivo planteado.

### METODOLOGÍA

Para la evaluación del presente modelo conceptual se recurrió, fundamentalmente, a información nueva generada por el presente proyecto, complementada con información previa recopilada y/o generada por Contreras *et al.* (2014), Castro *et al.* (2015) y Cerna & Plaza (2015), con la serie de reportes de los cruceros hidroacústicos conducidos por IFOP a partir del año 2014 (Lillo et al. 2015, 2016, Castillo et al. 2019), y con la información proporcionada por el programa de seguimiento de las pesquerías de pequeños pelágicos en el sur de Chile (Aranís et al. 2018). De acuerdo a lo establecido en esta oferta técnica este modelo conceptual fue generado de manera participativa por el equipo del proyecto, pertenecientes a la Universidad de Los Lagos, el Instituto de Fomento Pesquero y la Pontificia Universidad Católica de Chile. Se formuló un

conjunto de preguntas fundamentales sobre el ciclo de vida y patrones migratorios de sardina austral en el área de estudio, las que fueron respondidas sistemáticamente para dar cuerpo al modelo conceptual propuesto.

De manera adicional a los resultados presentados en otras secciones de este informe, complementamos el presente análisis a través de un enfoque de geo-localización (Darnaude & Hunter 2018) orientado a identificar áreas potenciales de crianza en cada zona. Este procedimiento, toma ventaja de las estrechas relaciones lineales existentes entre los valores de  $\delta^{18}\text{O}$  en el otolito y en el agua (Dettman et al. 1999), y entre los valores de  $\delta^{18}\text{O}$  en el agua y la salinidad y temperatura de la misma (LeGrande & Schmidt 2006, Niklitschek et al. 2014). El procedimiento aplicado constó de los siguientes pasos:

1. Interpolación de los datos de salinidad y temperatura disponibles en la base de datos del Centro i~mar, la cual contempla la totalidad de los cruceros Cimar-Fiordos y los principales cruceros oceanográficos realizados en el sur de Chile, La interpolación contempló los primeros 30 m de la columna de agua, celdas de 9 km<sup>2</sup> y los últimos 10 años de datos disponibles.
2. A partir de los mapas de salinidad y temperatura, aplicamos la ecuación de Niklitschek et al. (2014) para generar un mapa de  $\delta^{18}\text{O}$  en el agua del mar anterior.
3. Utilizando la ecuación de Kim & O'Neil (1977), transformamos este isopaisaje en un mapa de concentraciones esperadas de  $\delta^{18}\text{O}$  en las secciones nucleares de otolitos juveniles y adultos.
4. Finalmente, comparando la distribución de valores esperados en cada celda espacial con los valores observados en cada individuo, estimamos la probabilidad media de que estos individuos hubieran sido originados en cada locación (Figura 49).

## RESULTADOS

### Áreas de desove y transporte larval

No se cuenta con registros de agregaciones de individuos en desove o recién desovados que pudieran representar una evidencia directa de la ubicación geográfica de las principales áreas de desove dentro del área de estudio. Existen sin embargo, algunas piezas relevantes de evidencia indirecta, las que resumimos a continuación:

#### i. Chiloé

- Existe una brusca caída estacional en la disponibilidad de la fracción vulnerable y, por ende, de los rendimientos de la pesquería en el Golfo de Ancud. Esta variabilidad estacional sería consistente con la existencia de migraciones reproductivas fuera del área explotada por la flota hacia fines de invierno de cada año.

- Aunque se ha especulado que esta migración podría dirigirse a los fiordos orientales o a la Región de Aysén, no existe evidencia que soporte estas hipótesis. La información disponible acerca de la distribución de huevos sugiere en cambio que esta migración sería más bien costera hacia una zona principal de desove ubicada entre las Puntas de Tenaún y Queilen (Figura 50).

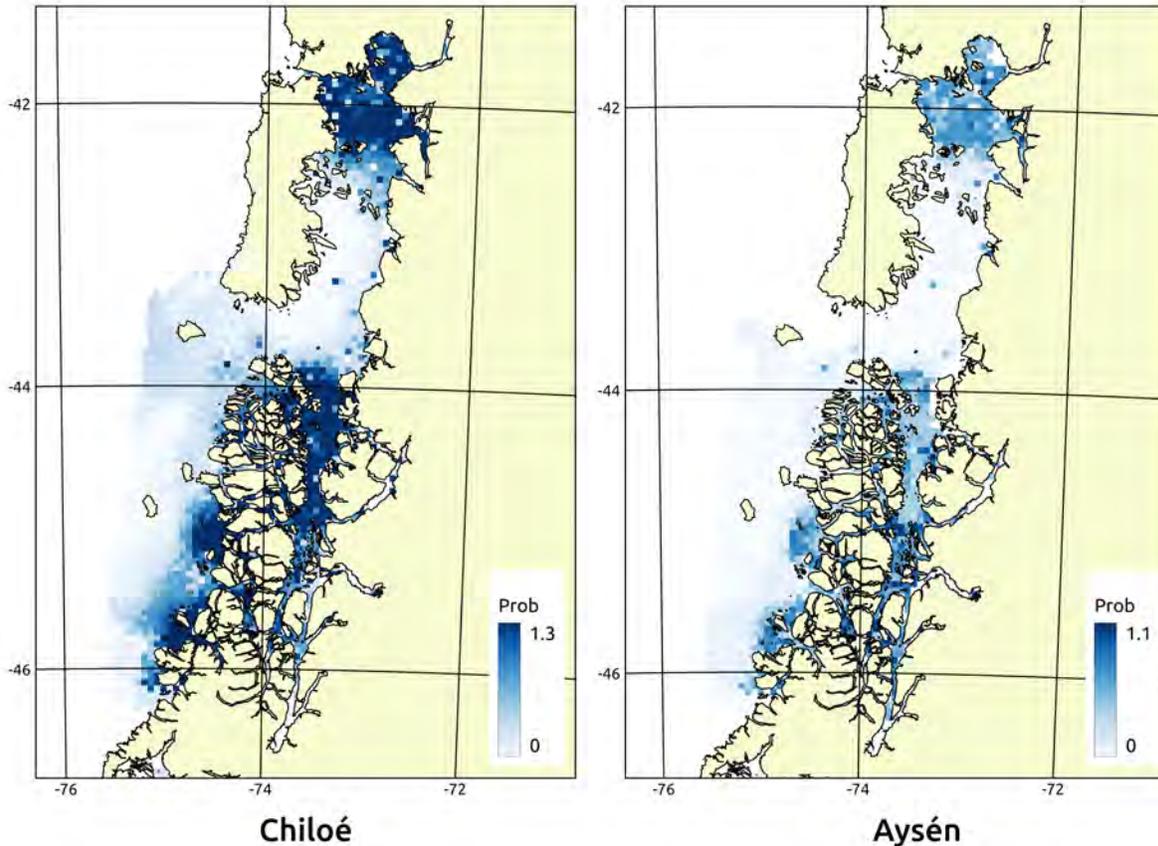


Figura 49: Distribución (densidad media) de probabilidad de ocurrencia (Prob) de adultos de sardina austral *Sprattus fuegensis* durante su etapa juvenil inferida a partir de la comparación de valores observados y esperados de  $\delta^{18}\text{O}$  en regiones nucleares de otolitos de peces adultos pertenecientes a las cohortes 2014-2016.

- La definición anterior considera los siguientes fundamentos:
  - La presencia recurrente de huevos (estaciones positivas) en la costa de Chiloé Insular, al oeste y sur-oeste de las Islas Desertores (Castro et al. 2015).
  - El limitado éxito de exploraciones (lamentablemente no documentadas) de la flota artesanal hacia los fiordos en los comienzos de la pesquería.
  - La dirección norte y nor-este predominante observada en los vectores de transporte de huevos y larvas (de anchoveta, como especie modelo) descritos por Castro et al (2015). Este transporte permitiría que las larvas alcanzaran con prontitud las zonas de crianza ubicadas en el Golfo de Ancud y Seno de Reloncaví,

pero no explicaría la presencia de zonas importantes de crianza entre bahía Tic-Toc y Chaitén.

- Al contingente migratorio dominante se agregarían contingente menores de peces residentes o migrantes que desovarían en sectores costeros del NE del Golfo de Ancud y del SE del Golfo de Corcovado, en sectores costeros del Seno de Reloncaví, incluyendo el fiordo del mismo nombre y, probablemente en Chiloé continental al sur de Chaitén.
- Es difícil establecer el alcance latitudinal de la migración experimentada por el contingente dominante. Aunque parece poco probable que exceda el Golfo de Corcovado y alcance el Archipiélago de Las Guaitecas, la conectividad de la costa norte de este archipiélago con el sur de Chiloé continental, podría explicar la presencia de juveniles en esa zona. Más aún, el análisis de geolocalización de áreas de crianza sugiere que los adultos de Chiloé podrían utilizar zonas costeras alrededor e incluso al sur de dicho Archipiélago durante sus primeros (seis) meses de vida (Figura 49).

## ii. Aysén

- El pequeño tamaño y gran inconsistencia temporal de la pesquería de sardina austral en Aysén impiden detectar patrones estacionales claros que sugieran la existencia de migraciones reproductivas invernales equivalentes a las observadas en Chiloé. Sin perjuicio de ello, los patrones de distribución de huevos sugieren un patrón análogo, como el descrito a continuación.
- La dirección predominante de la migración reproductiva sería hacia el nor-oeste, para alcanzar una zona principal de desove que se ubicaría en el Archipiélago de Los Chonos, entre Isla Leucayec e Isla Tránsito Figura 51.
- La definición del área antes señalada se sustenta en la siguiente evidencia:
  - La distribución observada de huevos, cuya presencia sería recurrente en zonas costeras ubicadas al este del Archipiélago de los Chonos (Castro et al. 2015).
  - La dirección sur predominante observada en los vectores de transporte de huevos y larvas descritos por para esta zona por Castro et al (2015), lo cual permitiría el transporte de larvas a las zonas de crianza ubicadas al sur y sur-este de Los Chonos.
- El alcance latitudinal de patrón migratorio dominante no excedería el Golfo de Corcovado, donde se observa una limitada conectividad sur→norte. De esta manera los huevos depositados aquí serían más probablemente incorporados a la unidad demográfica Aysén. Y se rompería la integridad del ciclo migratorio de la unidad migratoria de Chiloé.

- Al patrón migratorio dominante se agregaría un grupo menor de residentes que desovaría hacia el sur del Canal de Moraleda, principal área conocida de alimentación de la especie en esta zona.

### **Periodos de desove**

- La información actualmente disponible en los programas de seguimiento de pequeños pelágicos en aguas interiores, aunque algo fragmentaria en Aysén, muestra un elevado grado de sincronía, entre ambas unidades demográficas, con un marcado aumento en el índice gonadosomático y evidencia histológica de maduración y desove, principalmente entre septiembre y diciembre de cada año (Leal et al. 2011). Esta sincronía, con presencia de adultos desovantes en ambas zonas da sustento adicional a la idea de que cada zona cuenta cierra sus propios ciclos de vida, los que se desarrollan de manera relativamente independiente. Este período de desove sería coincidente, además con el observado en la costa Atlántica y en las Islas Malvinas (Madirolas et al. 2000).

### **Áreas de crianza**

- Existen dos fuentes principales de información relevantes para identificar y localizar las áreas de crianza de sardina austral en el área de estudio. La primera de ellas corresponde al análisis de las frecuencias de talla observadas en los lances de identificación de los cruceros hidroacústicos y la segunda los resultados del análisis de geo-localización de áreas de crianza basado en los valores observados de  $\delta^{18}\text{O}$  en las regiones nucleares de los otolitos de peces adultos (Figura 49). Al unir estas dos fuentes de información, es posible postular lo siguiente:

#### **i. Chiloé**

- La principal área de crianza de esta unidad demográfica se encontraría al norte de las islas desiertas, incluyendo el Seno de Reloncaví y el Golfo de Ancud (Figura 50).
- A lo anterior se sumaría el área costera de Chiloé continental ubicada al sur de las Islas Desiertas, entre Chaitén y Tic-Toc.

#### **ii. Aysén**

- La información proporcionada por los lances de identificación de los cruceros hidroacústicos en esta zona resulta limitada dados el escaso número y cobertura de los mismos.
- El análisis de geo-localización mostró probabilidades medias menores que en Chiloé, con mayores probabilidades a lo largo de los canales de Moraleda

(particularmente al sur de la boca del Canal Puyuguapi), Errázuriz y Costa y alcanzando buena parte de los canales transversales.

- El análisis de geo-localización identificó también al Golfo de Ancud y al Seno de Reloncaví como áreas probables de crianza de los adultos capturados en Aysén. Este resultado es relativamente coherente con el modelo de mezcla que estimó hasta un 32% de contribución de las zonas de crianza de Chiloé a las zonas de alimentación de Aysén.
- Pequeñas áreas con alta probabilidad de ocurrencia fueron identificadas también a sur de la boca del Canal Jacaf (Figura 49).

### **Áreas de alimentación de adultos**

- La principal fuente de información disponible para la identificación de las principales áreas de alimentación de adultos corresponden a la información biológica y acústica de los cruceros de evaluación directa ejecutados en el área de estudio. Lamentablemente, la alta resolución espacial de la acústica, no ha podido estar siempre acompañada por un número y cobertura espacial adecuada de los lances de identificación, particularmente en la zona sur de Chiloé (Golfo de Corcovado) y en toda la Región de Aysén. La información pesquera, por su parte, se ve limitada por las limitaciones económicas y operacionales de la flota que se opera casi exclusivamente en el Golfo de Ancud (Chiloé) y en una pequeña área de pesca localizada alrededor de la boca del Fiordo Aysén. En este último caso, la operación se limita además a unos pocos meses de verano-otoño.
- Reconocidas las limitaciones antes señaladas, es posible formular el siguiente marco conceptual:

#### **i. Chiloé**

- Las principales zonas de alimentación corresponderían a gran parte de la costa oriental de Chiloé insular, particularmente al SW del Golfo Ancud y al NW del Golfo de Corcovado, en torno a las Islas Desertores, como así también siguiendo la costa oriental del Mar Interior de Chiloé entre Chaitén y la Península Huequi (Figura 50).

#### **ii. Aysén**

- Las principales agregaciones de sardina austral en esta zona se encontrarían en las zonas costeras que rodean los Canales de Moraleda y Costa, y sus principales fiordos y canales occidentales adyacentes: Jacaf, Puyuguapi y Aysén (Figura 51).
- Una de las principales áreas de concentración de señales hidroacústicas, ubicada en la boca del Fiordo Aysén, entre las islas Elena y Chaculay corresponde al área explotada por la flota artesanal de Puerto Aysén (Figura 51).

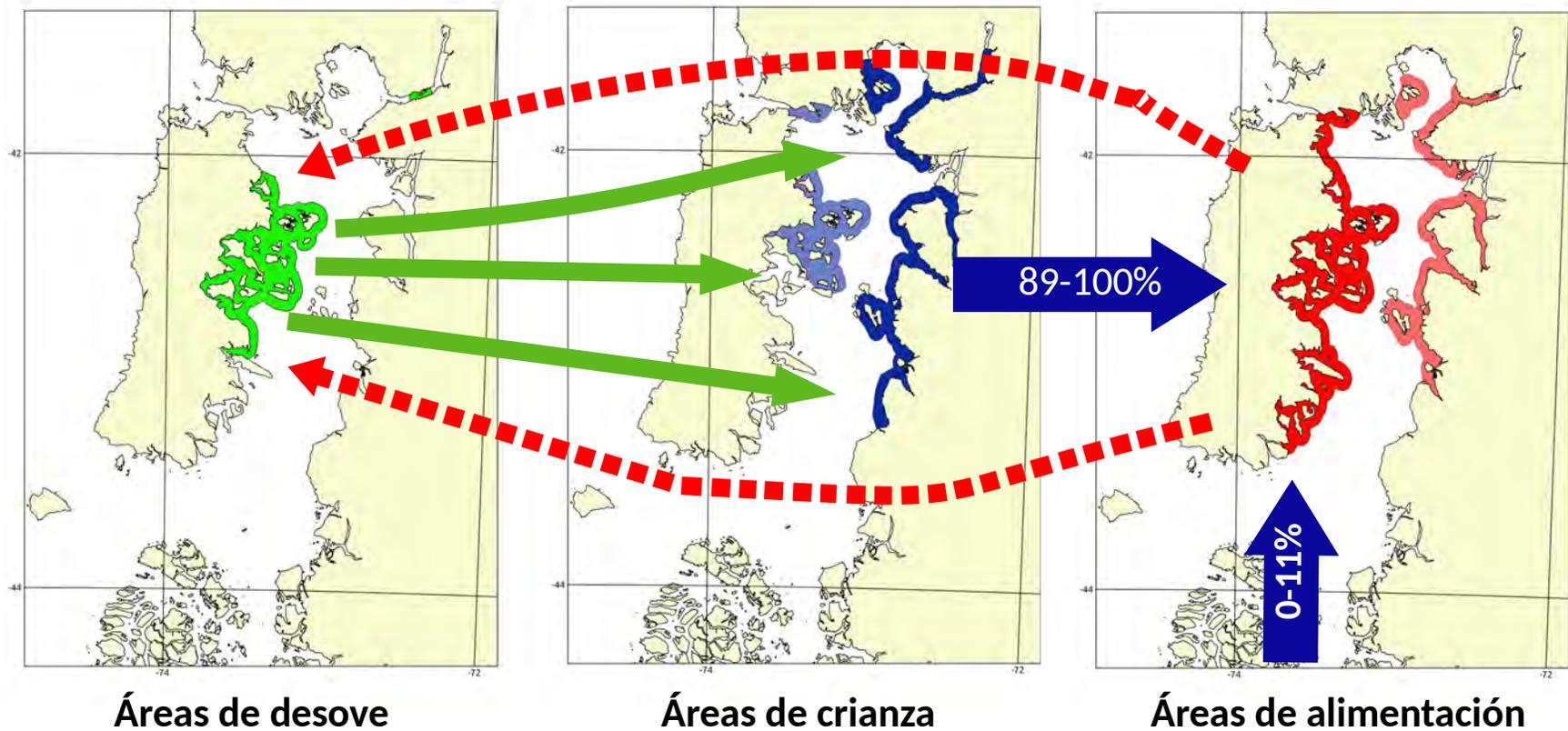


Figura 50: Modelo conceptual del ciclo de vida de la unidad demográfica “Chiloé” de sardina austral *Sprattus fuegensis*. Distribución tentativa de etapas de vida y hábitats basada en una interpretación especulativa de estudios previos de distribución y dispersión de huevos y larvas en evaluaciones hidroacústicas y en análisis de geolocalización basado en la distribución esperada y observada de  $\delta^{18}\text{O}$  en regiones nucleares de otolitos. Intensidad de los colores indica abundancia relativa de cada sub-área para cada etapa. Flechas verdes indican posibles desplazamientos desde áreas de desove a áreas de crianza. Flechas azules indican contribución estimada de las áreas de crianza de Chiloé y Aysén a las áreas de alimentación en Chiloé. Flechas rojas indican posibles desplazamientos a áreas de desove.

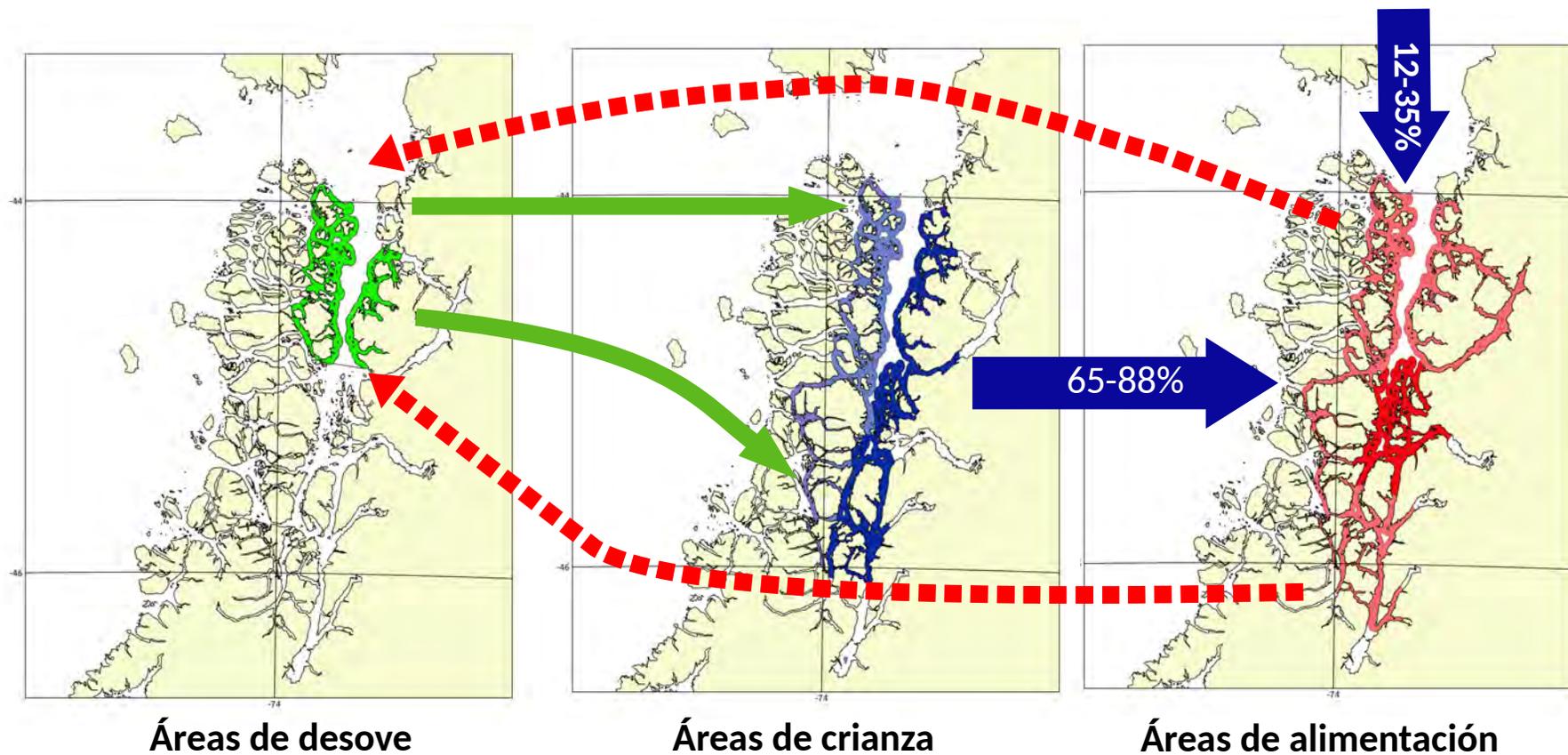


Figura 51: Modelo conceptual del ciclo de vida de la unidad demográfica “Aysén” de sardina austral *Sprattus fuegensis*. Distribución tentativa de etapas de vida y hábitats basada en una interpretación especulativa de estudios previos de distribución y dispersión de huevos y larvas en evaluaciones hidroacústicas y en análisis de geolocalización basado en la distribución esperada y observada de  $\delta^{18}\text{O}$  en regiones nucleares de otolitos. Intensidad de los colores indica abundancia relativa de cada sub-área para cada etapa. Flechas verdes indican posibles desplazamientos desde áreas de desove a áreas de crianza. Flechas azules indican contribución estimada de las áreas de crianza de Chiloé y Aysén a las áreas de alimentación en Aysén. Flechas rojas indican posibles desplazamientos a áreas de desove.

## Estructura de unidades demográficas

- La evidencia recopilada como resultado de la ejecución del presente proyecto, permite corroborar la actual hipótesis de trabajo que establece la existencia de dos unidades demográficas en el área de estudio. Esta afirmación se sustenta en los siguientes fundamentos:
- Las diferencias elementales, isotópicas y microestructurales de las regiones nucleares de los otolitos, observadas entre adultos de distintas zonas, dan mayor soporte a hipótesis de orígenes (áreas de crianza) distintos para cada grupo.
- La consistencia encontrada en las señales isotópicas y microestructurales de las regiones nucleares de los otolitos, entre juveniles y adultos de una misma zona, muestran que los adultos provienen, en su mayoría a zonas de crianza ubicadas en las mismas áreas geográficas donde se capturó a los adultos.
- Las diferencias observadas en la morfometría de otolitos de adultos entre zonas solo resultan posibles si existen suficientes diferencias genotípicas y/o una exposición sostenida a condiciones ambientales distintas entre grupos.
- La sincronía de períodos de desove, ya discutida previamente, corrobora la existencia de ciclos reproductivos paralelos e independientes en cada zona.
- Los límites espaciales de las unidades demográficas Chiloé y Aysén coinciden razonablemente con los límites administrativos que separan las regiones de Los Lagos de Aysén. Lo anterior, habida cuenta de los siguientes fundamentos y comentarios:
- Todos los modelos de conglomerados espaciales de adultos (composición elemental, valores isotópicos e índices microestructurales) mostraron mayor similitud entre lances efectuados dentro de una misma región que entre cualquier par de lances contiguos pertenecientes a regiones distintas.
- Lo anterior sin perjuicio del reclutamiento cruzado estimado de 12-33% en Aysén y de 0-11% en Chiloé dependiendo de la cohorte.
- Tampoco es posible, sin embargo, descartar la posibilidad de que la unidad demográfica Chiloé utilice áreas de desove o crianza ubicadas al NE del Archipiélago de Las Guaitecas, las cuales, considerando los vectores de transporte local, explicarían más fácilmente la presencia de juveniles entre Chaitén y Bahía Tic-Toc.

## DISCUSIÓN

En el presente capítulo se han configurado modelos conceptuales de ciclo de vida para cada una de las dos unidades demográficas identificadas en el presente proyecto. Dado lo fragmentario de la información disponible, estos modelos deben ser utilizados como conjuntos de hipótesis

de trabajo, necesarias de ser sometidas a prueba sistemáticamente en los años venideros. Sin perjuicio de ello, la información química, de crecimiento y morfométrica recabada en el marco del presente proyecto soporta de manera contundente la existencia de dos unidades demográficas discretas, coincidentes con las actuales unidades de manejo y con las divisiones político-administrativas del área de estudio. Estos resultados son también consistentes con los obtenidos en un esfuerzo de similares características conducido por Galleguillos et al (2012).

Dos aspectos muy poco resueltos del actual modelo son la ubicación de las áreas de desove y la dinámica estuarino-oceánica de juveniles y adultos. En Chiloé, el corto alcance de las migraciones reproductivas propuestas para los adultos y la existencia de desoves locales parece poco consistente con la magnitud de las caídas invernales de los rendimientos pesqueros en el Golfo de Ancud. La presencia de larvas a lo largo de todo Chiloé continental, por su parte, parece poco consistente con la concentración del desove en el centro de Chiloé Insular. En Aysén, el reducido número de lances de pesca exitosos en el Archipiélago y la escasa abundancia de huevos encontrada en los cruceros efectuados hasta ahora añaden incertidumbre a la ubicación de las áreas propuestas de desove y alimentación.

En relación con la dinámica estuarino-oceánica, es posible que la especie no dependa necesariamente del uso de hábitats estuarinos para completar su ciclo de vida, como ha sido observado en la costa Patagónica del Atlántico (Madirolas et al. 2000). Teniendo si una dependencia evidente de hábitats costeros, la selección de áreas de desove parece estar guiada más fuertemente por criterios de conectividad y retención que por umbrales de salinidad y temperatura. Es así como, mientras en Chiloé y Aysén la especie parece desovar en aguas relativamente más oceánicas, aunque siempre dentro del Sistema de Fiordos y Canales, en la costa Atlántica utiliza aguas del Estrecho de Magallanes y del Canal Beagle, relativamente menos salinas que el resto del área de alimentación de los adultos.

Es muy posible que el uso de hábitats estuarinos sea de tipo más bien oportunista, como ha sido descrito para el caso de *Sprattus sprattus*, en el Mar del Norte. Esta especie desova en un amplio espectro de hábitats costeros oceánicos y estuarinos, dentro de un rango de temperatura (6-12°C) y salinidad entre 6 y 35 (Elwertowski 1957, Whitehead 1985, Ojaveer & Kalejs 2010, Peck et al. 2012). En términos generales, huevos y larvas son transportados hacia áreas costeras y estuarinas, desde donde, ya móviles, migran hacia áreas turbias y menos profundas dentro y fuera de los estuarios. La utilización de estos últimos sería estacional y facultativa, motivada por una mayor oferta de presas bentónicas durante el invierno (Peltonen et al. 2004), particularmente, durante su primer año de vida (Guelinckx et al. 2006). En este sentido, la baja importancia dada a los estuarios por nuestro modelo de geo-localización podría estar dada por la edad (0-6 meses) y período (primavera-verano) representado en nuestro análisis.

## CONCLUSIONES

- La información recabada en el marco del presente proyecto soporta de manera contundente la existencia de dos unidades demográficas discretas, coincidentes con las actuales unidades de manejo y con las divisiones político-administrativas del área de estudio.
- Cada una de estas unidades demográficas poseería áreas separadas de desove, crianza y alimentación, cuya ubicación tentativa puede ser inferida, no sin niveles elevados de incertidumbre, a partir de la información disponible sobre presencia y abundancia de huevos, larvas, juveniles y adultos.
- La principal área de desove de la unidad demográfica Chiloé se encontraría en la costa insular de Chiloé, entre Punta Tenaún y Punta Queilen. En el caso de la unidad demográfica Aysén, esta área se ubicaría en el Archipiélago de los Chonos, entre las islas Leucayec y Tránsito.
- Las principales áreas de crianza de la unidad demográfica Chiloé se encontrarían ubicadas a lo largo de la costa oriental del Golfo de Ancud y del Seno de Reloncaví. En el caso de la unidad demográfica Aysén, corresponderían a la costa oriental del Canal de Moraleda y a los canales Errázuriz y Costa, incluyendo las áreas adyacentes y bocas de los fiordos y canales Jacaf, Puyuguapi, Aysén y Quitralco.
- Las principales áreas de alimentación de adultos de la unidad demográfica Chiloé se encontrarían ubicadas a lo largo de la costa oriental de la Isla de Chiloé. En el caso de la unidad demográfica Aysén, corresponderían a un área comprendida entre el sur del Canal de Moraleda y el norte de los canales Errázuriz y Costa, en torno a la boca del Fiordo Aysén.

## VII. CONCLUSIONES GENERALES

- El cumplimiento cabal de los objetivos muestrales planteados en la oferta técnica se vio limitado parcialmente por restricciones en la distribución espacial y temporal de la colección de muestras de otolitos disponibles en el repositorio nacional del Instituto de Fomento Pesquero. Estas restricciones guardan directa relación con la distribución extremadamente localizada de las operaciones de la flota comerciales de Los Lagos y Aysén, con la alta estacionalidad y baja frecuencia de las operaciones de la flota de Aysén y con el bajo éxito y número de lances de identificación en áreas más remotas y expuestas.
- Sin perjuicio de lo anterior, cada una de las aproximaciones metodológicas empleadas proporcionó evidencia contundente en favor de la hipótesis de que las actuales unidades de manejo de Chiloé y Aysén corresponden, efectivamente, a dos unidades demográficas independientes, aunque no completamente segregadas. Estos resultados fueron, además, consistentes entre las tres cohortes analizadas (2014, 2015 y 2016).
- El análisis químico y microestructural de las regiones nucleares de otolitos de peces juveniles y adultos mostró evidencia clara de la utilización de áreas separadas de crianza, sujetas a condiciones ambientales suficientemente distintas como para producir diferencias consistentes en tasas de crecimiento y composición elemental e isotópica de otolitos.
- La consistencia observada entre peces juveniles y adultos, respecto de las marcas microestructurales e isotópicas de las regiones nucleares de sus otolitos, da también sustento a la hipótesis de que los adultos no solo utilizan hábitats de crianza distintos, sino que se mantienen además mayoritariamente segregados entre unidades demográficas.
- La segregación espacial entre los adultos de ambas unidades demográficas se ve además corroborada por los análisis bio-cronológico y morfológicos del otolito, con diferencias en tasas de crecimiento y forma del otolito solo explicables en ausencia de mezcla aleatoria entre unidades demográficas.
- El modelo más informativo de mezcla ajustado a los datos disponibles estimó niveles de auto-reclutamiento entre 65 y 88% para Aysén y entre 89 y 100% para Chiloé, dependiendo de la cohorte analizada. De esta manera, se observó una clara asimetría en las contribuciones estimadas de cada zona de crianza a cada área de manejo, siendo mayores las contribuciones de Chiloé a Aysén (12-35%), que de Aysén a Chiloé (0-11%).
- La nueva información generada por el presente proyecto fue coherente con la información disponible sobre el ciclo vital y distribución de sardina austral en el área de estudio y permitió general un modelo conceptual definido por dos unidades demográficas, las que utilizan áreas separadas de desove, crianza y alimentación. La ubicación probable de estas áreas puede ser inferida a partir de la información disponible sobre presencia y abundancia de huevos, larvas, juveniles y adultos, pero se encuentra sujeta a niveles elevados de incertidumbre.

- Las principales brechas de información identificadas durante la ejecución del proyecto guardan relación con la ubicación de las áreas de desove, la importancia relativa de distintas áreas de reclutamiento y las causas de la variabilidad observada entre pre-reclutas y reclutas respecto de señales microestructurales, y entre juveniles y adultos respecto de la composición elemental de sus otolitos.

## VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Akaike H (1973) Information theory and an extension of the maximum likelihood principle. In: *Second International Symposium on Information Theory*. Petrov BN, Caski F (eds) Akademiai Kiado, Budapest, p 267–281
- Amrhein V, Greenland S, McShane B (2019) Scientists rise up against statistical significance. *Nature* 567:305.
- Anderson MJ (2006) Distance-based tests for homogeneity of multivariate dispersions. *Biometrics* 62:245–253.
- Anderson MJ, Willis TJ (2003) Canonical analysis of principal coordinates: a useful method of constrained ordination for ecology. *Ecology* 84:511–525.
- Aranis A, Gómez A, Walker K, Muñoz G (2018) Programa de Seguimiento de las Principales Pesquerías Pelágicas de la Zona Centro-Sur de Chile, V-XI Regiones, año 2017. Informe final SUBPESCA. Instituto de Fomento Pesquero (IFOP), Valparaíso, Chile.
- Aranis A, Meléndez R, Pequeño G, Cerna F (2007) *Sprattus fuegensis* en aguas interiores de Chiloé, Chile (Osteichthyes: Clupeiformes: Clupeidae). *Gayana* 71:102–113.
- Araya M, Niklitschek EJ, Secor DH, Piccoli PM (2014) Partial migration in introduced wild chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) of southern Chile. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 149:87–95.
- Bates D, Mächler M, Bolker B, Walker S (2015) Fitting linear mixed-effects models using lme4. *Journal of Statistical Software* 67:1–48.
- Battaglia P, Malara D, Ammendolia G, Romeo T, Andaloro F (2015) Relationships between otolith size and fish length in some mesopelagic teleosts (Myctophidae, Paralepididae, Phosichthyidae and Stomiidae). *Journal of Fish Biology* 87:774–782.
- Baumann H, Hinrichsen HH, Voss R, Stepputtis D, Grygiel W, Clausen LW, Temming A (2006) Linking growth to environmental histories in central Baltic young-of-the-year sprat, *Sprattus sprattus*: an approach based on otolith microstructure analysis and hydrodynamic modelling. *Fisheries Oceanography* 15:465–476.
- Begg GA, Brown RW (2000) Stock identification of haddock *Melanogrammus aeglefinus* on Georges Bank based on otolith shape analysis. *Transactions of the American Fisheries Society* 129:935–945.
- Begg GA, Friedland KD, Pearce JB (1999) Stock identification and its role in stock assessment and fisheries management: an overview. *Fisheries Research* 43:1–8.
- Bentzen P, Bradbury IR (2016) Don't bet against the natal homing abilities of marine fishes. *Molecular Ecology* 25:2691–2692.
- Bergenius MA, Mapstone BD, Begg GA, Murchie CD (2005) The use of otolith chemistry to determine stock structure of three epinepheline serranid coral reef fishes on the Great Barrier Reef, Australia. *Fisheries Research* 72:253–270.
- Bird JL, Eppler DT, Checkley Jr DM (1986) Comparisons of herring otoliths using Fourier series shape analysis. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 43:1228–1234.

- Biro PA (2013) Are most samples of animals systematically biased? Consistent individual trait differences bias samples despite random sampling. *Oecologia* 171:339–345.
- Björnsson B, Steinarsson A, Oddgeirsson M (2001) Optimal temperature for growth and feed conversion of immature cod (*Gadus morhua* L.). *ICES Journal of Marine science* 58:29–38.
- Bolles KL, Begg GA (2000) Distinction between silver hake (*Merluccius bilinearis*) stocks in US waters of the northwest Atlantic based on whole otolith morphometrics. *Fishery Bulletin* 98:451–462.
- Box GE, Cox DR (1964) An analysis of transformations. *Journal of the Royal Statistical Society Series B (Methodological)* 26:211–252.
- Bradbury IR, Laurel BJ (2007) Defining ‘natal homing’ in marine fish populations: comment on Svedäng et al. (2007). *Marine Ecology Progress Series* 349:307–308.
- Brander K (2000) Effects of environmental variability on growth and recruitment in cod (*Gadus morhua*) using a comparative approach. *Oceanologica Acta* 23:485–496.
- Brophy D, Danilowicz BS, King PA (2006) Spawning season fidelity in sympatric populations of Atlantic herring (*Clupea harengus*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 63:607–616.
- Burnham KP, Anderson DR (2002) Model selection and multimodel inference: A practical-theoretic approach, 2nd ed. Springer-Verlag, Amsterdam, The Netherlands.
- Cadrin SX (2000) Advances in morphometric identification of fishery stocks. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 10:91–112.
- Calvete C, Sobarzo M (2011) Quantification of the surface brackish water layer and frontal zones in southern Chilean fjords between Boca del Guafo (43° 30' S) and Estero Elefantes (46° 30' S). *Continental Shelf Research* 31:162–171.
- Campana S (1999) Chemistry and composition of fish otoliths: pathways, mechanisms and applications. *Mar Ecol Prog Ser* 188:263–297.
- Campana S, Casselman JM (1993) Stock discrimination using otolith shape analysis. *Can J Fish Aquat Sci* 50:1062–1083.
- Campana SE, Gagné JA, Munro J (1987) Otolith microstructure of larval herring (*Clupea harengus*): Image or reality? *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 44:1922–1929.
- Cardinale M, Doering-Arjes P, Kstowsky M, Mosegard H (2004) Effects of sex, stock, and environment on the shape of known-age Atlantic cod (*Gadus morhua*) otoliths. *Can J Fish Aquat Sci* 61:158–167.
- Carrasco C, Silva N (2010) Comparación de las características oceanográficas físicas y químicas presentes en la zona de Puerto Montt a la Boca del Guafo entre el invierno y la primavera de 2004 y entre las primaveras de 1995 y 2004. *Ciencia y Tecnología del Mar* 33.
- Castillo J, Legua J, Cerna F, López A, Molina E, Cifuentes Ú, Castati V, Carrasco C, Salinas C, Núñez S, Silva J, Luna R (2019) Evaluación hidroacústica de pequeños pelágicos en aguas interiores de la X y XI regiones, año 2018. Informe Final. Instituto de Fomento Pesquero, Valparaíso, Chile.
- Castro L, Soto S, Llanos A, Pérez-Santos I, Cubillos L, Alarcón R, Claramunt G, Herrera G, Parada C, Eduardo E, Barrientos P (2015) Identificación de zonas de desove y estadios tempranos de pelágicos pequeños en aguas interiores de la X y XI regiones. Proyecto FIP 2013-17. Universidad de Concepción, Concepción.
- Cermeño P, Morales-Nin B, Uriarte A (2006) Juvenile European anchovy otolith microstructure.

- Cermeño P, Uriarte A, Morales-Nin B, Cotano U, Álvarez P (2008) Setting up interpretation criteria for ageing juvenile European anchovy otoliths. *Scientia Marina* 72:733–742.
- Cerna F, Leal E, López A, Plaza G (2014) Age, growth and natural mortality of the Patagonian sprat *Sprattus fuegensis* (Jenyns, 1842) in Chiloé inland sea, southern Chile. *Latin American Journal of Aquatic Research* 42:580–587.
- Cerna F, Plaza G (2015) Caracterización de la historia de vida de anchoveta, sardina común y sardina austral de la zona centro sur. Informe Final FIP 2013-19. Instituto de Fomento Pesquero (IFOP), Valparaíso, Chile.
- 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, Saavedra-Nievas J, Plaza-Pasten G, Niklitschek E, Morales-Nin B (2019) Ontogenetic and intraspecific variability in otolith shape of anchoveta (*Engraulis ringens*) used to identify demographic units in the Pacific southeast off Chile. *Marine and Freshwater Research* 70:1794–1804.
- Ciancio J, Pascual MA, Botto F, Frere E, Iribarne O (2008) Trophic relationships of exotic anadromous salmonids in the southern Patagonian Shelf as inferred from stable isotopes. *Limnol Oceanogr* 53:788–798.
- Clausen LAW, Bekkevold D, Hatfield EMC, Mosegaard H (2007) Application and validation of otolith microstructure as a stock identification method in mixed Atlantic herring (*Clupea harengus*) stocks in the North Sea and western Baltic. *ICES J Mar Sci* 64:377–385.
- Contreras T, Castro LR, Montecinos S, Gonzalez HE, Soto S, Muñoz MI, Palma S (2014) Environmental conditions, early life stages distributions and larval feeding of patagonian sprat *Sprattus fuegensis* and common sardine *Strangomera bentincki* in fjords and channels of the northern Chilean patagonia. *Progress in Oceanography* 129:136–148.
- Cubillos LA, Castro L, Gutierrez M, Navarro E (2015) Evaluación hidroacústica de pelágicos pequeños en aguas interiores de la X y XI Regiones, año 2013. Informe Final Proyecto FIP 2013-11.
- Curin-Osorio S, Cubillos LA, Chong J (2012) On the intraspecific variation in morphometry and shape of sagittal otoliths of common sardine, *Strangomera bentincki*, off central-southern Chile. *Scientia Marina* 76:659–666.
- Darnaude AM, Hunter E (2018) Validation of otolith  $\delta^{18}\text{O}$  values as effective natural tags for shelf-scale geolocation of migrating fish. *Mar Ecol Prog Ser* 598:167–185.
- Denechaud C, Smoliński S, Geffen AJ, Godiksen JA (2020) Long-term temporal stability of Northeast Arctic cod (*Gadus morhua*) otolith morphology. *ICES Journal of Marine Science* 77:1043–1054.
- Dettman DL, Reische AK, Lohmann KC (1999) Controls on the stable isotope composition of seasonal growth bands in aragonitic fresh-water bivalves (Unionidae). *Geochimica et Cosmochimica Acta* 63:1049–1057.
- Dingemans NJ, Dochtermann NA (2013) Quantifying individual variation in behaviour: mixed-effect modelling approaches. *Journal of Animal Ecology* 82:39–54.
- Dray S, Bauman D, Blanchet G, Borcard D, Clappe S, Guenard G, Jombart T, Larocque G, Legendre P, Madi N, Wagner HH (2020) Adespatial: multivariate multiscale spatial analysis.

- Eldson TS, Gillanders BM (2005) Alternative life-history patterns of estuarine fish: barium in otoliths elucidates freshwater residency. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 62:1143–1152.
- Eldson TS, Gillanders BM (2003) Reconstructing migratory patterns of fish based on environmental influences on otolith chemistry. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 13:219–235.
- Eldson TS, Gillanders BM (2006) Temporal variability in strontium, calcium, barium, and manganese in estuaries: Implications for reconstructing environmental histories of fish from chemicals in calcified structures. *Estuar Coast Shelf Sci* 66:147–156.
- Elwertowski J (1957) Biologiczna charakterystyka polskich poławów szprota w Bałtyku Południowym w latach 1950-1954. Wydawnictwo Morskie.
- Ferrari S, Alegre B, Gandini P (2004) Dieta del cormorán imperial (*Phalacrocorax atriceps*) en el sur de Santa Cruz (Patagonia, Argentina). *Ornitol Neotrop* 15:103–110.
- Fox J, Weisberg S (2011) *An R companion to applied regression*, 2nd ed. Sage Publications, California, USA.
- Francis RICC, Horn PL (1997) Transition zone in otoliths of orange roughy (*Hoplostethus atlanticus*) and its relationship to the onset of maturity. *Marine Biology* 129:681–687.
- Gaemers PA (1983) Taxonomic position of the Cichlidae (Pisces, Perciformes) as demonstrated by the morphology of their otoliths. *Netherlands Journal of Zoology* 34:566–595.
- Galleguillos R, Ferrada S, Canales C, Hernández C, Oliva M, González MT, Cubillos L, Niklitschek E, Toledo P (2012) Determinación de unidades poblacionales de sardina austral entre la X y XII regiones de Chile. Informe Final Proyecto FIP 2010-17. Universidad de Concepción, Concepción, Chile.
- Garcés C, Niklitschek EJ, Plaza G, Cerna F, Leisen M, Toledo P, Barra F (2019) Anchoveta *Engraulis ringens* along the Chilean coast: Management units, demographic units and water masses: Insights from multiple otolith-based approaches. *Fisheries Oceanography* 28:735–750.
- García Alonso VA, Brown DR, Pájaro M, Capitano FL (2020) Growing up down south: spatial and temporal variability in early growth of Fuegian sprat *Sprattus fuegensis* from the southwest Atlantic Ocean. *Frontiers in Marine Science* 7:322.
- Garrido S, Ben-Hamadou R, Santos AMP, Ferreira S, Teodósio MA, Cotano U, Irigoien X, Peck MA, Saiz E, Ré P (2015) Born small, die young: Intrinsic, size-selective mortality in marine larval fish. *Scientific reports* 5.
- Gauldie RW (1996) Biological factors controlling the carbon isotope record in fish otoliths: Principles and evidence. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology* 115:201–208.
- Graps A (1995) An introduction to wavelets. *IEEE computational science and engineering* 2:50–61.
- Guelinckx J, Maes J, De Brabandere L, Dehairs F, Ollevier F (2006) Migration dynamics of clupeoids in the Schelde estuary: a stable isotope approach. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 66:612–623.
- Hadfield JD (2010) MCMC methods for multi-response generalized linear mixed models: the MCMCglmm R package. *Journal of Statistical Software* 33:1–22.

- Hamer PA, Jenkins GP (1997) Larval supply and short-term recruitment of a temperate zone demersal fish, the King George whiting, *Sillaginodes punctata* Cuvier and Valenciennes, to an embayment in south-eastern Australia. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 208:197–214.
- Hecht T, Appelbaum S (1982) Morphology and taxonomic significance of the otoliths of some bathypelagic Anguilloidei and Saccopharyngoidei from the Sargasso Sea. *Helgoländer Meeresuntersuchungen* 35:301–308.
- Herling C, Culik BM, Hennicke JC (2005) Diet of the Humboldt penguin (*Spheniscus humboldti*) in northern and southern Chile. *Marine Biology* 147:13–25.
- Houde ED, Zastrow CE (1993) Ecosystem- and taxon-specific dynamic and energetics properties of larval fish assemblages. *Bulletin of Marine Science* 53:290–335.
- Husebø AA, Slotte A, Clausen LAW, Mosegaard H (2005) Mixing of populations or year class twinning in Norwegian spring spawning herring? *Marine and Freshwater Research* 56:763–772.
- Hüssy K (2008) Otolith shape in juvenile cod (*Gadus morhua*): Ontogenetic and environmental effects. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 364:35–41.
- Ihssen PE, Booke HE, Casselman JM, McGlade JM, Payne NR, Utter FM (1981) Stock identification: materials and methods. *Can J Fish Aquat Sci* 38:1838–1855.
- Iriarte JL, González HE, Liu KK, Rivas C, Valenzuela C (2007) Spatial and temporal variability of chlorophyll and primary productivity in surface waters of southern Chile (41.5–43 S). *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 74:471–480.
- Iriarte JL, Pantoja S, Daneri G (2014) Oceanographic processes in Chilean Fjords of Patagonia: from small to large-scale studies. *Progress in Oceanography* 129:1–7.
- Jacob BG, Tapia FJ, Daneri G, Iriarte JL, Montero P, Sobarzo M, Quiñones RA (2014) Springtime size-fractionated primary production across hydrographic and PAR-light gradients in Chilean Patagonia (41–50 S). *Progress in Oceanography* 129:75–84.
- Jochum KP, Scholz D, Stoll B, Weis U, Wilson SA, Yang Q, Schwalb A, Börner N, Jacob DE, Andreae MO (2012) Accurate trace element analysis of speleothems and biogenic calcium carbonates by LA-ICP-MS. *Chem Geol* 318:31–44.
- Jochum KP, Weis U, Stoll B, Kuzmin D, Yang Q, Raczek I, Jacob DE, Stracke A, Birbaum K, Frick DA (2011) Determination of reference values for NIST SRM 610–617 glasses following ISO guidelines. *Geostand Geoanal Res* 35:397–429.
- Kalish JM (1991)  $^{13}\text{C}$  and  $^{18}\text{O}$  isotopic disequilibria in fish otoliths: metabolic and kinetic effects. *Mar Ecol-Prog Ser* 75:191–203.
- Kell LT, Crozier WW, Legault CM (2004) *Mixed and multi-stock fisheries*. Oxford University Press.
- Kimura DK (1980) Likelihood methods for the von Bertalanffy growth curve. *Fish Bull* 77:765–776.
- Landaeta MF, López G, Suárez-Donoso N, Bustos CA, Balbontín F (2012) Larval fish distribution, growth and feeding in Patagonian fjords: potential effects of freshwater discharge. *Environmental Biology of Fishes* 93:1–15.
- Laptikhovskiy VV, Arkhipkin AI, Henderson AC (2001) Feeding habits and dietary overlap in spiny dogfish *Squalus acanthias* (Squalidae) and narrow mouth catshark *Schroederichthys bivis* (Scyliorhinidae). *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 81:1015–1018.

- Leal E, Canales TM, Aranís A, Gonzáles M (2011) Actividad reproductiva y longitud de madurez de sardina austral *Sprattus fuegensis* en el mar interior de Chiloé, Chile. *Rev Biol Mar Oceanog* 46:43–51.
- Legendre P, Legendre L (2012) *Numerical Ecology*, 3rd English edition, Second English Edition. Elsevier Science B.V., Amsterdam, The Netherlands.
- LeGrande AN, Schmidt GA (2006) Global gridded data set of the oxygen isotopic composition in seawater. *Geophys Res Lett* 33:L12604.
- Leites LP, Robinson AP, Rehfeldt GE, Marshall JD, Crookston NL (2012) Height-growth response to climatic changes differs among populations of Douglas-fir: a novel analysis of historic data. *Ecological Applications* 22:154–165.
- Levene H (1960) Robust tests for equality of variances. In: *Contributions to probability and statistics: essays in honor of Harold Hotelling*. Olkin I, Ghurye SG, Hoëffding W, Madow WG, Mann HB (eds) Stanford University Press, Stanford, California (USA), p 278–292
- Libungan LA, Pálsson S ebjörn (2015) ShapeR: an R package to study otolith shape variation among fish populations. *PLoS ONE* 10:e0121102.
- Lillo S, Lang C, Legua J, Molina E, Cerna F, López A, Eisele G (2016) Evaluación hidroacústica de pequeños pelágicos en aguas interiores de la X y XI regiones, año 2015. Informe Final. Instituto de Fomento Pesquero, Valparaíso, Chile.
- Lillo S, Lang C, Molina E, Cerna F, López A, Castro L, Cubillos L, Legua J (2015) Evaluación hidroacústica de pequeños pelágicos en aguas interiores de la X y XI regiones, año 2014. Informe Final. Instituto de Fomento Pesquero, Valparaíso, Chile.
- Littel RC, Milliken GA, Stroup WW, Wolfinger RD (1996) *SAS system for mixed models*. Sas Institute Inc., Cary, N.C.
- Lleonart J, Salat J, Torres GJ (2000) Removing allometric effects of body size in morphological analysis. *Journal of Theoretical Biology* 205:85–93.
- Lombarte A, Lleonart J (1993) Otolith size changes related with body growth, habitat depth and temperature. *Environmental biology of fishes* 37:297–306.
- Luck GW, Daily GC, Ehrlich PR (2003) Population diversity and ecosystem services. *Trends Ecol Evol* 18:331–336.
- Madirolas A, R.Sánchez, Hansen J, Alvarez G, Reta R (2000) Distribución, abundancia, biología y hábitat de la sardina fueguina (*Sprattus fuegensis*). Instituto Nacional de Desarrollo Pesquero. INIDEP., Mar del Plata. Argentina.
- Mann S, Parker SB, Ross MD, Skarnulis AJ, Williams RJP (1983) The ultrastructure of the calcium carbonate balance organs of the inner ear: an ultra-high resolution electron microscopy study. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences* 218:415–424.
- Mille T, Mahe K, Cachera M, Villanueva MC, De Pontual H, Ernande B (2016) Diet is correlated with otolith shape in marine fish. *Marine Ecology Progress Series* 555:167–184.
- Miller TJ, Crowder LB, Rice JA, Marschall EA (1988) Larval size and recruitment mechanisms in fishes: toward a conceptual framework. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 45:1657–1670.

- Millones A, Frere E, Gandini P (2005) Dieta del cormorán gris (*Phalacrocorax gaimardi*) en la ría Deseado, Santa Cruz, Argentina. *Ornitol Neotrop* 16:519–527.
- Montero P, Daneri G, González HE, Iriarte JL, Tapia FJ, Lizárraga L, Sanchez N, Pizarro O (2011) Seasonal variability of primary production in a fjord ecosystem of the Chilean Patagonia: Implications for the transfer of carbon within pelagic food webs. *Continental Shelf Research* 31:202–215.
- Morrongiello JR, Thresher RE (2015) A statistical framework to explore ontogenetic growth variation among individuals and populations: a marine fish example. *Ecological Monographs* 85:93–115.
- Nason G (2012) Wavethresh: Wavelets statistics and transforms. R package version 4.5.
- Neilson JD, Geen GH, Chan B (1985) Variability in dimensions of salmonid otolith nuclei: Implications for stock identification and microstructure interpretation. *Fishery Bulletin* 83:81–89.
- Neira S, Arancibia H, Barros M, Castro L, Cubillos L, Niklitschek E, Alarcón R (2014) Rol ecosistémico de sardina austral e impacto de su explotación sobre la sustentabilidad de otras especies de interés. Informe Final Proyecto FIP 2012-15. Universidad de Concepción, Concepción, Chile.
- Nelson GA (2014) Fishmethods: Fisheries methods and models in R.
- Niklitschek EJ, Cerna F, Ferrada S, Garcés C, Oliva M, Plaza G, Toledo P (2018) Determinación de unidades poblacionales de anchoveta (*Engraulis ringens*) en Chile. Informe Final FIPA 2015-22. Universidad de Los Lagos/Centro i~mar, Puerto Montt, Chile.
- Niklitschek EJ, Ernst B, Barría C, Araya M, Toledo P (2011) Cuantificar y estimar las tasas de consumo y posibles efectos tróficos producidos por la composición dietaria de los salmonideos. In: *Evaluación cuantitativa del estado trófico de salmónidos de vida libre en el Fiordo Aysén, XI Región. Informe Final FIP 2008-30*. Niklitschek EJ, Toledo P (eds) Universidad Austral de Chile (Centro Trapanada), Coyhaique, Chile, p 97–118
- Niklitschek EJ, Leiva F, Robles Y, Garcés C (2015) Marcadores biológicos: Microquímica en otolitos. In: *Origen natal y distribución geográfica de reineta en Chile. Proyecto FIP 2013-21*. Ferrada S, Canales-Aguirre C, Oliva M, Niklitschek EJ, Leal E, Carrasco C (eds) Universidad de Concepción, Concepción, Chile, p 79–98
- Niklitschek EJ, Secor DH, Roa-Ureta R, Lafon A, Valenzuela X (2008) Comparación de la composición microquímica de otolitos de merluza de tres aletas *Micromesistius australis* entre áreas de reproducción de los océanos Atlántico y Pacífico. In: *Unidades poblacionales de merluza de tres aletas (Micromesistius australis)*. Informe Final FIP 2006-15. Niklitschek E, Toledo P, Lafon A (eds) Universidad Austral de Chile (Centro Trapanada), Coyhaique, Chile, p 73–81
- Niklitschek EJ, Secor DH, Toledo P, Lafon A, George-Nascimento M (2010) Segregation of SE Pacific and SW Atlantic blue whiting stocks: evidence from complementary otolith microchemistry and parasite assemblages. *Env Biol Fish* 89:399–413.
- Niklitschek EJ, Secor DH, Toledo P, Valenzuela X, Cubillos LA, Zuleta A (2014) Nursery systems for Patagonian grenadier off Western Patagonia: large inner sea or narrow continental shelf? *ICES J Mar Sci* 71:374–390.
- Niklitschek EJ, Toledo P (2011) Origen natal de contingentes de bacalao de profundidad (*Dissostichus eleginoides*) capturados en aguas chilenas. Informe final subcontrato Universidad de Concepción / Universidad Austral de Chile-Universidad de Los Lagos. Universidad de Los Lagos, Puerto Montt, Chile.

- Niklitschek EJ, Toledo P, Rojas O, Barría C (2012) Aproximación basada en microquímica de otolitos. In: *Determinación de unidades poblacionales de sardina austral entre la X y XII regiones de Chile. Informe Final Proyecto FIP 2010-17*. Galleguillos R, Ferrada S, Canales C, Hernández C, Oliva M, González MT, Cubillos L, Niklitschek E, Toledo P (eds) Universidad de Concepción, Concepción, Chile, p 146–166
- Nilsson LAF, Thygesen UH, Lundgren B, Nielsen BF, Nielsen JR, Beyer JE (2003) Vertical migration and dispersion of sprat (*Sprattus sprattus*) and herring (*Clupea harengus*) schools at dusk in the Baltic Sea. *Aquatic Living Resources* 16:317–324.
- Ojaveer E, Kalejs M (2010) Ecology and long-term forecasting of sprat (*Sprattus sprattus balticus*) stock in the Baltic Sea: a review. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 20:203–217.
- Oksanen J, Blanchet FG, Kindt R, Legendre P, Minchin PR, O'hara RB, Simpson GL, Solymos P, Stevens MHH, Wagner H (2013) Community ecology package. R package version:2–0.
- Paek H, Yu J-Y, Qian C (2017) Why were the 2015/2016 and 1997/1998 extreme El Niños different? *Geophysical Research Letters* 44:1848–1856.
- Palma S, Silva N (2008) Progress in the oceanographic knowledge of Chilean interior waters, from Puerto Montt to Cape Horn.
- Palomera I, Morales-Nin B, Lleó J (1988) Larval growth of anchovy, *Engraulis encrasicolus*, in the Western Mediterranean Sea. *Marine Biology* 99:283–291.
- Pannella G (1971) Fish otoliths: daily growth layers and periodical patterns. *Science* 173:1124–1127.
- Parisi-Baradad V, Lombarte A, García-Ladona E, Cabestany J, Piera J, Chic O (2005) Otolith shape contour analysis using affine transformation invariant wavelet transforms and curvature scale space representation. *Marine and Freshwater Research* 56:795–804.
- Paton C, Hellstrom J, Paul B, Woodhead J, Hergt J (2011) lolite: Freeware for the visualisation and processing of mass spectrometric data. *J Anal Atom Spectrom* 26:2508–2518.
- Peck MA, Baumann H, Bernreuther M, Clemmesen C, Herrmann J-P, Haslob H, Huwer B, Kanstinger P, Köster FW, Petereit C, Temming A, Voss R (2012) The ecophysiology of *Sprattus sprattus* in the Baltic and North Seas. *Progress in Oceanography* 107:31–46.
- Pella J, Masuda M (2005) Classical discriminant analysis, classification of individuals, and source population composition of mixtures. In: *Stock identification methods: Applications in fishery science*. Cadrin SX, Friedland KD, Waldman JR (eds) Elsevier Academic Press, Amsterdam, p 517–522
- Peltonen H, Vinni M, Lappalainen A, Pönni J (2004) Spatial feeding patterns of herring (*Clupea harengus* L.), sprat (*Sprattus sprattus* L.), and the three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus* L.) in the Gulf of Finland, Baltic Sea. *ICES J Mar Sci* 61:966–971.
- Pennington M, Volstad JH (1994) Assessing the effect of intra-haul correlation and variable density on estimates of population characteristics from Marine surveys. *Biometrics* 50:725–732.
- Pinheiro JC, Bates DM (2000) Mixed effects models in S and S-PLUS. Springer Verlag, New York (USA).
- Plaza G, Honda H, Sakaji H, Nashida K (2006) Patterns of growth in the early life history of the round herring *Etrumeus teres*. *Journal of Fish Biology* 68:1421–1435.

- Plaza G, Honda H, Sakaji H, Nashida K (2005) Preparing 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, Katayama S, Omori M (2001) Otolith microstructure of the black rockfish, *Sebastesinermis*. *Marine Biology* 139:797–805.
- Pothin K, Gonzalez-Salas C, Chabanet P, Lecomte-Finiger R (2006) Distinction between *Mulloidichthys flavolineatus* juveniles from Reunion Island and Mauritius Island (south-west Indian Ocean) based on otolith morphometrics. *Journal of Fish Biology* 69:38–53.
- Quay P, Sonnerup R, Westby T, Stutsman J, McNichol A (2003) Changes in the  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  of dissolved inorganic carbon in the ocean as a tracer of anthropogenic  $\text{CO}_2$  uptake. *Global Biogeochemical Cycles* 17:4–1.
- Radl A, Culik BM (1999) Foraging behaviour and reproductive success in Magellanic penguins (*Spheniscus magellanicus*): a comparative study of two colonies in southern Chile. *Marine Biology* 133:381–393.
- Raventós N, Macpherson E (2001) Planktonic larval duration and settlement marks on the otoliths of Mediterranean littoral fishes. *Marine Biology* 138:1115–1120.
- Riccaldelli L, Newsome SD, Fogel ML, Goodall RnP (2010) Isotopic assessment of prey and habitat preferences of a cetacean community in the southwestern South Atlantic Ocean. *Marine Ecology Progress Series* 418:235–248.
- Rooker J, Secor DH (2004) Stock structure and mixing of Atlantic bluefin tuna: evidence from stable  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{18}\text{O}$  isotopes in otoliths. *Collective Volume of Scientific Papers ICCAT* 56:1115–1120.
- Sánchez RP, Remeslo A, Madirolas A, Deciechowski JD (1995) Distribution and abundance of post-larvae and juveniles of the Patagonian Sprat *Sprattus fueguensis*, and related hydrographic conditions. *Fisheries Research* 23:47–81.
- Schiavini AC, Goodall RNP, Lescrauwaet A-K, Alonso MK, others (1997) Food habits of the Peale's dolphin, *Lagenorhynchus australis*; Review and new information. *International Whaling Commission Report* 47:827–834.
- Sernapesca (2016) Servicio Nacional de Pesca: Anuarios Estadísticos (en línea). URL <http://www.sernapesca.cl>, accesado 2016-07-30.
- Sievers HA, Silva N (2008) Water masses and circulation in austral Chilean channels and fjords. In: *Progress in the oceanographic knowledge of Chilean interior waters, from Puerto Montt to Cape Horn*. Silva N, Palma S (eds) Comité Oceanográfico Nacional-Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso, Chile, p 53–58
- Smith MK (1992) Regional differences in otolith morphology of the deep slope red snapper *Etelis carbunculus*. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 49:795–804.
- Spalding MD, Fox HE, Allen GR, Davidson N, Ferdaña ZA, Finlayson M, Halpern BS, Jorge MA, Lombana AL, Lourie SA, others (2007) Marine ecoregions of the world: a bioregionalization of coastal and shelf areas. *BioScience* 57:573–583.
- Sponaugle S, Cowen RK (1994) Larval durations and recruitment patterns of two Caribbean gobies (Gobiidae): contrasting early life histories in demersal spawners. *Marine Biology* 120:133–143.

- Stauffer C, Grimson WEL (2000) Learning patterns of activity using real-time tracking. *IEEE Transactions on pattern analysis and machine intelligence* 22:747–757.
- Stenevik EK are, Fossum P, Johannessen A, Folkvord A (1996) Identification of Norwegian spring spawning herring (*Clupea harengus* L.) larvae from spawning grounds off western Norway applying otolith microstructure analysis. *Sarsia* 80:285–292.
- Svedäng H, Righton D, Jonsson P (2007) Defining ‘natal homing’ in marine fish populations; need for inference in fishery science: reply to Bradbury & Laurel (2007). *Marine Ecology Progress Series* 349:309–310.
- Tanabe T, Kayama S, Ogura M, Tanaka S (2003) Daily increment formation in otoliths of juvenile skipjack tuna *Katsuwonus pelamis*. *Fisheries Science* 69:731–737.
- Thresher RE (1999) Elemental composition of otoliths as a stock delineator in fishes. *Fish Res* 43:165–204.
- Toledo P, Darnaude AM, Niklitschek EJ, Ojeda V, Voué R, Leiva FP, Labbone M, Canales-Aguirre CB (2019) Partial migration and early growth of southern hake *Merluccius australis*: a journey between estuarine and oceanic habitats off Northwest Patagonia. *ICES J Mar Sci* 76:1094–1106.
- Turan C (2000) Otolith shape and meristic analysis of herring (*Clupea harengus*) in the North-East Atlantic. *Archive of Fishery and Marine Research* 48:213–225.
- Turan C, Oral M, Öztürk B, Düzgüneş E (2006) Morphometric and meristic variation between stocks of Bluefish (*Pomatomus saltatrix*) in the Black, Marmara, Aegean and northeastern Mediterranean Seas. *Fisheries Research* 79:139–147.
- Tuset VM, Lozano IJ, Gonzalez JA, Pertusa JF, García-Díaz MM (2003) Shape indices to identify regional differences in otolith morphology of comber, *Serranus cabrilla* (L., 1758). *Journal of Applied Ichthyology* 19:88–93.
- Tuset VM, Rosin PL, Lombarte A (2006) Sagittal otolith shape used in the identification of fishes of the genus *Serranus*. *Fisheries Research* 81:316–325.
- Venables WN, Ripley BD (2002) *Modern applied statistics with S*, 4th edition. Springer, New York.
- Victor BC (1982) Daily otolith increments and recruitment in two coral-reef wrasses, *Thalassoma bifasciatum* and *Halichoeres bivittatus*. *Marine Biology* 71:203–208.
- Volkoff MC, Titus RG (2007) Use of otolith microstructure to discriminate stocks of juvenile Central Valley, California, fall-run Chinook salmon. *Transactions of the American Fisheries Society* 136:195–210.
- Volpedo AV, Miretzky P, Fernandez Cirelli A (2006) Stocks pesqueros de *Cynoscion guatucupa* y *Micropogonias furnieri* (Pisces, Sciaenidae), en la costa atlántica de Sudamérica: comparación entre métodos de identificación. *Memoria* 66:115–130.
- Wasserstein RL, Lazar NA (2016) The ASA’s statement on p-values: context, process, and purpose. *The American Statistician* 70:129–133.
- Wasserstein RL, Schirm AL, Lazar NA (2019) Moving to a world beyond “ $p < 0.05$ .” *The American Statistician* 73:1–19.

- Whitehead PJP (1985) Clupeoid fishes of the world. An annotated and illustrated catalogue of the herrings, sardines, pilchards, sprats, anchovies and wolfherrings. Part 1. Chirocentridae, Clupeidae and Pristigasteridae. *FAO Fisheries Synopsis* 125:303.
- Wood S (2006) *Generalized additive models: an introduction with R*. CRC press.
- Wurster C, Patterson W, Cheatham M (1999) Advances in micromilling techniques: a new apparatus for acquiring high-resolution oxygen and carbon stable isotope values and major/minor elemental ratios from accretionary carbonate. *Comput and Geosci* 25:1159–1166.
- Yoshinaga J, Nakama A, Morita M, Edmonds JS (2000) Fish otolith reference material for quality assurance of chemical analyses. *Mar Chem* 69:91–97.
- Zabel RW, Haught K, Chittaro PM (2010) Variability in fish size/otolith radius relationships among populations of Chinook salmon. *Environ Biol Fish* 89:267–278.
- Zan X-X, Zhang C, Xu B-D, Zhang C-L (2015) Relationships between fish size and otolith measurements for 33 fish species caught by bottom trawl in Haizhou Bay, China. *Journal of Applied Ichthyology* 31:544–548.

## ANEXO 1.- PERSONAL PARTICIPANTE POR ACTIVIDAD

Personal participante por cada objetivo del proyecto y horas trabajadas en cada uno de ellos.

Institución	Nombre	Objetivo 1	Objetivo 2	Objetivo 3	Objetivo 4	Total
Universidad de Los Lagos	Edwin Niklitschek	46	100	100	100	346
	Cristobal Garcés	50	572	20	10	652
	J. Pamela Toledo	60	640	50	50	800
	Paulina Carimán		1454			1454
Pontificia Universidad Católica de Valparaíso	Guido Plaza	40	380	50	50	520
	Camilo Rodríguez		1540			1540
	Ana María Galeano		770			770
Instituto de Fomento Pesquero	J. Francisco Cerna	40	385	50	50	525
	Juan Carlos Saavedra		68			68
	A. Cecilia Machuca		566			566
	Amalia López		576			576
	Antonio Aranís				24	24
Universidad de Chile	Fernando Barra		24			24

## ANEXO 2.- TALLER DE DIFUSIÓN DE RESULTADOS PROYECTO FIPA 2018-38

El taller de difusión de resultados se realizó el 12 de marzo de 2021 de manera virtual, dada la contingencia sanitaria derivada del COVID-19.

El programa del taller fue el siguiente:

  
**Universidad Austral de Chile    UNIVERSIDAD DE LOS LAGOS**  
*Programa de Investigación Pesquera UACH-ULagos*

Taller de difusión de resultados  
Proyecto FIPA 2018-38  
**“DETERMINACIÓN DE UNIDADES DEMOGRÁFICAS DE SARDINA AUSTRAL EN LAS X Y XI REGIONES”**

Horario	Tema o actividad	Expositor/Responsable
09:45-10:00	Apertura y admisión en sesión virtual	Pamela Toledo
10:00-10:15	Presentación del proyecto	Edwin Niklitschek
10:15-10:40	Diseño de muestreo (Objetivo 1)	Edwin Niklitschek
10:40-11:10	Análisis elemental e isotópico (Objetivo 2)	Edwin Niklitschek
11:10-11:40	Análisis micro-estructural	Guido Plaza
11:40-11:50	Pausa	Pamela Toledo
11:50-12:20	Análisis morfométrico, morfológico y macro-estructural	Francisco Cerna
12:20-12:45	Análisis de mezcla	Edwin Niklitschek
12:45-13:15	Modelo conceptual	Edwin Niklitschek
13:15-13:45	Conclusiones y discusión general	Equipo proyecto y asistentes



## Lista de asistentes

Institución	Nombres
Subsecretaría de Pesca (SUBPESCA)	1. Francisco Holmberg 2. Karin Silva 3. Silvia Hernández 4. Víctor Espejo
Fondo de Investigación Pesquera y Acuicultura (FIPA)	5. Rafael Hernández
Universidad de Los Lagos (ULA)	6. Edwin Niklitschek 7. Pamela Toledo 8. Cristóbal Garcés
Pontificia Universidad Católica de Valparaíso (PUCV)	9. Guido Plaza
Instituto de Fomento Pesquero (IFOP)	10. José Francisco Cerna 11. Fernando Espíndola 12. Rudelinda Bravo 13. Alejandra Gómez 14. Amalia López 15. Antonio Aranís 16. Cecilia Machuca 17. Doris Bucarey 18. Fernando Espíndola 19. Francisco Muñoz 20. Juan Carlos Quiroz 21. Jorge Castillo 22. Juan Carlos Saavedra 23. Karen Walker 24. María José Zúñiga 25. Sergio Lillo 26. Erick Gaete
World Wildlife Fund (WWF)	27. Cristina Torres
Federación Pelágica - Los Lagos (FERPAP - Los Lagos)	28. Francisco Aravena
Asociación Gremial de Armadores y Pescadores Cerqueros Artesanales (ASOGPESCA)	29. Segundo Herrera
Sociedad Comercial y Pesquera Ltda. (SOCOPES)	30. Víctor Barría
Ramalab	31. José Luis Blanco

Institución	Nombres
Instituto de Investigación Pesquera (INPESCA)	32. Marcos Arteaga 33. Sebastián Vásquez
Universidad Austral de Chile	34. Rodrigo Hucke
Universidad de Concepción	35. Sergio Neira 36. Sandra Ferrada
Fiordo Austral	37. Pedro Chávez 38. Antonio Turner 39. Alberto Millaquén 40. Marcos Chávez

### Desarrollo del Taller:

- Al taller fueron invitados funcionarios de la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura de Valparaíso, del Fondo de Investigación Pesquera y Acuicultura, del Instituto de Fomento Pesquero, miembros del Comité Científico y del Comité de Manejo, además de organizaciones gremiales y organizaciones no gubernamentales.
- A las 9:45 del día viernes 12 de marzo de 2021 se comenzó a aceptar el acceso al taller, comenzando este a las 10 horas con la presentación inicial y palabras de bienvenida dadas por el coordinador del proyecto, Dr. Edwin Niklitschek. Dada la complejidad de la coordinación de un taller en línea, se solicitó realizar solo un par de preguntas al final de cada presentación, dejando el grueso de ellas para el final.
- La introducción mencionó las instituciones y el personal participante en el proyecto. Además de distintos enfoques que se pueden hacer de las unidades poblacionales: evolutivas, demográficas y de manejo o gestión. Se presentan los objetivos del proyecto.

### Presentación objetivo 1, Edwin Niklitschek, Universidad de Los Lagos

- El proyecto se basó en una selección de muestras ya disponibles, dadas las bases del proyecto. El número de muestras superó, en general, lo comprometido en la oferta técnica, pero las muestras se distribuyeron en un número mayor de cohortes (2014-2016) que lo planificado (2015 y 2016)
- El muestreo en Aysén fue algo inferior a lo planificado dada la limitada cobertura temporal y espacial de la flota y de los lances de investigación. Sin perjuicio de ello, los niveles de incertidumbre se ajustaron, en general, a lo esperado (<20%).
- El señor J. Castillo observa que es lo mejor que se pudo hacer con las muestras existentes y los plazos del proyecto.

**Presentación objetivo 2.1. Aproximación química de otolitos, Edwin Niklitschek, Universidad de Los Lagos**

- Los otolitos de peces juveniles mostraron diferencias isotópicas claras y relevantes entre zonas, siendo consistentes con la variabilidad oceanográfica y validando su uso como marcadores naturales de origen
- Las diferencias elementales fueron menos evidentes (cohortes 2014 y 2015)
- Las concentraciones de metales y  $\delta^{13}\text{C}$  en otolitos de juveniles presentaron alta variabilidad interanual lo que limita la extrapolación entre cohortes
- Las señales químicas observadas en adultos indican áreas de crianza distintas para cada zona, mezcla limitada entre grupos durante todo el ciclo de vida y migración ontogénica a aguas más profundas y/o oceánicas

**Presentación objetivo 2.2: Análisis de la microestructura de los otolitos (AMO). Guido Plaza, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso.**

- Los otolitos sagitales de pre-reclutas, reclutas y adultos, registraron con elevada precisión los cambios de grosor y radio, para los primeros 50 días de vida en ambas zonas de estudio.
- La reconstrucción de las fechas de nacimiento de los pre-reclutas y reclutas <9 cm, fluctuaron entre fines de invierno y mediados de primavera, coincidiendo con la época de desove reportada para sardina austral otorgando confiabilidad a los análisis microestructurales, realizados a nivel diario en este proyecto.
- Las tasas de crecimiento diarias globales fueron menores en Aysén que en Chiloé, para las cohortes 2015 y 2016.
- Los grosores y radios para los primeros 50 días de vida fueron consistentemente mayores en ejemplares adultos y sub-adultos de Chiloé que de Aysén, para las cohortes 2014, 2015 y 2016. Esto con excepción de los pre-reclutas de la cohorte de 2015 donde las medias de ambas variables fueron similares entre zonas.
- Los resultados derivados de la AMO confirman la capacidad del otolito de actuar como marcador natural, capturando en su microestructura los cambios y variaciones producidos por los potenciales controladores del crecimiento temprano, de pre-reclutas, reclutas y adultos de la sardina austral en las zonas de Chiloé y Aysén.

**Presentación objetivo 2.3, Aproximación morfometría de otolitos, Francisco Cerna, IFOP**

- Los resultados muestran que, para cuatro de los cinco índices medidos, la forma del otolito se estabiliza a partir de los 13 cm (LT), cuando el pez ha alcanzado la talla media de madurez sexual.

- El análisis de la forma del otolito, mostró para las cohortes 2014 y 2015, diferencias en la forma de los otolitos de Chiloé y Aysén.
- La reconstrucción del contorno promedio del otolito de adultos con el método de ondeletas mostró que las mayores diferencias entre Chiloé y Aysén se encuentran en el rostro y cauda, siendo el otolito de los ejemplares de Chiloé más grande y elíptico que el de los de Aysén.
- El modelo lineal de efectos mixtos sobre el diámetro de los *annuli* del otolito, mostró mayores tasas crecimiento en Chiloé que en Aysén, lo cual fue confirmado modelando el crecimiento individual con la ecuación de von Bertalanffy, que también mostró diferencias en los parámetros y longitudes medias a la edad entre las zonas estudiadas.

**Presentación objetivos 3 y 4 Modelo conceptual y estimación del grado de mezcla, Edwin Niklitschek, Universidad de Los Lagos**

- De los tres métodos evaluados, sólo el análisis de isótopos estables ( $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{18}\text{O}$ ) cumplió los requisitos definidos para la estimación fiable de niveles de mezcla.
- Dependiendo de la cohorte, los valores medios de mezcla estimados fueron: Chiloé: 0-11% y para Aysén: 12-25%
- La evidencia disponible sustenta la existencia de dos unidades demográficas independientes, sujetas a niveles moderados y asimétricos de mezcla, donde se observaría i) Segregación de zonas de desove (distribución huevos y larvas), ii) Segregación de zonas de crianza (química y microestructuras), iii) Segregación permanente de adultos y fidelidad a zona de crianza (química, microestructuras, morfometría, macro-estructuras)
- Los resultados del proyecto sustentan de manera consistente la hipótesis de que las actuales unidades de manejo corresponden a dos unidades demográficas independientes: i) Áreas separadas de desove, crianza y alimentación, ii) Segregación sostenida y fidelidad a zonas de crianza y alimentación, iii) Niveles moderados y asimétricos de mezcla, iv) Contribución estimada de Chiloé a Aysén: 12-35%, v) Contribución estimada de Aysén a Chiloé: 0-11%
- La información disponible permitió generar modelos conceptuales de ciclos de vida cada unidad demográfica que deben ser entendidos como hipótesis de trabajo sujetas a evaluación y verificación
- Las principales brechas de información detectadas fueron:
  - Ubicación e importancia relativa de áreas de desove y crianza (necesario identificar y proteger hábitats esenciales),
  - Mezcla reproductiva entre unidades demográficas (no necesariamente igual a mezcla en zonas de alimentación, es necesaria de ser evaluada directamente en zonas de desove)

- Variabilidad intra-anual en tasas de crecimiento, sobrevivencia y uso de hábitats de crianza (en una perspectiva de cambio climático).
- Presencia y niveles de mezcla con unidades demográficas ubicadas fuera del área de estudio (aguas exteriores?, sur de Taitao?)

### **Discusión final, consultas y comentarios de los participantes y expositores**

- El Sr. Castillo indica que se demuestra que hay diferencias entre las dos unidades de manejo, sin embargo, se abren nuevas preguntas para estas unidades demográficas, las cuales resume.
- El Sr. Niklitschek indica que los parámetros de historia de vida deben ser evaluados de manera independiente para cada unidad de manejo
- El Sr. Quiroz indica que ya se sabía que existían diferencias, sin embargo, el problema en relación con la evaluación de stock, es la complejidad en la construcción de datos. e.g. prospecciones acústicas en las dos áreas, problemas de seguimiento en cada área. Ahora ¿cómo se incluye esta nueva información en los modelos?. ¿Cuál será el grado de mezcla en la sección adultos?. Indica que habría que reestructurar la toma de datos y del componente acústico
- El Sr. Niklitschek indica que el tema tiene varias aristas. Sin embargo, Chiloé recibe poca contribución de Aysén, por lo que Aysén puede ser un poco más complejo. Pero, se debe tener cuidado, ya que estos resultados pueden tener cambios espaciales y temporales.
- El Sr. Castillo menciona que en esta época de variedad, cambio climático y otros como alteraría las cosas para esta especie pensando en la evaluación del stock.
- El Sr. Niklitschek indica que en el proyecto se eligió a propósito la cohorte 2015-16 ya que fue un año de Niño y se vio que la conectividad de Aysén a Chiloé fue nula mientras que la de Chiloé a Aysén también fue baja. Hubo un corte de conexión, sería interesante analizar lo que dice el Sr. Castillo
- El señor Blanco indica que sería bueno incorporar al grupo de modelación del IFOP con gran cantidad de datos y buenos modelos, ya que en los años 2015-16 la sequía fue grande en Aysén, hubo menos aporte de agua fría, fue uno de los años más anómalos. La variabilidad interanual es grande y se debe considerar. Hay desplazamiento del anti-ciclón al sur, hay datos pero la única respuesta podría ser con modelos. ¿Qué pasa además en las áreas protegidas, áreas de miticultura, etc?, ... se debiera evaluar. La dinámica del sector es particular, ojalá con el tiempo lo entendamos y lo comprendamos. Se indica que la sequía partió en septiembre 2015 y se extendió hasta junio 2016.
- La Sra. Hernández agradece a todo el equipo por presentar de manera simple lo complejo de las técnicas. En cuanto a los resultados indica que son muy importantes y ayudarán a

tomar decisiones los comités de manejo y los comités científicos. Se llegó a puerto con resultados claros. Quedan aún cosas por entender pero siempre hay desafíos

- El Sr. Niklitschek indica que aún queda el informe final, por lo que cualquier sugerencia es bienvenida. Agradece a los concurrentes por los aportes y comentarios
- El Sr. Plaza indica que esta especie cumple un rol ecológico clave (por ser especie forrajera) y habita en zonas de alta variabilidad por lo que es muy importante la generación de un buen modelo conceptual. Es auspicioso, pero aún quedan muchas interrogantes (áreas de crianza, etc).
- El Sr. Cerna, a modo de cierre, agradece al resto del equipo, indicando que se ha trabajado mucho más allá de las técnicas aplicadas, aportando nuevos elementos para el manejo. Hubo elementos que se incorporaron en el camino bajo un esquema de trabajo efectivamente colaborativo.
- El Sr. Aranís agradece la invitación, fue grato participar y enriquecedor y por supuesto nos deja abiertas brechas de conocimiento aún.