



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

INFORME FINAL

PROYECTO DEL FONDO DE INVESTIGACIÓN PESQUERA

**“ORIGEN NATAL Y DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA DE REINETA EN
CHILE”**

FIP N° 2013-21

PROPONENTE: DEPARTAMENTO DE OCEANOGRAFÍA
UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN

REQUIRENTE: FONDO DE INVESTIGACIÓN PESQUERA

CONCEPCIÓN, DICIEMBRE 2015



JEFE DE PROYECTO

Ricardo Galleguillos González

AUTORES

**Sandra Ferrada Fuentes
Cristian B. Canales-Aguirre
Victoria Herrera Yáñez
Marcelo E. Oliva M.
Edwin J. Niklitschek
Pamela Toledo C.
Elson Leal F.
Claudio Carrasco
Milton J. Pedraza**

COLABORADORES

**Daniela Lazo
Felix P. Leiva
Yessica Robles
Luis A. Ñacari E.
Cristóbal Garcés
Alicia Gallardo G.
Christian Ibieta F.
Cristian Vargas A.
Jessica Gonzalez A.
Jorge Sáteler G.
Julio Uribe A.
Patricio Galvez G.**

Índice

Resumen ejecutivo	9
1. Antecedentes generales	15
2. Objetivos	19
2.1 Objetivo general	19
2.2 Objetivos específicos	19
3. Resultados por objetivos	20
3.1 Realizar una revisión bibliográfica del estado del arte referente a la identificación de unidades evolutivas y demográficas relevantes para el manejo pesquero.	20
3.2 Diseñar, aplicar y evaluar un plan de muestreo, temporal y geográficamente adecuado para alcanzar los restantes objetivos del proyecto.	30
3.3 Identificar y caracterizar genéticamente la(s) principal(es) unidad(es) evolutiva(s) de reineta en la costa chilena.....	33
3.4 Identificar y caracterizar la(s) principal(es) unidad(es) demográfica(s) presentes en la costa chilena.....	61
3.4.1 Marcadores biológicos: Parásitos.	61
3.4.2 Marcadores biológicos: Microquímica de otolitos	82
3.4.3 Marcadores biológicos: Morfometría Corporal.....	102
3.4.4 Marcadores biológicos: Análisis patrones de historia de vida.....	120
3.5 Estimar el número de orígenes (zonas de desove y/o crianza) y su contribución relativa a cada unidad demográfica identificada y zona principal de captura.	160
5. Referencias	170

Listado de Figuras

Figura 1: Procedencia de las muestras en el presente estudio	31
Figura 2. Densidad de probabilidades de K en microsátélites.....	56
Figura 3. Densidad de probabilidades de K en COI.....	56
Figura 4. Talla media de los peces para cada zona de pesca.	65
Figura 5. Intensidad de infección de <i>H. confjera</i> en <i>B. australis</i> en tres zonas de pesca.	71
Figura 6. Intensidad de Infección de <i>C. filiferum</i> en <i>B. australis</i> en tres zonas de pesca.	72
Figura 7. Intensidad de Infección de <i>H. trichiuri</i> en <i>B. australis</i> en tres zonas de pesca.	72
Figura 8. Intensidad de Infección de <i>Anisakis</i> sp. en <i>B. australis</i> en tres zonas de pesca.	73
Figura 9. Asociación entre talla de <i>B. australis</i> e intensidad de infección por <i>H. confjera</i>	74
Figura 10. Asociación entre talla de <i>B. australis</i> e intensidad de infección por <i>C. filiferum</i>	74
Figura 11. Asociación entre talla de <i>B. australis</i> e intensidad de infección por <i>Anisakis</i> sp.....	74
Figura 12. Asociación entre talla de <i>B. australis</i> e intensidad de infección por <i>Nybelinia</i> sp.....	75
Figura 13. Asociación entre talla de <i>B. australis</i> e intensidad de infección por <i>H. trichiuri</i>	75
Figura 14. Análisis de Correspondencia para prevalencia de infección.....	76
Figura 15. Análisis de Correspondencia para intensidad media de infección.....	76
Figura 16. . Representación gráfica del Análisis de Discriminación.	77
Figura 17. Representación gráfica del Análisis de Discriminación.	79
Figura 18. Distribución geográfica lances de pesca y estratificación por zonas de pesca y ecoregiones	86
Figura 19. Otolito de reineta y sección transversal de una hembra.	88
Figura 20. Concentraciones relativas de $\delta^{18}\text{O}$ y $\delta^{13}\text{C}$ por zona de pesca y ecoregiones.....	93
Figura 21. Concentraciones relativas de Ba, Mg, Mn y Sr por zona de pesca.....	94
Figura 22. Concentraciones relativas de Ba, Mg, Mn y Sr por ecoregión.	94
Figura 23. Diagrama bivariado de la concentración relativa de los isótopos ^{13}C y ^{18}O	96
Figura 24. Diagrama de componentes principales de las razones Ba:Ca, Sr:Ca, Mn:Ca y Mg:Ca	96
Figura 25. Imagen reineta, <i>Brama australis</i>	105
Figura 26. Análisis general de Procrustes.....	107
Figura 27. Análisis de Componentes Principales (ACP)	108
Figura 28. Análisis de Variable Canónica (AVC).....	110
Figura 29. Gráfico de alambre de Análisis de Función Discriminante (AFD).....	112
Figura 30. Análisis de Variable Canónica (AVC).....	115

Figura 31. Gráfico de alambre de Análisis de Función Discriminante (AFD).....	117
Figura 32. A. Desembarque total de reineta para el periodo 1994 – 2015 (Junio). B. Escala temporal del desembarque para el periodo 1994 – 2012.....	124
Figura 33. Desembarque total de reineta a nivel regional para el periodo 1994 – 2014.	125
Figura 34. Análisis de temporalidad de las capturas y rendimiento de pesca.	125
Figura 35. Lances georeferenciados con captura de reineta.....	129
Figura 36. Diagramas BoxPlot para los registros de captura por lance total y a nivel temporal desde la pesquería demersal zona centro-sur.	130
Figura 37. Distribución latitudinal de lances y focos de densidad.	131
Figura 38. Distribución latitudinal de CPUE y focos de densidad.	131
Figura 39. Distribución latitudinal de lances con captura efectiva y focos de densidad.....	132
Figura 40. Diagramas BoxPlot para los registros de captura por lance total y a nivel temporal desde la pesquería demersal de la zona Sur-Austral.	133
Figura 41. Distribución latitudinal de lances con captura y focos de densidad.....	134
Figura 42. Distribución latitudinal de CPUE y focos de densidad.	134
Figura 43. Distribución latitudinal de lances con captura efectiva y focos de densidad.....	135
Figura 44. Diagramas BoxPlot para los registros desde cruceros de investigación.	136
Figura 45. Distribución latitudinal de lances con captura y focos de densidad.	136
Figura 46. Distribución latitudinal del CPUE y focos de densidad.	137
Figura 47. Distribución latitudinal de lances con captura efectiva y focos de densidad.....	137
Figura 48. Información integrada de Lances georeferenciados con captura de reineta.....	138
Figura 49. Distribución latitudinal de indicadores de abundancia de reineta.	139
Figura 50. Distribución y patrones latitudinales de abundancia de reineta.....	140
Figura 51. Estructuras de tallas y pesos en reineta.	141
Figura 52. Box Plot de la talla media y peso medio en reineta	142
Figura 53. Relación longitud – Peso para el recurso reineta	144
Figura 54. Relación longitud-peso para reineta en las distintas zona.....	145
Figura 55. Proyecciones de curvas de peso a una longitud dada.....	146
Figura 56. Parámetros de RLP Log transformados.....	146
Figura 57. Frecuencia de tallas mensual para la zona norte (33° a 40° S) y zona sur (41° a 55° S) registradas durante el periodo 2004 a 2011.	147

Figura 58. Resultados de la identificación de cohortes desde la distribución de frecuencia de tallas mensual, para la zona norte.	148
Figura 59. Resultados de la identificación de cohortes desde la distribución de frecuencia de tallas mensual, para la zona sur.	149
Figura 60. Clases de edad del recurso reineta identificadas desde la distribución de frecuencia de tallas para la zona norte.	150
Figura 61. Clases de edad del recurso reineta identificadas desde la distribución de frecuencia de tallas para la zona sur.	150
Figura 62. Resultados del procedimiento de remuestreo Montecarlo para el ajuste de los parámetros de crecimiento de reineta en cada una de las zonas evaluadas.	151
Figura 63. Curva de crecimiento ajustada del recurso Reineta en las zonas evaluadas.	152
Figura 64. Información mensual y por zona de valores de IGS y estados de madurez (macroscópicos).....	154
Figura 65. Información de valores de IGS a la talla para cada una de las zonas de estudio.	155
Figura 66. Modelos Aditivos Generalizados para evaluar el efecto de la talla y temporal (mes) sobre el indicador reproductivo de IGS para cada una de las zonas de estudio.	156
Figura 67. Modelos Aditivos Generalizados para información del factor de condición se evalúa el efecto temporal para cada una de las zonas de estudio.	157
Figura 68. Ciclo de vida dominante de reineta, <i>Brama australis</i> , propuesto como hipótesis a partir de la información recopilada durante el presente estudio.....	165

Listado Tablas

Tabla 1. Conceptos teóricos y operacionales de unidades evolutivas y unidades evolutivas significativas	24
Tabla 2: Número de ejemplares de <i>Brama australis</i> obtenidos por zona y mes.....	32
Tabla 3 Número de eventos de muestreos de ejemplares de <i>Brama australis</i> en cada mes y zona.....	32
Tabla 4. Detalles de 10 loci microsatélites polimórficos desarrollados para <i>B. australis</i>	48
Tabla 5. Parámetros de variabilidad genética de <i>Brama australis</i>	49
Tabla 6. Parámetros de variabilidad genética utilizando ecoregiones.....	50
Tabla 7. Parámetros de variabilidad genética bajo el criterio de grupos de edad.....	51
Tabla 8. Parámetros de variabilidad genética por sexo.....	51
Tabla 9. Estimados del poder estadístico de 10 loci microsatélites.	52
Tabla 10. Índice de estructuración poblacional F_{st} por pares de zonas FIP.....	52
Tabla 11. Índice de estructuración poblacional R_{st} por pares de zonas FIP	52
Tabla 12. Índice de estructuración poblacional F_{st} por ecoregiones.....	53
Tabla 13. Índice de estructuración poblacional R_{st} por ecoregiones.....	53
Tabla 14. Índice de estructuración poblacional F_{st} y R_{st} por grupos de edad.	53
Tabla 15. Índice de estructuración poblacional F_{st} y R_{st} por sexo	54
Tabla 16. Análisis de varianza molecular AMOVA para COI y microsatélites.....	54
Tabla 17. Índices de diversidad molecular para el marcador COI por zonas FIP.....	54
Tabla 18. Índices de diversidad molecular para el marcador COI por ecoregiones.....	55
Tabla 19. Índice de estructuración poblacional Φ_{st} por pares de Zonas FIP.	55
Tabla 20. Índice de estructuración poblacional Φ_{st} por pares de ecoregiones.....	55
Tabla 21. Características de muestras analizadas.	65
Tabla 22. Parásitos encontrados en la muestra de <i>B. australis</i> analizada.	66
Tabla 23. Prevalencia de infección por zona de pesca.....	69
Tabla 24. Estadístico X^2 de diferencias en prevalencia de infección entre zonas de pesca.....	69
Tabla 25. Intensidad media de infección por zona de pesca.....	70
Tabla 26. Matriz de asignación correcta basada en la Intensidad de infección.....	78
Tabla 27. Valores de F-para-remover y tolerancia del análisis de discriminación múltiple, sobre intensidad media de infección.	78
Tabla 28. Matriz de asignación correcta basada en la Intensidad de infección y talla.....	79

Tabla 29. Valores de F-para-remover y tolerancia del análisis de discriminación múltiple, sobre intensidad media de infección.	79
Tabla 30. Número de ejemplares colectados y analizados de <i>B. australis</i> por zona de pesca.....	85
Tabla 31. Número de ejemplares colectados y analizados de <i>B. australis</i> por ecoregión.....	85
Tabla 32. Matriz de confusión a partir de isótopos ^{13}C y ^{18}O	97
Tabla 33. Matriz de confusión a partir de metales Ba, Mg, Mn y S.	97
Tabla 34. Matriz de confusión basada en ^{13}C y ^{18}O , y metales Ba, Mg, Mn y Sr.....	98
Tabla 35. Modelo de mezcla basada en ^{13}C y ^{18}O , y metales Ba, Mg, Mn y Sr.	99
Tabla 36. Muestras obtenidas para el análisis de morfometría corporal.	103
Tabla 37. Distancias propuestas a medir por morfometría geométrica.	105
Tabla 38. Resultados numéricos del Análisis de Variación Canónica (AVC) donde se puede obtener también la distancia de Mahalanobis y de Procrustes.	111
Tabla 39. Resultados numéricos del Análisis de Variación Canónica (AVC) donde se puede obtener también la distancia de Mahalanobis y de Procrustes.	116
Tabla 40. Identificación de proyectos de investigación fuente de la base de datos analizada. Periodo 1997- 2012.	126
Tabla 41. Estadísticos de los Modelos Lineales Generalizados realizados para la talla y peso evaluando el factor zona.....	142
Tabla 42. Estadísticos de los Modelos Lineales Generalizados realizados para la talla y peso al interior de cada zona evaluando factores temporales.	143
Tabla 43. Talla media y rango de tallas registrados para el recurso reineta frente al litoral Chileno..	143
Tabla 44. Parámetros de la relación longitud-peso de reineta por zonas.....	145
Tabla 45. Resumen de los parámetros de crecimiento estimados (sexo combinados) obtenidos en el presente análisis; se incluye los reportados por Oyarzún et al (2013) asumiendo un crecimiento tipo von Bertalanffy. (EAE: Error asintótico estándar, LI= Límite inferior, LS=Límite superior).....	152
Tabla 46. Resultados de los Modelos Aditivos Generalizados por zonas.....	156
Tabla 47. Resultados de los Modelos Aditivos Generalizados por zonas.....	158

Resumen ejecutivo

El presente Informe Final comunica las actividades realizadas, y los resultados del proyecto del Fondo de Investigación Pesquera FIP N°2013-21, titulado “Origen natal y distribución geográfica de reineta en Chile”, con el objetivo de identificar unidades evolutivas y demográficas de relevancia para el manejo pesquero de la reineta, *Brama australis*, en la costa chilena.

Para dar cumplimiento a los objetivos en primer lugar se determinó las acepciones sobre las cuales se trabajaría para unidad evolutiva y unidad demográfica, esto a partir del análisis de la revisión bibliográfica realizada. Se consensó trabajar bajo el criterio de unidad evolutiva que corresponde a una población que muestra una monofilia recíproca en variantes de su ADN mitocondrial; en concomitancia con una divergencia genética significativa de frecuencias alélicas en loci nucleares (ver Moritz, C. 1994. Defining ‘evolutionary significant units’ for conservation. *Trends in Ecology and Evolution* 9:373–375). En cuanto a una unidad demográfica, el concepto utilizado corresponde al de poblaciones con dinámicas demográficas independientes, presentando fluctuaciones estadísticamente significativas en parámetros de historia de vida como talla, fecundidad, tasa de crecimiento, entre otros caracteres o marcas naturales, además de mostrar bajo o nulo nivel de migrantes entre ellas.

La presente propuesta propone una aproximación holística para la identificación y delimitación de unidades evolutivas y demográficas, aplicando metodologías que corresponden a lo que se denomina marcas naturales, tales como información genética, morfometría corporal, fauna parasitaria, composición elemental de otolitos, y parámetros de historia de vida de *B. australis*. 382 ejemplares de reineta, recolectados por profesionales del Instituto de Fomento Pesquero, desde el Biobío a Magallanes fueron analizadas para estas cinco aproximaciones metodológicas.

Para el análisis genético se analizó información proveniente de 10 loci microsátélites nucleares, y secuencias de ADN de la Citocromo Oxidasa I, como un gen mitocondrial. Se trabajaron 334 ejemplares de *B. australis*, con un total de 3340 genotipos, y 26 haplotipos para el ADN mitocondrial, con una longitud de 619 pares de bases cada uno.

A partir de la información del muestreo biológico, y de las zonas de procedencia de las muestras, las bases de datos genéticos fueron organizados para realizar comparaciones entre zonas de captura de

reineta en Chile, agrupándolas en un área Centro-Sur (entre las regiones de Valparaíso y Biobío), zona de Calbuco (zona sur de la región de Los Lagos), y zona Austral, al sur de la boca del Guafo, agrupación que responde a unidades administrativas. En un contexto ecológico, las muestras fueron agrupadas de acuerdo a los límites establecidos para zonas macroecológicas marinas según lo propuesto por Spalding et al., 2007 (*see* Marine ecoregions of the world: a bioregionalization of coastal and shelf areas. *BioScience* 57: 573–583), asignando las muestras a cinco localidades.

Considerando posibles diferencias que pueden originarse por patrones diferenciales de migración o desplazamiento por sexo, los ejemplares analizados fueron agrupados en machos y hembras para las comparaciones de sus genotipos y haplotipos.

Sobre estas bases de datos se estimaron los parámetros de diversidad genética y estructuración poblacional utilizando los métodos clásicos de genética de poblaciones, así como métodos de agrupamiento genético georeferenciado bayesiano.

Los resultados indican loci microsatélites que presentan déficit de heterocigotos, reflejado en la presencia de alelos nulos, y desviaciones al equilibrio de Hardy Weinberg. El análisis de poder estadístico indica que el set de microsatélites, y el número de muestras analizadas tienen el suficiente poder estadístico como para detectar niveles de divergencia con F_{st} cercanos a 0.0017.

Los resultados para los microsatélites y para las comparaciones entre zonas de capturas, zonas macroecológicas, sexo y grupos etarios, no muestran evidencia de diferencias estadísticas significativas en el análisis del F_{st} y R_{st} , así como no se detectaron agrupaciones genético espaciales en el análisis de agrupamiento bayesiano. Las estimaciones del F_{st} varían entre 0,001 a 0,137.

En el caso del ADN mitocondrial, los resultados corroboran los bajos niveles de divergencia genética detectados, no alcanzando estas estimaciones significancia estadística, a pesar de ser en la mayoría de los casos un orden de magnitud mayor que las estimaciones de los índices de estructuración a partir del set de datos de microsatélites. Las estimaciones del F_{st} para el ADN mitocondrial varía entre -0,014 a -0,049.

La falta de patrones de monofilia recíproca en linajes del ADN mitocondrial, así como divergencias genéticas no significativas en las frecuencias alélicas de loci nucleares tipo microsatélites, hace

concluir que al menos en el área de distribución de la reineta *B. australis*, entre la región del Bío Bío y de Magallanes, estaríamos en presencia de una gran unidad evolutiva.

En el análisis de la fauna parasitaria, se observa que la fauna de parásitos metazoos es similar a lo indicado previamente para *B. australis*, incluyendo 3 ectoparásitos y 12 especies de endoparásitos, de los cuales tres representan formas adultas (Digenea), siendo los nueve restantes endoparásitos de formas larvales que se enquistan y tienen un largo periodo de residencia, siendo por lo tanto potenciales marcas biológicas. Los tres parásitos adultos corresponden a representantes de Didymozoida, que también se encuentran enquistados.

El análisis de 334 ejemplares de reineta obtenidos desde las tres zonas geográficas de captura de la reineta, Centro-Sur, Calbuco, y Austral, demostró la presencia de un total de 19.399 ejemplares de parásitos metazoos pertenecientes a 12 taxa. El 97% de los parásitos metazoos corresponden al copépodo ectoparásito branquial *Hatschekia confiera*. El cestodo en estado larval, *Hepatoxylon trichiuri*, es el segundo parásito más abundante, representando el 2,1% del total de parásitos. El restante 0,9% de la fauna de parásitos metazoos es explicado por 10 especies.

Los análisis univariados y multivariados realizados sobre la base de datos de la fauna parasitaria, no soportan la hipótesis de más de una unidad demográfica de la reineta en Chile.

La información empleada para la evaluación de parámetros de historia de vida de *B. australis*, incluyó el registro de 12 mil lances con presencia de reineta efectivamente georeferenciados obtenidos tanto desde la actividad industrial pesquera como de fuentes independientes de la pesquería como son los cruceros de evaluación de recursos demersales. La base de datos analizada presento una cobertura espacial entre los 30°S y 57°S de latitud, y un periodo que incluyó información generada entre 1997 y 2014.

La distribución espacial de los indicadores de abundancia de reineta sugiere un patrón latitudinal con dos zonas distintas que presentan valores diferenciales de tanto en la captura, rendimiento de pesca y proporción de reineta en los lances.

Se sugiere la diferenciación de una zona comprendida entre los 35° S y 40° S de latitud con valores de abundancia de reineta bajos, cuyo centro se observa en los 37,5 S de latitud, mientras que también se

da cuenta de una zona diferenciada con valores altos de abundancia de reineta entre los 41°S y 47°,5 S de latitud con centro en los 43°S de latitud.

A partir de la determinación de patrones de distribución de abundancia de reineta, se realizó un análisis de los rasgos biológicos de talla y peso de los ejemplares capturados en las distintas zonas, incluyendo en el análisis un total de 53 mil registros. Los resultados sugieren diferencias en los ejemplares de cada zona, siendo los ejemplares capturados en la zona norte de mayor tamaño y peso que los ejemplares capturados en la zona sur. El análisis con modelos lineales generalizados para la talla y el peso evaluando el factor zona de procedencia, entregan diferencias significativas para ambos rasgos biológicos, indicándose que al interior de cada zona los factores temporales como año y mes, también dan cuenta de las diferencias en tallas y pesos observados intra-zonalmente.

Referente al análisis de la relación longitud-peso observada para cada zona, sugieren que no se presentan diferencias significativas. Las proyecciones de pesos estimados a partir de los distintos parámetros de la relación longitud-peso encontrados en literatura, sugieren también semejanzas en esta relación independiente de la zona donde provenga la información.

Los análisis de morfometría geométrica, fueron realizados sobre la base de 10 hitos morfológicos bidimensionales o landmarks, que fueron corregidos mediante análisis generalizado de Procrustes, para evitar el efecto del tamaño y orientación de los ejemplares. A partir de 285 ejemplares, se compararon las zonas Centro-Sur, Calbuco y Austral en búsqueda de diferencias morfométricas significativas.

Al aplicar un Análisis de Componentes Principales, se observó segregación de los ejemplares de cada zona, que se explica principalmente por variaciones en el landmark 2, que corresponde al punto final de la cabeza, y landmark 8, que corresponde al punto de inicio de la aleta anal. Al analizar las distancias de Procrustes y Mahalanobis entre las zonas, mediante Análisis de Variación Canónica, se observan diferencias estadísticamente significativas para todas las comparaciones. Sin embargo los resultados de la reconstrucción de las formas mediante, Análisis de Función Discriminante, indican que si bien existe diferencia estadísticamente significativa al utilizar la zona como criterio de clasificación de los ejemplares, las diferencias morfométricas entre zonas no son apreciables visualmente, observándose deformaciones leves de los individuos entre zonas en referencia a la

configuración promedio, las mayores diferencias se observan en los landmark 2, 8 y 9. Al utilizar la zonificación por ecoregión marina, solo se observan diferencias estadísticamente significativas al comparar con la zona Sur Peruana y Nor-Patagónica, sin embargo, hay que tomar en cuenta que estos resultados podrían estar influenciados por los tamaños muestrales.

En la aproximación microquímica de otolitos, se analizó un total de 198 pares de otolitos provenientes de 72 lances independientes. Sobre estos otolitos se realizó el análisis de isótopos estables de $\delta^{18}\text{O}$ y $\delta^{13}\text{C}$, y de la composición de los metales Ba, Ca, Mg, Mn y Sr. La comparación de las concentraciones isotópicas y elementales en otolitos, entre zonas de pesca y ecoregión marina, estuvieron basadas en versiones univariadas y multivariadas de modelos lineales generalizados mixtos.

No se encontró evidencia de diferencias significativas en los valores de $\delta^{18}\text{O}$ determinados en las secciones nucleares de otolitos de *B. australis*, ni entre zonas de pesca, ni entre ecoregión marina. Se encontró, en cambio, diferencias significativas en los valores de $\delta^{13}\text{C}$ entre zonas de pesca y entre ecoregión marina. En cuanto a las zonas de pesca, el $\delta^{13}\text{C}$ fue leve, pero significativamente mayor en la zona Centro-Sur, que en la zona Austral. Las diferencias entre ecoregiones marinas fueron más significativas, encontrándose valores mucho menores en los otolitos procedentes de la ecoregión meso-magallánica, que en aquellos procedentes de las ecoregiones restantes.

Las concentraciones relativas de Ba:Ca, Mg:Ca, Mn:Ca y Sr:Ca en secciones nucleares de otolitos de *B. australis*, mostraron una alta variabilidad, sin evidencia de diferencias significativas, ni entre zonas de pesca, ni entre ecoregiones marinas. Estos resultados sustentan la hipótesis de un origen natal, o zona de crianza común para el stock de *B. australis* explotado al sur de paralelo 37,5°S, frente a la costa chilena.

Para el análisis integrado de la información proporcionada por la microquímica de otolitos, parasitología, morfometría geométrica y microsátélites, se utilizó un enfoque de modelos de mezcla de distribuciones finitas, mostrando que la hipótesis de origen único fue la más verosímil e informativa, sustentando los resultados que la localización del área principal de desove es la ecorregión nor-magallánica.

Dada la evidencia entregada por el set de caracteres analizados, mostrando una zona de crianza común, es posible proponer la existencia de una única unidad demográfica y, por ende, de una única unidad evolutiva del recurso reineta en la costa de Chile.

La existencia de algunos valores atípicos, y comparaciones estadísticamente significativas, hace recomendable evaluar, en el futuro, la posible existencia de otras unidades demográficas, cuyos centroides espaciales se ubicarían fuera del área de estudio.

1. Antecedentes generales

Una de las mayores interrogantes en el ámbito del manejo de recursos marinos, es el cómo identificar y preservar la biocomplejidad de las especies a nivel intra e interpoblacional a través de sus tres ejes; la heterogeneidad espacial, la conectividad y las contingencias históricas (Cadenasso et al. 2006). De esta forma la evolución de la estructura espacial de las poblaciones depende del balance entre la heredabilidad, flujo génico (conectividad) y adaptación a regímenes de selección (Lenormand 2002). Es así como el conocimiento de la conectividad y la estructuración espacial a través de la distribución de las especies es vital para el entendimiento de la dinámica poblacional, diseñar estrategias de conservación, y desarrollo de prácticas sustentables de manejo (Hutchings et al. 2007).

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

En el contexto de la actividad extractiva desarrollada en torno a especies de importancia comercial, uno de los requerimientos básicos para el adecuado manejo de poblaciones naturales, ya sea por razones comerciales o de conservación, es el conocimiento de sus aspectos reproductivos, como por ejemplo, si una población es reproductivamente autosustentable o depende de inmigrantes para el reemplazo de sus individuos adultos, ya que el nivel de intercambio génico originado por la inmigración entre poblaciones, puede afectar su sustentabilidad en el largo plazo.

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

De esta manera y tomando en cuenta que poblaciones diferenciadas pueden ser medidas desde un punto de vista morfológico o genético, establecer el grado de conectividad que exista entre ellas es importante para determinar el grado de aislamiento de las poblaciones. De este modo y dado que el monitoreo directo de la conectividad de una especie a través de su rango de distribución geográfica es muy difícil, se han desarrollado métodos indirectos (e.g. Genéticos) para evaluar el grado de conectividad entre diferentes poblaciones (e.g. Hedgecock et al. 2007). Siendo válido estos métodos indirectos cuando las poblaciones se han diferenciado genéticamente debido a una separación de periodos y/o lugares de desove (aislamiento reproductivo).

Operacionalmente podemos inferir sobre unidades evolutivas y demográficas a través de diversas metodologías, cuya aplicación dependerá de la escala temporal considerada y los objetivos planteados. Para dar cumplimiento a los objetivos de los Términos de Referencia del proyecto FIP N° 2013-21 “Identificar unidades evolutivas y demográficas de relevancia para el manejo pesquero de la reineta (*Brama australis*) en la costa chilena”, se utilizará un enfoque holístico que incluirá metodologías actualmente aplicadas a la identificación de unidades evolutivas y demográficas, para lo cual se cuenta con la experiencia de científicos nacionales. Las herramientas a utilizar involucrarán la genética de poblaciones, morfología corporal, microquímica de otolitos, parasitología y parámetros de historia de vida.

La familia Bramidae (Actinopterygii: Perciforme: Bramidae) comprende especies de peces conocidas como pomfrets, castañetas, palometas, reinetas o japutas, que habitan en aguas templadas y tropicales de los océanos del mundo, generalmente asociadas a la zona epipelágica o mesopelágica, y hasta

menos de 300 m de profundidad (Froese & Pauly 2005). Migraciones estacionales entre las latitudes altas y bajas se presentan en especies como *Brama japonica* y *B. brama*. Caracterizándose por ser depredadores de nivel medio que se alimentan de pequeños peces pelágicos, crustáceos, calamares, y salpas, siendo presas importantes para algunos atunes y billfishes.

Presentan un cuerpo comprimido, oval y alargado fusiforme. Perfil anterior de la cabeza es arqueado, la forma del cuerpo suele cambiar mucho con el crecimiento y va variando entre géneros, los ojos son moderadamente grandes (Mead 1972).

La familia Bramidae comprende 22 especies agrupadas en dos subfamilias y siete géneros. La subfamilia Pteraclinae con aletas dorsales y anales altas, sin escamas, y completamente depresible, aletas pélvicas con frecuencia yugular, conformado por dos géneros, *Pteraclis* y *Pterycombus*, y la subfamilia Braminae con las aletas dorsal y anal de los adultos con escamas y no totalmente depresible; la aleta pélvica en posición torácica, que comprende cinco géneros, *Eumegistus*, *Taractes*, *Taractichthys*, *Xenobrama* y *Brama* (Nelson 2006). Presentando el género *Brama* alrededor de 8 especies: *B. dussumieri*, *B. brama*, *B. caribbea*, *B. orcini*, *B. japonica*, *B. myersi*, *B. pauciradiata* y *B. australis*.

En particular, a la especie *Brama australis* Valenciennes, 1837, conocida como palometa, reineta o Southern rays bream se le han atribuido distintas clasificaciones taxonómicas, siendo considerada en un inicio como *Lepidopterus australis* en el Anuario Estadístico de Pesca (1994), así como también en la “Iconografía de los principales recursos pesqueros de Chile” (Ojeda 1982); sin embargo, desde el año 1989 Pequeño incluye a Lepidotidae dentro de la Familia Bramidae, y la especie pasa a ser *Brama australis*.

En Cancino et al. 1999 se presenta una caracterización morfológica completa de la especie a partir de especímenes obtenidos en la costa de Valparaíso. Una breve descripción indica que la especie presenta un cuerpo alto y comprimido, de cabeza corta y alta. La boca de posición terminal oblicua, cuyo maxilar se proyecta hacia el margen posterior del ojo. El cuerpo está fuertemente recubierto por escamas ctenoides de gran tamaño, las cuales están fuertemente imbricadas. El color del cuerpo es gris plateado con el dorso levemente más oscuro. Aletas dorsales continuas, aletas pectorales largas que se inician por detrás del opérculo y que se proyectan por sobre el primer tercio de la aleta anal.

Las aletas pélvicas pequeñas de posición torácica. Aleta anal levemente más corta que la dorsal terminando ambas al mismo nivel, con una aleta caudal grande y ahorquillada (Oyarzún 2001).

Con respecto a sus aspectos reproductivos Leal & Oyarzún (2003) establecen que *B. australis* corresponde a un desovante parcial, con un período prolongado de madurez gonádica y una época principal de desove en invierno principalmente entre junio hasta agosto.

La distribución geográfica de *Brama australis* se indica para el Océano Pacífico Suroccidental en el sector comprendido entre los 20° y los 44° de latitud Sur, aplicando el “efecto espejo” con la distribución conocida de *Brama japonica* en el Océano Pacífico Noroccidental (Pavéz et al. 1998).

2. Objetivos

2.1 Objetivo general

Identificar unidades evolutivas y demográficas de relevancia para el manejo pesquero de la reineta (*Brama australis*) en la costa chilena.

2.2 Objetivos específicos

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

3. Resultados por objetivos

3.1 Realizar una revisión bibliográfica del estado del arte referente a la identificación de unidades evolutivas y demográficas relevantes para el manejo pesquero.

Para el cumplimiento al objetivo 2.1 el presente equipo propuso realizar un estudio bibliográfico del estado del arte, con especial énfasis en los avances científicos y tecnológicos logrados durante los últimos cinco años en la determinación de unidades evolutivas y demográficas, y la determinación de origen natal de poblaciones marinas. Cabe destacar desde ya la escasa información respecto a esta temática, refiriéndolos particularmente al concepto de unidades evolutivas relevantes para el manejo pesquero, razón por la cual se incluyó información existentes y disponible desde hace más de cinco años. La revisión incluyó el análisis de técnicas disponibles en el ámbito genético, marcadores naturales como parásitos, parámetros de historia de vida, microquímica de estructuras óseas (e.g. otolitos y vertebras), perfiles de ácidos grasos, y marcadores fenotípicos como la morfología y morfometría corporal y de estructuras óseas.

Para la búsqueda bibliográfica se consideró, recopiló y analizó información disponible en: i) revistas (journals) de bibliotecas nacionales e internacionales; ii) tesis de pre y post-grado; iii) biblioteca y base de datos de proyectos disponibles en SERNAPESCA, Fondo de Investigación Pesquera (FIP) e IFOP iv) FONDEF v) FONDECYT vi) INNOVA y vii) material disponible en bases de datos nacionales e internacionales.

Palabras claves. Se utilizaron diversas herramientas de búsqueda disponibles en internet, como por ejemplo ISI Web of Knowledge (<http://wokinfo.com/>), Pubmed (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>) (entre otros), considerando las siguientes palabras claves (español o inglés, según corresponda): unidad evolutiva, unidad demográfica, genética, genética pesquera, parásitos, pesquerías, stock pesquero, stock ecológico, stock genético, parámetros de historia de vida, microquímica de estructuras óseas, perfiles de ácidos grasos, morfología, morfometría corporal, evolutionarily significant units, population structure, management units, evolutionarily units .

i) Revistas de investigación nacionales (incluyendo algunas discontinuadas) e internacionales:

- Biological Research, publicada por de Sociedad de Biología de Chile ISSN 0716-9760.
- Boletín de la Sociedad de Biología de Concepción / Sociedad de Biología de Concepción ISSN: 0037-850X.
- Gayana publicada por Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas. Universidad de Concepción ISSN: 0717-652X
- Gayana publicada por la Facultad de Ciencias Biológicas y de Recursos Naturales. Universidad de Concepción. ISSN: 0016-531X.
- Investigaciones Marinas publicada por Escuela de Ciencias del Mar, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso ISSN 0716 - 1069
- Revista Chilena de Historia Natural publicada por la Sociedad de Biología de Chile. ISSN 0716-078X.
- Revista de Biología Marina y Oceanografía publicada por la Universidad de Valparaíso, Facultad de Ciencias del Mar. ISSN: 0717-3326.
- Revista de Biología Marina publicada por la Universidad de Valparaíso, Instituto de Oceanología. ISSN 0080-2115.
- Biología pesquera, Biota, Medio Ambiente (discontinuadas)

Revistas de investigación internacionales:

- ✓ Aquaculture
- ✓ Aquaculture Research
- ✓ Aquatic Living Resources
- ✓ Canadian Journal of Fish and Aquatic Sciences
- ✓ Conservation Biology
- ✓ Conservation Genetics
- ✓ Copeia
- ✓ Crustaceana
- ✓ Evolution
- ✓ Fish Bulletin
- ✓ Fisheries Research
- ✓ Freshwater Biology
- ✓ Genetica

- ✓ Genetics
- ✓ Genetics and Molecular Biology
- ✓ Heredity
- ✓ Hydrobiologia
- ✓ Journal of Experimental Marine Biology and Ecology
- ✓ Journal of Heredity
- ✓ Journal of Marine Biology
- ✓ Journal of Shellfish Research
- ✓ Mammalian Genome
- ✓ Marine Biology
- ✓ Marine Biotechnology
- ✓ Marine Ecology Progress Series
- ✓ Molecular Ecology
- ✓ Molecular Phylogenetics and Evolution

ii) Tesis de pre y post-grado

La página web: www.cibertesis.cl contiene las tesis de pre y post-grado de algunas Universidades del Consejo de Rectores.

iii) SERNAPESCA, FIP, IFOP

Se recopiló información disponible en la biblioteca de SERNAPESCA en Valparaíso de estudios publicados relacionados con determinación y análisis de unidades evolutivas y demográficas en Chile. E igualmente los proyectos financiados por el Fondo de Investigación Pesquera (FIP) (www.fip.cl) e Instituto de Fomento Pesquero (IFOP).

iv) FONDEF y v) FONDECYT (www.conicyt.cl); vi) INNOVA (www.corfo.cl)

La información así recopilada es presentada en el siguiente capítulo, donde se plasma el estado del arte referente a la identificación de unidades evolutivas y demográficas relevantes para el manejo pesquero.

Unidades evolutivas y demográficas, definiciones teóricas y operacionales

Frente al creciente desafío en los últimos años de desarrollar estrategias que salvaguarden y eviten la disminución de la flora y fauna, los ecólogos y biólogos conservacionistas, continúan investigando sobre métodos y herramientas que le permitan identificar y delimitar inequívocamente unidades a niveles taxonómicos para propósitos de conservación. Referente a que son y cómo definir estas unidades, es que autores han desarrollado variadas definiciones, desde enfoques teóricos y operacionales, tanto para unidades evolutivas como demográficas.

Entre las ideas más desarrolladas y estudiadas ha sido en el contexto de que unidad debe ser el foco de conservación, desde en un ámbito terrestre, para irse trasladando y adecuando paulatinamente al ámbito acuático y marino, a través del concepto de unidades evolutivas (EUs del inglés Evolutionary Units *ver* Luck et al. 2003) y unidades evolutivas significativas (ESU del inglés Evolutionary Significant Units *ver* Ryder 1986).

El marco teórico y práctico de las EUs y las ESUs ha sido desarrollado con el objetivo de priorizar y proteger las unidades naturales a nivel taxonómico (Ryder 1986). Debido esto principalmente a que la taxonómica existente en la década de los 80', no reflejaba la diversidad genética subyacente a estas unidades naturales, y que los recursos son limitados (Awise 1989). Desde entonces los conceptos han sufrido modificaciones en pro de ajustarse a los distintos escenarios naturales, y variadas definiciones han sido formuladas. Una exposición temporal de estas definiciones encontrara en la **Tabla 1**.

Tabla 1. Conceptos teóricos y operacionales de unidades evolutivas y unidades evolutivas significativas

Autor (es)	Criterio
Dobzhansky (1950)	Clásica población mendeliana, con independencia evolutiva, con fertilización cruzada entre individuos que conforman un mismo pool génico.
Ryder (1986)	Subset de una especie, que posee atributos genéticos significativos para las generaciones presentes y futuras de la especie en cuestión.
Waples (1991)	Una población o grupo de poblaciones que: <ul style="list-style-type: none"> (i) Esta aislada significativamente en términos reproductivos de otras unidades poblacionales conespecíficas; y (ii) Representa un importante componente de la historia evolutiva de la especie
Dizon et al. (1992)	Poblaciones o grupos de poblaciones que muestran significativa divergencia en frecuencias alélicas.
Awise (1994)	Conjunto de poblaciones derivadas de una filogenia génica consistentemente congruente.
Moritz (1994)	Poblaciones que: <ul style="list-style-type: none"> (i) Muestran una monofilia recíproca en alelos del ADN mitocondrial, y (ii) Muestran significativa divergencia genética de frecuencias alélicas de loci nucleares
Bowen (1998)	Poblaciones que muestran evidencia de aislamiento a largo plazo
Vogler & DeSalle (1994)	Grupo de individuos o poblaciones que son diagnosticados por caracteres que comparten, y por los cuales son excluidos desde otras agrupaciones
Crandall et al. (2000)	Concepto más holístico, consistente en poblaciones con variados niveles de flujos génicos, que evolucionan a través de deriva y selección.
Fraser & Bernatchez (2001)	Un linaje que muestra un flujo génico restringido desde y hacia otros linajes, dentro del más alto nivel organizacional (linaje) de las especies.
Taylor (2005)	Unidades cercanamente relacionadas que han tenido un bajo flujo génico, donde adaptaciones locales pueden ocurrir.
De Guia & Saitoh (2007)	Divide el término ESU en: <ul style="list-style-type: none"> • ESUs parcial. se considera como un primer paso hacia la identificación de una ESU total, y son fieles al concepto original de reflejar verdaderas variaciones evolutivas. • ESUs total. pueden ser definidas únicamente si se tiene la información tanto sobre la variación genética neutral, y adaptativa.

De Guia & Saitoh (2007) y Casacci et al. (2014) presentan una amplia revisión y discusión sobre las diferentes definiciones de ESUs que se han adoptado a través del tiempo, haciendo comparaciones entre ellas, para mostrar las fortalezas y debilidades de cada una. Realizan además una extensa búsqueda en la literatura científica en donde se muestra como este concepto y todas sus definiciones se han aplicado en la investigación de diferentes taxa (mamíferos, aves, reptiles, peces óseos, invertebrados, plantas).

Casacci et al. (2014) propone que a pesar de que los enfoques moleculares representan una rápida evaluación de muchos taxa poco conocidos, otra variedad de fuentes de información puedan aparecer., como la ecología, el comportamiento, datos biogeográficos o morfológicos, siendo

igualmente válidos para una evaluación científica de unidades de conservación. Destaca que un importante requisito para el uso de datos que no sean genéticos es el supuesto de que los rasgos observados se basan en atributos heredables, para que puedan proporcionar información jerárquica (Avice 1989, Waples 1991, Dizon et al. 1992, Moritz 1994, Vogler & Desalle 1994). Los datos no moleculares nos proporcionan información crítica sobre las diferencias entre taxa que se han originado recientemente por la acción de los procesos de adaptación, y que generalmente no puede ser detectada, al menos en la práctica, por los actuales análisis de ADN. En conclusión la convergencia entre la información de tipo molecular y no molecular a menudo nos podrá proporcionar evidencia más clara sobre la identificación de las ESUs.

Sin embargo, es en esta misma revisión que se demuestra que la definición enunciada por Moritz (1994) es la más utilizada por los investigadores, aludiendo que sería la definición más objetiva desde un punto de vista teórico y operacional “unidad evolutiva correspondería a aquellas poblaciones que muestran una monofilia recíproca en variantes de su ADN mitocondrial; en concomitancia con una divergencia genética significativa de frecuencias alélicas de loci nucleares”. Posteriormente Moritz ha seguido incorporando elementos a las definición de ESUs, e.g. Moritz (1995) incorpora las filogenias intraespecíficas, y de esta manera puede identificar los procesos poblacionales proveyendo una perspectiva sobre el crecimiento o decline poblacional y conectividad genética en tiempo evolutivo. Posteriormente, Moritz en el 2002 incorpora elementos sobre procesos evolutivos, y la distribución de la diversidad genética dentro de planes de conservación, en donde propone primero identificar áreas que son importantes para representar especies y diversidad genética y posteriormente maximizar, dentro de esas áreas, la protección de gradientes ambientales contiguos a través del cual la selección y la migración puedan interactuar para mantener la viabilidad de la población, y el potencial adaptativo de la diversidad genética.

A continuación se presentan estudios en donde se ha aplicado este criterio operacional para la identificación y delimitación de unidades evolutivas, en especies relevantes para el manejo pesquero nacional e internacional. Cabe destacar que si bien el criterio fue utilizado, es decir, se utilizó evidencia nuclear y mitocondrial para evaluar divergencias significativas, la mayoría de los autores no aluden formalmente a los conceptos de unidad evolutiva o unidad evolutivamente significativa.

A continuación se muestran algunos ejemplos referentes a unidades evolutivas significativas:

Karl & Bowen 1999. Presentan el caso de las poblaciones de la tortuga marina negra *Chelonia agassizii*, en donde los análisis no muestran divergencia genética significativa entre las dos formas *C. m. agassizii* y *C. m. mydas*. Sin embargo, presentan morfotipos (tipo negro y verde) y comportamientos diferentes (tortugas negras viven en aguas frías). Si estos atributos son adaptativos, entonces estas características podrían ser una fuerza impulsora para la selección y el potencial evolutivo, lo que podría dar lugar a la divergencia genética. En ese caso, las poblaciones de tortugas negras pueden calificar como una ESU. Por lo tanto, el aspecto de adaptación también es importante.

Carlsson et al. 2004. En el pez *Thunnus thynnus thynnus* existe congruencia en los resultados utilizando la región control del ADNmt y 9 loci microsátélites, encontrando poblaciones genéticamente discretas en la cuenca oriental del Mar Mediterráneo.

Gruenthal et al. 2007. En el molusco *Haliotis rufescens* se encontró congruencia en los resultados utilizando 5 loci microsátélites y secuencias del gen COI de ADNmt, mostrando que no existe divergencia genética entre las nueve poblaciones muestreadas.

Cárdenas et al. 2009. En el pez *Trachurus murphyi* se ha encontrado congruencia en los resultados utilizando secuencias de la región control del ADN mitocondrial y 4 loci microsátélites, mostrando que no existe evidencia de diferenciación y se trata de un solo stock a lo largo de Océano Pacífico Sur.

Matschiner et al. 2009. En el pez *Gobionotothen gibberifrons* existe congruencia en los resultados utilizando la región control del ADNmt y 8 loci microsátélites, encontrando una débil estructura poblacional dentro área geográfica de estudio.

Reiss et al. 2009. Realizan una revisión referente a la determinación de poblaciones y unidades de manejo de recursos pesqueros del atlántico (e.g. *Gadus morhua*, *Melanogrammus aeglefinus*, *Merlangius merlangus*, *Micromesistius poutassou*, *Merluccius merluccius* y *Clupea harengus*) norte donde hay datos genéticos referentes a diferenciación genética y datos de manejo pesquero. Además identifican la concordancia de especies donde hay estructuración genética con las actuales regulaciones de manejo pesquero de modo de conocer si hay congruencia entre estas y como esto implica en el manejo pesquero. Esta revisión por razones operacionales se basa en el criterio entregado por Bentzen (1998), donde: si una diferenciación genética significativa y reproducible puede ser detectada, las poblaciones deben ser considerados demográficamente

independiente. Finalmente da cuenta que pocas recursos pesqueros dan cuenta de una concordancia entre diferenciación genética y unidades de manejo pesquero. De esta manera proponen que la aplicación de un enfoque basado en el ecosistema podría ser una oportunidad para una mayor integración de la estructura de la población genética y otros niveles de la diversidad biológica en la gestión pesquera.

Vilas et al. 2010. En trucha café se investiga la identificación de poblaciones genéticamente diferentes que puedan ser definidas como unidades de manejo con miras a conservación, utilizando 10 loci microsatélites. Los investigadores encontraron dos linajes genéticamente diferenciados en la zona alta y baja de la cuenca de Miño, además de que en la zona media de contacto habría hibridación. Concluyen recomendando conservar la diversidad genética de la trucha café en el área de la cuenca de Miño por ejemplo, limitando la pesca. Gestión de manejo en poblaciones específicas podría ser necesaria, pero en ese caso hay que hacerlo de acuerdo a la estructura genética.

Veríssimo et al. 2010. En el tiburón *Squalus acanthias* existe congruencias en los resultados utilizando 8 loci microsatélites y secuencias de ADN mitocondrial del gen ND2, encontrando dos grupos genéticamente diferenciados, un grupo correspondiente al Pacífico Norte y otro grupo en locaciones del Pacífico Sur y Atlántico.

Ceballos 2011. En el pez *Eleginops maclovinus* los resultados utilizando el gen Cit B del ADNmt revelo un patrón general de baja estructuración poblacional y utilizando 9 loci microsatélites sugirió la existencia de dos grupos genéticos, uno principalmente de origen pacífico y otro atlántico.

Dammannagoda et al. 2011. En el pez *Katsuwonus pelamis* existe congruencia en los resultados utilizando 6 loci microsatélites y secuencias de ADN mitocondrial del gen ATPase 6 y 8, encontrando dos grupos genéticamente diferenciados en el nor-oeste del Océano Índico.

Veríssimo et al. 2011. En el Tiburón *Centroscygnus coelolepis* existe congruencia en los resultados utilizando 8 loci microsatélites y región control del ADNmt, en donde no se encontraron pruebas de estructura genética de la población entre muestras del Atlántico oriental y el Mar norte de las Azores.

Machado-Schiaffino & Garcia-Vazquez 2011. En *Macruronus magellanicus* se utiliza citocromo oxidasa I y 6 loci microsatélites, encontrando diferencias significativas en ambos marcadores. Específicamente separando muestras del Océano Atlántico y muestras del Océano Pacífico.

Castillo-Olguin et al. 2012. En el tiburón *Sphyrna lewini* no se presentó congruencia utilizando 5 loci microsatélites y región control del ADNmt. Para el ADNmt no se observan divergencia entre

las localidades del Pacífico Mexicano, a diferencia de los datos de microsátelites que si mostraron una notable divergencia de la población.

Dutton et al. 2013. En la tortuga *Dermochelys coriácea* los resultados utilizando 17 loci microsátelites detectaron una débil pero significativa diferenciación entre dos poblaciones a diferencia de las secuencias de la región control del ADN mitocondrial en donde estas diferencias fueron indistinguibles.

Cao et al. 2013. En *Siniperca scherzeri* se utiliza citocromo b del ADN mitocondrial y 7 microsátelites para definir diferencias genéticas en China. Basado en el ADN mitocondrial se encontró dos grandes linajes en la especie compuesto por cuatro subclados. Por otro lado mediante loci microsátelites encontraron congruencia en estos dos clados observados con ADN mitocondrial.

Esa et al. 2013. En *Tor tambroides* se utiliza citocromo oxidasa I del ADN mitocondrial y 14 microsátelites en donde se reveló que basado en loci microsátelites habría solo 3 cluster genéticos presentes. Por otro lado el ADN mitocondrial no mostro diferencias, solo se observó la presencia de un haplotipo que podría dar cuenta de un linaje críptico de otra especie del género.

Duncan et al. 2014. En el pez *Chrysoblephus puniceus* se encontraron congruencias en los resultados con 10 loci microsátelites y la región control del ADNmt, mostrando que no hay estructuración poblacional en muestras del Océano Índico Suroccidental.

Hernández et al. 2014. En el tiburón *Galeorhinus galeus* se encontró congruencia en los resultados con 8 loci microsátelites y la región control del ADNmt, mostrando 2 grupos diferenciados genéticamente, uno correspondiente a Nueva Zelanda y Australia, y otro a Chile.

Lopez et al. 2015. Aunque este estudio no fue realizado en un organismo marino, Lopez et al. (2015) en la especie *Omphalodes littoralis subsp. gallaecica*, incorpora la variabilidad cuantitativa (fenotipos) además de la variación neutral de marcadores moleculares para la identificación de Unidades Evolutivamente Significativas (ESUs). Aquí el autor sugiere la presencia de cinco ESUs dada las diferencias significativas en caracteres cuantitativos heredables entre las poblaciones. Finalmente evidencian los beneficios de combinar ambos tipos de marcadores y da cuenta que incluso especies endémicas con una distribución geográfica reducida podría tener múltiples unidades de conservación.

- McKeown et al. 2015. En el pez *Macruronus magellanicus* se encontró congruencia en los resultados con 6 loci microsatelites y región control del ADNmt, mostrando que no hay evidencia para decir que hay más de un cluster genético.
- Stockwell et al. 2015. En *Cyprinodon tularosa* se utiliza región control mitocondrial, 5 alozimas y 6 microsatelites fueron utilizados para definir unidades significativamente evolutivas. Aunque no se encontró diferencias genéticas con el ADN mitocondrial, si se obtuvo diferencias en alozimas y microsatelites. Stockwell y colaboradores plantean la presencia de dos ESUs para *C. tularosa* en los ríos muestreados.
- Taylor & Dizon 1996 y Taylor & Dizon 1999: Plantean estar de acuerdo con la propuesta de Avise (1995) de conectar la dinámica poblacional (demografía) y genética, lo cual proveería una muy útil herramienta para manejo y conservación. Sin embargo se destaca que es necesario estimar el poder estadístico de los datos genéticos de manera que sean analizados y presentados apropiadamente.

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

Elson Leal

Instituto de Fomento Pesquero

Durante el año 2014, el Instituto de Fomento Pesquero, realizó muestreos de reinetas obtenidas a lo largo del rango de distribución de la especie en Chile. Tales muestras fueron recolectadas desde diferentes fuentes. Las muestras del extremo sur, fueron obtenidas por personal embarcado a bordo de naves industriales. Las muestras de la zona norte y centro en tanto, se recolectaron mayoritariamente en puerto, desde embarcaciones artesanales cuya operación se realiza con espinel o red de enmalle. Se logró también una muestra de 15 ejemplares colectados en el Buque Científico Cabo de Hornos durante el crucero destinado a evaluar la biomasa de merluza durante el mes de agosto. Se informa que hubo modificaciones en el número de muestras para cada zona respecto al informe de avance, debido a la reorganizaron de los datos en función de las ecoregiones marinas propuestas por Spalding et al. (2007), con la finalidad de dar un carácter biogeográfico al análisis de los datos.

En la Oferta Técnica, se identificaron tres posibles zonas a ser consideradas para los objetivos del estudio:

1. Zona norte (Lebu) ZONA CENTRO SUR: Considera la zona de extracción artesanal en lanchas o botes que realicen su operación en las cercanías del puerto de Lebu.
2. Zona centro (Calbuco-CHILOE): Considera la zona de extracción artesanal de la región de los Lagos. Se embarcará personal en lanchas o botes que recalán en el puerto de Calbuco.
3. Zona sur (sur Boca Guafo) Austral: Considera personal embarcado en buques industriales arrastreros hieleros que opera en la zona austral, al sur del Guafo.

Tales zonas fueron planteadas considerando los antecedentes de la pesquería y la accesibilidad histórica para la obtención de muestras en diferentes puertos. Cabe hacer mención, que debido a

restricciones presupuestarias, y logísticas, el estudio no consideró un diseño de muestreo espacial ni temporalmente explícito, sino que la obtención de las muestras se basó en la operación de la flota. A pesar de estas restricciones, el estudio logró abarcar la mayor parte del rango de distribución de la especie en la costa de Chile (**Figura 1**) y con un número de muestras significativo para el número de muestras planteado (propuesto) en la oferta técnica de 80 ejemplares por zona (**Tabla 2**).

Por su parte, la cobertura temporal, estuvo condicionada a la estacionalidad en la operación de la flota entre la zona norte y centro. Entre los meses de noviembre y abril, la flota concentra su actividad en la zona norte con puerto de desembarque en Lebu (VIII Región). Luego, se desplaza hacia la zona centro, desembarcando el recurso principalmente en las localidades de Calbuco y Carelmapu (X Región). Las muestras de la zona sur en tanto, fueron colectadas desde buques industriales cuya operación está dirigida a otros recursos y donde la reineta aparece como fauna acompañante.

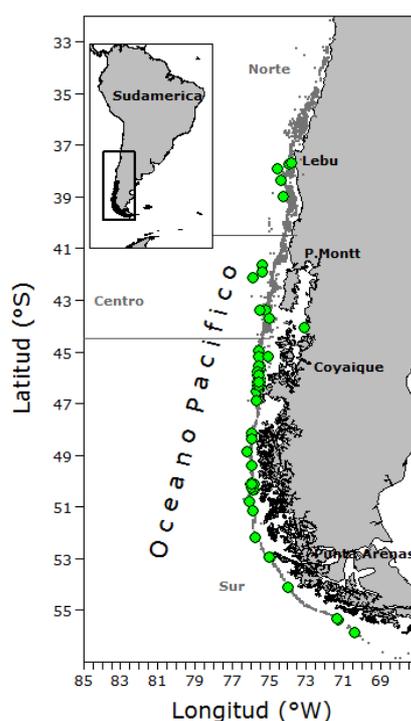


Figura 1: Procedencia de las muestras en el presente estudio

Procedencia de las muestras obtenidas en el presente estudio (círculos verdes) y la distribución planteada para *B. australis* en la costa de Chile por San Martín et al. (2011) (puntos grises). Se muestra la distribución de zonas (líneas horizontales) según lo planteado en la oferta técnica.

Tabla 2: Número de ejemplares de *Brama australis* obtenidos por zona y mes.

Mes	Zona		
	norte	centro	sur
febrero	40		6
marzo	20		6
abril	40		
mayo			
junio		25	12
julio		23	
agosto		65	33
septiembre		25	
octubre		15	24
Total	100	153	81

Con el objetivo de evitar la correlación, asegurando la independencia entre los ejemplares muestreados, en la oferta técnica, se comprometió además que las muestras en cada zona serían obtenidas desde 5 o más eventos. En la **Tabla 3**, se muestra el número de eventos de muestreos desde los cuales de obtuvieron los ejemplares en cada mes y zona. Se consideró el viaje como un evento de muestreo a pesar que las muestras puedan provenir de más de un lance de pesca, como ocurrió en la zona sur. Los lances de pesca, fueron ploteados en el mapa para indicar la procedencia de las muestras y cobertura espacial del estudio.

Tabla 3 Número de eventos de muestreos de ejemplares de *Brama australis* en cada mes y zona

Mes	Zona		
	norte	centro	sur
febrero	2		6
marzo	1		5
abril	2		
mayo			
junio		1	2
julio		1	
agosto		3	3
septiembre		1	
octubre		1	1
Total	5	7	17

3.3 Identificar y caracterizar genéticamente la(s) principal(es) unidad(es) evolutiva(s) de reineta en la costa chilena.

Ricardo Galleguillos, Sandra Ferrada-Fuentes, Cristian B. Canales-Aguirre, Victoria Herrera-Yáñez,
Daniela Lazo.

Universidad de Concepción

Antecedentes

Uno de los principales objetivos de la evaluación y manejo de las poblaciones explotadas es la identificación y conectividad entre unidades evolutivas afectas por extracción pesquera, ya que estas son la unidad básica sobre la cual reconocen otras unidades ecológicamente relevantes donde se sostienen las evaluaciones y las medidas de ordenamiento. El concepto de unidades evolutivas se refiere a poblaciones con dinámicas evolutivas independientes que conforman un pool génico particular (Luck et al. 2003). Este concepto es muy similar al de stock genético, el cual indica que un stock genético se refiere a una población que evolucionó independientemente de otras y que por lo tanto acumuló diferencias genéticas con respecto a ellas (Spanakis et al. 1989). La estimación del grado de conectividad a través del rango de distribución de especies comercialmente importantes o que se encuentran amenazadas, ha tenido gran interés, pues para un manejo efectivo de estos recursos es requisito el conocimiento de los patrones de estructuración temporal y espacial, así como la identificación de unidades evolutivamente significativas. Desde una perspectiva genética, una alternativa para evaluar las diferencias poblacionales es examinar el grado de divergencia entre poblaciones, lo que refleja el balance entre los procesos potencialmente diversificadores de la deriva génica y la selección, versus, el efecto homogenizador del flujo génico.

Más allá de las variadas acepciones teóricas de Unidades Evolutivas, acepciones que se presentan y revisan en el objetivo 2.1 “Realizar una revisión bibliográfica del estado del arte referente a la identificación de unidades evolutivas y demográficas relevantes para el manejo pesquero”, las definiciones operacionales que indican los criterios para delimitar e identificar unidades evolutivas,

implica patrones de monofilia recíproca en linajes del ADN mitocondrial y diferencias significativas en las frecuencias alélicas de loci nucleares (Frankham et al. 2004).

Para identificar y caracterizar unidades evolutivas, se han utilizado diversas fuentes de evidencia genética a través de la historia. En general podemos indicar marcadores de origen mitocondrial y nuclear, y el uso de uno u otro, u ambos va a depender de la problemática biológica que se plantee. Generalmente genes de origen mitocondrial han sido utilizados principalmente en responder preguntas en un contexto filogeografía (Wang 2010) y por otro lado marcadores nucleares altamente repetitivos como los microsátélites han sido utilizados para responder preguntas en un contexto histórico reciente, recapitulando información estimada de 10-100 generaciones (Selkoe & Toonen 2006).

Los microsátélites son uno de los marcadores genéticos más utilizados en la evaluación de unidades poblacionales y determinación de variabilidad genética (Jarne & Lagoda 1996). Los marcadores moleculares tipo microsátélites (SSRs: Simple Sequence Repeats; STRs: Short Tandem Repeats) corresponden a regiones no codificantes, de origen y función aún desconocida, salvo algunas excepciones. Estas regiones están compuestas por motivos básicos de repetición de 1-6 nucleótidos de largo, organizados en bloques con 5-50 repeticiones en serie. Se encuentran ampliamente distribuidas en el genoma de organismos eucariontes y procariontes (Zane et al. 2002), donde es posible observar una región microsátélite cada 10 kilobases. Estos marcadores moleculares responderían a un modelo de herencia mendeliana codominante (De Woody & Avise 2000), con un elevado polimorfismo, lo que explica su frecuente utilización en estudios poblacionales (Selkoe & Toonen 2006). A pesar de la gran importancia y utilidad de los microsátélites como marcadores moleculares para estudios de estructuración genética poblacional, entre otros (Jarne & Lagoda 1996) el uso de dichos marcadores moleculares en teleósteos es escaso en comparación con otras categorías taxonómicas, no existiendo reporte de aislamiento y caracterización de loci microsátélites específicos para *Brama australis*.

Se realizó una búsqueda exhaustiva sobre marcadores moleculares microsátélites disponibles para especies filogenéticamente cercanas a *Brama australis*, no registrándose microsátélites heterólogos confiables para ser aplicado como parte de este estudio. Por esta razón y como se propuso en la

oferta técnica, se desarrollaron partidores especie específicos para *Brama australis*, a partir de tecnologías de secuenciación masiva.

En cuanto a marcadores moleculares de origen mitocondrial se han utilizado en diversos estudios de caracterización de especies y sus poblaciones. Las propiedades de estos marcadores han sido discutidas ampliamente por Anderson et al. (1981), Avise et al (1983), Brown (1983, 1985), Cann et al. (1987), Vigilant et al. (1991) y Horai et al. (1993). Entre ellas se pueden mencionar su facilidad para ser diferenciado del ADN nuclear, que es un genoma haploide, heredado generalmente por vía materna sin que ocurra recombinación (Brown et al. 1979, 1982). Además, algunas regiones del ADN mitocondrial poseen una alta tasa de mutación, lo que hace que su evolución en los vertebrados sea cuatro veces más rápida que en la mayoría de los genes nucleares (Wilson et al. 1985, Birky et al. 1983, Vences et al. 2005, Rubinoff 2006). Un marcador basado en ADNmt utilizado en estudios poblacionales es el gen de la Citocromo Oxidasa I (COI), este marcador de aproximadamente 600 pb resulta ser adecuado para realizar estudios a nivel intraespecífico (Avise 2000, Hebert et al. 2003a, Vences et al. 2005, Rubinoff 2006). En estudios dirigidos a determinar la variabilidad genética existente entre poblaciones marinas, el empleo de marcadores moleculares, y especialmente las secuencias de la COI del ADNmt son ampliamente utilizadas (Zun et al. 2013, Ali et al. 2014, Xu et al. 2014).

Como evidencia genética complementaria, se secuencio un segmento de ADN del gen de la Citocromo Oxidasa I del ADN mitocondrial. Ambos set de datos fueron analizados en búsqueda de patrones de monofilia reciproca en linajes del ADN mitocondrial y diferencias significativas en las frecuencias alélicas de loci nucleares (Frankham et al. 2004) del tipo microsatélites, en pro de la identificación y delimitación de unidades evolutivas.

Metodología de trabajo

Extracción de ADN genómico, visualización y cuantificación

Los 334 individuos recolectados fueron trasladados al Laboratorio de Genética y Acuicultura de la Universidad de Concepción, en donde se realizó su muestreo biológico. A cada uno de estos individuos se le extrajo un trozo de musculatura esquelética, el cual fue depositado en etanol absoluto para los posteriores análisis moleculares.

El ADN genómico total se obtuvo mediante el kit comercial de purificación de ADN “*Nucleo Spin®*” (Macherey-Nagel) siguiendo los pasos descritos por el distribuidor e incorporando algunas modificaciones. Específicamente se siguieron los siguientes pasos:

1. **Preparar la muestra:** 25mg de tejido en un tubo de micro centrifuga 1,5 ml
2. **Agregar 80 µl de PBS** (phosphate buffered saline) y homogeneizar
3. **Pre-lisis de muestras:** Agregar 180 µl Buffer T1 y 25 µl Proteinasa K, agitar y mezclar.
4. Incubar a 56°C por toda la noche.
5. **Lisis de la muestra:** Agitar las muestras antes de añadir 200 µl de buffer B3. Incubar a 70°C por 40 minutos, agitar brevemente.
6. Centrifugar por 5 minutos a 11.000 rpm
7. Transferir el sobrenadante a un tubo nuevo de 1,5ml. **Agregar** 7.5 µl de RNase Solution 4mg/ml (Promega). Incubar a 55°C por 30 minutos.
8. **Ajustes de ADN, condiciones de unión:** Añadir 210 µl de etanol (96-100%) a la muestra y agitar vigorosamente.
9. Incubar a -20°C por una hora o más
10. **Enlazar ADN:** Para cada muestra colocar una columna NucleoSpinTissue en un tubo de recogida, aplique la muestra en la columna. Centrifugar durante 2 minutos a 11.000 rcf (*g). Descartar el flujo a través de la columna y colocar un nuevo tubo de colección.
11. Si la muestra no se extrae completamente a través de la matriz, repetir el paso de centrifugación a 11.000 rcf (*g). Deseche el flujo.
12. **Lavar la membrana de sílice:**
13. Primer lavado: Añadir 500 µl Buffer BW, Centrifugar por 2 minutos a 11.000 rcf (*g). Deseche el flujo y coloque un nuevo tubo de colección.

14. Segundo lavado: Añadir 600 µl de Buffer B5 a la columna y centrifugar por 2 minutos a 11.000 rcf (*g). Deseche el flujo a través de la columna y coloque un nuevo tubo de colección.
15. **Secar la membrana de sílice:** Centrifugar la columna durante 2 minutos a 11.000 rcf (*g).
16. En esta etapa es removido el etanol residual.
17. **Eluir el ADN de alta pureza (DOS veces):** coloque la columna NucleoSpinTissue en un tubo de microcentrifuga de 1,5 ml. Y añada 50 µl de Buffer BE precalentado (70°C), incubar a temperatura ambiente por 3 minutos. Centrifugar por 2 minutos a 11.000 rcf (*g).
18. **Eluir el ADN de alta pureza:** en el mismo tubo y columna añadir 50 µl de Buffer BE precalentado (70°C), incubar a temperatura ambiente por 3 minutos. Centrifugar por 2 minutos a 11.000 rcf (*g).

El extracto de ADN genómico fue visualizado mediante una matriz de agarosa al 1% y teñido con bromuro de etidio para determinar el éxito de la extracción, esto es determinar si presenta ADN de alto peso molecular (> 10.000 pb) o fragmentado. Se determinó la calidad y cantidad de ADN extraído utilizando un Biophotometro, el cual registra la absorbancia a 230 nm (hidratos de carbono, péptidos, fenoles y combinaciones aromáticas), 260 nm (ADN), 280 nm (proteínas y fenol) y 320 nm (turbidez) de cada muestra. Además nos entrega la razón de absorbancias A260/280 y A260/230, para determinar la calidad de nuestro ADN. Posterior a conocer la calidad y cantidad del ADN de cada una de las muestras se procedió a generar una dilución de trabajo a una concentración final de 20 ng/µL. La utilización de una concentración menor a la extraída se fundamenta en que para los posteriores análisis (amplificación por PCR) el exceso de ADN puede inhibir la reacción y por lo tanto no amplificar los loci de interés.

Marcador Molecular Nuclear: microsatélites

Desarrollo de marcadores microsatélites mediante NGS

Para la reineta es escaso el conocimiento genético poblacional que hay descrito, así como marcadores moleculares utilizados en ella. Por este motivo, y dentro de los objetivos del proyecto se consideró desarrollar una librería de loci microsatélites (e.g. Castoe et al. 2012), los cuales son polimórficos y han sido utilizados en muchos estudios poblacionales de recursos marinos (Canales-Aguirre et al. 2010, Galleguillos et al. 2012).

Se desarrollaron y ensayaron a nivel poblacional diez loci microsatélites en *Brama australis*, mediante una plataforma de Secuenciación de última Generación (NGS: *Next Generation Sequencing* en inglés) por los servicios de OMIC solutions (<http://omics-solutions.cl>) del centro nacional de genómica y bioinformática de Chile. Se utilizó un secuenciador 454 GS Jr de Roche en el cual se obtuvieron un total de 60.907 lecturas (i.e. secuencias cortas) con un largo promedio de secuencias de 416 pb. Del total de lecturas un 14% presentaron regiones microsatélites (i.e. 8.469). La búsqueda de regiones microsatélite con motivos di, tri, tetra, penta y hexa nucleótidos fue realizada en el programa MISA (<http://pgrc.ipk-gatersleben.de/misa/>). Se tomó como parámetro de búsqueda que la lectura que tenga una región micro debía contener al menos cinco motivos repetidos. Para las lecturas en donde se identificó regiones microsatélites se desarrollaron partidores específicos. Se utilizó el programa PRIMER3 (Untergasser et al. 2012) para identificar regiones y diseñar partidores para cada locus elegido. Se obtuvieron un total de 3.876 parejas de partidores de las cuales se sintetizaron 80 parejas. Las condiciones de amplificación fueron las mismas para todos los loci microsatélites y fue la siguiente: Tampon PCR 1X, MgCl₂ 3mM, primer F (0,4 μM), primer R (0,4 μM), dNTPs (0,8 mM), Taq polimerasa (0,1 U/μL). El programa utilizado en el termociclador correspondió a un protocolo *touchdown*, el cual aumenta la especificidad del *annealing* (hibridación de los partidores en la región flanqueante del locus objetivo) incorporando en los primeros ciclos temperaturas altas, comenzando a disminuir 0,5°C por cada ciclo transcurrido hasta alcanzar una temperatura de *annealing* final de 55°C. Específicamente el programa de termociclado fue: Denaturación inicial de 95°C por 300s, seguido de 20 ciclos con los siguientes pasos: denaturación de 95°C por 30s, *annealing* de 65-55°C (*touchdown*) por 30s, extensión de 72°C por 30s. En cada ciclo la temperatura disminuyó 0,5°C. Posteriormente, siguieron 20 ciclos con los siguientes pasos: denaturación a 95°C por 30s, *annealing* a 55°C por 30s, y extensión de 72°C por 30s. Finalmente un ciclo de extensión de 72°C por 300s.

Prueba de polimorfismo en microsatélites obtenidos

Utilizando las condiciones antes mencionadas se probó el polimorfismo de los loci microsatélites diseñados en un total de 40 individuos. El éxito de cada amplificación fue verificado en una cámara de electroforesis en un gel de agarosa UltraPure™ Agarose 1000 (Invitrogen™) al 4% y visualizado mediante tinción con bromuro de etidio. Para determinar el tamaño del amplicón utilizamos un marcador de peso molecular de 100 pares de bases (pb).

Para las parejas de partidores que mostraron una amplificación exitosa, su partidior forward fue marcado con los fluoróforos NED, PET, 6-FAM y VIC de AppliedBiosystems. Posteriormente se amplificaron los 40 individuos y se realizó un análisis de fragmentos en un secuenciador ABI 3730xl (AppliedBiosystems) con un estándar de peso molecular LIZ500. Para la determinación de los genotipos obtenidos se utilizó el programa Peak Scanner v1.0 (AppliedBiosystems).

Bases de Datos genéticas para los análisis estadísticos

Para dar cumplimiento a los objetivos planteados, la totalidad de datos genotípicos y haplotípicos fueron organizados en cuatro bases de datos. En la primera base de datos se consideran y comparan las zonas de captura que se indican en las bases técnicas, que corresponden a: zona Centro-Sur (entre las regiones de Valparaíso y BíoBío), zona de Calbuco (zona sur de la región de Los Lagos), y zona Austral, al sur de la boca del Guafo. En la segunda base de datos, los datos se organizaron y compararon en el marco de las ecoregiones marinas propuestas por Spalding et al. (2007), esto con la finalidad de dar un carácter biogeográfico al análisis estadístico de los datos, en la búsqueda de patrones más reales de divergencias genéticas que se puedan detectar. La tercera base de datos considera y compara las muestras por sexo, separando a los individuos entre machos y hembras. En la cuarta base de datos se agruparon las muestras por grupo etario, a partir de su talla, identificándose tres grupo principales de edad. Para la clasificación de las muestras en cada grupo etario se utilizó la información contenida en el proyecto del Fondo de Investigación Pesquera FIP 96-26 “Análisis y evaluación de la pesquería de reineta (*Brama australis*) en el litoral de la V Región”.

Determinación de calidad de base de datos de loci microsatélites

Con la finalidad de evitar un sesgo en el análisis poblacional, debido a la asignación incorrecta de genotipos producto de ADN degradado, bajas concentraciones de ADN o mutaciones en la región que flanquea el microsatélite objetivo (alelos nulos), se comprobó la calidad de la base de datos. Para esto se identificó errores de genotipado debido a presencia de alelos nulos (alelos no amplificados) con el

algoritmo de Brookfield (Brookfield, 1996), dominancia de alelos cortos, anotaciones de bandas tartamudas (repetidas) y errores tipográficos, mediante el programa Micro-Checker v2.2.3 (Van Oosterhout et al. 2004).

Parámetros de diversidad genética para loci microsatélites

Para los microsatélites utilizados se determinó las frecuencias alélicas de cada uno de los diez loci analizados, así como, el número de alelos. Además se determinó mediante conteo directo de homocigotos – heterocigotos la heterocigosidad observada (H_o) y heterocigosidad esperada (H_e) que fueron obtenidos en el programa GENALEX v6.5 (Peakall & Smouse 2012). Se realizó un test de equilibrio de Hardy & Weinberg (H&W) en el programa ARLEQUIN v3.5 (Excoffier & Lischer 2010). Estos parámetros de diversidad genética fueron realizados para cada una de las cuatro bases de datos bajo estudio.

Análisis de poder estadístico para loci microsatélites

El programa Powsim v4.0 (Ryman & Jorde 2001, Ryman & Palm 2006) fue utilizado para evaluar el poder estadístico o error tipo II en los análisis realizados (aceptar H_0 cuando esta es falsa, siendo esta H_0 homogeneidad genética) (*ver* Laikre et al. 2005, Ryman et al. 2006, Larsson et al. 2007, Canales-Aguirre et al. 2010), y el error tipo I (α). El poder estadístico fue estimado para los 10 loci microsatélites en conjunto, y así detectar diferenciación genética para varios niveles de F_{st} simulados. El análisis se realizó entre las tres zonas de muestreo: Centro-Sur, Calbuco y zona Austral, con 100,144 y 90 individuos, respectivamente. En las simulaciones se utilizó un tamaño efectivo poblacional de $N_e=80.000$, y diferentes valores de deriva generacional ($t=0$, $t=40$, $t=50$, $t=60$, $t=80$) para obtener los valores F_{st} hipotéticos. Donde sólo la simulación $t=0$ supone ausencia de deriva génica. Cada simulación fue corrida 10.000 veces y el poder estadístico fue determinado como la proporción de simulaciones que tanto el test exacto de Fisher como el test chi-cuadrado detectaban como significativas con un nivel de $p<0,05$.

Estructuración poblacional para loci microsatélites

Para estimar el grado de divergencia genética entre las agrupaciones bajo estudio se utilizaron el índice F_{st} de (Weir & Cockerham 1984), y su análogo R_{st} (Slatkin 1995) por pares de zonas, para las cuatro bases de datos, por zonas de muestreo según bases técnicas del FIP, base de datos según Spalding et al., (2007), zonas según grupos etarios, y zonas por sexo.

El índice F_{st} estima el grado de estructuración genética presente en la distribución geográfica de la especie en estudio. Valores F_{st} cercanos a 1 sugieren una fuerte estructuración genética y aislamiento reproductivo, mientras que índices F_{st} cercanos a 0 indicarían una débil estructuración genética y alto flujo génico, siempre y cuando este índice sea estadísticamente significativo, $p \leq 0,01$. La hipótesis nula que se evalúa en este análisis es si el índice F_{st} estimado es significativamente distinto de cero. Además se realizó un análisis de varianza de frecuencias alélicas (AMOVA: Analysis of molecular variance) en la cual se evaluó diversas hipótesis de estructuración genética en la base de datos por zonas de muestreo según bases técnicas del presente proyecto. Los análisis AMOVA se realizaron en el programa ARLEQUIN v3.5 (Excoffier & Lischer 2010). Para determinar diferencias significativas en cada uno de los análisis se utilizará un test de permutación basado en 10.000 permutaciones. Se aplicó una corrección para comparaciones múltiples basada en la tasa de encuentro de falsos positivos (Benjamini & Yekutieli 2001). Para cada locus microsatélite por separado se realizó un análisis AMOVA por F_{st} global para establecer cuantos microsatélites corroboran los estimados de diferenciación poblacional generados por la base de datos total.

Inferencia de cluster genéticos

Se determinó el número de agrupaciones genéticas más probables (K) utilizando una aproximación bayesiana implementada en el software GENELAND v0.3 (Guillot et al. 2005a, b). GENELAND analiza los datos en un contexto geográfico, así, coordenadas geográficas son utilizadas para detectar discontinuidades entre las poblaciones, además incorpora la incerteza posible en las coordenadas espaciales durante el muestreo (Guillot et al. 2005a, b). Se compararon los modelos de frecuencias alélicas correlacionadas y no correlacionada con la finalidad de determinar la convergencia de resultados según el modelo utilizado. Para todos los análisis realizados se incorporó el modelo espacial (coordenadas geográficas) y modelo de alelos nulos, este último dado que los resultados obtenidos desde MICROCHECKER (VER SECCION ANTERIOR) indica que es posible que alelos nulos estén presente en nuestro set de datos dado el exceso de homocigotos en algunos loci. Los parámetros utilizados fueron: Una tasa máxima de procesos de Poisson igual 305, el cual equivale al número de individuos total del set de datos, un número máximo de núcleos en la teselación Poisson-Voronoi de 915 (3x el número máximo de procesos de Poisson) (Guillot et al. 2005a). Se analizó un número mínimo de $K = 1$ hasta un número máximo de $K = 5$, este último correspondiendo al número máximo de áreas donde se obtuvieron muestras de reineta, según agrupaciones Spalding et al. (2007), las cuales incluye las

áreas para las zonas FIP. Número de iteraciones 1.000.000, con una frecuencia de muestreo cada 1.000 y un total de 3 réplicas independientes para determinar convergencia de resultados por modelo. Se determinó cuál es el número de poblaciones más probable basado en la densidad de probabilidad de cada K puesto a prueba y finalmente se generó un histograma de densidad de probabilidades por cada modelo con la finalidad de resumir los resultados del número de poblaciones más probable identificado por GENELAND. Debido al alto porcentaje de alelos nulos presentes en los marcadores microsatélites desarrollados, se utilizó la opción, incorporada en GENELAND de corregir la base de datos por alelos nulos.

Marcador Molecular Mitocondrial para *B. australis*: Citocromo Oxidasa I

Para el análisis de la Citocromo Oxidasa I del ADN mitocondrial de *B. australis*, se utilizaron 94 ejemplares provenientes de las zonas indicadas en las bases técnicas del presente: Centro-Sur (entre las regiones de Valparaíso y BíoBío), zona de Calbuco (zona sur de la región de Los Lagos), y zona Austral, al sur de la boca del Guafo. Los datos haplotípicos fueron además organizados y comparados en el marco de las ecoregiones marinas propuestas por Spalding et al. (2007).

Para la amplificación mediante la reacción en cadena de la polimerasa de un segmento de la COI de aproximadamente 700 pares de bases se utilizaron los partidores FishF2 (5'-TCG ACT AAT CAT AAA GAT ATC GGC AC-3') y FishR2 (5'ACT TGA GGG TGA CCG AAG AAT CAG AA-3') (Ward et al. 2005). La PCR se efectuó en un volumen final de 30 μ l que contenía 3 μ l de ADN molde, 2 mM de MgCl₂, 0,2 mM de dNTPs, 0,2 μ mol de cada partidor, 0,04 U de Taq ADN polimerasa (Invitrogen), 1X de tampón para PCR (Invitrogen) y 5X de tampón BSA. Los ciclos de temperatura se llevaron a cabo en un termociclador MJ Research PTC-200 DNA Engine con el siguiente programa de temperatura: desnaturalización inicial del ADN a 95°C por un minuto, seguido de 35 ciclos de amplificación (desnaturalización a 94°C por 15 segundos, unión de los partidores a 59°C por 15 segundos, extensión a 72°C por 30 segundos) y una extensión final de 10 minutos a 72°C. Los fragmentos de la amplificación por PCR del gen COI se separaron por electroforesis en gel de agarosa al 1%, se tiñó con bromuro de etidio (10mg/ml) y se visualizó mediante un transiluminador UV. Una vez terminado este proceso las muestras fueron secuenciadas en los laboratorios de MacrogenTM en Korea. La secuenciación se llevó a cabo utilizando un secuenciador ABI 3730xl. Las secuencias de ADN obtenidas fueron editadas y alineadas utilizando el algoritmo de ClustalX 1.83 (Thompson et al. 1997), y el programa BioEdit v. 7.2.5 (Hall 1999).

Parámetro de diversidad genética para el segmento COI del ADN mitocondrial de *B. australis*

La obtención de los parámetros básicos de diversidad genética como el número de haplotipos (h), diversidad haplotípica (Hd), diversidad nucleotídica (π) y el número de sitios segregados (S) se calcularon utilizando el programa DnaSP v 5.10.01 (Librado & Rozas 2009).

Estructura poblacional para el segmento COI del ADN mitocondrial de *B. australis*

Para evaluar la presencia de estructuración poblacional se utilizaron dos aproximaciones, una basada en el índice de fijación Φ_{st} y otra genotipo-espacial. Se utilizó el programa Arlequin 3.1 (Excoffier & Schneider 2005) para estimar los pares de comparaciones entre las zonas calculando el estadístico Φ_{st} (Excoffier et al. 1992) (usando el estadístico-F convencional basado solo en las frecuencias haplotípicas).

Inferencia de cluster genéticos: segmento COI del ADN mitocondrial de *B. australis*

Para la aproximación genotipo-espacial se usó el programa GENELAND v 3.2.2 (Guillot et al. 2005), una extensión de R (Ihaka & Gentleman 1996) que implementa un modelo estadístico con inferencia Bayesiana y que además utiliza datos geo-referenciados de los individuos secuenciados, infiriendo y localizando las discontinuidades genéticas entre las poblaciones. El número de clusters fue determinado a través de iteraciones de cadenas de Markov Monte Carlo (Markov Chain Monte Carlo, MCMC) para estimar K (número más probable de poblaciones). Se analizó un número mínimo de $K = 1$ hasta un número máximo de $K = 5$, este último correspondiendo al número máximo de áreas donde se obtuvieron muestras de reineta, según agrupaciones Spalding et al. (2007), las cuales incluye las áreas para las zonas FIP. Corriendo 10.000.000 de iteraciones muestreando cada 10.000

Resultados

Extracción de ADN, visualización y cuantificación

Las extracciones de ADN genómico de los 334 individuos fueron satisfactorias, tanto en cantidad, como calidad, siendo útiles para el ensayo de cualquier marcador molecular.

Marcador Molecular Nuclear: microsatélites

Desarrollo de marcadores microsatélites mediante NGS

Se marcaron con fluoróforos un total de 40 parejas de partidores, los cuales fueron ensayados para testear tanto las condiciones de PCR como su polimorfismo, los resultados obtenidos fueron satisfactorios. Eligiendo un total de 10 parejas de partidores para el análisis a nivel poblacional.

En la **Tabla 4** se detallan los loci microsatélites aplicados a nivel poblacional para *Brama australis*. Se informa el motivo de repetición de los loci ensayados, el rango de tamaño alélico que se detectaron en la totalidad de las muestras del presente estudio, el número de alelos observados por microsatélite, la heterocigosidad observada y esperada al equilibrio de Hardy Weinberg, así como la significancia de las desviaciones a este equilibrio, y los valores de probabilidad asociados a los estimados de F_{st} y R_{st} del AMOVA global locus por locus.

En este contexto, ocho de los diez loci microsatélites analizados muestran desviaciones significativas al equilibrio de Hardy Weinberg. Todos ellos con un marcado déficit de heterocigotos, existiendo múltiples causas para su origen. Rico et al. (1997) revisa posibles causas del exceso de homocigotos, evaluando varias hipótesis relacionadas con error de genotipado, presencia de alelos nulos, efecto Wahlund (Wahlund, 1928), endogamia, apareamiento selectivo, y /o selección.

Al evaluar la hipótesis de alelos nulos en la base de datos de *Brama australis*, seis de los 10 microsatélites analizados muestran altos porcentajes de alelos nulos, que varían entre el 23% (microsatélite R82), al 12% (microsatélite R42). Dakin & Avise (2004), establecen que los alelos nulos están presentes en la mayoría de la taxa, particularmente en aquellas poblaciones con altos tamaños efectivos poblacionales (Chapuis & Estoup 2007), como es el caso de los peces pelágico como *Brama australis*.

El alto porcentaje de alelos nulos podrían contribuir al significativo desequilibrio de Hardy Weinberg de los marcadores desarrollados, teniendo presente las potenciales consecuencias de este desequilibrio en el análisis de diferenciación poblacional. Los alelos nulos crean falsos homocigotos, lo cual es problemático para las estimaciones de diferenciación poblacional, y análisis de parentesco. Sin embargo, si las frecuencias alélicas son corregidas para esta situación, las bases de datos si pueden

ser utilizadas para evaluar diferenciación poblacional (*ver* Van Oosterhout et al. 2004). Considerando además que Carlsson (2008) realiza un análisis basado en simulaciones, sin corregir la base de datos, demostrando que loci microsatélites afectados por alelos nulos, no alterarían el resultado de análisis de parentesco, y por lo tanto pueden ser incluidos en este tipo de análisis. Esta información nos permite establecer que los diez microsatélites desarrollados generan información útil para la delimitación de unidades evolutivas.

La variabilidad genética para las agrupaciones según las zonas de Centro-Sur, Calbuco y Austral indican valores de número de alelos entre 6 (R6) a 14 alelos (R9), con heterocigosidades observadas que varían entre 0,176 (R5) a 0,855 (R61). Las heterocigosidades esperadas varían entre 0,421 (R43) a 0,847 (R61) (**Tabla 5**). Para la variabilidad genética en agrupaciones según Spalding et al. (2007), se observó un N_a promedio entre 5,7 a 9,5 alelos por localidad, un H_o entre 0,399 – 0,506 y una H_e entre 0,635 y 0,677 (**Tabla 6**). Cuando se analizan los parámetros de variabilidad genética por grupo etario, el número de alelos detectados varía entre 6 (R5 y R61) y 15 (R2) con heterocigosidades observadas que varían entre 0,176 (R5) a 0,855 (R61). Las heterocigosidades esperadas varían entre 0,197(R5) a 0,872 (R61) (**Tabla 7**). Los parámetros de variabilidad genética por grupo de sexo mostraron un promedio de número de alelos de 11 tanto para hembras como para machos, y una H_o entre 0,207 (R5 machos), y 0,820 (R61 hembras), con una H_e entre 0,372 (R43 machos) a 0,839 (R61 hembras) (**Tabla 8**). Como se observa la tendencia al desequilibrio de Hardy Weinberg en la mayoría de los loci, y agrupaciones analizadas prosigue. Sin embargo dados argumentos de párrafos anteriores se consideran datos fiables para los posteriores análisis de diferenciación poblacional.

En la **Tabla 9** se indica los niveles de poder estadístico para el set de diez loci microsatélites, las simulaciones indican que el conjunto de microsatélites, en combinación con el tamaño de la muestra utilizado, confiere suficiente poder estadístico, capaz de detectar divergencias genéticas a un nivel de F_{st} tan bajo como 0,0017, con una probabilidad de 0,92. Destacando que a pesar de los desequilibrios de Hardy Weinberg, presentado en la mayoría de los microsatélites analizados, estos poseen el suficiente poder estadístico como para detectar niveles de diferenciación genética tan bajos como 0,0017, y delimitar con certeza unidades evolutivas. En ausencia de deriva génica (setting de $t=0$), el error tipo I o α , correspondiente a la probabilidad de rechazar la hipótesis nula (H_0 ; homogeneidad genética; $F_{st}=0$) cuando esta es verdadera, varía desde 0,032 con el test χ^2 , a 0,053 con el test de Fisher, bordeando el 5% de la significancia estadística. Una vez evaluado y confirmado el poder

estadístico del set de microsatélites, se procedió a estimar los niveles de divergencia genética existentes entre las diversas agrupaciones en estudio.

Las estimaciones del índice de estructuración genética poblacional del F_{st} generan valores no estadísticamente significativos, para las comparaciones entre zonas de captura de la reineta en Chile. Estos estimados varían entre 0,001, para la comparación zona Centro-Sur versus zona de Calbuco, a 0,003 entre Calbuco y las zonas Centro-Sur y Austral (**Tabla 10**). Los estimados del R_{st} , si bien son más altos para algunas comparaciones, siguen siendo estadísticamente no significativos (**Tabla 11**). El análisis de AMOVA locus por locus, ratifica estos resultados (**Tabla 4**), donde de los 10 loci analizados, sólo el microsatélite R43, se encuentra al borde de la significancia para la homogeneidad, con un P-Value de 0,013 ($\alpha = 0.01$). Corroborando que el significativo déficit de heterocigotos detectados en el análisis de desequilibrio de Hardy Weinberg, no afecta las estimaciones de diferenciación genética poblacional.

En el caso de las comparaciones según las eco-regiones descritas por Spalding et al. (2007), los valores del índice de estructuración poblacional F_{st} mostraron valores significativos a un nivel de significancia del 0,05% solo para la comparación de la zona Austral V, con el resto de las localidades comparadas (**Tabla 12**). Sin embargo, al aplicar la corrección de análisis múltiples de Bonferroni, el cual nos entregó un nuevo valor de significancia de 0,001, ninguna de las comparaciones pareadas fue significativas. Para el caso del índice R_{st} se observó diferencias significativas previas a la corrección de Bonferroni, sin embargo al aplicar esta corrección ninguna de las comparaciones pareadas fue significativas (**Tabla 13**).

En la **Tabla 14**, se informan los índices de estructuración genética F_{st} y R_{st} para las comparaciones entre grupos etarios, inferidos a partir de las tallas registradas. Ninguno de los estimados resulto estadísticamente significativo, variando entre -0,001, para el F_{st} entre el grupo de edad IV y V, a 0,014 para el R_{st} de la comparación entre los grupos de edad V a VI. Cuando se estiman los índices entre las comparaciones entre machos y hembras, los estimados de los índices de estructuración poblacional F_{st} y R_{st} no mostraron ningún valor estadísticamente significativo (**Tabla 15**).

Cuando se evalúa la divergencia genética a distintos niveles, a través de un análisis de varianza molecular (**Tabla 16**), ninguno de los estimados resultan ser estadísticamente distintos de 0, es decir, se acepta la hipótesis de homogeneidad genética, a partir de las frecuencias de los alelos del set de microsatélites utilizados.

Para el segmento de ADN de la Citocromo Oxidasa I analizado, y para los haplotipos organizados en las zonas de captura de la reineta en Chile, en los análisis moleculares se identificaron 22 sitios polimórficos y un total de 26 haplotipos. El mayor número de sitios segregantes y número de haplotipos por zona se registró para Zona Centro-Sur (S=14), seguido de Zona Austral (S=13). La diversidad haplotípica (H_d) en general fue alta para las tres zonas, variando entre los valores 0,789 y 0,823. La diversidad nucleotídica (π) fue de 0,00243 para las Zonas Centro Sur y Calbuco y de 0,00224 para la Zona Austral (**Tabla 17**).

En el caso de los haplotipos organizados según las ecoregiones, se identificaron 22 sitios polimórficos y un total de 26 haplotipos (**Tabla 18**). El mayor número de sitios segregantes y número de haplotipos por zona se registró para la Zona Sur Peruana (S=14), seguido de la Zona Nor-Patagonica (S=11). La diversidad haplotípica (H_d) en general fue alta para las cinco zonas, variando los valores entre 0,778 y 0,867. La diversidad nucleotídica (π) más alta fue para la Zona Austral con 0,00280, mientras que para las otras 4 zonas los valores oscilaron entre 0,00188 y 0,00243 (**Tabla 18**).

En la evaluación de estructuración poblacional los valores del índice de fijación por pares de comparaciones, estos estimados fueron cercanos a cero, y no se evidencio ninguna comparación estadísticamente significativa en ninguna de las agrupaciones tanto para las zonas de captura de la reineta en Chile, así como para las ecoregiones descritas por Spalding et al. (2007) (**Tabla 19, Tabla 20**). Cuando se evalúa la divergencia genética a distintos niveles, a través de un análisis de varianza molecular (**Tabla 16**), ninguno de los estimados resultan ser estadísticamente distintos de 0, es decir, se acepta la hipótesis de homogeneidad genética, a partir de las frecuencias de los haplotipos de la COI analizados.

Para el set de microsatélites y muestras analizadas, los resultados de la identificación de clúster genéticos de individuos basado en el análisis bayesiano de genotipos multilocus e incorporando la georreferencia de cada individuo nos muestra que el número más probable de K (K = poblaciones) es de 1. Este resultado convergió entre ambos modelos utilizados (i.e. alelos correlacionado y no correlacionado). En ambos casos la densidad de probabilidades para una asignación de K = 1 fue sobre el 70% (**Figura 2**).

En el caso del análisis de la COI del ADN mitocondrial, los resultados de la identificación de clúster genéticos de individuos basado en el análisis bayesiano nos muestra que el número más probable de K (K = poblaciones) es de 1. La densidad de probabilidades para una asignación de K = 1 fue sobre el 70% (**Figura 3**).

Tabla 5. Parámetros de variabilidad genética de *Brama australis*

Estimadores para los 10 loci microsátelites para las zonas Centro-Sur (entre las regiones de Valparaíso y BíoBío), zona de Calbuco (zona sur de la región de Los Lagos), y zona Austral, al sur de la boca del Guafo.

Localidad	Parámetro	LOCUS									
		R2	R5	R6	R9	R43	R82	R47	R61	R42	R23
Centro-Sur	N	88	85	87	87	83	68	82	77	75	74
	Na	12	6	8	14	9	11	9	11	7	8
	Ho	0,363	0,176	0,459	0,540	0,337	0,308	0,512	0,779	0,373	0,594
	He	0,780	0,591	0,522	0,775	0,357	0,783	0,792	0,847	0,633	0,629
	H&W	0,000	0,000	0,120	0,000	0,227	0,000	0,000	0,240	0,000	0,003
Calbuco	N	117	119	117	114	121	105	119	118	103	115
	Na	13	6	11	12	7	12	13	11	7	10
	Ho	0,341	0,243	0,435	0,421	0,421	0,257	0,579	0,855	0,330	0,591
	He	0,777	0,555	0,618	0,756	0,421	0,772	0,813	0,840	0,576	0,614
	H&W	0,000	0,000	0,000	0,000	0,651	0,000	0,000	0,752	0,000	0,000
Austral	N	80	81	80	78	75	60	82	74	66	73
	Na	13	7	6	12	8	11	13	10	8	7
	Ho	0,412	0,345	0,587	0,551	0,466	0,200	0,426	0,783	0,575	0,493
	He	0,775	0,645	0,585	0,701	0,514	0,793	0,808	0,828	0,654	0,517
	H&W	0,000	0,000	0,541	0,000	0,131	0,000	0,000	0,429	0,017	0,389

N: Number of individuals amplified; Na: Number of alleles per populations; Ho: Observed heterozygosity He: Expected heterozygosity; H&W: valor de probabilidad para el test de equilibrio de Hardy & Weinberg. Valores en negrita significativos al $p < 0,05$ de significancia.

Tabla 6. Parámetros de variabilidad genética utilizando ecoregiones.

Estimadores de variabilidad genética utilizando zonas descritas por Spalding et al. (2007). I: Sur Peruana, II: NorPatagonica III: Patagonia Central, IV: SurPatagonia, V: Austral. H&W: valor de probabilidad del test exacto de H&W. Valores en negrita significativos al $p < 0,05$ de significancia.

Localidad		R2	R5	R6	R9	R43	R82	R47	R61	R42	R23	Promedio
I	N	88	85	87	87	83	68	82	77	75	74	
	Na	12	6	8	14	9	11	9	11	7	8	9,5
	Ho	0,375	0,176	0,460	0,540	0,337	0,309	0,512	0,779	0,373	0,595	0,445
	He	0,776	0,588	0,519	0,771	0,355	0,778	0,787	0,842	0,630	0,625	0,667
	H&W	0,000	0,000	0,120	0,000	0,222	0,000	0,000	0,228	0,000	0,002	
II	N	98	100	99	101	102	92	102	100	93	98	
	Na	11	6	10	11	7	10	13	11	6	10	9,5
	Ho	0,347	0,240	0,424	0,436	0,461	0,239	0,618	0,850	0,333	0,653	0,460
	He	0,768	0,564	0,616	0,725	0,443	0,759	0,827	0,843	0,579	0,650	0,677
	H&W	0,000	0,000	0,000	0,000	0,726	0,000	0,000	0,462	0,000	0,001	
III	N	58	61	58	55	54	45	59	54	47	54	
	Na	12	6	7	11	7	10	12	10	7	7	8,9
	Ho	0,431	0,361	0,621	0,564	0,463	0,244	0,424	0,833	0,638	0,481	0,506
	He	0,776	0,620	0,596	0,733	0,470	0,782	0,739	0,825	0,633	0,549	0,672
	H&W	0,000	0,000	0,569	0,003	0,577	0,000	0,000	0,748	0,055	0,196	
IV	N	28	27	26	23	28	17	27	25	21	23	
	Na	9	4	5	9	6	8	9	8	6	4	6,8
	Ho	0,429	0,333	0,462	0,348	0,321	0,235	0,370	0,720	0,429	0,348	0,399
	He	0,796	0,462	0,595	0,738	0,397	0,799	0,796	0,797	0,639	0,337	0,635
	H&W	0,000	0,164	0,168	0,000	0,258	0,000	0,000	0,169	0,140	0,619	
V	N	13	12	14	13	12	11	13	13	8	13	
	Na	6	5	5	7	6	6	7	8	3	4	5,7
	Ho	0,154	0,167	0,571	0,615	0,417	0,182	0,462	0,846	0,250	0,462	0,412
	He	0,654	0,722	0,454	0,663	0,590	0,777	0,828	0,704	0,594	0,388	0,637
	H&W	0,000	0,000	1,000	0,127	0,224	0,000	0,001	0,781	0,039	1,000	

Tabla 7. Parámetros de variabilidad genética bajo el criterio de grupos de edad.

Parámetros de variabilidad genética de *Brama australis* para 10 loci microsatélites en las muestras bajo estudio, bajo el criterio de grupos de edad (Grupo Edad IV entre 33 a 39 cm longitud horquilla; Grupo Edad V entre 40 a 46 cm longitud horquilla; Grupo Edad VI entre 47 a 68 cm longitud horquilla).

Grupo Etario	Parámetro	LOCUS									
		R2	R5	R6	R9	R43	R82	R47	R61	R42	R23
Grupo Edad IV	N	134	134	131	128	130	108	136	132	109	126
	Na	15	7	12	13	8	11	14	10	7	9
	Ho	0,388	0,291	0,480	0,500	0,415	0,259	0,500	0,803	0,376	0,555
	He	0,795	0,588	0,592	0,749	0,461	0,789	0,810	0,836	0,592	0,585
	H&W	0,000	0,000	0,009	0,000	0,115	0,000	0,000	0,504	0,000	0,178
Grupo Edad V	N	84	84	84	84	94	74	90	86	77	89
	Na	11	7	8	9	7	11	14	11	9	9
	Ho	0,357	0,261	0,488	0,523	0,404	0,229	0,544	0,872	0,467	0,573
	He	0,741	0,607	0,556	0,767	0,377	0,762	0,813	0,833	0,641	0,588
	H&W	0,000	0,000	0,134	0,000	0,648	0,000	0,000	0,675	0,000	0,082
Grupo Edad VI	N	72	71	71	71	73	61	74	65	62	64
	Na	11	6	8	14	9	11	10	13	6	8
	Ho	0,333	0,197	0,507	0,464	0,328	0,311	0,527	0,784	0,387	0,546
	He	0,783	0,614	0,602	0,734	0,392	0,784	0,794	0,853	0,620	0,618
	H&W	0,000	0,000	0,067	0,000	0,013	0,000	0,000	0,222	0,000	0,000

N: Number of individuals amplified; Na: Number of alleles per populations; Ho: Observed heterozygosity He: Expected heterozygosity; H&W: valor de probabilidad para el test de equilibrio de Hardy & Weinberg. Valores en negrita significativos al $p < 0,05$ de significancia.

Tabla 8. Parámetros de variabilidad genética por sexo.

Parámetros de variabilidad genética de *Brama australis* para 10 loci microsatélites, utilizando la base de datos diferenciada por sexo.

Grupo		R2	R5	R6	R9	R43	R82	R47	R61	R42	R23	Promedio
Hembras	N	143	144	141	140	140	140	112	142	119	132	
	Na	14	7	11	12	11	11	13	12	8	11	11
	Ho	0,391	0,298	0,503	0,478	0,485	0,232	0,514	0,820	0,428	0,590	0,473
	He	0,774	0,593	0,620	0,765	0,487	0,768	0,776	0,839	0,606	0,597	0,682
	H&W	0,000	0,000	0,001	0,000	0,440	0,000	0,000	0,896	0,000	0,014	
Machos	N	141	140	142	139	138	120	140	134	125	130	
	Na	15	8	11	16	8	13	15	11	9	8	11,4
	Ho	0,347	0,207	0,471	0,510	0,333	0,283	0,514	0,805	0,392	0,538	0,406
	He	0,779	0,589	0,544	0,723	0,372	0,792	0,832	0,837	0,625	0,590	0,668
	H&W	0,000	0,000	0,132	0,000	0,028	0,000	0,000	0,231	0,000	0,000	

N: Number of individuals amplified; Na: Number of alleles per populations; Ho: Observed heterozygosity He: Expected heterozygosity; H&W: valor de probabilidad para el test de equilibrio de Hardy & Weinberg. Valores en negrita significativos al $p < 0,05$ de significancia.

Tabla 9. Estimados del poder estadístico de 10 loci microsatélites.

Valores de probabilidad χ^2 y Test de Fisher para detectar niveles de diferenciación poblacional (Fst) por promedio de test exacto de Fisher's y χ^2 , algoritmo implementado en POWSIM (Ryman & Palm 2006).

Fst esperado	X ² Test	Fisher's Test	Ne	Generaciones t	Runs
0	0,032	0,053	80.000	0	10.000
0,0014	0,811	0,809	80.000	40	10.000
0,0017	0,927	0,920	80.000	50	10.000
0,0021	0,978	0,978	80.000	60	10.000
0,0028	0,998	0,996	80.000	80	10.000

Tabla 10. Índice de estructuración poblacional Fst por pares de zonas FIP

Considerando tres zonas en Chile: Centro-Sur (entre las regiones de Valparaíso y BíoBío), zona de Calbuco (zona sur de la región de Los Lagos), y zona Austral, al sur de la boca del Guafo. Ningún par significativo después de la corrección de Bonferroni ($\alpha = 0,05 / 30 = 0,001$).

Localidad	Centro-Sur	Calbuco	Austral
Centro-Sur	0,000		
Calbuco	0,001	0,000	
Austral	0,003	0,003	0,000

Tabla 11. Índice de estructuración poblacional Rst por pares de zonas FIP

Considerando tres zonas en Chile: Centro-Sur (entre las regiones de Valparaíso y BíoBío), zona de Calbuco (zona sur de la región de Los Lagos), y zona Austral, al sur de la boca del Guafo. Ningún par significativo después de la corrección de Bonferroni ($\alpha = 0,05 / 30 = 0,001$).

Localidad	Centro-Sur	Calbuco	Austral
Centro-Sur	0,000		
Calbuco	0,021	0,000	
Austral	0,017	0,008	0,000

Tabla 12. Índice de estructuración poblacional Fst por ecoregiones.

Considerando las zonas descritas por Spalding et al. (2007). I: Sur Peruana, II: NorPatagonica III: Patagonia Central, IV: SurPatagonia, V: Austral. Ningún par significativo después de la corrección de Bonferroni ($\alpha = 0,05 / 50 = 0,001$).

Localidad	I	II	III	IV	V
		0,561	0,298	0,293	0,012
I	0,000		0,835	0,844	0,005
II	0,000	0,000		0,293	0,003
III	0,002	-0,001	0,000		0,013
IV	0,005	0,001	0,004	0,000	
V	0,028	0,030	0,032	0,035	0,000

Tabla 13. Índice de estructuración poblacional Rst por ecoregiones.

Considerando las zonas descritas por Spalding et al. (2007). I: Sur Peruana, II: NorPatagonica III: Patagonia Central, IV: SurPatagonia, V: Austral. Ningún par fue significativo después de la corrección de Bonferroni ($\alpha = 0,05 / 50 = 0,001$).

Localidad	I	II	III	IV	V
		0,001	0,068	0,006	0,007
I	0,000		0,022	0,001	0,050
II	0,024	0,000		0,016	0,075
III	0,013	0,016	0,000		0,015
IV	0,047	0,056	0,043	0,000	
V	0,137	0,063	0,062	0,130	0,000

Tabla 14. Índice de estructuración poblacional Fst y Rst por grupos de edad.

Índice de estructuración poblacional Fst y Rst para 10 loci microsatélites de *Brama australis*. Las comparaciones se realizaron bajo el criterio de grupos de edad (Grupo Edad IV entre 33 a 39 cm longitud horquilla; Grupo Edad V entre 40 a 46 cm longitud horquilla; Grupo Edad VI entre 47 a 68 cm longitud horquilla). Ningún par significativo después de la corrección de Bonferroni ($\alpha = 0,05 / 30 = 0,001$).

Grupo Etario	Fst			Rst		
	IV	V	VI	IV	V	VI
IV	0,000	0,948	0,847	0,000	0,120	0,224
V	-0,002	0,000	0,935	0,009	0,000	0,105
VI	-0,001	-0,002	0,000	0,004	0,014	0,000

Tabla 15. Índice de estructuración poblacional Fst y Rst por sexo

Índice de estructuración poblacional Fst y Rst por pares de agrupaciones por sexo. Ningún par significativo después de la corrección de Bonferroni ($\alpha = 0,05 / 20 = 0,002$).

	Fst		Rst	
	Hembra	Macho	Hembra	Macho
Hembra	0,000	0,128	0,000	0,396
Macho	0,002	0,000	0,001	0,000

Tabla 16. Análisis de varianza molecular AMOVA para COI y microsatélites.

Agrupación	Citocromo Oxidasa I		Microsatélites	
	Φ -Estadísticos	p-value	Φ -Estadísticos	p-value
Panmixia	Fst: -0,0172	0,984	Fst: -0,0001	0,999
Centro-Sur/Calbuco/Austral				
Grupo 1: Centro Sur/Calbuco	Fct: -0,0017	0,670	Fct: -0,0009	0,703
Grupo 2: Austral				
Grupo 1: Centro-Sur	Fct: 0,0072	0,336	Fct: 0,0014	0,191
Grupo 2: Calbuco/Austral				

Tabla 17. Índices de diversidad molecular para el marcador COI por zonas FIP.

Marcador COI del ADN mitocondrial de *Brama australis* en las agrupaciones de zonas FIP, siendo: (N); número de sitios segregados (S); número de haplotipos (h); diversidad haplotípica (Hd); diversidad nucleotídica (π).

Localidad	N	S	h	Hd	π
Centro Sur	36	14	14	0,789±0,065	0,00243±0,00039
Calbuco	25	11	11	0,823±0,067	0,00243±0,00040
Austral	33	12	13	0,818±0,057	0,00224±0,00030
TOTAL	94	22	26	0,799±0,037	0,00235±0,00022

Tabla 18. Índices de diversidad molecular para el marcador COI por ecoregiones.

Índices de diversidad molecular para el marcador COI del ADN mitocondrial de *Brama australis* en las agrupaciones Spalding et al. (2007), siendo: (N) número de individuos; (S) número de sitios segregados; (h) número de haplotipos; (Hd) diversidad haplotípica; (π) diversidad nucleotídica.

Localidad	N	S	h	Hd	π
I. Sur-Peruana	36	14	14	0,789±0,065	0,00243±0,00039
II. Nor-Patagonica	25	11	11	0,823±0,067	0,00243±0,00040
III. Patagonia Central	14	7	8	0,857±0,077	0,00218±0,00039
IV. Sur-Patagonica	9	3	4	0,778±0,110	0,00188±0,00040
V. Austral	10	7	7	0,867±0,107	0,00280±0,00060
TOTAL	94	22	26	0,799±0,037	0,00235±0,00022

Tabla 19. Índice de estructuración poblacional Φ_{st} por pares de Zonas FIP.

Ningún par significativo después de la corrección de Bonferroni ($\alpha = 0,05 / 30 = 0,001$).

Localidad	Centro Sur	Calbuco	Austral
Centro Sur	0,000	0,982	0,872
Calbuco	-0,022	0,000	0,887
Austral	-0,015	-0,014	0,000

Tabla 20. Índice de estructuración poblacional Φ_{st} por pares de ecoregiones.

Se considera las zonas descritas por Spalding et al. (2007). I: Sur Peruana, II: NorPatagonica III: Patagonia Central, IV: SurPatagonia, V: Austral. Ningún par significativo después de la corrección de Bonferroni ($\alpha = 0,05 / 50 = 0,001$).

Localidad	I	II	III	IV	V
I	*	0,960	0,982	0,964	0,601
II	-0,035	*	0,878	0,897	0,603
III	-0,044	-0,015	*	0,603	0,602
IV	-0,049	-0,025	-0,038	*	0,654
V	-0,028	-0,015	-0,019	-0,031	*

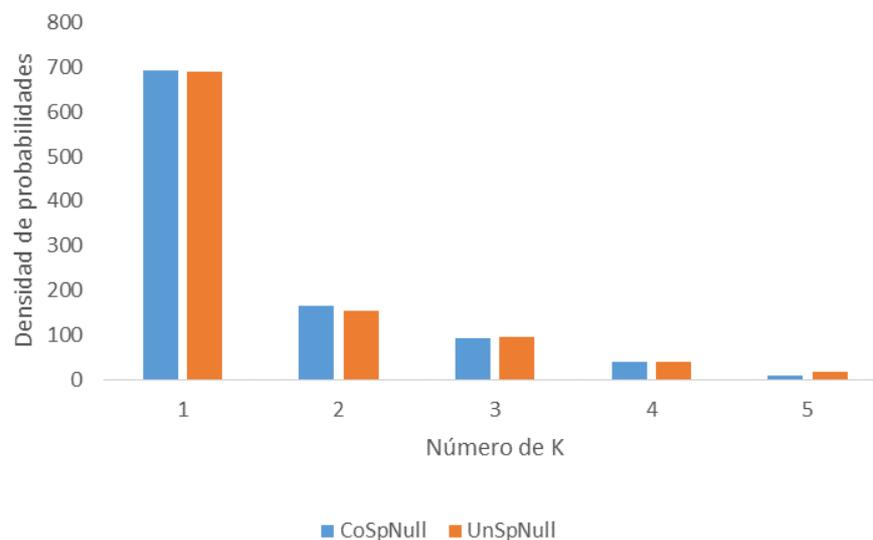


Figura 2. Densidad de probabilidades de K en microsatélites

Densidad de probabilidades para identificar el número de poblaciones más probable (K) para los datos genéticos de microsatélites en *Brama australis*. Se utilizan dos modelos de correlación. Azul: modelo de mezcla con frecuencia alélica correlacionada (CoSpNull) y Naranja: modelo de mezcla con frecuencia alélica no correlacionada (UnSpNull). Ambos modelos incorporaron modelos espaciales y presencia de alelos nulos.

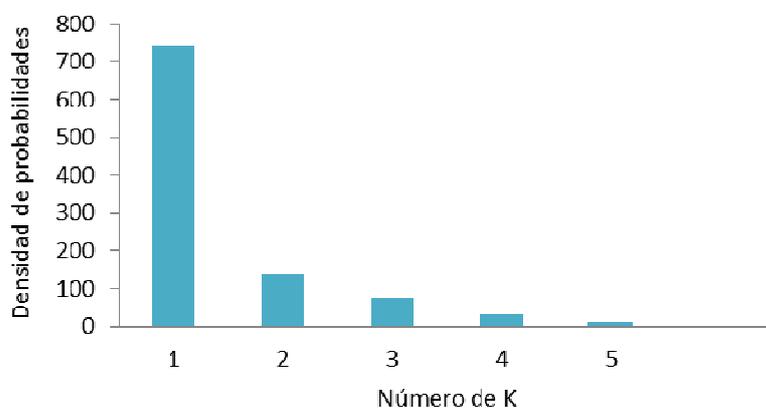


Figura 3. Densidad de probabilidades de K en COI

Densidad de probabilidades para identificar el número de poblaciones más probable (K) para los datos genéticos de la COI del ADN mitocondrial en *Brama australis*. Se utilizó el modelo correlacionado, incluyendo las coordenadas geográficas.

Del análisis de los diez loci microsatélites se obtuvo un total de 3.340 genotipos, donde cada loci se consideró para posteriores análisis que segregan de forma independiente, dado que el test de desequilibrio por ligamiento arroja valores no significativos. Los estimados de heterocigosidades observadas y esperadas, así como el número de alelos por locus se encuentra por debajo de los valores promedio informados para peces marinos, con valores promedio de 20 alelos por locus y heterocigosidades de 0,79 (*ver* DeWoody & Avise 2000). Este bajo número de alelos y bajas heterocigosidades podría reflejar bajos tamaños efectivos poblacionales de la especie y/o tasas de mutacionales menores de lo usual para microsatélites (10^{-4} mutaciones por gen y por generación) (Jarne & Lagoda 1996).

Un punto importante a considerar es que los procesos genéticos en poblaciones naturales generalmente, son muchos más complejos que los propuesto por modelos teóricos como el de Hardy Weinberg, esto principalmente porque el algoritmo fue descrito para una población ideal con varios supuestos que no deben ser violados. Dentro de los supuestos encontramos que la población debe tener un tamaño infinito (evitando la deriva génica), hay apareamiento al azar, presenta generaciones discretas, no hay migración, mutación, ni selección (*ver* Waples 2014). En el caso de la Reineta las desviaciones al equilibrio de Hardy & Weinberg puede deberse a que varios de estos supuestos son violados, considerando que el déficit de herocigosotos puede ser generado por más de un factor, sin ser necesariamente los alelos nulos (errores de genotipado) el origen de este desequilibrio. A continuación se detalla características biológicas de esta población natural que puede dar cuenta de estas desviaciones.

a) Tamaño poblacional infinito: En este caso sabemos que según los desembarques de la especie que corresponden a 16 mil toneladas en el 2012 (Anuario estadístico de pesca 2013) dan cuenta que no es una población pequeña. Poblaciones pequeñas tienden a presentar desviaciones al equilibrio de HW dado que por estocasticidad pueden fijarse alelos de una generación a otra o en pocas generaciones. Sin embargo, a la fecha no se conoce información de biomasa desovante o tamaños efectivos poblacionales.

b) Apareamiento al azar: A la fecha escasa es la información respecto a las áreas de desove en la Reineta, sin embargo se estima que este proceso debe ser oceánico dado que cercano a la costa no se han encontrado juveniles, huevos o larvas, sino individuos adultos en estado previos a madurez (Leal & Oyarzun 2003). Por otro lado, dado los resultado de la aproximación de microquímica de otolitos, el área nor patagónica (Canal de Chacao-Península de Taitao) podría constituir o encontrarse

cercana a la principal área reproductiva de esta especie, cuyos huevos y larvas serían retenidos o desplazados en su mayoría hacia una zona común de crianza, aún pendiente de localizar.

c) Estructura poblacional: Uno de los supuestos es que la población corresponde a una sola unidad que se aparee aleatoriamente, a modo de una población mendeliana. El conocido efecto Wahlum – deficiencia de heterocigotos producto de una mezcla de individuos provenientes de más de una población de origen (Wahlum 1928) – puede dar cuenta de desviaciones al HWE. Este supuesto puede ser violado cuando individuos son muestrados no en sus áreas de desove sino en áreas de alimentación o durante migraciones donde posiblemente múltiples poblaciones pueden solaparse. Aunque en el caso de la Reineta se tiene conocimiento que el periodo en donde alcanza las costas Chilenas está relacionado a procesos migratorios en búsqueda de alimentación esto podría dar cuenta del desequilibrio encontrado y estar en presencia de más de una población. Sin embargo análisis realizados que toman en cuenta genotipos multilocus i.e. Geneland, y AMOVA locus por locus no mostraron presencia de más de un grupo genético poblacional. Por lo que no estaríamos en presencia de un Efecto Wahlum, y los desequilibrios al parecer no estarían relacionados a esto.

d) Estructura de edades: El modelo teórico de HW asume que hay generaciones discretas en la población, sin embargo estructura de edades puede dar cuenta de un efecto similar a Wahlum (Waples 2014). Como explica Waples (2014) “En especies con generaciones superpuestas, los individuos en una sola cohorte son producidos por los adultos que participan en 1 ciclo reproductivo, no por el apareamiento al azar de todos los adultos en toda una generación. Los padres en diferentes ciclos de reproducción diferirán en cierta medida en las frecuencias alélicas, por lo que su descendencia también lo hará. Por lo tanto, una muestra de individuos de edades mixtas es, en esencia, compuesto de un número de subpoblaciones, con el resultado esperado es una deficiencia de heterocigotos en comparación con las expectativas de HW en loci individuales...”. Esto puede ser un problema en poblaciones naturales, sin embargo se realizaron análisis en la base de datos de la Reineta separando por cohortes. Los resultados obtenidos dieron cuenta que no hay diferencias significativas entre cohortes, por lo que las desviaciones a HW, y déficit de heterocigotos no serían generados por solapamiento de generaciones.

f) Mutación: Mutaciones en células germinales se pueden pasar de una generación a otra, mientras que las mutaciones somáticas se acumulan con el tiempo y pueden cambiar las frecuencias de alelos dentro de una cohorte (Waples 2014). En teoría, cualquiera de estos procesos podría alterar la relación entre las frecuencias alélicas de parentales y las frecuencias genotípicas en su descendencia. (Barton 2000).

g) Similitud entre frecuencias alélicas en machos y hembras: De haber diferencias en frecuencias alélicas entre machos y hembras es posible encontrar loci en desequilibrio de HW. Sin embargo, se realizaron análisis por sexo y no se encontraron diferencias entre machos y hembras.

h) Errores de genotipado: Errores debidos a la técnica es algo inevitable. Bandas tartamudas, preferencia de amplificación de bandas de pequeño tamaño o alelos nulos son algunos de los errores más comunes. No obstante, uno de los más citados en literatura es la presencia de alelos nulos, los cuales dan cuenta de loci en desequilibrio, y además un déficit de heterocigotos. Un alelo nulo es producto de la no amplificación de uno de los alelos, considerándose un individuo homocigoto siendo heterocigoto, esto es producto de una mutación en la región flanqueante donde hibridan uno de los primers. La base de datos de la reineta fue testeada para determinar errores de genotipado, se observó que algunos loci podrían estar en presencia de alelos nulos. Sin embargo, es menos probable la presencia de alelos nulos en loci microsatélites especie específicos como lo son en la reineta y el presente trabajo. La identificación y corroboración de alelos nulos no es sencilla, ya que uno debe por ejemplo tener los genotipos de los padres para detectar si uno de los alelos no fue amplificado producto de alguna mutación en la región flanqueante.

Frente a esta información se recalca, que debido a que seis de los diez microsatélites analizados muestran alelos nulos, se realizó un análisis de poder estadístico para la base de datos individual y en conjunto, obteniendo alto nivel de poder estadístico, un 92% de probabilidad de detectar niveles de diferenciación tan bajos como un F_{st} de 0.0017, los resultados del análisis de AMOVA locus por locus indican que todos los microsatélites utilizados muestran resultados de homogeneidad genética, el análisis de divergencia genética georreferenciado, fue corregido para alelos nulos, y muestra los mismos resultados del AMOVA y del F_{st} y R_{st} por pares de agrupaciones. Considere además que el análisis del ADN mitocondrial no muestra divergencias genéticas significativas en las variantes de la citocromo oxidasa I, no existiendo información que haga pensar que los loci microsatélites aquí no son propicios para el análisis poblacional. Con esto, se demuestra la alta rigurosidad analítica que se ha empleado en el análisis genético de la base de microsatélites.

Los niveles de diferenciación poblacional estimados por F_{st} y R_{st} por pares de zonas y agrupaciones arrojaron valores significativamente cercanos a cero en todas las comparaciones, indicando una tendencia a la mínima diferenciación genética entre las zonas y agrupaciones comparadas, a partir de las frecuencias alélicas. La congruencia en los resultados de homogeneidad genética entre ambos estimadores F_{st} y R_{st} , indicaría que el modelo de mutación de cada loci analizado no sesgaría los resultados.

Las comparaciones por pares del F_{st} de la evidencia desde el ADN mitocondrial, igual que resultados para loci microsatélites, indican que no habría una divergencia genética significativa. Coincidiendo ambas fuentes de información genética que estaríamos frente a una unidad evolutiva.

La homogeneidad genética evidenciada concuerda con la información de que peces marinos pelágicos, generalmente muestran bajos niveles de diferenciación genética entre regiones, debido a sus importantes tamaños poblacionales, el alto potencial de dispersión durante sus primeros estados planctónicos como huevos y larvas, alta fecundidad, y conductas migratorias, que acompañado con la ausencia de barreras físicas evidentes entre áreas costeras y mar abierto, reducen la divergencia entre poblaciones (Grant & Bowen 1998). Los estimados de F_{st} bajos y no significativos concuerdan con lo propuesto por Ward et al. (1994), que plantea que peces marinos presentan baja diferenciación genética con valores de $F_{st} < 0,01$, comparados con peces de agua dulce y anádromos, en este estudio estimados de F_{st} tan bajos como 0,001. En el presente estudio, marcadores de origen nuclear y mitocondrial son congruentes en indicar la no diferenciación genética para *Brama australis* a través del área de estudio en la costa chilena.

Se concluye que la hipótesis de una unidad evolutiva para la reineta *Brama australis*, en la costa chilena, desde la región del BíoBío a la región de Magallanes, resulta la más plausible. Para robustecer los resultados es necesario diseñar un muestreo que incluya ejemplares del extremo norte de la distribución de la especie en Chile, y evaluar la integridad genética temporal del patrón espacial observado.

3.4 Identificar y caracterizar la(s) principal(es) unidad(es) demográfica(s) presentes en la costa chilena.

3.4.1 Marcadores biológicos: Parásitos.

Marcelo E. Oliva M., Luis A. Ñacari E.

Universidad de Antofagasta

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

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

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



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

1. El parásito debe ser común en una población y raro o estar ausente en otra.
2. Debe tener, preferentemente, un ciclo de vida directo, infectando un solo huésped en su ciclo vital.
3. La infección debe ser de relativamente larga duración y cubrir al menos la escala de tiempo del estudio.
4. La incidencia (prevalencia) de infección debe permanecer relativamente constante.
5. Las condiciones ambientales a través de toda el área de estudio deben corresponder con los límites de tolerancia del parásito.
6. No se deben considerar ectoparásitos que sean fácilmente desprendible o que no dejen evidencias de su presencia, ya que pueden perderse en la captura o durante la manipulación.

7. El método de examen debe considerar un mínimo de disección y preferiblemente un alto nivel de especificidad por un hábitat definido.
8. El parásito debe ser fácilmente detectable e identificable.
9. El parásito no debe tener marcados efectos patológicos, ya que de lo contrario originará mortalidades selectivas o cambios conductuales en el huésped, afectando su valor como marcador.

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

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

Los parámetros de infección utilizados en este informe corresponden a la Prevalencia de Infección (PI), que se define como el número de peces infectados con una especie particular de parásito dividido por el número total de peces examinados, expresado como porcentaje; Intensidad Media de Infección (IM), que se define como el número total de parásitos de un taxón en particular, dividido por el número de peces infectados con ese taxón en particular. Otro parámetro de uso común es la Abundancia (A), que es el número de individuos parásitos de un taxón particular, dividido por el número total de peces estudiados (Bush et al. 1997). En todo caso, estos tres parámetros están relacionados según:

$$A = IM \cdot PI \quad (\text{expresada como proporción})$$

Entonces, conociendo PI y otro de los restantes parámetros, es posible estimar el tercero. Cuando tanto la intensidad de infección como la prevalencia son bajas, entonces la abundancia tiende a 0.

Metodología de trabajo

Las muestras fueron sometidas al siguiente protocolo

- a.- Identificación (numero correlativo para cada pez por cada localidad) medición (longitud a la horquilla y longitud total) y sexado de cada pez por observación directa de gónadas.
- b.- Lavado prolijo del cuerpo y cavidad bucal en un recipiente, filtrado del agua de lavado (filtro de 450 micras o menos) y fijación en alcohol (70°) del material filtrado el que fue almacenado en frascos individuales por cada pez y enviado al laboratorio de parasitología marina de la Facultad de Recursos del Mar- Universidad de Antofagasta.
- c.- Disección de cada pez. Separación de branquias y lavado de las mismas según el procedimiento indicado en "b" para recuperar parásitos branquiales. Fijación y almacenamiento del material según indicado en "b". Retiro de órganos y tejidos: Corazón, tracto digestivo, gónadas, tejido renal y mesenterios de la cavidad celomática. Este material fue adecuadamente fijado, preservado (alcohol 70°) y almacenado en frascos individuales, los que fueron enviados al laboratorio de parasitología marina de la Facultad de Recursos del Mar- Universidad de Antofagasta.
- d.- Identificación y cuantificación de parásitos metazoos recolectados.

Resultados.

Talla de los peces

Desde un total de 3 zonas de pesca se obtuvo y analizó parasitológicamente un total de 334 ejemplares de la reineta *Brama australis*. La talla media, para el total de la muestra, fue de 48,6 cm, con un rango de tallas variando entre 33 a 68 cm y una desviación estándar de 5,74. La **Tabla 21** indica las características de las muestras obtenidas desde cada una de las zonas de pesca consideradas.

Tabla 21. Características de muestras analizadas.

n = Tamaño de la muestra, DE = Desviación estándar.

Zona de Pesca	n	Talla media (cm)	Rango		DE
			Menor	Mayor	
Zona 1	100	53,6	37,5	64,0	4,3
Zona 2	144	46,0	33,0	68,0	5,2
Zona 3	90	47,3	37,0	59,0	4,3

Un análisis de varianza indicó diferencias significativas en la talla media de los peces obtenidos desde las zonas de pesca consideradas ($F_{2,331} = 81,921$, $p < 0,001$; **Figura 4**).

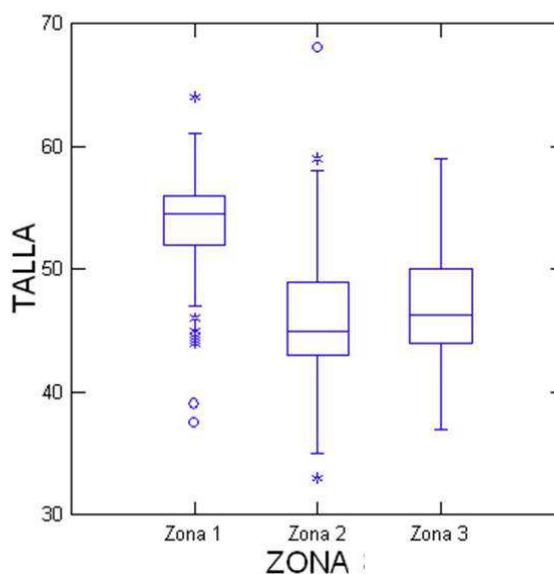


Figura 4. Talla media de los peces para cada zona de pesca.

Talla media de los peces para cada zona de pesca considerada. En este gráfico (y siguientes gráficos box plot) la caja representa el rango intercuartil 25 -75%, la línea dentro de la caja representa la mediana, la línea vertical el recorrido correspondiente al 95% de las muestras y el asterisco valores que caen fuera del 95% de la distribución. El círculo representa valores “outlayer”.

Un análisis a posteriori (Test *a posteriori* HSD de Tukey para contrastes múltiples) indicó que la talla media de los peces de la zona 1 difieren significativamente tanto de peces de la zona 2 como 3 ($p < 0,001$ en ambos casos), en tanto, la talla media de peces de las zonas 2 y 3 no difieren significativamente ($p > 0,50$).

Parásito fauna

Del total de la muestra de peces, se obtuvieron 19.399 parásitos metazoos, de ellos un 96,8% corresponden a ectoparásitos y el 3,2% restante a endoparásitos. Las formas adultas representan un 11,4% del total de la fauna de endoparásitos. Del total de parásitos, el 2,1% corresponde a larvas del cestodo Trypanorhyncha *Hepatoxylon trichiuri*. En consecuencia, el 99,1% de la fauna de parásitos metazoos de la reineta está explicada por sólo dos especies de parásitos, el copépodo ectoparásito *Hatschekia confera* y la larva del cestodo *H. trichiuri*. La contribución de cada especie de parásito, en el total de la muestra se indica en la **Tabla 22**.

Tabla 22. Parásitos encontrados en la muestra de *B. australis* analizada.

Se indica número total de especímenes y contribución porcentual.

Especie	N	%
<i>Hatschekia confera</i>	19399	96,996
<i>Diclidophoridae</i> gen. sp.	1	0,005
<i>Koellikeria</i> sp.	16	0,074
<i>Copiatestes filiferum</i>	21	0,097
<i>Lampritrema</i> sp	16	0,074
Didimozoidae gen. sp.	2	0,009
Hemiuridae gen. sp.	1	0,005
<i>Nybelinia</i> sp.	61	0,282
<i>Hepatoxylon trichiuri</i>	453	2,097
Acantocephala gen. sp.	6	0,028
<i>Radiorhynchus</i> sp	12	0,056
<i>Anisakis</i> sp.	60	0,278

La fauna de parásitos metazoos ahora encontrados corresponden a:

ECTOPARASITOS

Crustacea

- *Hatschekia conifera*. Este parásito es común en peces del género *Brama* (Oldewage 1993, Kabata 1981). En Chile ha sido registrado en *Brama australis* por Villalba (1986) y George-Nascimento et al. (2002). Es de destacar que *H. conifera* representa el 87,9% de los parásitos encontrados por George-Nascimento et al. (2002). Presente en todas las zonas analizadas.

Monogenea

- Diclidophoridae gen. sp. Se encontró sólo un ejemplar de este monogeneo, el cual no pudo ser identificado con mayor precisión taxonómica. No hay registros de monogenea en *B. australis* para las costas de Chile.

ENDOPARÁSITOS

Digenea

- *Koellikeria filicollis*. Digeneo presente en todas las zonas de pesca. Registrado anteriormente por George-Nascimento et al. (2002).
- *Copiatestes filiferum*. Este digeneo no había sido registrado previamente en esta especie. Está presente en todas las zonas estudiadas.
- *Lampritrema* sp. Digeneo no registrado previamente en *B. australis* para las costas de Chile.
- Didimozoidae gen. sp. Se detectaron sólo dos ejemplares de este parásito, uno en un pez de la zona 1 y otro en la zona 3.
- Hemiuridae gen. sp. Tan sólo un ejemplar colectado en la zona 1.

Cestoda

- *Nybelinia* sp. (Posiblemente *N. surmenicola*) Estado de desarrollo larval de un cestodo que madura en elasmobranquios. Fue detectado en peces de las zonas 1 y 2. Registrado previamente por George-Nascimento et al. (2002).

- *Hepatoxylon trichiuri*. Larvas de este cestodo Tetraphyllideo son relativamente comunes en peces marinos (Oliva 2001). Se obtuvieron en las tres zonas de pesca y es el segundo parásito en importancia. Registrado previamente por George-Nascimento et al. (2002) en esta especie.

Acantocephala

- Acantocephala gen. sp. Pocos especímenes (6) fueron obtenidos desde las zonas 1 y 2. No hay registros previos de Acantocephala al estado adulto en esta especie.
- *Radiorhynchus* sp. Presente en las tres zonas de pesca.

Nematoda

- *Anisakis* sp. Formas larvales de este nematodo son comunes en peces marinos a través de todo el mundo y representan un complejo de al menos tres especies que ha sido dilucidado recientemente a través de técnicas moleculares (Mattiucci & Nascetti 2008). Presente en las tres zonas de pesca.

Análisis univariados

Prevalencia de infección

Del total de peces analizados, un 99,4% estuvo parasitado por al menos una especie de parásito. El 100% de los peces de la zona 3 estuvieron parasitados. La **Tabla 23** indica la prevalencia de cada especie de parásito por zona de pesca. Para efectos de análisis, se consideran aquellas especies con prevalencia de infección $\geq 5,0\%$ en al menos una zona de pesca.

Tabla 23. Prevalencia de infección por zona de pesca.

Prevalencia de infección de parásitos metazoos de *B. australis* por zona de pesca. Con asterisco se indican especies con baja prevalencia y que no serán consideradas en análisis posteriores.

Especie	Zona de Pesca		
	Zona 1	Zona 2	Zona 3
<i>Hatschekia conifera</i>	93,6	98,8	100,0
Diclidophoridae gen. sp. *	0,0	0,6	0,0
<i>Koellikeria filicollis</i>	0,8	6,7	2,2
<i>Copiatestes filiferum</i>	5,6	2,4	4,4
<i>Lampritrema</i> sp. *	6,4	1,8	2,2
Didimozoidae gen. sp. *	0,8	0,0	1,1
Hemiuridae gen. sp. *	0,8	0,0	0,0
<i>Nybelinia</i> sp.	8,8	1,8	0,0
<i>Hepatoxylon trichiuri</i>	56,8	26,8	37,8
Acantocephala gen. sp. *	4,0	0,6	0,0
<i>Radiorhynchus</i> sp. *	2,4	4,9	1,1
<i>Anisakis</i> sp.	16,8	9,8	6,7

Un análisis de tabla de contingencia (X^2) indica que sólo para *C. filiferum* no hay diferencias significativas en la prevalencia de infección. Por otro lado, la significancia de la diferencia es marginal para *Lampritrema* sp. Para las otras especies hay diferencias significativas entre zonas de pesca (**Tabla 24**).

Tabla 24. Estadístico X^2 de diferencias en prevalencia de infección entre zonas de pesca.

(*) = marginalmente significativo

Especie	X^2	p
<i>Hatschekia conifera</i>	8,39	0,015
<i>Koellikeria filicollis</i>	7,67	0,021
<i>Copiatestes filiferum</i>	2,45	0,29
<i>Lampritrema</i> sp.	6,27	0,04
<i>Nybelinia</i> sp.	13,4	< 0,001
<i>Hepatoxylon trichiuri</i>	32,1	< 0,001
<i>Anisakis</i> sp.	9,21	0,01

De las especies que presentan diferencias significativas, *H. conifera* presenta valores de prevalencia de infección significativamente menores (aunque marginal) en la zona 1 ($X^2 = 3,96$, $p = 0,047$) al ser contrastada con la zona 2. Por otro lado, la prevalencia no difiere entre las zonas 2 y 3

($X^2 = 1,26$, $p = 0,26$). Para *K. filicollis* no hay diferencias significativas en prevalencia de infección entre las zonas 1 y 3 ($X^2 = 0,45$, $p = 0,49$), difiriendo significativamente las zonas 2 y 3 ($X^2 = 4,85$, $p = 0,027$). La prevalencia de infección para *Nybelinia* sp. difiere significativamente ($X^2 = 13,4$, $p < 0,001$) entre las zonas 1 y 2, estando esta especie ausente en la zona 3. Finalmente la prevalencia de infección de *Anisakis* sp. difiere significativamente entre las zonas 1 y 3 ($X^2 = 7,12$, $p = 0,007$) y entre las zonas 1 y 2 ($X^2 = 5,19$, $p = 0,02$) pero no entre las zonas 2 y 3 ($X^2 = 0,66$, $p = 0,42$).

Intensidad de infección

La Intensidad media global de infección fue de 58,8, con un rango entre 1 y 620 especímenes de parásito por pez y una desviación estándar de 64,78. La **Tabla 25** indica la intensidad media de infección para cada especie de parásito según zona de pesca. Análisis univariado no se realizaron para aquellas especies indicadas con asterisco en la **Tabla 25**, debido al bajo número de observaciones por localidad y/o la falta de variabilidad.

Tabla 25. Intensidad media de infección por zona de pesca.

Especies indicadas con un asterisco no son analizadas dada su baja prevalencia y/o falta de variabilidad.

Especie	Zona de Pesca		
	Zona 1	Zona 2	Zona 3
<i>Hatschekia conifera</i>	53,2	62,3	54,7
<i>Diclidophoridae</i> gen. sp. *	0	1	0
<i>Koellikeria filicollis</i> *	1	1,1	1,5
<i>Copiatestes filiferum</i>	1,3	1,3	1,8
<i>Lampritrema</i> sp. *	1,1	1,5	1,5
Didimozoidae gen. sp. *	1	0	1
Hemiuridae gen. sp. *	1	0	0
<i>Nybelinia</i> sp.*	5,1	1	0
<i>Hepatoxylon trichiuri</i>	3,9	2,2	2,6
Acantocephala gen. sp. *	1	1	0
<i>Radiorhynchus</i> sp. *	1	1	1
<i>Anisakis</i> sp.	1,2	1,4	2,3

Las **Figuras 5 a 8** muestran la distribución de la intensidad media de infección para las especies *H. conifera*, *C. filiferum*, *H. trichiuri* y *Anisakis* sp.

Para aquellas especies que permiten contrastar la intensidad media de infección (previa transformación $\log n+1$) entre zonas de pesca, tanto *H. conifera* como *C. filiferum* no mostraron diferencias significativas ($F_{2,139} = 2,139$, $p = 0,119$ y $F_{2,12} = 0,26$, $p = 0,775$; respectivamente). En tanto *H. trichiuri* y *Anisakis* sp. difieren significativamente, ($F_{2,138} = 7,02$, $p < 0,001$; $F_{2,37} = 3,375$, $p = 0,045$, respectivamente) aunque para esta especie la significancia es marginal. La prueba a posteriori tipo Tukey demostró que la intensidad media de infección de *H. trichiuri* difiere significativamente solo entre las zonas 1 y 2 ($p < 0,001$). Por otro lado, para *Anisakis* sp la intensidad media de infección es significativamente mayor en la zona 3, no difiriendo entre las zonas 1 y 2.

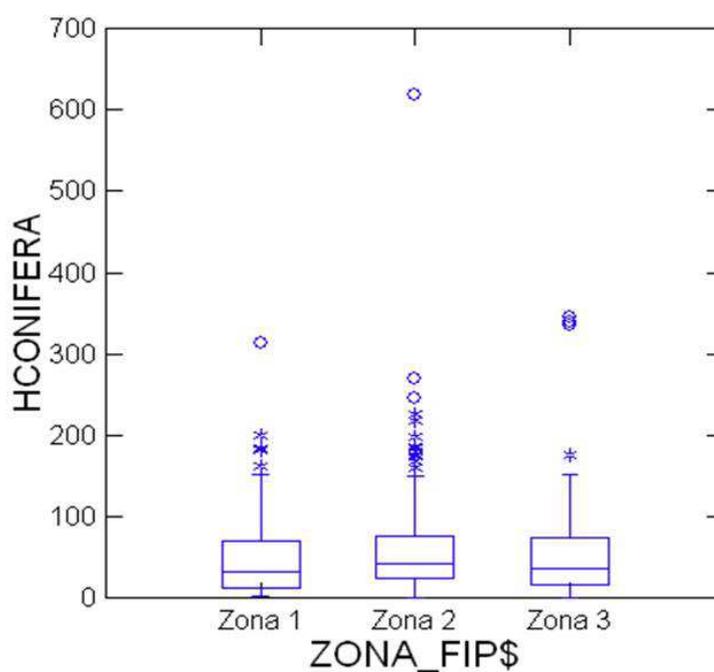


Figura 5. Intensidad de infección de *H. conifera* en *B. australis* en tres zonas de pesca.

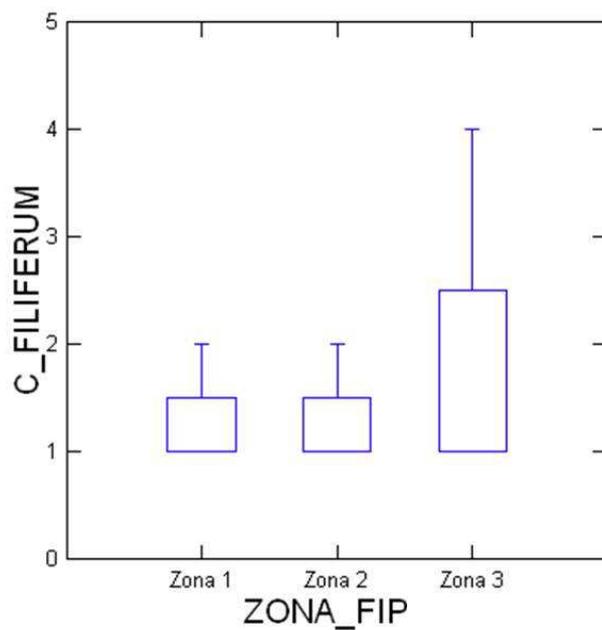


Figura 6. Intensidad de Infección de *C. filiferum* en *B. australis* en tres zonas de pesca.

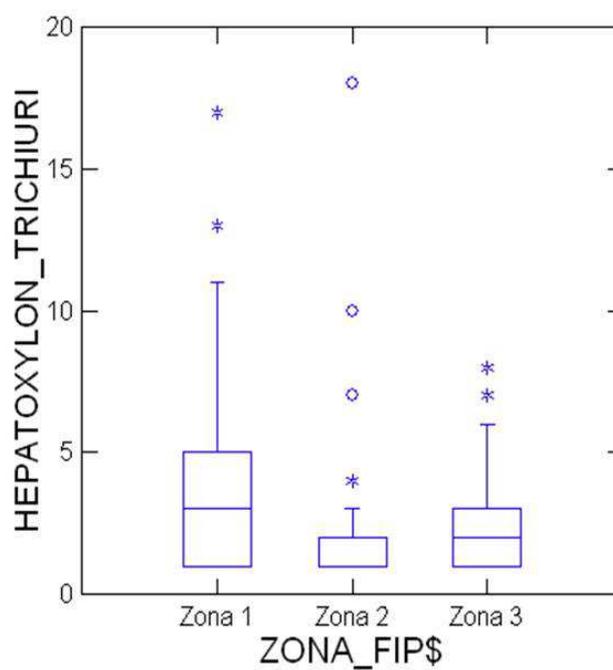


Figura 7. Intensidad de Infección de *H. trichiuri* en *B. australis* en tres zonas de pesca.

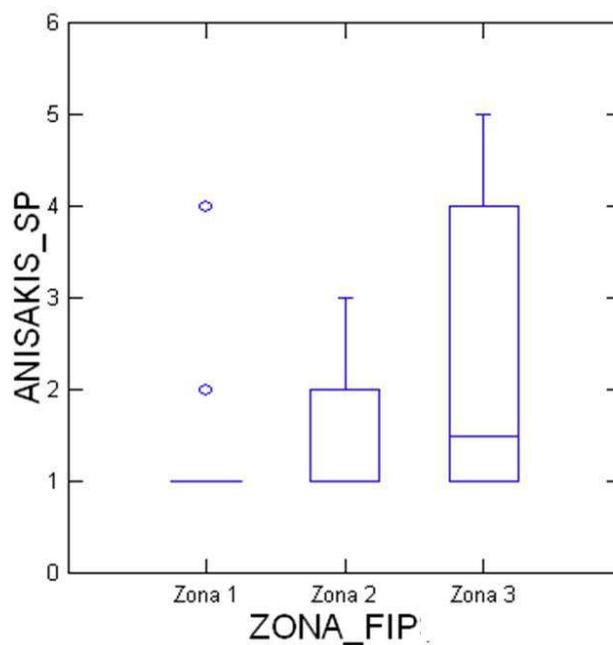


Figura 8. Intensidad de Infección de *Anisakis* sp. en *B. australis* en tres zonas de pesca.

Al correlacionar la talla de los ejemplares de *B. australis* con la intensidad de infección, para aquellas parásitos que permiten este análisis, se observa que para los parásitos al estado adulto: *H. conifera* y *C. filiferum*, no se observa correlación entre estas variables. ($r = 0,004$ y $r = 0,078$, respectivamente, $p > 0,50$ en ambos casos), como tampoco para el estadio larval de *Anisakis* sp. ($r = 0,14$, $p > 0,20$) (**Figuras 9,10 11**).

Para las dos formas larvales de cestodos que permiten este análisis, *Nybelinia* sp. ($r = 0,55$ $p < 0,05$ y *H. trichiuri* ($r = 0,45$, $p < 0,001$) ambas muestran una asociación positiva y significativa entre las variables. (**Figuras 12 y 13**).

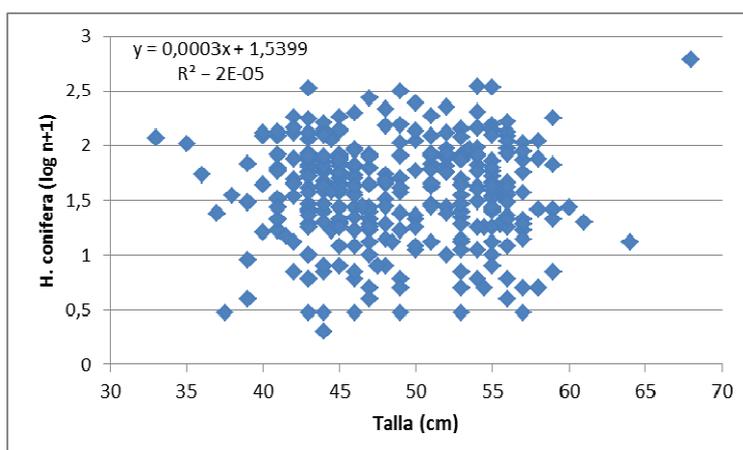


Figura 9. Asociación entre talla de *B. australis* e intensidad de infección por *H. confiera*

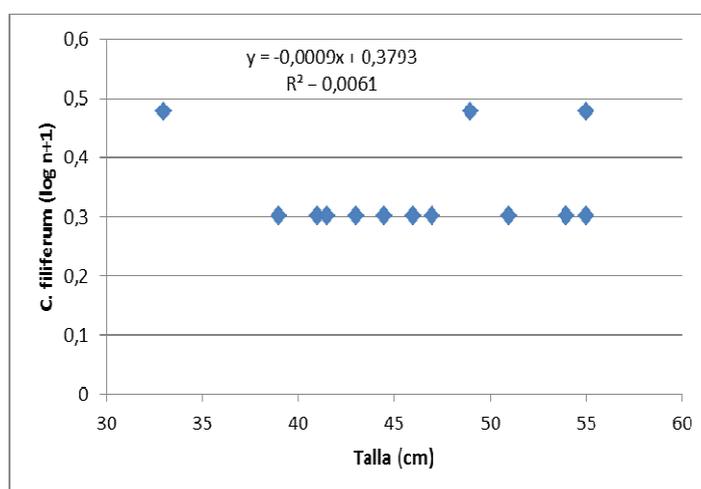


Figura 10. Asociación entre talla de *B. australis* e intensidad de infección por *C. filiferum*

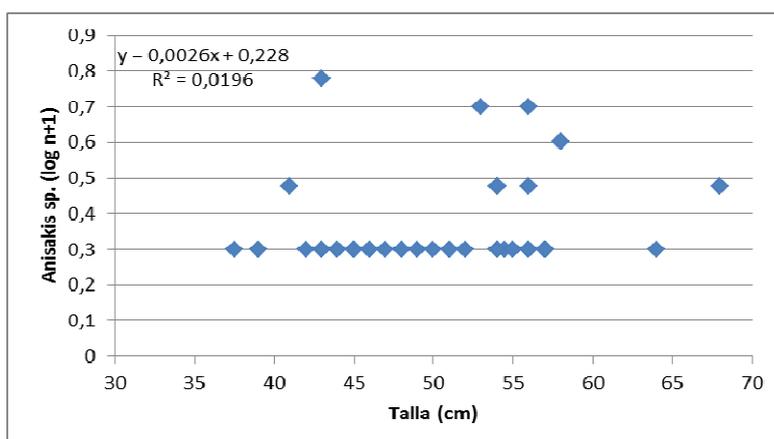


Figura 11. Asociación entre talla de *B. australis* e intensidad de infección por *Anisakis* sp.

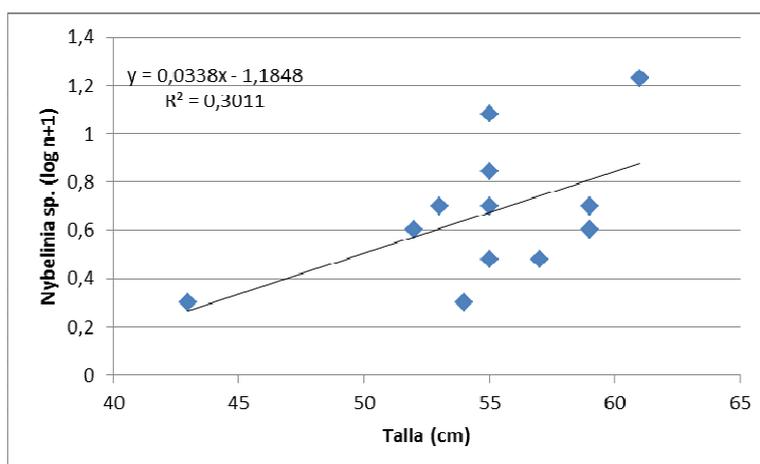


Figura 12. Asociación entre talla de *B. australis* e intensidad de infección por *Nybelinia* sp.

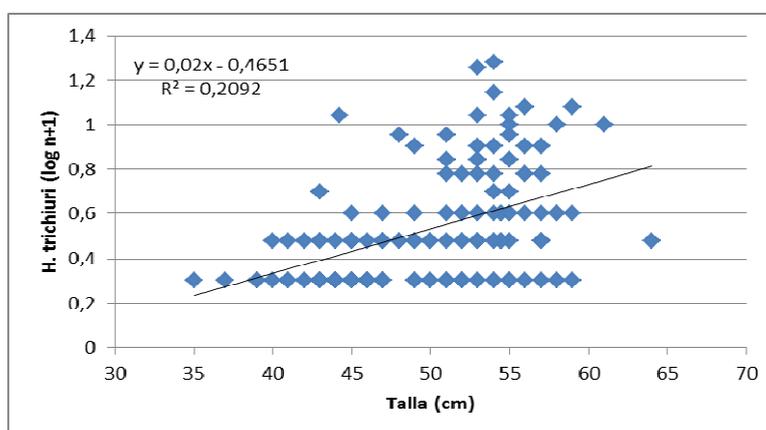


Figura 13. Asociación entre talla de *B. australis* e intensidad de infección por *H. trichiuri*

Análisis multivariado

Análisis de correspondencia

Los análisis de correspondencia se realizaron sobre la intensidad media de infección así como para la prevalencia de infección, según lo indicado en las Tablas 3 y 5, respectivamente. El análisis sobre la prevalencia de infección indica asociaciones significativas para *Nybelinia* sp. y Zona 1, *K. filicolis* y zona 2 y *H. trichiuri* con la zona 3. (Total Inertia = 0,06257 $X^2=30,026$ $df=10$ $p=0,00085$) (Figura 14). Por otro lado, el mismo análisis sobre intensidad media de infección indica ausencia de asociaciones significativas entre las especies consideradas y las zonas definidas para este estudio (Total Inertia= 0,04152 $X^2=7,9757$ $df=8$ $p= 0,43587$) (Figura 15)

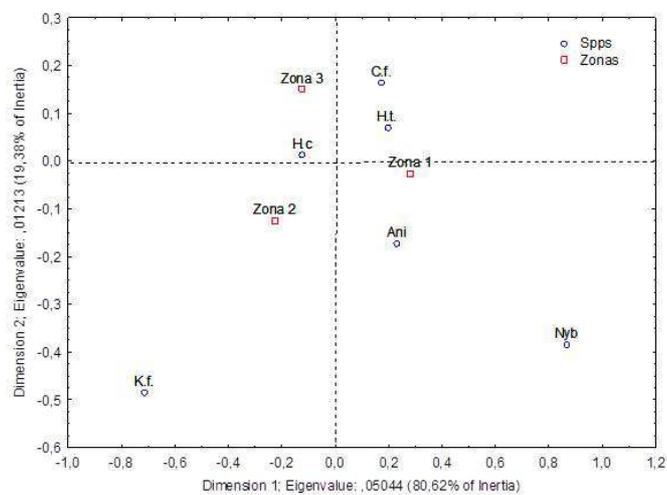


Figura 14. Análisis de Correspondencia para prevalencia de infección.

Representación en un espacio bi-dimensional, del resultado de un Análisis de Correspondencia para prevalencia de infección

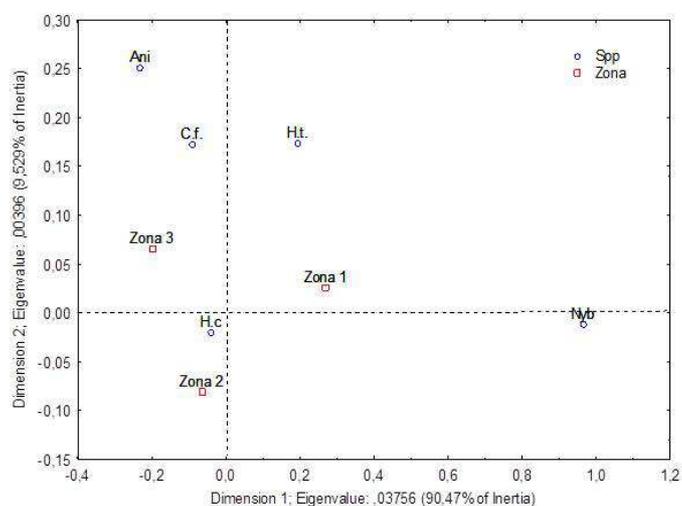


Figura 15. Análisis de Correspondencia para intensidad media de infección.

Representación en un espacio bi-dimensional, del resultado de un Análisis de Correspondencia para intensidad media de infección.

Análisis de discriminación múltiple.

Este análisis se ejecutó utilizando la intensidad de infección, previa transformación $\log(n+1)$ para las especies indicadas en la **Tabla 25**. Los resultados del análisis indican una mala asignación total (51%) (**Figura 16**). La asignación por zonas de pesca se indica en la **Tabla 26**, con valores fluctuando entre 23 y 65%, además de una consecuente alta proporción de asignaciones cruzadas, lo que es particularmente notorio para la zona 3, con apenas un 23% de asignación correcta. Los estadísticos asociados a este análisis corroboran los valores bajos de asignación correcta y corresponden a Wilk's lambda = 0,827 (GL = 4,2,331), Aproximación F = 8,152 (GL = 8,656), $p < 0,001$.

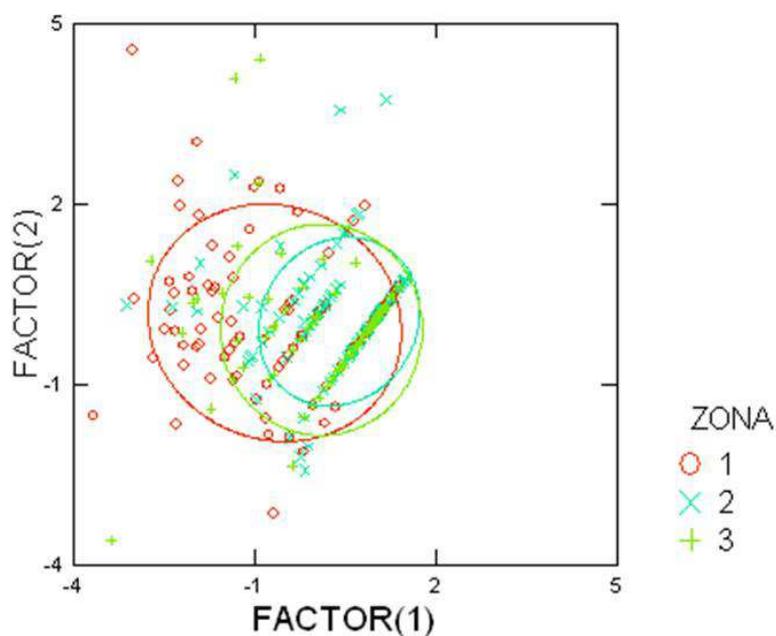


Figura 16. . Representación gráfica del Análisis de Discriminación.
Utilizando sólo parásitos seleccionados según **Tabla 25**.

Tabla 26. Matriz de asignación correcta basada en la Intensidad de infección.

	Zona 1	Zona 2	Zona 3	% correcto
Zona 1	56	26	18	56
Zona 2	21	92	31	64
Zona 3	25	44	21	23
Total	102	162	70	51

Los valores de F-para remover y tolerancia para cada especie considerada se indican en la **Tabla 27.**

Tabla 27. Valores de F-para-remover y tolerancia del análisis de discriminación múltiple, sobre intensidad media de infección.

(HC = *H. conifera*, CF = *C. filiferum*, NYB = *Nybelinia* sp., HT = *H. trichiuri*, AN = *Anisakis* sp.)

Especie	F-para-remover	Tolerancia
HC	4,837	0,975
CF	1,634	0,985
HT	25,34	0,981
AN	1,020	0,972

Ya que la especie con mayor F-para remover, presenta una asociación positiva y significativa con la talla, se repitió el análisis incorporando la talla como una nueva variable (**Figura 17**). Los resultados de asignación correcta que ahora incrementan levemente a 58%, se indican en la **Tabla 28**. Los estadísticos asociados a este nuevo análisis cambian marginalmente, sin afectar la significancia de los resultados y corresponden a Wilk's lambda = 0,597 (GL = 5,2,331), Aproximación F = 19,2266 (GL = 10,654), $p < 0,001$.

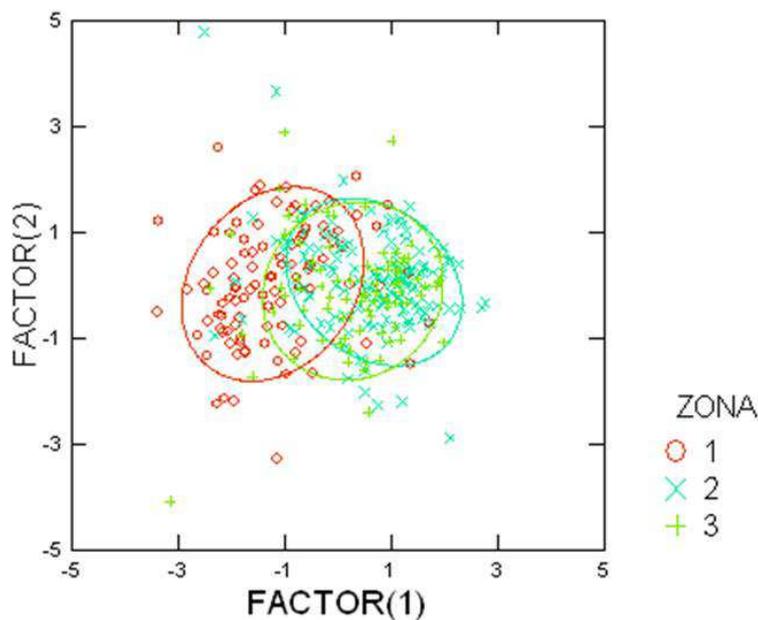


Figura 17. Representación gráfica del Análisis de Discriminación.
Utilizando parásitos seleccionados según **Tabla 5** así como talla.

Tabla 28. Matriz de asignación correcta basada en la Intensidad de infección y talla.

	Zona 1	Zona 2	Zona 3	% correcto
Zona 1	81	9	10	81
Zona 2	22	86	36	60
Zona 3	21	42	27	30
Total	124	137	73	58

A su vez, los valores de F para remover y tolerancia son afectados, siendo ahora la talla la variable más importante en la discriminación, según se muestra en la **Tabla 29**.

Tabla 29. Valores de F-para-remover y tolerancia del análisis de discriminación múltiple, sobre intensidad media de infección.

(HC = *H. conifera*, CF = *C. filiferum*, NYB = *Nybelinia* sp., HT = *H. trichiuri*, AN = *Anisakis* sp.)

Variable	F-para-remover	Tolerancia
HC	5,876	0,969
CF	3,652	0,970
HT	10,501	0,967
AN	0,192	0,971
Talla	63,204	0,954

Discusión

La fauna de parásitos metazoos de la reineta *Brama australis* ahora analizados, concuerda bien con los pocos registros que hay para esta especie. Destaca la muy alta prevalencia así como la intensidad de infección del copépodo *H. conifera*, situación también evidente al analizar los resultados de George-Nascimento et al. (2002) para reinetas provenientes de la zona de Talcahuano. Esta especie explica el 97% del total de parásitos metazoos, siguiendo en importancia el estado larval del cestodo *H. trichiuri* que explica un 2,1% del total de parásitos. El restante 0,9% es explicado por 10 especies de parásitos. De los parásitos que pueden considerarse importantes (ver Tablas 3 y 5) tan sólo *Nybelinia* sp. está ausente en una de las tres zonas consideradas (Zona 3).

Fraser & Bernatchez (2001) discuten el concepto de Unidades Evolutivas, dando un resumen de las diversas acepciones y definiciones de este concepto. Una revisión de los mismos indica que, pese a la esperada relación co-evolutiva entre hospedadores y parásitos, particularmente para aquellos altamente específicos, estos no han sido considerados y/o incluidos como “marcas” de este concepto, siendo caracteres genéticos (aislamiento reproductivo, divergencia en frecuencia de alelos y flujo génico) los que definen estas Unidades. Sin embargo, Dizon et al. (1992) favorecen la evaluación de las Unidades Evolutivas, a partir de una re-evaluación del concepto de stock y basados en las singularidades de la adaptación genética, usando como proxies el comportamiento, la morfología y la distribución geográfica para inferir aislamiento reproductivo y selección diferencial. A estos proxies debería agregarse las características de la parasitofauna que albergan los organismos. Si bien es cierto estos nos pueden indicar por sí solos procesos de aislamiento reproductivo, al identificar tales unidades por la presencia/ausencia de parásitos específicos, nos pueden dar pistas directas sobre procesos de selección diferencial.

La composición de la fauna parasitaria de la reineta, en términos cualitativos, no permite identificar parásitos que puedan ser indicativos de una estructuración poblacional compuesta por más de una Unidad Evolutiva o stock, según la definición tradicional. Diferencias cualitativas en la composición de la fauna parasitaria son el mejor indicador de la existencia de más de un stock. La mejor marca biológica para identificar stock sería un parásito con un ciclo de vida directo (Oliva & Ballón 2002, MacKenzie 1983) donde la infección no es posible sin un contacto directo entre peces infectados y no infectados. Idealmente tal especie debería estar presente en un área y ausente en otra(s) tal como lo indican Sankurathrii et al. (1983) para la merluza *M. productus* y Love (1980) y Stanley et al. (1992) para dos especies de *Sebastes* en el hemisferio norte. Esta situación también es aplicable a parásitos metazoos con ciclo de vida complejo, como lo indican Oliva & Gonzalez (2004)

para *Sebastes capensis*. En el caso de la reineta, esta situación no es evidente, al menos para los parásitos más importantes. Otros buenos indicadores corresponden a formas larvales que se enquistan y no pueden abandonar el hospedador, permaneciendo en él por el resto de la vida del hospedador. En consecuencia estos parásitos se acumulan con la talla (como expresión de la edad) (Lester & MacKenzie 2009). Dos de las tres formas larvales de mayor importancia (*H. trichiuri* y *Nybelinia* sp) cumplen este postulado. *H. trichiuri* se encuentra con diferente prevalencia en las tres zonas, pero es común a ellas, no así *Nybelinia* sp. ausente en la zona 3, pero este último parásito tiene baja prevalencia (< 10% en las zonas en que está presente) y su ausencia en la zona 3 puede ser consecuencia de la falta del hospedador definitivo en la zona más austral. Ambas especies de cestodo maduran en elasmobranquios (tiburones) pero su ciclo de vida no es bien conocido en aguas Chilenas. Siendo representantes del Orden Trypanorhyncha tan sólo se puede asegurar que el estado adulto se encuentra en tiburones. El resto de los parásitos no permite mayores análisis.

Por otro lado y en ausencia de diferencias cualitativas, diferencias cuantitativas, evaluadas a nivel de comunidad de parásitos, utilizando técnicas multivariadas, pueden informar sobre la estructuración en stock, así como otros atributos de la especie hospedadora (Oliva et al. 2008, Oliva & Ballón 2002, Speare 1995 entre otros). En ese sentido, análisis de discriminación múltiple fueron ineficaces en detectar diferencias en la composición comunitaria de parásitos en las tres zonas definidas en este proyecto. Una asignación correcta global del 49% es muy baja como para aceptar hipótesis de más de un stock. Al incorporar la talla como variable en este análisis, la asignación correcta aumenta a 56% valor aún bajo, más aun si se considera que el valor de Wilk's lambda sigue siendo elevado (0,73) y no significativo aún al considerar la talla.

En conclusión, la evidencia parasitológica no soporta hipótesis de más de un stock de reineta en la zona analizada.

La presencia de peces de mayor tamaño en la zona 1, asociado a una mayor prevalencia e intensidad de infección de parásitos que acumulan con la edad en esa zona, puede considerarse como una evidencia de potenciales movimientos migratorios hacia el norte del área geográfica cubierta por este estudio, como lo sugiere Oliva (1999) para el jurel *Trachurus murphyi* y Galleguillos et al. (2012) para la sardina *Sprattus fuegensis*.

3.4.2 Marcadores biológicos: Microquímica de otolitos

Edwin J. Niklitschek, Félix P. Leiva, Yessica Robles, Cristóbal Garcés

Centro i~mar, Universidad de Los Lagos

Antecedentes

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

Los principales métodos de identificación de unidades demográficas en peces o stocks a partir del análisis microquímico de otolitos se basan en la cuantificación de las concentraciones relativas de isótopos estables, principalmente de carbono ($\delta^{13}\text{C}$), oxígeno ($\delta^{18}\text{O}$) y estroncio ($\delta^{87}\text{Sr}$) y de las concentraciones de metales principalmente bario, estroncio, litio, magnesio y manganeso (Walther & Limburg 2012). La proporción de $\delta^{18}\text{O}$ en el otolito es directamente proporcional a su proporción en el hábitat por lo que se encuentra altamente correlacionada con la salinidad del mismo, siendo afectada de manera significativa por la temperatura (Elsdon & Gillanders 2002). Aunque la proporción de $\delta^{13}\text{C}$ en el otolito también refleja la proporción de este isótopo en el agua, es afectada también por la composición de la dieta, el metabolismo y la actividad reproductiva (Kalish 1991, Wurster et al. 1999, Rooker & Secor 2004).

El uso de análisis de las concentraciones relativas de metales y/o isótopos estables en otolitos ha sido utilizado en estudios de ecología de poblaciones de diversas especies como el atún *Thunnus thynnus* (Rooker & Secor 2004, Rooker et al. 2008), el bacalao del Atlántico *Gadus morhua* (Campana et al. 1994, Hoie et al. 2004), distintas especies de salmónidos (Kalish 1991, Barnett-Johnson et al. 2008), el bacalao de profundidad *Dissostichus eleginoides* (Ashford & Jones 2007, Galleguillos et al. 2008), la merluza de tres aletas *Micromesistius australis* (Arkhipkin et al. 2009, Niklitschek et al. 2010) y la merluza de cola *Macruronus magellanicus* (Schuchert et al. 2010, Niklitschek et al. 2014), entre otros. 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 de 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 merluza de tres aletas alrededor de Sudamérica (Niklitschek et al. 2008) y del atún de aleta amarilla en el Atlántico Norte (D. Secor Com. Pers.). Sin embargo, en merluza de cola se encontró que la combinación de isótopos estables y metales permitiría discriminar la procedencia entre ecorregiones dentro de la Provincia Magallánica (E Niklitschek, com. pers.).

En el presente trabajo, se determinaron y compararon las concentraciones relativas de isótopos estables de carbono (^{13}C) y oxígeno (^{18}O) en secciones nucleares de otolitos de ejemplares adultos de *B. australis* capturados en diferentes zonas de pesca y ecorregiones biogeográficas. En una sub-muestra de los otolitos disponibles, se determinaron y compararon, además, las concentraciones elementales (relativas al Ca) de los metales Ba, Mg, Mn y Sr. Con toda esta información se evaluó la verosimilitud de distintas hipótesis acerca del número de procedencia (zonas de crianza) de la (las) unidad(es) demográfica(s) de *B. australis* explotadas en la costa chilena.

Metodología de trabajo

Área de estudio.

El área de estudio comprendió desde el paralelo 37,69° S hasta el 52,9° S, abarcando un rango geográfico latitudinal de aproximadamente 1.970 km, siendo el Puerto de Lebu y la Isla Londonderry los hitos geográficos límites, en el norte y sur respectivamente (**Figura 18**). Se consideró dos esquemas de estratificación del área de estudio. El primero, estuvo basado en la operación de la flota pesquera, establecido en la oferta técnica, y consideró las siguientes tres zonas (**Figura 18**):

- Zona 1: Centro-Sur
- Zona 2: Sur
- Zona 3: Austral

El segundo, basado en las ecorregiones biogeográficas propuestas por Spalding et al. (2007), consideró las siguientes cuatro áreas (**Figura 18**):

- ESP: ecorregión sud-peruana
- ENM: ecorregión nor-magallánica
- EMM: ecorregión meso-magallánica
- ESM: ecorregión sud-magallánica

Muestreo de ejemplares y otolitos.

Se colectó un total de 379 pares de otolitos de *B. australis*, procedentes de 72 lances independientes, artesanales y/o industriales (**Figura 18, Tablas 30 y 31**). De ellos, se analizó un total de 198 pares, privilegiando el mayor balance posible entre estratos de muestreo y considerando sólo otolitos sin daños estructurales mayores y cuya legibilidad fuese apropiada. Esta cifra fue cercana a lo comprometida en la oferta técnica (210 pares).

Con el fin de obtener información sobre la variabilidad interanual, se procuró que las muestras de adultos pertenecieran a tres o más cohortes (año de nacimiento). De manera similar, se buscó recoger la variabilidad entre cardúmenes utilizando muestras procedentes de tres o más lances distintos por área. Lo anterior permitió estimar y corregir los posibles efectos de la correlación (falta de independencia) esperable en otolitos de peces nacidos el mismo año o capturados en un mismo lance.

Tabla 30. Número de ejemplares colectados y analizados de *B. australis* por zona de pesca

Zona de pesca	Nº de lances	Nº ejemplares colectados	Nº muestras isótopos	Nº muestras metales
1	5	100	51	17
2	6	138	52	18
3	51	141	78	49

Tabla 31. Número de ejemplares colectados y analizados de *B. australis* por ecoregión.

Ecoregión biogeográfica	Nº de lances	Nº ejemplares colectados	Nº muestras isótopos	Nº muestras metales
ESP	5	100	51	17
ENM	35	245	99	38
EMM	10	19	16	14
ESM	3	15	15	15

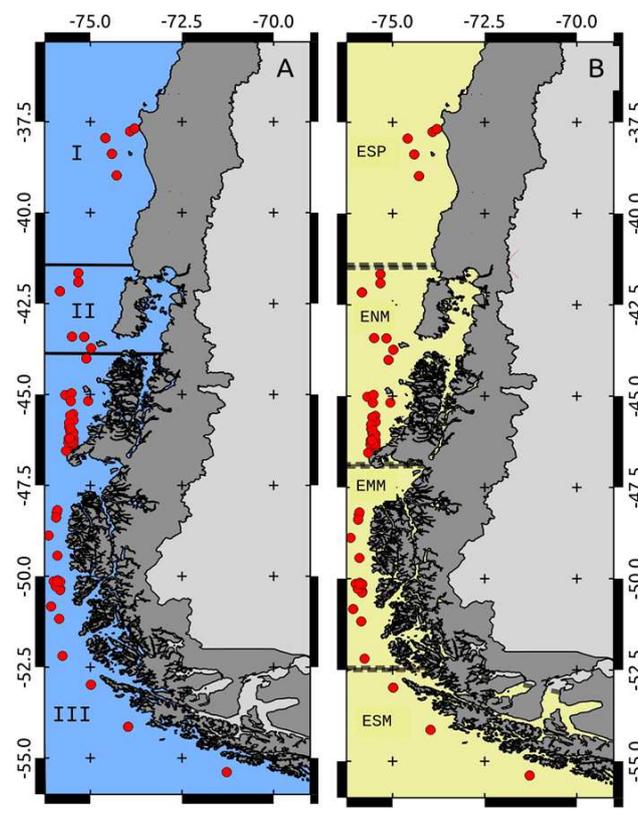


Figura 18. Distribución geográfica lances de pesca y estratificación por zonas de pesca y ecoregiones Lances de pesca de *B. australis* (círculos rojos), desde los cuales se obtuvieron muestras de otolitos. Panel izquierdo muestra estratificación por zonas de pesca: I=Zona Centro-Sur, II=Zona Sur, III=Zona Austral; Panel derecho muestra ecoregiones biogeográficas propuestas por Spalding et al. (2007): ESP=ecoregión sud-peruana; ENM=ecoregión Nor-Magallánica; EMM=ecoregión Meso-Magallánica; ESM=ecoregión sud-magallánica.

Preparación de otolitos, lectura de edad y asignación de cohortes.

De manera previa al análisis, todos los otolitos fueron limpiados manualmente, sonicados, pesados ($\sim 0,1$ mg) y conservados en microtubos Eppendorf. Se seleccionó el otolito derecho de cada ejemplar para estimación de edad, que fue embebido en resina epóxica y luego seccionado transversalmente para facilitar la lectura de edad y permitir el microtaladrado de su zona nuclear. El corte se realizó utilizando un disco de corte diamantado, montado a una sierra de baja velocidad (Buehler, IsoMet Speed Low), obteniendo una lámina transversal de aproximadamente $300 \mu\text{m}$. Cada sección se redujo mediante pulido hasta un espesor $\sim 250 \mu\text{m}$, empleando paños de pulir de carburo de silicio de 800, 1.200 y 2.400 grit, para finalizar con un paño diamantado de $30 \mu\text{m}$ (Buehler, Diamond Lapping Film). Esto permitió exponer la zona nuclear atribuible al primer año de vida del ejemplar muestreado (**Figura 19**). La edad de cada muestra se calculó a partir del número de anillos

translúcidos presentes en el otolito saggita. Para la lectura, se utilizó una lupa con luz reflejada sobre fondo negro. Antes de cada lectura, las secciones fueron hidratadas en agua destilada, lo que aumentó la definición de los anillos hialinos. Cada otolito fue leído por al menos dos lectores, aceptándose sólo aquellas muestras con lecturas coincidentes entre dos o más lectores. Al final del proceso, se obtuvo un total de 158 otolitos de buena calidad (ambos otolitos presentes, no cristalizados y enteros) y de edad corroborada, los que permitieron satisfacer el diseño estratificado y parte importante de las metas muestrales, al resto de los otolitos se les asignó edad mediante el uso del modelo de crecimiento de von Bertalanffy. Se obtuvo edades calculadas entre 2 a 11 años, donde las cohortes con mayor representación fueron las de los años 2008, 2009, 2010 y 2011; con esta diversidad de cohortes, fue posible cumplir con la oferta de incorporar datos procedentes de al menos tres cohortes en nuestros resultados.

Extracción de prismas desde los otolitos.

Los otolitos de reineta son de pequeño tamaño y presentan un sulcus pronunciado, que divide, casi completamente, la zona nuclear en dos lóbulos unidos por un istmo central. Esta conformación morfológica impone importantes dificultades para la extracción de prismas adecuados para análisis químico. Se definió un polígono estandarizado de muestreo adecuado para la obtención de prismas de aproximadamente 50 μg , masa que excede el mínimo requerido para el análisis de isótopos estables. Esta última tarea fue realizada con un microtaladro New-wave Research Inc., propiedad del Programa de Investigación Pesquera de la Universidad Austral de Chile. Las secciones del otolito se adhirieron a una base plástica de 2 mm de espesor, de tal forma que el pegamento sólo tuvo contacto con la resina y no con el otolito. Cada sección, conteniendo el core, fue montada sobre un portaobjetos petrográfico. Utilizando una fresa de 500 μm de diámetro (New Wave Research), se obtuvieron dos trozos de igual área en el core derecho e izquierdo de cada ejemplar para análisis de isótopos estables y de metales, respectivamente. Finalmente cada prisma obtenido se limpió con agua ultrapura (Milli-Q), secada en una campana de flujo laminar y almacenadas en microtubos Eppendorf limpios, para el posterior envío y análisis de las muestras.

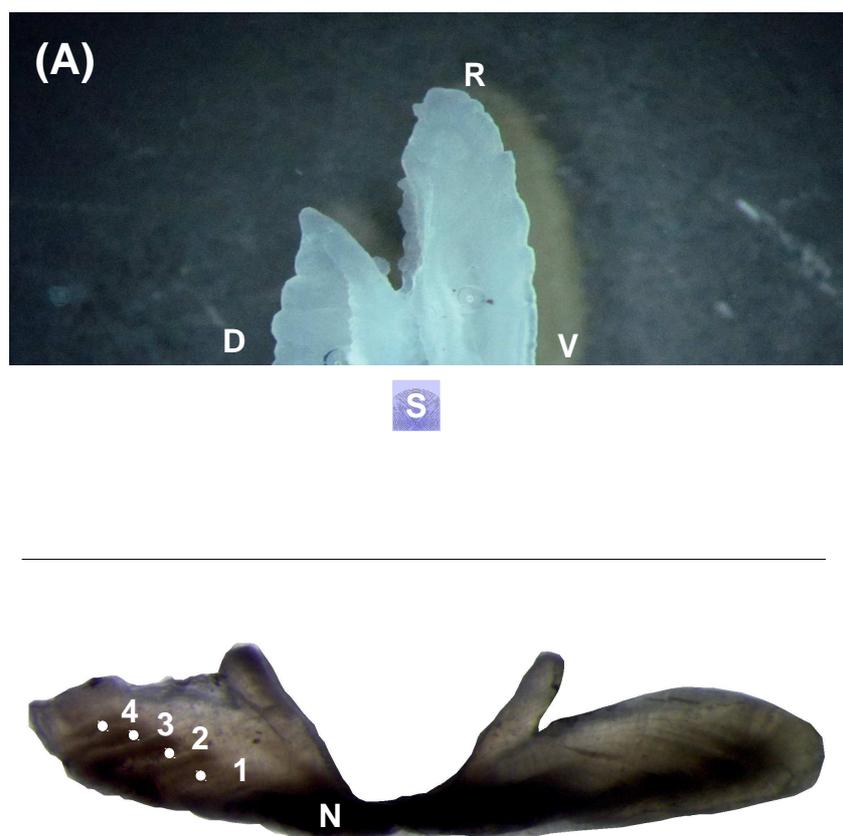


Figura 19. Otolito de reineta y sección transversal de una hembra.

Otolito derecho (A) y sección transversal (B) de un ejemplar hembra de *B. australis* de 58 cm (LT). Las fotografías fueron tomadas con luz incidente y muestran una sección central correspondiente al núcleo (N). Se aprecian cuatro zonas translúcidas con números 1, 2, 3 y 4. Otras zonas translúcidas se encuentran probablemente fuera del foco de la fotografía. D: borde dorsal, V: borde ventral, R: rostrum, PR: postrostrum, S: sulcus.

Análisis químico.

Las muestras para análisis de isótopos estables de $\delta^{18}\text{O}$ y $\delta^{13}\text{C}$ fueron enviadas al Laboratorio Ambiental de Geoquímica de Isótopos de la Universidad de Arizona (n=181), donde se cuantificaron con un dispositivo automatizado de preparación de carbonato KIEL-III, acoplado a un espectrómetro de radio-gas Finnigan MAT 252. Las prismas se digirieron con ácido fosfórico deshidratado en vacío, a 70°C , donde el 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.

El análisis de composición de los metales Ba, Ca, Mg, Mn y Sr fue realizado en el Laboratorio Biológico de Chesapeake Bay de la Universidad de Maryland (n=84) mediante espectrometría de masas con acoplamiento de plasma inductivo (ICP-MS) en un equipo Hewlett Packard 4500 (cuadrupole). Cada muestra fue pesada (precisión 0,01 mg), colocada en un tubo de micro centrífuga plástico y, digerida en ácido nítrico concentrado. La cantidad de ácido a utilizar y el volumen del digerido fueron proporcionales al peso de la muestra, procurando que las soluciones fueran de similar composición, para minimizar posibles efectos de la matriz sobre el análisis instrumental. Las digestiones fueron diluidas con DDH₂O, hasta obtener una concentración de HNO₃ al 1%. Estándares internos fueron agregados a todas las soluciones para compensar por la probable deriva del instrumento. Los niveles de Mg, Mn y Ba fueron cuantificados usando el método de estándares internos, mientras que para los niveles de Ca y Sr se utilizaron estándares de calibración externos. Las concentraciones finales del Mg, Mn, Ba y Sr fueron expresadas como concentraciones relativas ($\mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$) respecto al Ca.

Análisis estadístico

La comparación de las concentraciones isotópicas y elementales en otolitos, entre zonas de pesca y regiones eco-geográficas, estuvieron basadas en versiones univariadas y multivariadas de modelos lineales generalizados mixtos, GLMM (Searle 1987, Littell et al. 1996, Pinheiro & Bates 2000, Venables & Dichmont 2004). Bajo este esquema, la falta de independencia entre eventos de muestreo y cohortes fue tratada como efectos aleatorios, dentro de cada modelo. Para los GLMM univariados, se utilizó el paquete R “lme4” (Bates et al. 2012 p. 4), mientras que para los GLMM multivariados el paquete R “MCMCglmm” (Hadfield 2010).

Las pruebas de hipótesis se basaron, principalmente, en pruebas de razón de verosimilitud entre modelos anidados (Venables & Ripley 2002). De otro modo, se utilizó el criterio de información de Akaike (Akaike 1973) para modelos univariados (AIC) y el criterio de información de la devianza (DIC) para los modelos multivariados (Hadfield 2010). Los supuestos de normalidad univariada y multivariada fueron evaluados 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 el test de Levene (1960) para cada variable respuesta utilizada. Las hipótesis nulas fueron rechazadas bajo un nivel de significancia (α) de 0,05.

Para el análisis del potencial de las concentraciones relativas de isótopos estables y metales en secciones nucleares otolitos para discriminar la procedencia de los adultos respecto de su zona de pesca o ecorregión biogeográfica, se utilizó análisis discriminante lineal (Klecka 1980) sobre las variables previamente transformadas mediante un procedimiento de Box-Cox (Venables & Ripley 2002).

Para evaluar hipótesis alternativas sobre el número y contribución de orígenes natales (zonas de crianza) a cada zona de pesca o ecorregión, se utilizó un enfoque de modelos de mezcla de distribuciones finitas (Everitt & Hand 1981, Millar 1987, Smith & Campana 2010), ajustados por máxima verosimilitud. En particular, se utilizó el procedimiento descrito por Niklitschek et al. (2014) para mezclas de origen desconocido, el cual consiste en comparar, a través del Criterio de Información de Akaike, AIC (Akaike 1973), la verosimilitud de modelos (hipótesis) alternativos respecto del número de orígenes presentes en una o más mezclas. En el caso del presente análisis se consideró un número variable de uno a cuatro orígenes y un número fijo de cuatro mezclas, correspondientes a las cuatro regiones ecogeográficas en que se dividió el área de estudio. El modelo ajustado siguió la forma general propuesta por Smith & Campana (2010),

$$l(\psi|\mathbf{X}) = \prod_{a=1}^A \prod_{s=1}^S \hat{p}_{as} \cdot g(x_a|\psi)$$

donde,

A, S: número de ecoregiones y orígenes, respectivamente

\hat{p}_{as} : Proporción estimada de la contribución del origen s a la ecoregión a

$g(\cdot)$: función de densidad de probabilidad del correspondiente marcador $\sim MVN(\hat{\mu}, \hat{\Sigma})$

\mathbf{X}_a : matriz de valores individuales observados para cada marcador m en la ecoregión a

ψ : vector de parámetro $(\hat{\mu}, \hat{\Sigma})$

Los valores iniciales de los vectores de medias (μ) y matrices de covarianza (Σ), correspondientes a cada marcador (metales o isótopos) y cada uno de los 1-4 orígenes hipotéticos, fueron estimados a partir de los datos, previamente agrupados en un número de conglomerados equivalente al de la hipótesis evaluada. Estos conglomerados fueron formados maximizando la verosimilitud de los mismos, utilizando para ello un algoritmo EM (expectation-maximization), implementado en el paquete R-mixture (Browne & McNicholas 2015). En el caso específico del

modelo de 4 orígenes, se utilizó además valores iniciales derivados directamente de las medias y covarianzas estimadas para cada una de las 4 ecoregiones.

Resultados

Comparaciones univariadas

No se encontró evidencia de diferencias significativas en los valores de $\delta^{18}\text{O}$ determinados en las secciones nucleares de otolitos de *B. australis* (**Figura 20**), ni entre zonas de pesca ($p>0,1$), ni entre regiones ecogeográficas ($p>0,05$), con una media general de $0,63^\circ/\text{‰} \pm 0,31$ (DS). Se encontró, en cambio, diferencias significativas en los valores de $\delta^{13}\text{C}$ entre zonas de pesca y entre regiones ecogeográficas (**Figura 20**), con una media general de $-6,75^\circ/\text{‰} \pm 1,19$ (DS). En cuanto a las zonas de pesca, el $\delta^{13}\text{C}$ fue leve, pero significativamente ($p>0,05$) mayor en la Zona Centro-Sur, $-6,35^\circ/\text{‰} \pm 0,20$ (EE), que en la Zona Sur ($-6,67^\circ/\text{‰} \pm 0,17$ (EE)). Las diferencias entre ecoregiones biogeográficas fueron más significativas ($p<0,001$), encontrándose valores mucho menores en los otolitos procedentes de la ecoregión meso-magallánica, $-7,52^\circ/\text{‰} \pm 0,29$ (EE), que en aquellos procedentes de tres ecoregiones restantes, donde presentaron valores medios entre $-6,81$ y $6,08$ (**Figura 20**).

Las concentraciones relativas de Ba:Ca, Mg:Ca, Mn:Ca y Sr:Ca en secciones nucleares de otolitos de *B. australis*, por su parte, mostraron una muy alta variabilidad, sin evidencia de diferencias significativas, ni entre zonas de pesca (**Figura 21**), ni entre ecoregiones biogeográficas (**Figura 22**). Los promedios generales de las concentraciones relativas de estos metales alcanzaron a $5,46 \pm 3,97$ (DE) $\mu\text{mol mol}^{-1}$, $0,46 \pm 0,71$ (DE) mmol mol^{-1} , $14,4 \pm 16,9$ (DE) $\mu\text{mol mol}^{-1}$ y $2,85 \pm 0,68$ (DE) mmol mol^{-1} , para Ba:Ca, Mg:Ca, Mn:Ca y Sr:Ca, respectivamente.

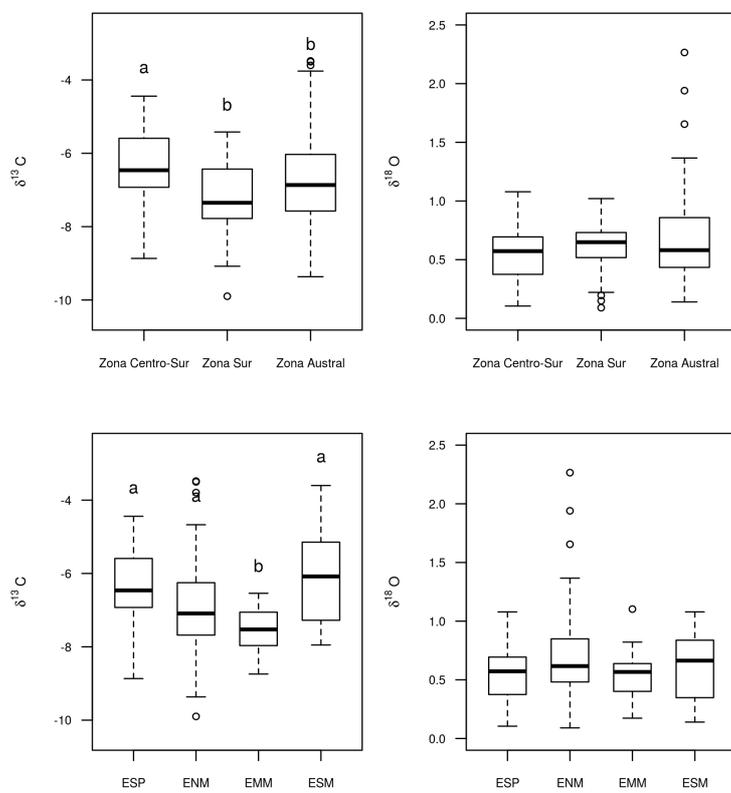


Figura 20. Concentraciones relativas de $\delta^{18}\text{O}$ y $\delta^{13}\text{C}$ por zona de pesca y ecoregiones.

Realizadas en secciones nucleares de adultos de *Brama australis* según zona de captura (panel superior) y según eco-regiones biogeográficas (panel inferior).

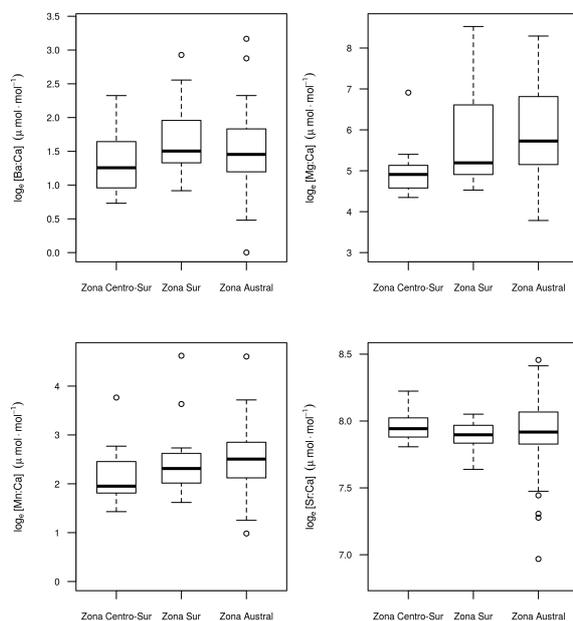


Figura 21. Concentraciones relativas de Ba, Mg, Mn y Sr por zona de pesca.
Realizadas en secciones nucleares de otolitos adultos de *Brama australis*

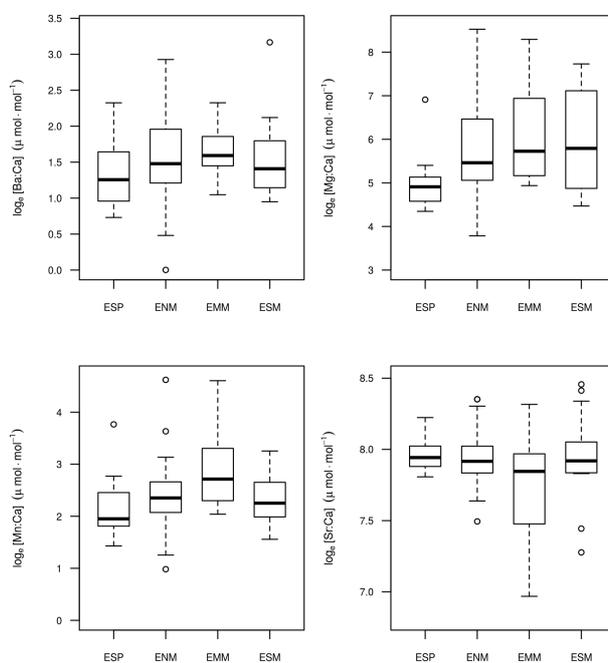


Figura 22. Concentraciones relativas de Ba, Mg, Mn y Sr por ecoregión.
Realizadas en secciones nucleares de otolitos adultos de *Brama australis*

Comparaciones multivariadas

La distribución bivariada de las concentraciones relativas de isótopos estables ($\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{18}\text{O}$) mostró una nube relativamente homogénea, con gran sobreposición de las observaciones procedentes de distintas zonas de pesca o regiones eco-geográficas (**Figura 23**). Sin perjuicio de ello, fue posible observar algunos de los patrones evidenciados por el análisis univariado, particularmente, la tendencia de la ecorregión meso-magallánica (EMM) a presentar menores valores de $\delta^{13}\text{C}$ que las eco-regiones adyacentes. Se aprecian también mayores niveles de dispersión de los datos procedentes de las eco-regiones nor-y sud-magallánicas que en las dos eco-regiones restantes.

El análisis multivariado (GLMM) mostró evidencia de que la agrupación de las muestras por zonas de pesca (AIC=614) y eco-regiones biogeográficas (AIC=610) condujo a modelos más informativos que el modelo nulo, donde todas las muestras fueron agrupadas en un único conjunto (AIC=617). Ninguna reagrupación de las cuatro eco-regiones biogeográficas produjo algún modelo más informativo que el modelo de cuatro grupos, basado en la propuesta original de Spalding et al. (2007).

El análisis de la distribución multivariada de las concentraciones relativas de metales mostró una heterogeneidad notablemente mayor que en el caso de los isótopos estables (**Figura 24**), con la existencia de 2-3 agrupaciones de datos, pequeñas en número, pero relativamente discretas y separadas de la nube principal. Sin embargo, ninguna de estas agrupaciones correspondió a alguna zona de pesca o ecorregión en particular. Consecuentemente, el modelo nulo que agrupó todas las observaciones en un único conjunto mostró ser más informativo (AIC=738,2) que los modelos que agruparon los datos observados por zona de pesca (AIC=742,6) y por ecorregión biogeográfica (AIC=739,5)

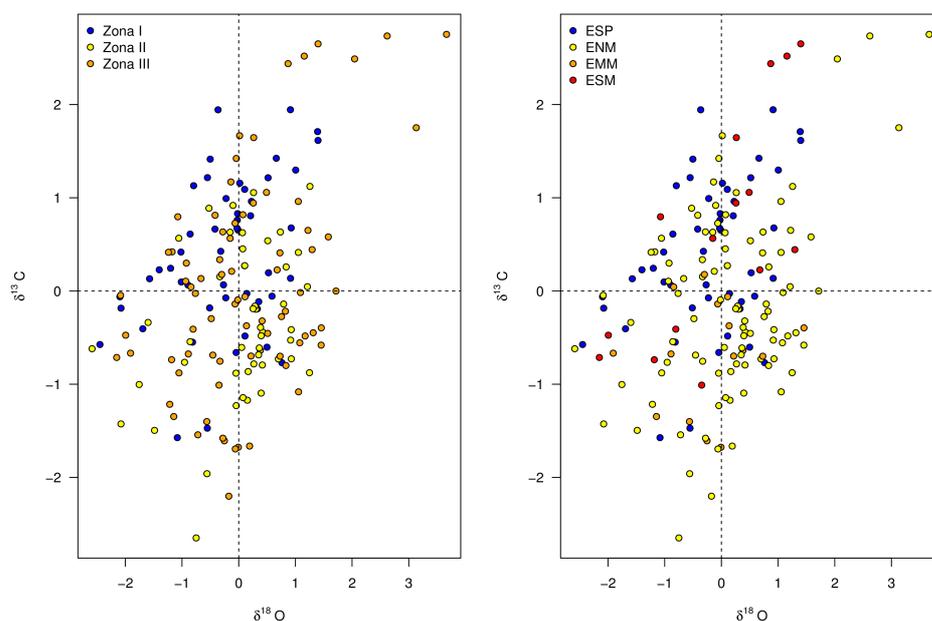


Figura 23. Diagrama bivariado de la concentración relativa de los isótopos 13C y 18O

En secciones nucleares de otolitos de *Brama australis* por zona de captura (panel izquierdo) y ecorregión biogeográfica (panel derecho): ESP=ecorregión sud-peruana; ENM=ecorregión nor-magallánica; EMM=ecorregión meso-magallánica; ESM=ecorregión sud-magallánica.

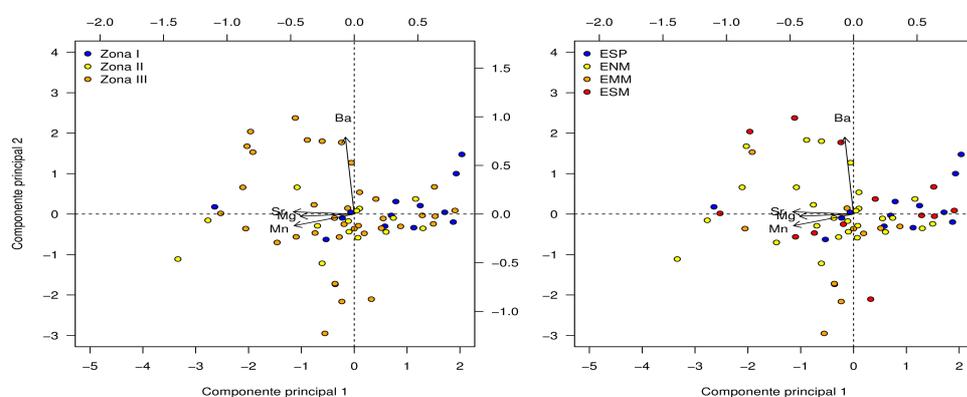


Figura 24. Diagrama de componentes principales de las razones Ba:Ca, Sr:Ca, Mn:Ca y Mg:Ca

En cores de otolitos de *B. australis* por zona de captura y por eco-regiones biogeográfica propuesta por Spalding et al. (2007): ESP=ecorregión sud-peruana; ENM=ecorregión nor-magallánica; EMM=ecorregión meso-magallánica; ESM=ecorregión sud-magallánica.

Análisis discriminante

Los modelos lineales construidos para evaluar el potencial discriminante de las concentraciones relativas de isótopos estables y metales para identificar el origen de peces capturados en las distintas zonas de pesca y eco-regiones biogeográficas presentaron errores similares de 42 y 44% respectivamente (**Tablas 32 y 33**). La combinación de ambos tipos de marcadores en un modelo discriminante único, redujo el potencial discriminante, incrementando el error total a un 52% (**Tabla 34**). Es importante señalar que los errores de estos modelos discriminantes fueron consistentemente menores en la ecorregión nor-magallánica, donde no llegaron a superar el 19%. En contraste, los mayores errores (>70%) fueron encontrados en las eco-regiones meso y sud-magallánicas, donde se contó con los menores tamaños muestrales.

Tabla 32. Matriz de confusión a partir de isótopos ^{13}C y ^{18}O .

Matriz de confusión de los resultados del modelo discriminante lineal utilizado para asignar la procedencia de *Brama australis* a partir de las concentraciones relativas de isótopos ^{13}C y ^{18}O en secciones nucleares de sus otolitos. Resultados corresponden a método de validación cruzada mediante la exclusión recursiva de cada muestra evaluada.

Ecorregión	Clasificación				Error
	ESP	ENM	EMM	ESM	
Sud-peruana (ESP)	21	28	0	0	0,571
Nor-magallánica (ENM)	16	79	0	0	0,168
Meso-magallánica (EMM)	1	14	0	0	1,000
Sud-magallánica (ESM)	7	8	0	0	1,000
Total	45	129	0	0	0,425

Tabla 33. Matriz de confusión a partir de metales Ba, Mg, Mn y S.

Matriz de confusión de los resultados del modelo discriminante lineal utilizado para asignar la procedencia de *Brama australis* a partir de las concentraciones elementales (relativas al Ca) de los metales Ba, Mg, Mn y Sr. Resultados corresponden a método de validación cruzada mediante la exclusión recursiva de cada muestra evaluada.

Ecorregión	Clasificación				Error
	ESP	ENM	EMM	ESM	
Sud-peruana (ESP)	8	6	0	0	0,429
Nor-magallánica (ENM)	2	22	1	2	0,185
Meso-magallánica (EMM)	0	6	4	0	0,600
Sud-magallánica (ESM)	3	9	0	2	0,857
Total	13	43	5	4	0,446

Tabla 34. Matriz de confusión basada en ^{13}C y ^{18}O , y metales Ba, Mg, Mn y Sr.

Matriz de confusión de los resultados del modelo discriminante lineal utilizado para asignar la procedencia de *Brama australis* a partir de las concentraciones relativas de los isótopos estables ^{13}C y ^{18}O , y de las concentraciones elementales (relativas al Ca) de los metales Ba, Mg, Mn y Sr. Resultados corresponden a método de validación cruzada mediante la exclusión recursiva de cada muestra evaluada.

Ecorregión	Clasificación				Error
	ESP	ENM	EMM	ESM	
Sud-peruana (ESP)	5	7	1	0	0,615
Nor-magallánica (ENM)	2	25	3	0	0,167
Meso-magallánica (EMM)	0	10	4	1	0,733
Sud-magallánica (ESM)	1	12	1	1	0,933
Total	8	54	9	2	0,521

Análisis de modelos de mezcla de distribuciones finitas

El contraste de hipótesis alternativas sobre el número de orígenes (zonas de crianza) de la(s) unidad(es) demográfica(s) explotadas en la costa de Chile seleccionó la hipótesis de un origen único, como la más informativa (menor AIC, **Tabla 35**), ya sea utilizando la concentración relativa de isótopos estables (n=174), como la de metales (n=66). El método de estimación de los parámetros iniciales (análisis de conglomerados mediante EM o promedio simple de las observaciones por región eco-geográfica) no tuvo efecto sobre la verosimilitud de los modelos ajustados para la hipótesis de cuatro orígenes, ni para isótopos estables, ni para metales (**Tabla 35**).

Tabla 35. Modelo de mezcla basada en ^{13}C y ^{18}O , y metales Ba, Mg, Mn y Sr.

Análisis comparativo de modelos de mezcla de distribuciones finitas basados en la concentración relativa de los isótopos estables ^{13}C y ^{18}O , y en la concentración elemental de Ba, Mg, Mn y Sr (relativa a la concentración elemental de Ca). Se evalúan cuatro diferentes hipótesis respecto del número de orígenes de *Brama australis* presentes en las cuatro ecoregiones biogeográficas analizadas. EM=expectation-maximization; ZBG=zonas biogeográficas (Spalding et al. 2007); AIC=Criterio de Información de Akaike (1973).

N° orígenes	Parámetros iniciales	Fuentes de información $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{18}\text{O}$ (n=174)			Ba:Ca, Mg:Ca, Mn:Ca, Sr:Ca (n=69)		
		Log-verosim.	N° parám.	AIC	Log-verosim.	N° parám.	AIC
1	EM	-388	5	785	-313	14	654
2	EM	-975	14	1.978	-716	32	1.496
3	EM	-1.638	23	3.321	-1.153	50	2.407
4	EM	-2.349	32	4.762	-1.613	68	3.361
4	ZBG	-2.349	32	4.762	-1.613	68	3.361

Discusión

En el presente trabajo, se encontró alguna evidencia de diferencias significativas en la concentración relativa de ^{13}C en las secciones nucleares de otolitos de *B. australis* capturados en la ecorregión meso-magallánica. Estas diferencias, se reflejaron también en el análisis conjunto (bi-variado) de las concentraciones relativas de ^{13}C y ^{18}O , el cual indicó la existencia de diferencias importantes entre las cuatro eco-regiones consideradas en el presente estudio. Lo anterior contrastó, no obstante, con los restantes resultados univariados y multivariados que no evidenciaron diferencias significativas en las concentraciones de ^{18}O , Ba, Mg, Mn y/o Sr, ni entre zonas de pesca, ni entre regiones eco-geográficas. Esta baja diferenciación entre zonas, sumada a la alta, pero relativamente homogénea, dispersión de los datos explicaría los bajos potenciales discriminantes encontrados en todos los modelos, tanto en aquel basado en isótopos estables, como en aquellos basados en metales y en la combinación de ambos marcadores.

A pesar del bajo potencial discriminante mostrado, en general, por los marcadores microquímicos e isotópicos utilizados, la ecorregión nor-magallánica (Canal de Chacao-Península de Taitao) mostró errores de clasificación bajo el 20%, independientemente del tipo o combinación de marcadores empleado. Aunque este resultado podría responder, simplemente, a un mayor tamaño muestral, podría ser también indicativo de una mayor identidad del área asociada a procesos biológicos poblacionales. Esta ecorregión concentra la mayor parte del esfuerzo y de las capturas comerciales de *B. australis* durante el invierno (julio-septiembre), coincidiendo con el período de

desove invernal de esta especie (Leal & Oyarzún 2003). Podría, por lo tanto, constituir o encontrarse cercana a la principal área reproductiva de esta especie, cuyos huevos y larvas serían retenidos o desplazados en su mayoría hacia una zona común de crianza, aún pendiente de localizar.

La homogeneidad de las mezclas de adultos (zonas de pesca o eco-regiones) no implica, necesariamente, un origen común ya que puede resultar de contribuciones equivalentes de múltiples orígenes. Por ello, a diferencia del modelo lineal discriminante, el modelo de mezcla de distribuciones finitas aquí empleado asume un origen desconocido para el conjunto de muestras, agrupándolas inicialmente por similitud en sus marcadores y no por lugar de captura. Este procedimiento hubiera permitido encontrar patrones indicativos de la existencia de distintos orígenes, no necesariamente vinculados a las zonas de captura (Niklitschek et al. 2014). Sin embargo, este no fue el caso, dando mayor sustento a la existencia de un origen natal (área de crianza) común para *B. australis* en el área de estudio.

Dicho todo lo anterior, se debe reconocer la existencia de algunos ejemplares portadores de señales químicas muy atípicas, los cuales podrían reflejar la presencia de orígenes secundarios cuya contribución a las mezclas estudiadas no llegó a ser informativa. No es posible, sin embargo, descartar la posibilidad de que estos valores atípicos reflejaran errores de muestreo o análisis. Los otolitos de la Familia Bramidae son pequeños y complejos estructuralmente, teniendo un pronunciado sulcus que divide la sección nuclear en dos mitades. Estas características dificultan el proceso de obtención de prismas nucleares, el cual podría haber conducido, en algunos casos, a muestras muy pequeñas (cercanas al límite de detección) o, en otros, a contaminación con material depositado en edades posteriores a los primeros meses de vida.

Aun cuando no es posible descartar la existencia de zonas de crianza secundarias dentro del área de estudio, o la contribución, también secundaria, desde poblaciones o unidades demográficas ubicadas fuera del área de estudio, los datos obtenidos en el presente trabajo sustentan fuertemente la existencia de un origen natal común de *B. australis* en el área de estudio, seguido de un importante proceso de dispersión latitudinal, que alcanza desde el Golfo de Arauco hasta el Cabo de Hornos. Permanece pendiente, ampliar nuestro conocimiento sobre la fidelidad de *B. australis* a sus sitios de alimentación y la identificación de contingentes migratorios y vagabundos. Aunque estos conocimientos son, primariamente, de interés científico, podrían cobrar relevancia en términos de medidas de manejo espacialmente explícitas, incluida la asignación entre grupos de interés.

Finalmente, las concentraciones relativas de ^{18}O observadas en las secciones nucleares de los otolitos de los ejemplares analizados fueron sustancialmente menores que los valores observados en especies costeras, tales como merluza de cola (Niklitschek et al. 2014), sardina austral (Niklitschek et al. 2012), merluza de tres aletas (Niklitschek et al. 2010) y bacalao de profundidad (Niklitschek and Toledo 2011). Estos menores valores de $\delta^{18}\text{O}$, sugieren que reineta utiliza áreas de crianza sustancialmente más cálidas que las especies costeras cuyas áreas de crianza se sitúan al sur del Golfo de Arauco. Utilizando modelos predictivos generales (Kim and O'Neil 1997, Niklitschek et al. 2014), es posible especular que la principal zona de crianza de reineta podría encontrarse en un rango de temperatura entre 14 y 18°C.

Conclusiones

- Nuestros resultados sustentan la hipótesis de un origen natal (zona de crianza) común para el stock de *B. australis* explotado al sur de paralelo 37,5°S, frente a la costa chilena.
- Nuestros resultados sustentan también la hipótesis de localización del área principal de desove en la ecorregión nor-magallánica.
- Dada la existencia de una zona de crianza común, es posible proponer la existencia de una única unidad demográfica y, por ende, de una única unidad evolutiva.
- La existencia de algunos valores atípicos hace recomendable evaluar, en el futuro, la posible existencia de otras unidades demográficas, cuyos centroides espaciales se ubicarían fuera del área de estudio.

3.4.3 Marcadores biológicos: Morfometría Corporal

Claudio Carrasco
Universidad de Concepción

Antecedentes

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

La forma del cuerpo de un pez es definida a partir de la interacción entre factores ambientales y genéticos (Barlow 1961, Swain & Foote 1999), especialmente aquellos que ocurren ligados a estados tempranos de desarrollo. Por lo tanto, la forma corporal representa una expresión fenotípica, pero influenciada por variaciones ambientales. Las variaciones morfométricas con el crecimiento, pueden cambiar entre diferentes localidades, y éstas pueden ser utilizadas para la discriminación de unidades de stocks (Cadrin & Friedland 1999). De hecho, con este propósito, los caracteres fenotípicos pueden ser más utilizables que incluso aquellos puramente genéticos (Casselman et al. 1981, Lear & Wells 1984, Kinsey et al. 1994, Swain & Foote 1999). Esto, debido a que un bajo o débil flujo génico puede interferir en la detección de diferencias genéticas significativas. Si bien las diferencias morfométricas entre localidades pueden indicar una fuente de separación poblacional, o la existencia de diferentes unidades de stocks, estas diferencias pueden ser también causadas por la influencia del ambiente y de existir una alta mezcla de individuos de diferentes localidades, las diferencias serían entonces indetectables (Murta et al. 2008).

La reineta (*Brama australis*) es una especie mesopelágica de extensa distribución. Oyarzún (2001) indica que la reineta se encontraría presente entre Coquimbo (29°S) y el extremo sur-austral mientras que antecedentes recientes reportados por San Martín et al. (2011) sugieren una amplia distribución de la especie en la costa de Chile entre los 27° S y los 57° S, incluyendo algunas zonas de aguas interiores del extremo sur de Chile, por otra parte, considerando información del NIWA (www.nabis.govt.nz) y de Pavlov (1991), se sugiere una distribución que atraviesa el Océano Pacífico (65° W 185° W), encontrándose presente desde el sector oriental de Nueva Zelandia entre 42°53` S y 53°28,2`S.

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

Metodología

Obtención de muestras

Se analizó un total de 285 individuos, los que fueron recolectados en las 3 zonas definidas en la propuesta (**Tabla 37**). Los ejemplares utilizados presentan una longitud de horquilla (LH) ≥ 37 cm, talla a la cual se asume que el crecimiento comienza a estabilizarse.

Tabla 36. Muestras obtenidas para el análisis de morfometría corporal.

Zona	n°	LH máxima (cm)	LH mínima (cm)	LH prom. (cm)	D. Estdr.	Varianza
Centro-sur	100	52	38	46,730	3,103	9,628
Calbuco	99	58	37	40,192	4,125	17,014
Austral	86	52	37	41,424	3,545	12,568
Total general	285	58	37	42,858	4,623	21,368

Mediciones

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

Cada individuo fue montado en una superficie de Poliestireno (PE) blanca, la cual fue previamente socavada para garantizar que el ejemplar se posicione adecuadamente sobre la superficie de forma horizontal. Para efectos de estandarizar el proceso de medición, cada ejemplar se ubicó en la plantilla de PE descansando sobre su costado derecho y con orientación de su cabeza hacia la izquierda. Para cada fotografía se utilizó un pie de metro digital ($\pm 0,01$ mm) como reglilla de referencia para calibrar la fotografía y para la obtención de posteriores mediciones en ella (**Figura 25**).

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

Se realizó un análisis de morfometría geométrica para lo cual se utilizó la metodología empleada por Bookstein (1991). La forma de cada individuo se obtuvo registrando de manera digital las coordenadas bidimensionales de 10 puntos morfométricos (landmarks) prominentes desde el punto de vista morfológico (**Tabla 37**), posteriormente se aplicó un Análisis General de Procrustes (AGP) para eliminar el efecto de la variación morfológica derivada de la talla, posición u orientación de los ejemplares. Los Análisis de Componentes Principales (ACP) y Análisis de Variable Canónica (AVC) y Análisis de Función de Discriminante (AFD) se realizaron mediante la utilización del software MorphoJ (Klingenberg 2010) programa multiplataforma de uso libre.

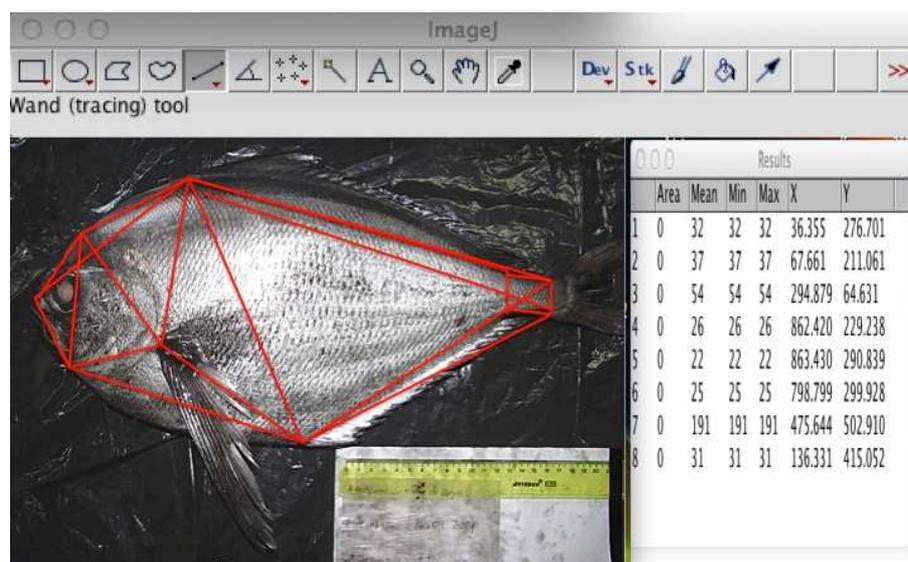


Figura 25. Imagen reineta, *Brama australis*

Tabla 37. Distancias propuestas a medir por morfometría geométrica.

Modificado de (Galleguillos et al. 2012)

Landmarks	L ₁	Punto de Hocico superior
	L ₂	Punto final de la cabeza
	L ₃	Punto de inicio de la aleta dorsal
	L ₄	Punto de termino de alta dorsal de la aleta caudal (superior)
	L ₅	Punto de la aleta caudal (superior)
	L ₆	Punto de la aleta caudal (inferior)
	L ₇	Punto de termino de aleta anal
	L ₈	Punto de inicio de la aleta anal
	L ₉	Punto de inicio de la aleta pélvica
	L ₁₀	Punto de inicio aleta pectoral

El análisis exploratorio mediante un análisis de componentes principales (ACP) sobre una matriz de correlación, se utiliza para establecer si existe un patrón de variación morfológica entre las zonas e identificar las medidas que determinan la formación de estos grupos dentro del espacio multivariado (Crisci & López-Armengol 1983). El AVC, es un método de análisis multivariante, cuyo objetivo es determinar las relaciones entre dos o más grupos, además de ser una herramienta descriptiva de los grupos a *priori* y mutuamente excluyentes. Al aplicar este método es posible obtener la distancia de Mahalanobis y de Procrustes, la primera es un distancia que determina la similitud entre variables

aleatorias, y tiene en cuenta las correlaciones entre las variables utilizando sólo la información de cada variable no redundante, mientras que la segunda se define como la raíz cuadrada de las sumas al cuadrado de las distancias entre dos configuraciones de landmarks centradas, escaladas y rotadas, ésta ecuación genera una forma consenso que representa a todos los individuos de la población.

Por último el AFD es la técnica de estadística multivariada, en la que la variable dependiente es categórica y las categorías son los grupos (zonas) previamente asignados a los ejemplares; las variables independientes son continuas y determinan a qué zona pertenecen los organismos. Tiene como objeto identificar la pertenencia de los individuos a una zona, en función de un conjunto de variables medidas. Para todos los análisis estadísticos realizados se utilizó el software R (R Development Core Team 2010).

Resultados

Morfometría geométrica (zonas oferta técnica)

Mediante el AGP se realizó la transformación y corrección los datos originales, para eliminar el efecto alométrico en los análisis, (**Figura 26**), se observa cada uno de los puntos bidimensionales de los 10 landmark seleccionados para cada uno de los 285 ejemplares. El análisis de Procrustes elimina cualquier variación de los datos generada por la talla, posición y/u orientación de los individuos, se observa alta variabilidad en cada uno de los landmark.

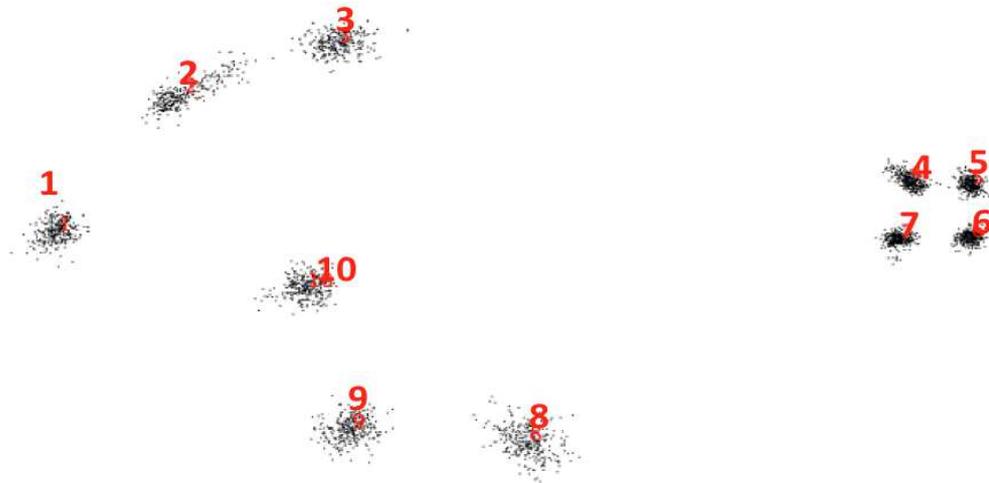
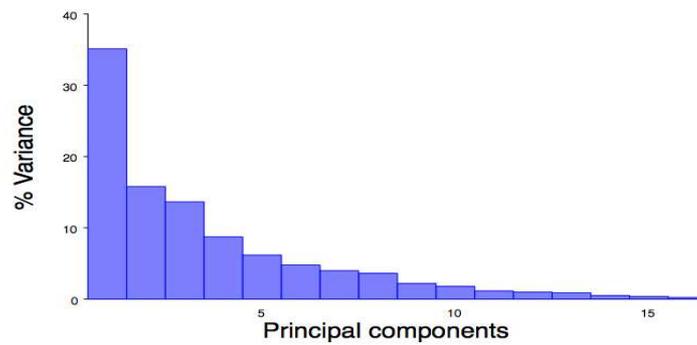


Figura 26. Análisis general de Procrustes

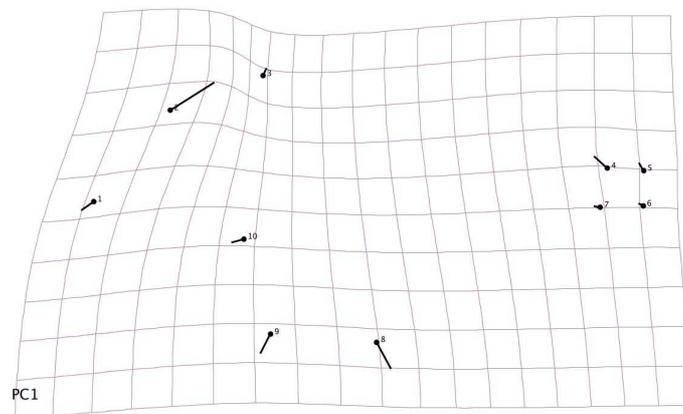
Realizado para eliminar el efecto alométrico por talla, posición y/u orientación de los individuos

El ACP, mostró que la varianza explicada por el PC1 fue de 35,10%, mientras que la varianza explicada por el PC2 fue 15,79% (**Figura 27A**). Se seleccionaron los PC1 y PC2 considerando que se trabajó sobre la base de mediciones corregidas por alometría y que entre los dos componentes explican un 50,90% de la varianza acumulada para los 10 landmark analizados, sin embargo no se observa una diferenciación clara de los individuos según su forma (**Figura 27B y 27C**).

A)



B)



C)

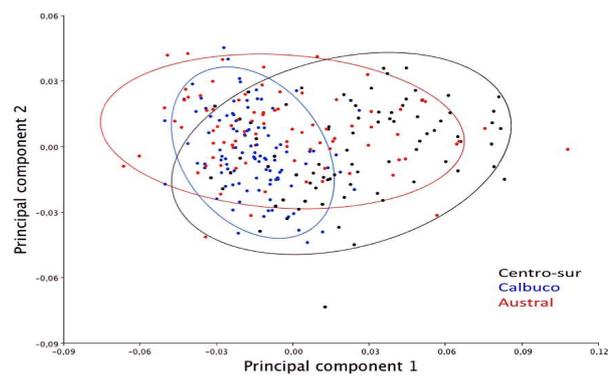


Figura 27. Análisis de Componentes Principales (ACP)

Para las variables utilizadas en la metodología de morfometría geométrica.

Por otra parte el AVC muestra en el CV1 (**Figura. 28A**), de color gris la forma pura, esto quiere decir que es la forma consenso de todos los ejemplares y la negra es la forma variable, es la forma en

que en promedio varía. La posición de los landmarks y su respectivo número indicador se muestran en la **Figura 28B**, la que nos indica en que partes de los puntos anatómicos existe mayor variación, se observa que los landmarks con mayor variación son el 2 y 8, punto que indica el final de la cabeza y punto que indica el inicio de la aleta anal, respectivamente. Al analizar los CV1 y CV2 (**Figura. 28C**) se puede observar tres agrupaciones distribuidos sobre los eje, tanto en la parte positiva como negativa, y agrupados por zona en elipses de 95% de confianza.

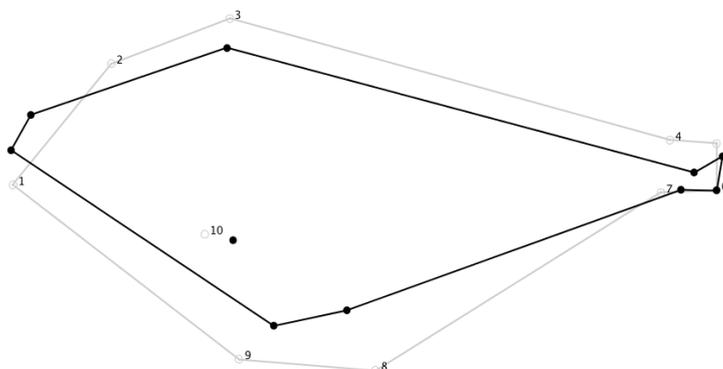
En el eje horizontal (CV1) desde el cero hacia el extremo negativo del eje tienden a agruparse los ejemplares de la zona Centro-sur, mientras que hacia el extremo positivo tienden a concentrarse los ejemplares de Calbuco, los ejemplares de la zona Austral se distribuyen de manera homogénea sobre el eje horizontal, sin embargo tienden hacia el extremo negativo del eje vertical (CV2), visualmente el AVC (CV1 v/s CV2) no permite observar una separación absoluta de los ejemplares al utilizar la zona como criterio de clasificación, por el contrario, se puede observar que hay una sobreposición entre ejemplares de las 3 zonas.

Al analizar los resultados de distancia de Procrustes y Mahalanobis entre las zonas se observan diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,0001$) para todas las comparaciones.

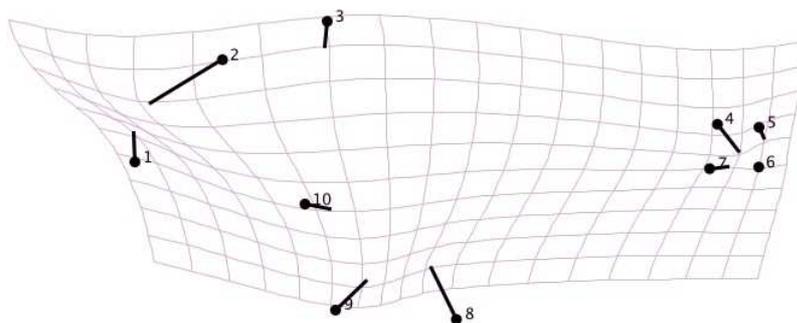
La distancia de Procrustes nos muestra la relación que tienen los puntos anatómicos, de los ejemplares de las 3 zonas. La menor distancia se produce entre los ejemplares de las zonas Calbuco y Austral (0,0185), mientras que la mayor distancia ocurre entre los ejemplares de las zonas Calbuco y Centro-Sur (0,0364), situación que se repite al comparar la distancia de Mahalanobis entre zonas, la menor distancia entre Calbuco y Austral (15,94) y mayor distancia entre Calbuco y Centro-Sur (22,32), sin embargo, la diferencia entre distancias para las distintas zonas en ambos análisis es relativamente baja (**Tabla 38**).

Respecto a los resultados del AFD podemos observar que, si bien existe diferencia estadísticamente significativa al utilizar la zona como criterio de clasificación de los ejemplares (ACV), las diferencias morfométricas entre zonas, visualmente, no son muy apreciables (**Figura 29A, 29B y 29C**), observándose deformaciones leves de los individuos entre zonas en referencia a la configuración promedio, las mayores diferencia se observan en los landmark 2, 8 y 9.

A)



B)



C)

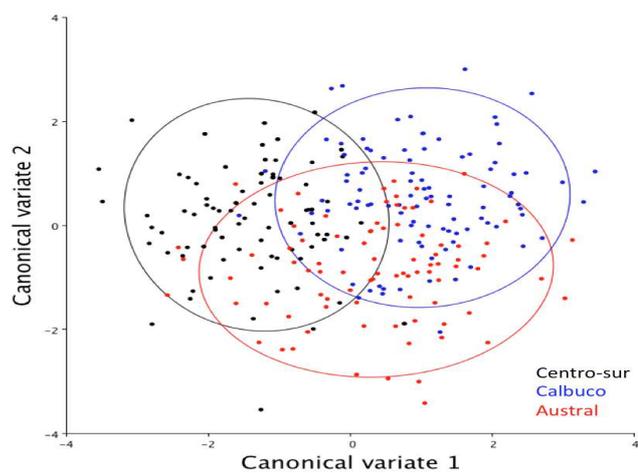


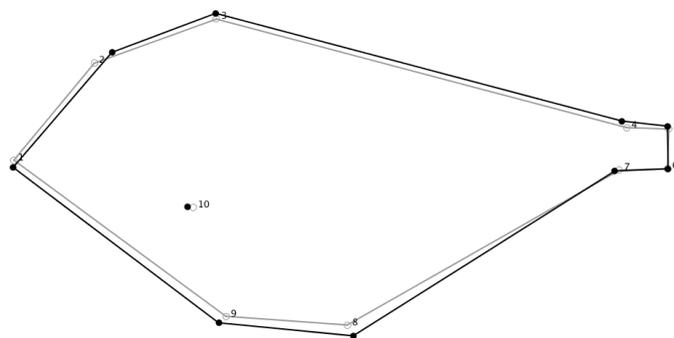
Figura 28. Análisis de Variable Canónica (AVC).

Para las variables utilizadas en la metodología de morfometría geométrica (elipse representa intervalo de 95% de confianza).

Tabla 38. Resultados numéricos del Análisis de Variación Canónica (AVC) donde se puede obtener también la distancia de Mahalanobis y de Procrustes.

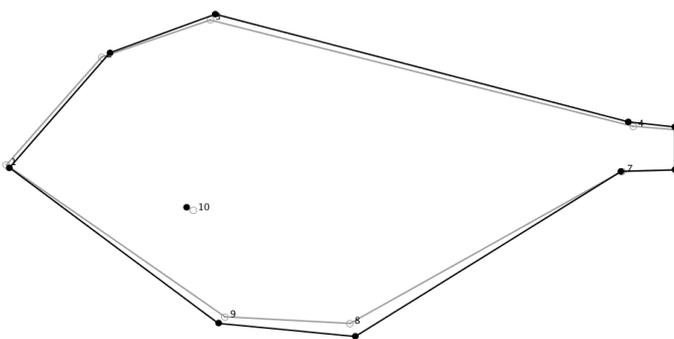
Criterio de clasificación: Zona		
Observaciones		
Zona	n° ejemplares	
Centro-Sur	100	
Calbuco	99	
Austral	86	
Variación entre los grupos		
Eigenvalores	Varianza %	Acumulativa %
102,659	75,617	75,617
0,331	24,383	100
Distancia de Mahalanobis entre grupos		
	Austral	Calbuco
Calbuco	15,229	
Centro-Sur	19,874	23,656
Valores de P en las pruebas de permutación (10000 permutaciones) para las distancias de Mahalanobis		
	Austral	Calbuco
Calbuco	<,0001	
Centro-Sur	<,0001	<,0001
Distancia de Procrustes entre grupos		
	Austral	Calbuco
Calbuco	0,018	
Centro-Sur	0,028	0,036
Valores de P en las pruebas de permutación (10000 permutaciones) para las distancias entre Procrustes		
	Austral	Calbuco
Calbuco	<,0001	
Centro-Sur	<,0001	<,0001

A)



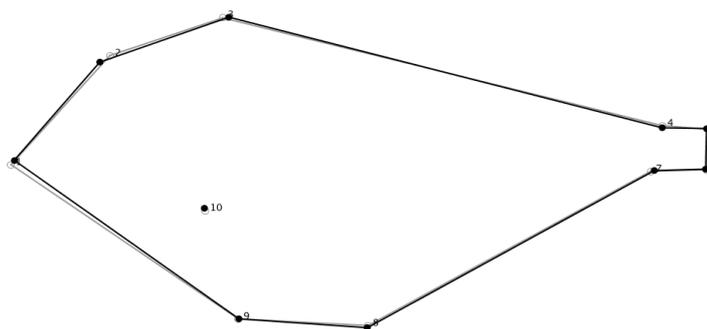
Calbuco -- Centro-Sur

B)



Austral -- Centro-Sur

C)



Austral -- Calbuco

Figura 29. Gráfico de alambre de Análisis de Función Discriminante (AFD).

Para las variables utilizadas en la metodología de morfometría geométrica, comparando las 3 zonas.

Morfometría geométrica (zonas sobreoferta)

Se presentan los resultados de una sobreoferta que considera modificar la zonificación propuesta, la que obedece a criterios más bien de ordenamiento territorial y administrativo de los recursos pesqueros, por una zonificación que considera ecoregiones marinas en base a criterios, principalmente, de biodiversidad de especies propuesto por Spalding et al (2007). En este caso se consideran reclasificar a los ejemplares en 5 zonas, a saber; Sur Peruana, Nor Patagónica, Patagónica Central, Sur Patagónica y Austral.

Los resultados de los análisis AGP, y ACP realizados son exactamente los mismo reportados anteriormente ya que a este nivel la clasificación por zonas no tiene ningún efecto, solo se elimina el efecto alométrico, tamaño y orientación de los ejemplares y se observa los landmark que aportan de mayor manera en explicar la varianza observada.

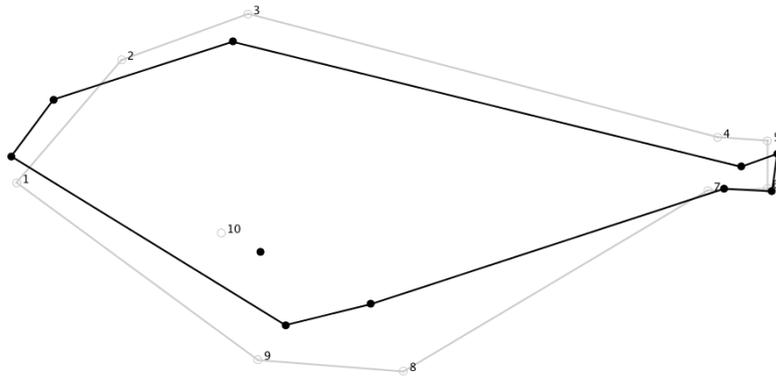
El AVC muestra en el CV1 (**Figura. 30A**), de color gris la forma pura (consenso de todas los ejemplares) y la negra, que es la forma variable (forma en que en promedio varía la posición de los landmarks), esto aún sin considerar la zona como clasificador, por ende los resultados y reconstrucción de las formas son las mismas que las informadas para el análisis con 3 zonas. Ahora analizar la distribución de los puntos (coordenadas xy) de cada ejemplara para los CV1 y CV2 (**Figura. 30C**) se puede observar que si bien existe un alto grado de mezcla, los ejemplares categorizados como provenientes de la zona Sur Peruana tienden a concentrarse en el extremo negativo del eje horizontal, diferenciándose de manera más clara respecto a los ejemplares de las 4 zonas restantes, sin embargo la sobreposición entre zonas es importante.

Al analizar los resultados de distancia de Procrustes y Mahalanobis entre las zonas se observan diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,0001$) para todas las comparaciones de los ejemplares de la zona Sur Peruana, NorPatagónica – Patagónica Central y Nor Patagónica – Sur Patagónica, por otra parte, los ejemplares de la zona Austral presentan diferencias estadísticamente significativas solo al ser comparadas con los ejemplares de la zona Sur Peruana (**Tabla 39**).

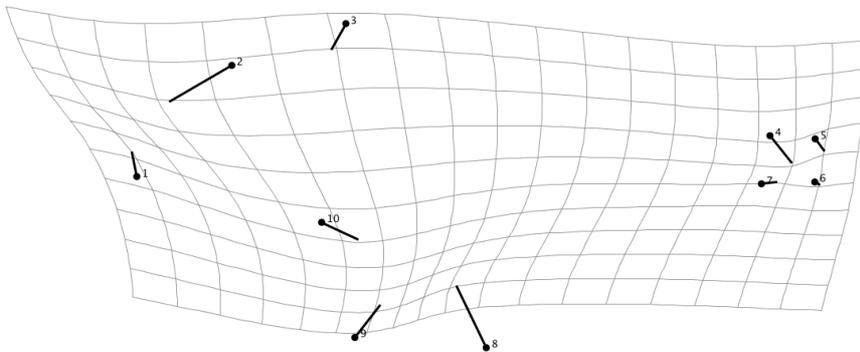
Respecto a los resultados del AFD podemos observar que, si bien existe diferencia estadísticamente significativa al utilizar la zona como criterio de clasificación (ACV), entre los ejemplares de la zona Sur Peruana respecto a las 4 zonas restantes, principalmente, las diferencias morfométricas entre zonas, a nivel visual, no son muy apreciables (**Figura 31**), observándose deformaciones leves de los

individuos entre dichas zonas en referencia a la configuración promedio, principalmente, en los landmark 2, 8 y 9, punto final de la cabeza, punto de inicio de la aleta anal y punto de inicio de la aleta pélvica, respectivamente.

A)



B)



C)

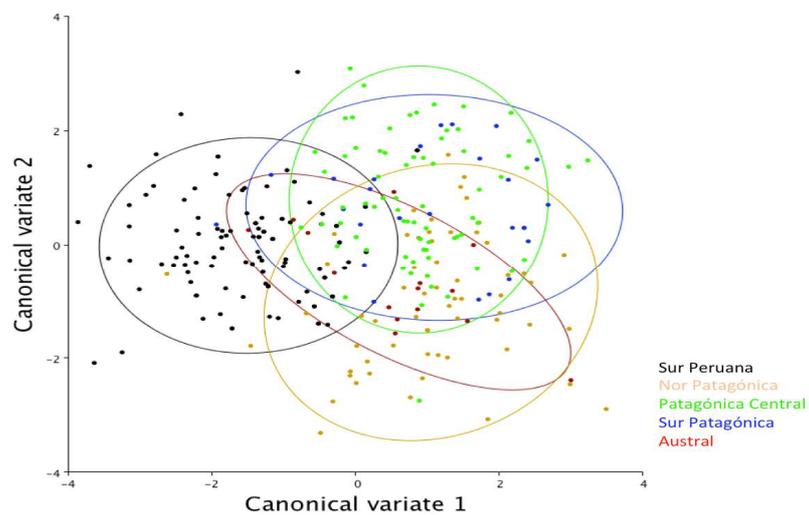


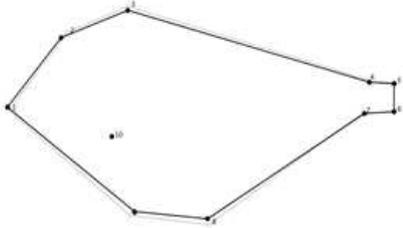
Figura 30. Análisis de Variable Canónica (AVC)

Para las variables utilizadas en la metodología de morfometría geométrica (elipse representa intervalo de 95% de confianza).

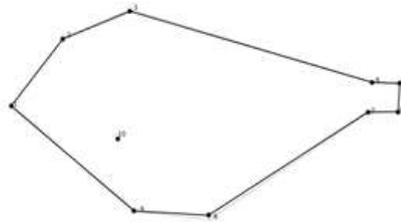
Tabla 39. Resultados numéricos del Análisis de Variación Canónica (AVC) donde se puede obtener también la distancia de Mahalanobis y de Procrustes

Criterio de clasificación: Zona				
Observaciones				
Zona	n° ejemplares			
Sur-Peruana (SP)	111			
Nor-Patagónica (NP)	61			
Patagónica -Central (PC)	72			
Sur-Patagónica (SPat)	26			
Austral (A)	15			
Variación entre los grupos				
Eigenvalores	Varianza %	Acumulativa %		
14,543	67,492	67,492		
0,447	20,752	88,244		
0,179	8,332	96,576		
0,073	3,424	100		
Distancia de Mahalanobis entre grupos				
	SP	NP	PC	SPat
NP	27,417			
PC	25,439	18,498		
SPat	29,090	21,003	16,071	
A	24,801	14,792	19,702	20,371
Valores de P en las pruebas de permutación para las distancias de Mahalanobis				
	SP	NP	PC	SPat
NP	<,0001			
PC	<,0001	<,0001		
SPat	<,0001	<,0001	0,0002	
A	<,0001	0,0284	0,0001	0,0063
Distancia de Procrustes entre grupos				
	SP	NP	PC	SPat
NP	0,042			
PC	0,039	0,017		
SPat	0,036	0,017	0,013	
A	0,033	0,014	0,019	0,014
Valores de P en las pruebas de permutación para las distancias entre Procrustes				
	SP	NP	PC	SPat
NP	<,0001			
PC	<,0001	<,0001		
SPat	<.0001	0,0030	0,0939	
A	0,0004	0,1101	0,0199	0,4545

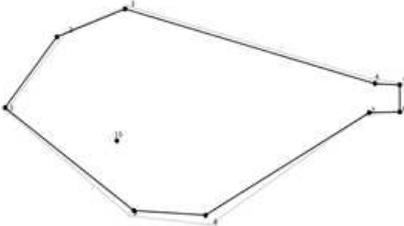
Sur Peruana – Nor Patagónica



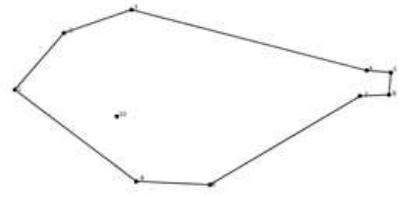
Nor Patagónica – Sur Patagónica



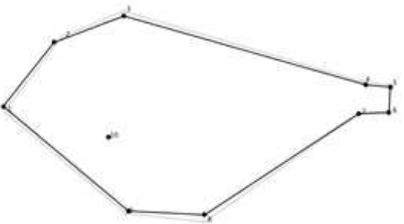
Sur Peruana – Patagónica Central



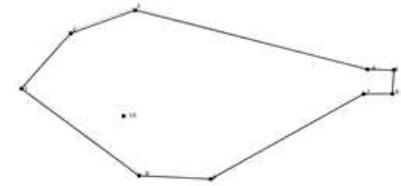
Nor Patagónica – Austral



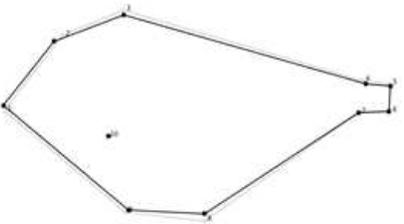
Sur Peruana – Sur Patagónica



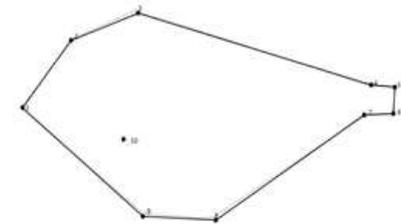
Patagónica Central – Sur Patagónica



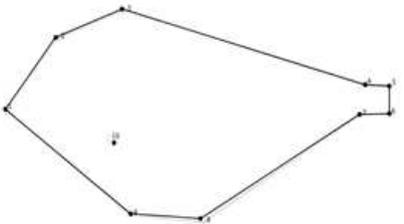
Sur Peruana – Austral



Patagónica Central - Austral



Nor Patagónica – Patagónica Central



Sur Patagónica – Austral

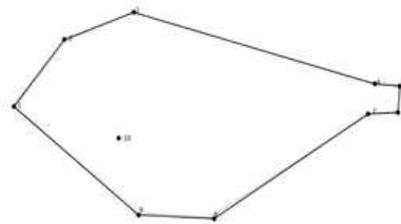


Figura 31. Gráfico de alambre de Análisis de Función Discriminante (AFD).
Para las variables utilizadas en la metodología de morfometría geométrica, comparando 5 zonas.

Discusión y conclusión

La morfometría geométrica es una herramienta matemática con fundamentos biológicos, que ha demostrado ser muy efectiva para descomponer la variación que resulta fundamentalmente de la fisiología de los individuos y de la escala en que fueron hechas las mediciones (variación del tamaño), de aquellas más estables, propias de la población producto probablemente del componente genético (variación de conformación) (Dujardin 2008).

Los resultados presentados a partir del AGP y ACP indican alta variabilidad entre los ejemplares colectados y atribuyen esa variabilidad, principalmente, a los landmark 2, 8 y 9, punto final de la cabeza, punto de inicio de la aleta anal y punto de inicio de la aleta pélvica, respectivamente.

Los resultados de los AVC y AFD utilizando como variable de clasificación la zona de colecta (para 3 zonas) indican que existe diferencia significativa entre las zonas, principalmente en los landmark antes indicados, siendo mayor entre las zonas Centro-Sur y Calbuco. Según Muñoz et al. (1995) la dieta de *Brama australis* es muy similar a la de especies congénéricas y es posible que el alto consumo de eufáusidos por esta especie se deba a la gran abundancia de estos crustáceos frente a la costa chilena, esto sumado a que en la costa central de Chile (35°- 40°S, zona Centro-Sur del proyecto), los eventos de surgencia en septiembre se caracterizan por ser moderados (Arcos et al. 1996), generando alta productividad y disponibilidad de alimento, podría dar respuesta a las diferencias encontradas entre zonas, principalmente en los landmark 8 y 9, ya que al ser la reineta un pez de cuerpo alto y bien comprimido, cualquier aumento en peso se podría traducir en un aumento en altura de los ejemplares. Situación que puede ser aplicable a las diferencias estadísticamente significativas encontradas al analizar los ejemplares ahora categorizados en zonas según metodología propuesta por Spalding et al. (2007) entre la zona Sur Peruana y las 4 zonas restantes.

La falta de diferencia estadísticamente significativa, al comparar el resto de las zonas se puede deber a;

- 1) Reducido número de muestras analizadas, principalmente, en la zona Sur Patagónica y Austral ($n^{\circ}= 26$ y 15 , respectivamente) lo que favorecería la poca diferenciación de estos grupos respecto a total de los ejemplares analizados.

- 2) Al ser la reineta una especie altamente migratoria, la metodología de clasificación por ecoregiones espacialmente más pequeñas y principalmente definidas según criterios de homogeneidad en diversidad de especies y agentes biogeográficos forzantes y dominantes, que las zonas propuestas inicialmente, no logra contener o dar cuenta de la alta variabilidad morfométrica que presenta *Brama australis* para habitar exitosamente en tan amplia área de distribución.

La utilización de técnicas de morfometría geométrica, indica alto grado de variabilidad en los hitos utilizados y solo da cuenta de diferencias estadísticamente significativas en la conformación (forma) de los ejemplares, entre todas las zonas, al utilizar la clasificación propuesta inicialmente (zona 1: Centro-Sur, zona 2: Calbuco y zona 3: Austral).

3.4.4 Marcadores biológicos: Análisis patrones de historia de vida

Milton Jair Pedraza García

Universidad de Concepción

Antecedentes

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

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

Metodología de trabajo

Con el objeto de identificar posibles unidades poblacionales de reineta sobre el litoral de la costa Chilena, se estudió un conjunto de parámetros de historia de vida tal que permita contribuir a la definición de unidades poblacionales discretas. La información biológica que se analizó dice relación con: i) La distribución de la abundancia, ii) la estructura de tamaños/edades, iii) la tasa de crecimiento, relación longitud-peso, factor de condición, iv) índices reproductivos (la talla media de madurez, estados de madurez sexual, valores de IGS) que estén disponibles por localidades en el área de distribución del recurso.

La distribución espacial y temporal de la abundancia (índices de abundancia relativa), así como la estructura de tamaños, pueden proveer evidencia de áreas de desove, y conectividad del ciclo de vida. La tasa de crecimiento puede proveer evidencia de diferencias en las tasas de crecimiento, mientras que la relación longitud-peso y factor de condición, la tasa de mortalidad total y la talla media de madurez pueden constituirse en evidencia de la presencia de sub-poblaciones dentro de aproximaciones holistas utilizadas para la identificación de la estructura poblacional.

La información requerida para el análisis de parámetros de historia de vida del recurso reineta, fue obtenida de la revisión exhaustiva de diversas fuentes a nivel nacional como: i) Informes técnicos y **Base de Datos** de los programas de seguimiento de las principales pesquerías nacionales, desarrollado por el Instituto de Fomento Pesquero (IFOP), con énfasis en pesquerías demersales de la zona centro-sur y sur austral (PDA) de Chile; ii) Informes finales y **Base de Datos** de cruceros de evaluación directa orientados a merluza común, merluza austral y merluza de cola; iii) Informes técnicos y **Base de Datos** de organizaciones/consultoras/fundaciones ligadas al fomento pesquero; y iv) información contenida en artículos publicados en revistas de corriente principal, memorias de tesis y trabajos de grado de universidades relacionadas con ciencias del mar.

a) Patrones de distribución de la abundancia

Los índices de abundancia y/o biomasa poblacional constituyen una variable de estado, no observable directamente. En este contexto, índices de abundancia relativa podrían ser utilizados para conocer el nivel de la abundancia. El nivel promedio, valor mínimo y máximo, en una ventana de tiempo y en un área establecida puede ser identificada como patrones de referencia válidos.

La información de índices de abundancia fue analizada en términos de patrones latitudinales que permitieron determinar los siguientes indicadores:

i) Índices de distribución latitudinal de la abundancia; focos de densidad de captura y rendimiento de pesca (CPUE).

ii) Resumen de patrones de cambios espaciales.

Para los propósitos de este estudio, la densidad del recurso se estableció como: a) El número de lances con captura de reineta, b) la proporción de captura de reineta sobre captura total por lance y c) un indicador de rendimiento (CPUE). Se aplicaron modelos GAM para detectar el patrón latitudinal de la abundancia. En todos los análisis se usó el programa 'mgcv' de Wood (2006), disponible para el programa R (R Development Core Team 2010).

b) Talla y Peso Medio

Los datos fueron comparados zonas/áreas, meses, y rangos de tamaños utilizando Modelos Aditivos Generalizados (GAM). Se utilizó el programa 'mgcv' de Wood (2000, 2003) para el lenguaje y software R v. 3.2.1 (Ihaka and Gentleman, 1996; <http://www.r-project.org>). El programa "mgcv" tiene la flexibilidad suficiente como para permitir el utilizar factores fijos como las zonas/áreas, clases de tamaño, y variables continuas (tiempo en meses). Asimismo, implementa una selección automática de los parámetros de suavizamiento de las variables continuas (penaliza regresión splines) a través de validación cruzada general (GCV, Wood & Augustin, 2002).

c) Relación Longitud – Peso (RLP)

La relación longitud-peso (RLP) a través sus parámetros permite evaluar la isometría del crecimiento y su relación con el factor de condición. Más que un indicador, la RLP constituye una relación operacional utilizada generalmente para el calculo de indicadores basados en unidades de peso (p.e. peso promedio, biomasa). Se analizó bases de datos (longitud total (cm) y peso total (g)), a través de Modelos Mixtos No-lineales, con el objetivo de determinar la existencia de diferencias significativas en los parámetros de la relación longitud-peso entre zonas/áreas (Lai & Helsler 2004).

d) Tasas de Crecimiento

La información con respecto a los parámetros de crecimiento de esta especie, fue obtenida mediante un análisis de distribución de frecuencia de tallas en las áreas/zonas previamente determinadas en los análisis de patrones de abundancia. Se utilizó el programa computacional MIX (McDonald y Green, 1988) de manera equivalente a Cubillos et al. 2001, para modelar las distribuciones de tallas.

El número de cohortes fue determinado por inspección visual del histograma de frecuencia, mediante la librería “mixdist” (<http://icarus.math.mcmaster.ca/peter/mix/mix.html>, Du Juan 2002) disponible para el software R versión 2.01 y superiores. Usando el método implementado en Roa (1993) y Roa & Ernst (1996), se clasificaron las cohortes dentro de clases de edad relativa, luego sobre de la talla media de las cohortes identificadas y la edad relativa asignada a cada cohorte, se estimó los parámetros de la función de crecimiento de von Bertalanffy (FCVB), la cual fue ajustada usando mínimos cuadrados no lineales en R-projet usando librería (nls).

e) **Índicadores Reproductivos**

Índice Gondsomatico (IGS) permite inferir la actividad reproductiva de los individuos que componen una población (De Vlaming et al. 1982); valores mínimos indican generalmente reposo reproductivo y máximos indican periodo reproductivo. Sus valores fluctúan estacional e interanualmente, y permite identificar la estación reproductiva. Por su parte, la información referida a la identificación temporal de Estados de Madurez Sexual, permite corroborar la existencia tanto de zonas de reproducción como el periodo reproductivo. Se analizó mediante Modelos Aditivos Generalizados (GAM), la información existente/disponible de índices reproductivos tanto a nivel temporal como espacial, permitiendo determinar diferencias significativas en el proceso reproductivo.

Resultados

Desembarque

El análisis de la información oficial del desembarque de reineta, para el periodo 1994 a 2013 (Fuente: Servicio Nacional de Pesca), sugiere un aumento sostenido de la captura de este recurso, con una captura histórica registrada en el año 2012 de 28.800 t; la escala mensual sugiere una temporada de pesca centrada entre primavera – verano de cada año (octubre – marzo) (**Figura 32**).

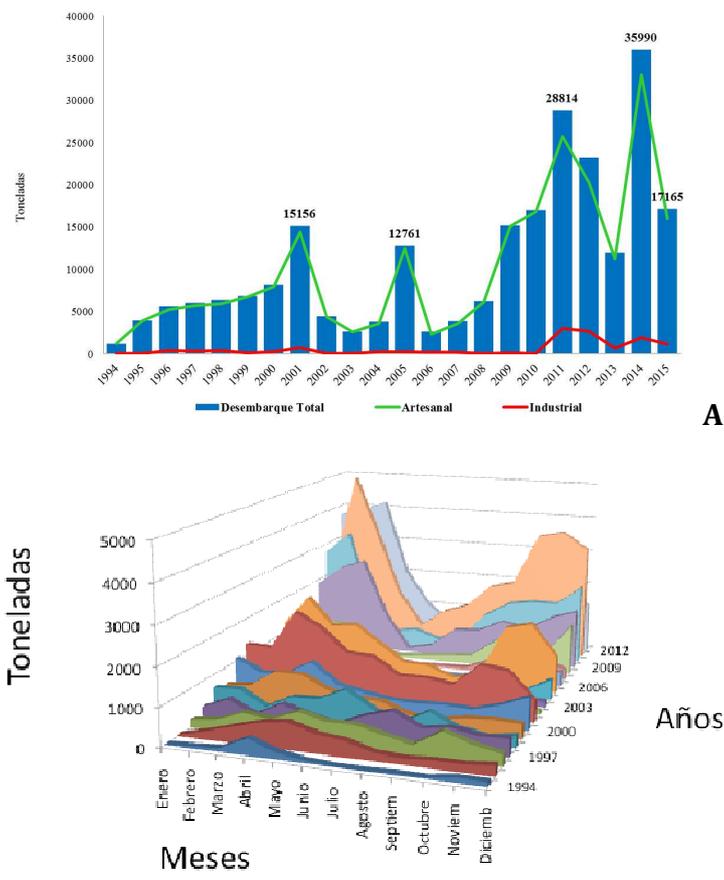


Figura 32. A. Desembarque total de reineta para el periodo 1994 – 2015 (Junio). B. Escala temporal del desembarque para el periodo 1994 – 2012.
(Fuente: Sernapesca 2012).

A nivel regional, se aprecia un cambio en la importancia regional del desembarque, donde las capturas entre 1994 y 2001 fueron concentrada en la V Región con menor importancia de la VIII Región, a partir del año 2002 hasta el presente la VIII Región alcanza la mayor importancia en los desembarques nacionales de reineta con más de 16 mil toneladas reportadas en el año 2012; destacando que en los últimos años la X Región presenta un aumento sostenido de las captura llegando a un desembarque cercano a las 32 mil toneladas reportadas en el año 2014. En la **Figura 33**, se presenta los desembarques de reineta a nivel regional para el periodo 1994 a 2014.

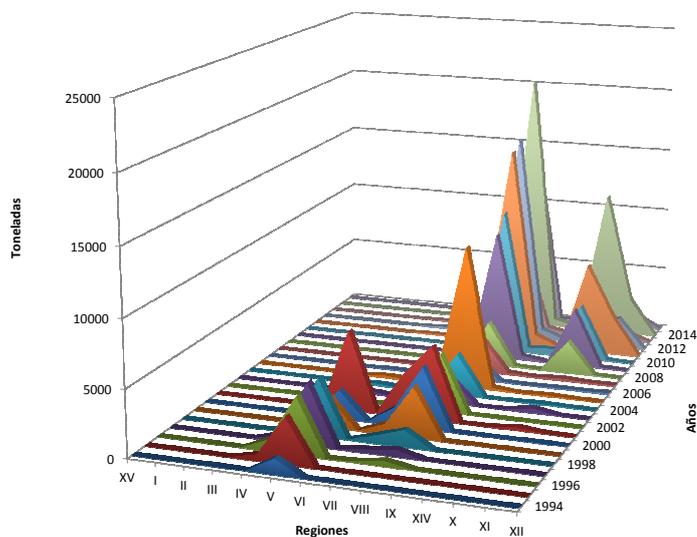


Figura 33. Desembarque total de reineta a nivel regional para el periodo 1994 – 2014.
(Fuente: Sernapesca 2012).

La información total del desembarque analizada por faena de pesca para el sector artesanal, refleja una mayor frecuencia de faenas de pesca con un promedio menor a las 2 toneladas capturadas, con esporádicas faenas que superan un promedio de las 6 toneladas; confirmándose la temporalidad de las mayores capturas y rendimiento de pesca entre primavera y verano (**Figura 34**).

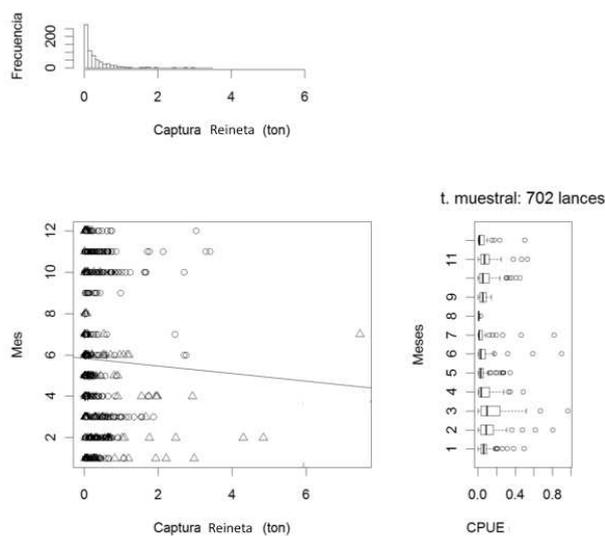


Figura 34. Análisis de temporalidad de las capturas y rendimiento de pesca.
Faenas del sector artesanal.

Patrones de Distribución de la Abundancia

La información analizada correspondió a la registrada en los proyectos de seguimiento de las pesquerías demersales tanto de la zona centro-sur como sur austral de Chile. Adicionalmente, se incorporó la información independiente de la pesquería la cual es proveniente de los cruceros de evaluación para los recursos merluza común, merluza austral y merluza de cola. La información comprende una serie histórica para el periodo 1997 a 2012. En la **Tabla 40**, se describe la fuente de información “nombre de proyecto” de donde deriva la base de datos analizada.

Tabla 40. Identificación de proyectos de investigación fuente de la base de datos analizada. Periodo 1997- 2012.

Año	Nombres de Proyectos
1999	FIP 99-04 Evaluación acústica del recurso merluza común en la zona centro-sur, 1999
	FIP 99-04 Evaluación directa de merluza de cola en la zona centro-sur, 1999
2000	FIP 2000-04 Evaluación acústica de merluza común en la zona centro-sur, año 2000
	FIP 2000-14 Evaluación acústica del stock desovante de merluza del sur en aguas exteriores
	FIP 2000-15 Evaluación de merluza de cola y merluza de tres aletas
2001	FIP 2001-18 Evaluación hidroacústica de merluza común, 2001
	FIP 2001-19 Evaluación hidroacústica de merluza del sur y merluza de cola, 2001
	FIP 2001-20 Evaluación hidroacústica de merluza de tres aletas, 2001
	FIP 2001-21 Evaluación del reclutamiento de merluza de cola, año 2001.
2002	FIP 2002-03 Evaluación hidroacústica de merluza común, año 2002
	FIP 2002-07 Programa de evaluación hidroacústica temporal de merluza del sur en aguas interiores de la X y XI Regiones, año 2002
	FIP 2002-19 Evaluación hidroacústica del stock desovante de merluza del sur y merluza de cola en la zona sur austral, año 2002
	FIP 2002-20 Evaluación hidroacústica del stock desovante de merluza de tres aletas en su unidad de pesquería, año 2002
2003	FIP 2003-09 Evaluación del stock desovante de merluza del sur y merluza de cola en la zona sur-austral, año 2003
	FIP 2003-10 Evaluación hidroacústica del stock parental de merluza de tres aletas en su unidad de pesquería, año 2003
2004	FIP 2004-07 Evaluación del stock desovante de merluza del sur y merluza de cola en la zona sur-austral, año 2004
	FIP 2004-08 Evaluación hidroacústica del stock parental de merluza de tres aletas en su unidad de pesquería, año 2004
	FIP 2004-09 Evaluación hidroacústica de merluza común, año 2004

	FIP 2004-40 Programa temporal de evaluación hidroacústica de merluza del sur en aguas interiores de la X y XI Regiones, año 2004
2005	FIP 2005-04 Evaluación del stock desovante de merluza del sur y merluza de cola en la zona sur austral, año 2005
	FIP 2005-05 Evaluaciones hidroacústicas de merluza común, año 2005
	FIP 2005-06 Evaluación hidroacústica del stock parental de merluza de tres aletas en su unidad de pesquería, año 2005
2006	FIP 2006-03 Evaluaciones hidroacústicas de merluza común, año 2006
	FIP 2006-04 Evaluación hidroacústica merluza del sur en aguas interiores de la X y XI Regiones, año 2006
2007	FIP 2007-12 Evaluación hidroacústica del stock desovante de merluza del sur en aguas exteriores, año 2007
	FIP 2007-13 Evaluación hidroacústica del stock desovante de merluza de cola en aguas exteriores, año 2007
	FIP 2007-14 Evaluación hidroacústica de merluza del sur y merluza de cola en aguas interiores, año 2007
	FIP 2007-15 Evaluación hidroacústica del stock desovante de merluza de tres aletas, año 2007
	FIP 2007-12 Evaluación hidroacústica de merluza común, año 2007
2008	FIP 2008-11 Evaluación hidroacústica del stock desovante de merluza del sur y merluza de cola en aguas exteriores, año 2008
	FIP 2008-12 Evaluación hidroacústica del stock desovante de merluza de tres aletas, año 2008.
	FIP 2008-14 Evaluación hidroacústica de merluza común, año 2008
2009	FIP 2009-09 Evaluación hidroacústica de merluza del sur y merluza de cola, en aguas interiores de la X y XI Regiones, año 2009
	FIP 2009-10 Evaluación del stock desovante de merluza del sur y merluza de cola en la zona sur austral, año 2009
	FIP 2009-11 Evaluación hidroacústica del stock desovante de merluza de tres aletas, año 2009
	FIP 2008-13 Evaluación hidroacústicas de merluza común, año 2009
2010	FIP 2010-10 Evaluaciones hidroacústica de merluza común. año 2010
2011	FIP 2011-03 Evaluaciones hidroacústicas de merluza común, año 2011
	FIP 2011-09 Evaluación hidroacústica del stock desovante de merluza de tres aletas, año 2011
2012	FIP 2012-04 Evaluación hidroacústica de merluza común, año 2012
	FIP 2012-07 Evaluación hidroacústica del stock desovante de merluza del sur y merluza de cola en la zona sur austral, año 2012
	FIP 2012-08 Evaluación hidroacústica del stock desovante de merluza de tres aletas, año 2012

Los análisis de la base de datos obtenida de los programas de seguimiento de las pesquerías, se orientaron sobre la información derivada de la actividad pesquera industrial, debido a que esta cuenta con registros de captura georeferenciada obtenida tanto por los observadores científicos a bordo

como por los capitanes de pesca en sus bitacoras de viaje. Los registros en esta actividad involucran la presencia de reineta como especie objetivo o como especie de la fauna acompañante. Se analizó un total de 12 mil registros georeferenciados de reineta (lances de pesca) desde la flota arrastrera hielera que opera tanto en la zona centro sur “Pesquería demersal centro-sur” como en la zona sur austral “Pesquería de Aguas Profundas –PDA”. En este particular, la flota de la PDA con puerto base en Chacabuco en la XI Región, ha mostrado altos indicadores de desembarque y capturas de reineta, las que han sido logradas tanto como fauna acompañante de las pesquerías de merluza del sur y merluza de cola, como también a partir de viajes y lances con intencionalidad hacia reineta. De igual manera la flota de la Zona Centro-Sur con puerto en Talcahuano también reportan capturas del recurso, sin embargo con un bajo nivel y principalmente como fauna acompañante de las pesquerías de merluza común y merluza de cola.

La información independiente de la pesquería considero lances georeferenciados con captura de reineta como la fauna acompañante, los cuales fueron realizados en los cruceros de evaluación directa; registrándose un total de 656 lances para el periodo 1997 a 2012. Se resalta que los cruceros de evaluación estuvieron orientados a los recursos merluza común, merluza del sur y merluza de cola, obteniéndose información entre los 30°S y 57°S grados de latitud y entre la milla y 200 millas náuticas de distancia a la costa.

En la **Figura 35**, se presenta mapas con lances georeferenciados con presencia de reineta desde las distintas fuentes de información.

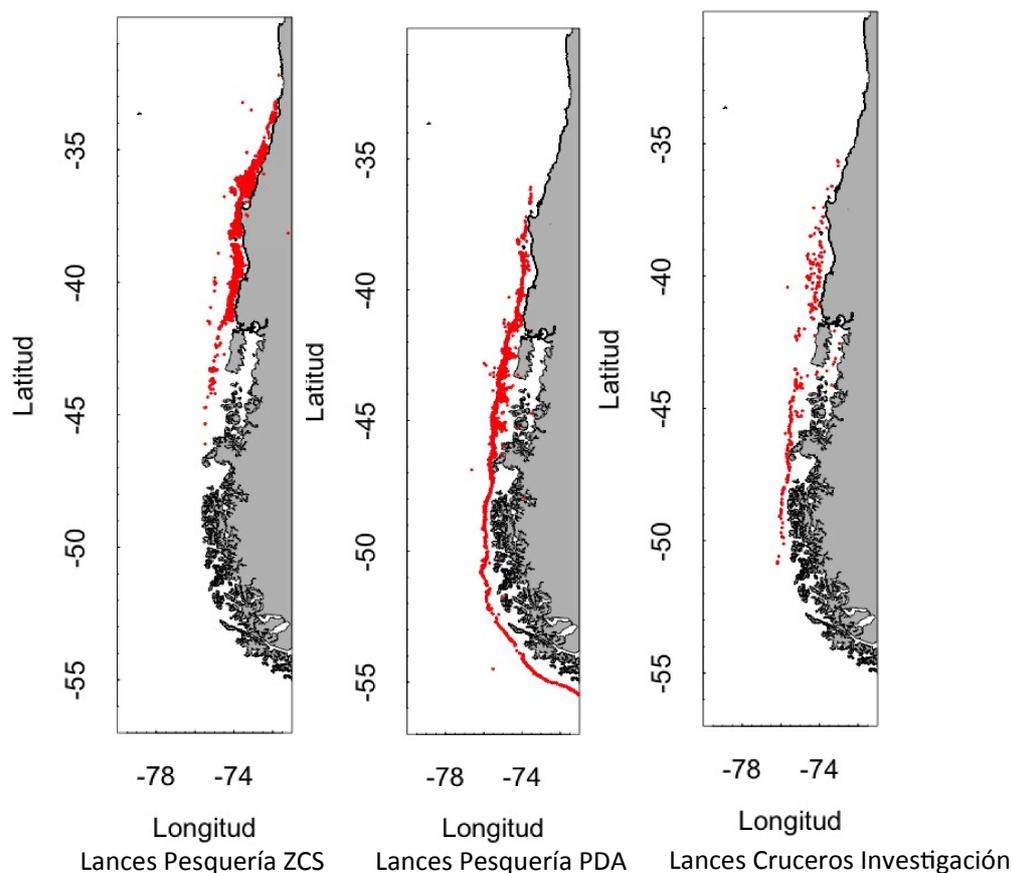


Figura 35. Lances georeferenciados con captura de reineta.

Datos obtenidos desde la pesquería demersal Zona Centro-Sur (panel izquierdo); Pesquería Aguas Profundas (panel central); Cruceros de Investigación (panel derecho).

La construcción de índices de abundancia de reineta contemplo los siguientes criterios:

- Captura en total de reineta en toneladas por lance;
- Rendimiento de pesca (CPUE), determinado a través de la razón entre la captura de reineta por lance y el esfuerzo de pesca medido como los minutos de arrastre entre calar y virar la red.
- Proporción de reineta en cada lance, obtenido de la razón captura de reineta sobre la captura total por lance.

Desde la actividad pesquera de la Zona Centro –Sur, se registró un total de 5216 lances con captura de reineta para toda la serie de años disponible (1997 a 2012). Las capturas fluctuaron entre un kilogramo y 17 toneladas como máximo registro en un lance; el primer cuantil de la información disponible se registró en 50 kilogramos por lance mientras que el tercer cuantil indicó 306 kilogramos

por lance, obteniéndose 108 kilogramos por lance como valor de mediana en la serie de datos analizados. A nivel temporal, se observa que el número de lances con presencia de reineta disminuye a partir del año 2008, presentándose diferencias significativas tanto en el valor promedio como los rangos máximos de captura por lance en comparación con los registros observados en los primeros años de la serie (1997 a 2006). El análisis a nivel mensual registra una consistencia de valores promedio y rangos máximos de captura por lance para todos los meses, con aumento en los valores máximos por lance durante los meses de abril a junio. En la **Figura 36**, se presenta diagramas Boxplot para la serie de registros de captura por lance en la pesquería demersal zona centro-sur.

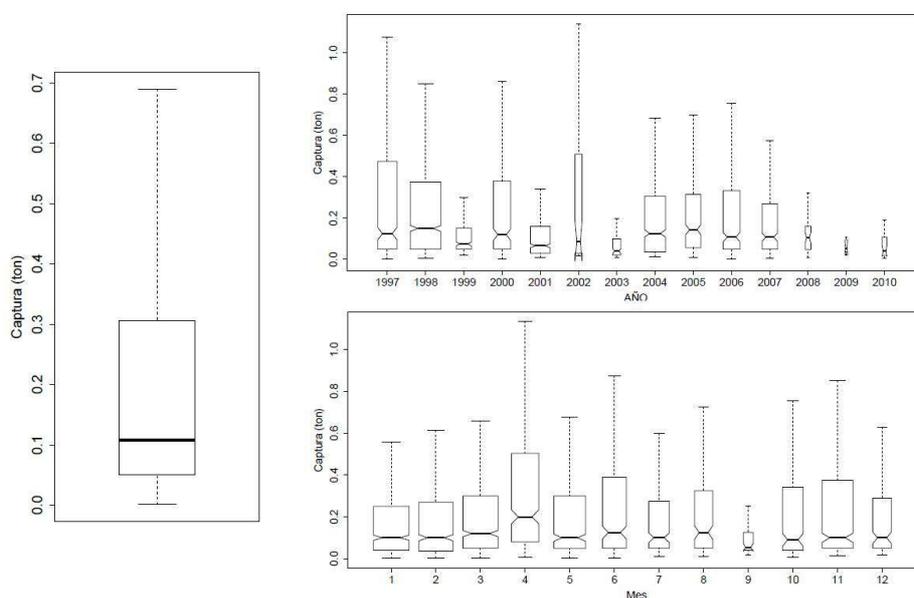


Figura 36. Diagramas BoxPlot para los registros de captura por lance total y a nivel temporal desde la pesquería demersal zona centro-sur.

El análisis de distribución de índices de abundancia para la información derivada de la pesquería demersal en la zona centro-sur, sugiere la existencia de una gran zona única; en términos de la captura registrada por lance (**Figura 37**), en esta figura se observa mayores valores entre los 37° S y 39°S de latitud, reduciendo los niveles de captura hacia el norte y sur de estas latitudes. En términos de rendimiento (CPUE), se observa dos zonas con rendimiento diferenciado, la primera de ellas con valores máximos centrados en los 36°S de latitud mientras que la segunda centra el máximo rendimiento en los 38°S de latitud (**Figura 38**).

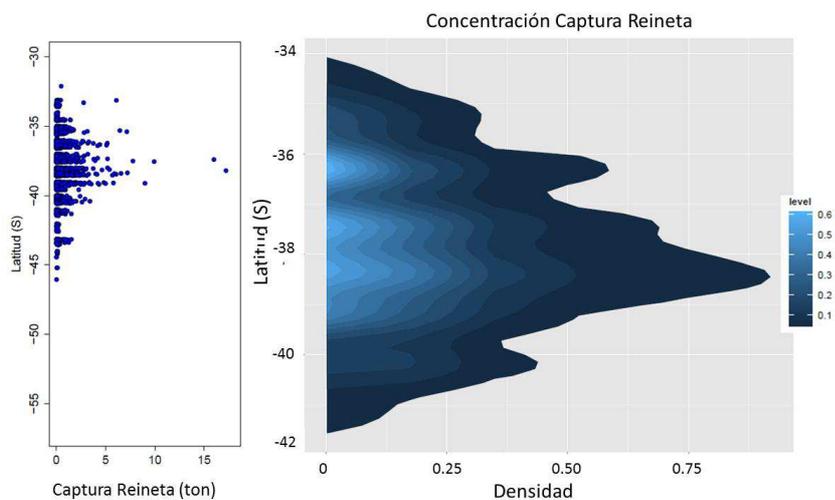


Figura 37. Distribución latitudinal de lances y focos de densidad.

Distribución latitudinal de lances con captura de reineta (Panel Izquierdo); Focos de densidad/concentración de captura de reineta (Panel Derecho) desde la pesquería demersal zona centro-sur.

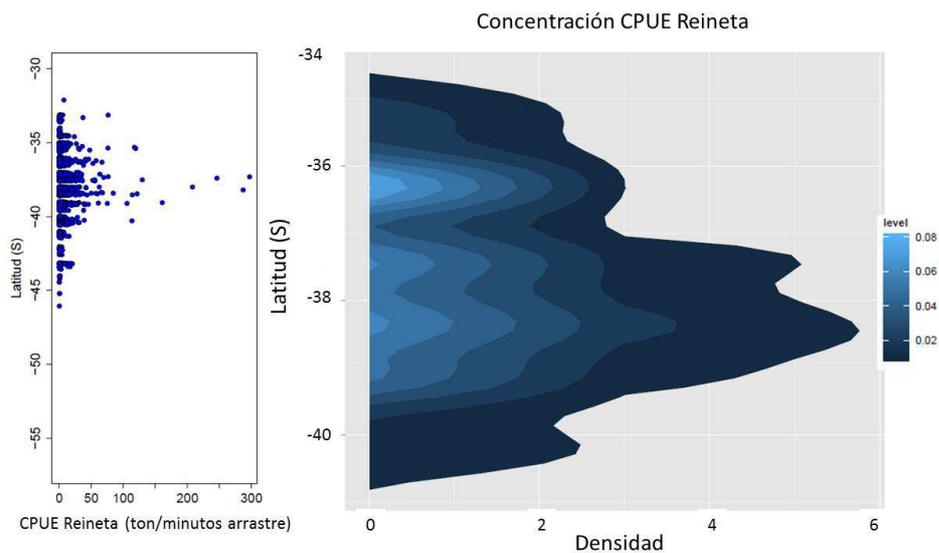


Figura 38. Distribución latitudinal de CPUE y focos de densidad.

Distribución latitudinal del rendimiento (CPUE) de reineta (Panel Izquierdo); Focos de densidad/concentración de la CPUE de reineta (Panel Derecho) desde la pesquería demersal zona centro-sur.

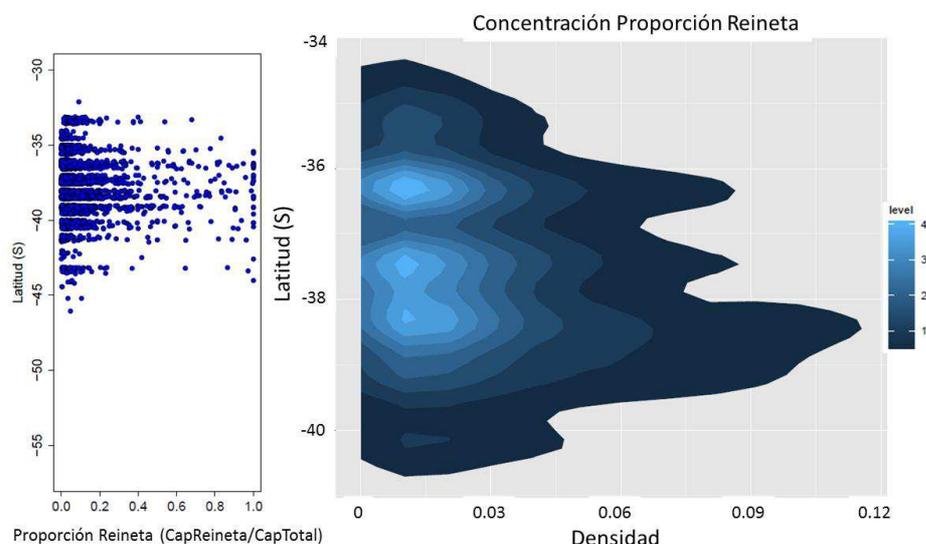


Figura 39. Distribución latitudinal de lances con captura efectiva y focos de densidad.

Distribución latitudinal de la proporción de reineta en los lances con captura efectiva (Panel Izquierdo); Focos de densidad/concentración de la proporción de reineta (Panel Derecho) desde la pesquería demersal zona centro-sur.

En términos de la proporción de reineta observada en los lances con captura efectiva, la información es concordante con los rendimientos observados, presentándose dos focos de concentración que podrían dar cuenta de una intencionalidad de capturar hacia este recurso (objetivo), el primero de ellos centrado en los 36° S de latitud y el segundo con máximos valores en los 38°S de latitud (**Figura 39**).

Desde la actividad pesquera demersal en la Zona Sur –Austral (PDA), se registró un total de 6128 lances con captura de reineta para toda la serie de años disponible (1997 a 2012). Las capturas fluctuaron entre un kilogramo y 13 toneladas como máximo registro en un lance; el primer cuantil de la información disponible se registró en 30 kilogramos por lance mientras que el tercer cuantil indicó 120 kilogramos por lance, obteniéndose 50 kilogramos por lance como valor de mediana en la serie de datos analizados. A nivel temporal, se observa que el número de lances con presencia de reineta aumenta en la zona sur austral a partir del año 2004, presentándose diferencias significativas tanto en el valor promedio como los rangos máximos de captura por lance en comparación con los registros observados en los primeros años de la serie (1997 a 2003). El análisis a nivel mensual registra una consistencia de valores promedio y rangos máximos de captura por lance para todos los meses, con aumento en los valores máximos por lance durante los meses de agosto a septiembre. En la **Figura**

40, se presenta diagramas Boxplot para la serie de registros de captura por lance en la pesquería demersal en la zona sur-austral.

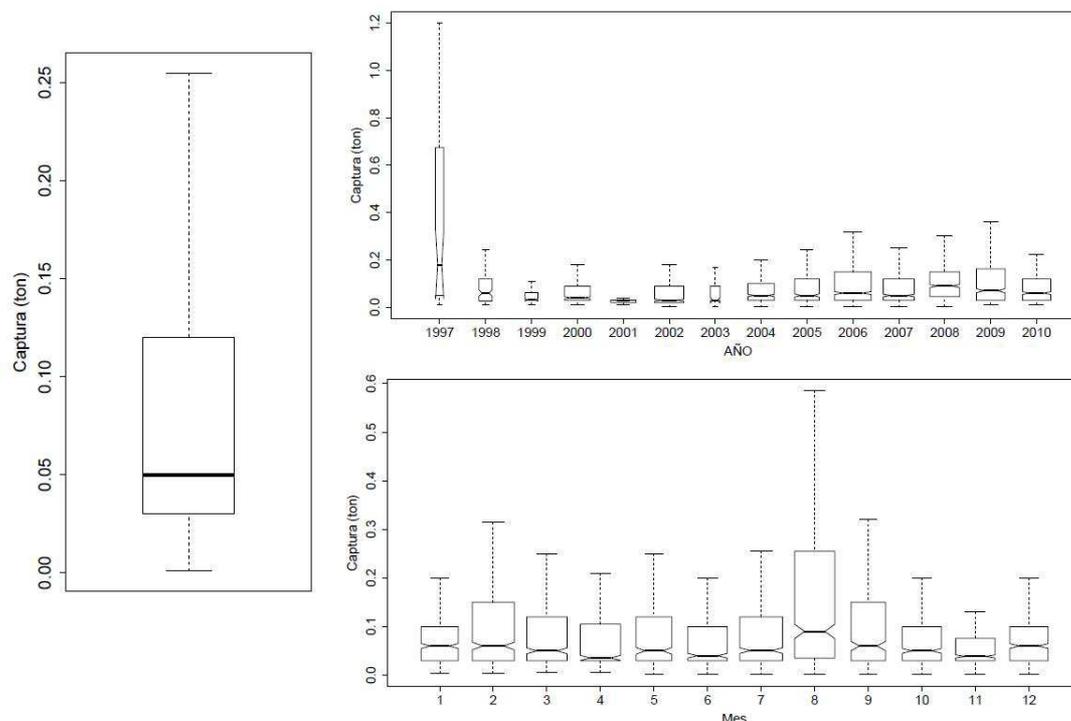


Figura 40. Diagramas BoxPlot para los registros de captura por lance total y a nivel temporal desde la pesquería demersal de la zona Sur-Austral.

El análisis de distribución de índices de abundancia para la información derivada de la pesquería demersal en la zona sur-austral, da cuenta de la existencia de dos zonas en términos de la captura registrada por lance (**Figura 41**), en esta figura se observa una zona acotada con valores bajos de captura ubicada en los 39°S de latitud, en contraste con la existencia de una zona principal con valores altos de captura de reineta con centro en los 42°,5 S de latitud. En términos de rendimiento (CPUE) y proporción de reineta en la captura total por lance, se observa una consistencia de los resultados conformándose dos zonas con valores de rendimiento y proporción diferenciados latitudinalmente, al igual que la información de captura la primera zona centrada en los 39° S de latitud mientras que la segunda centrada en los 42°,5 S de latitud (**Figura 42 y 43**).

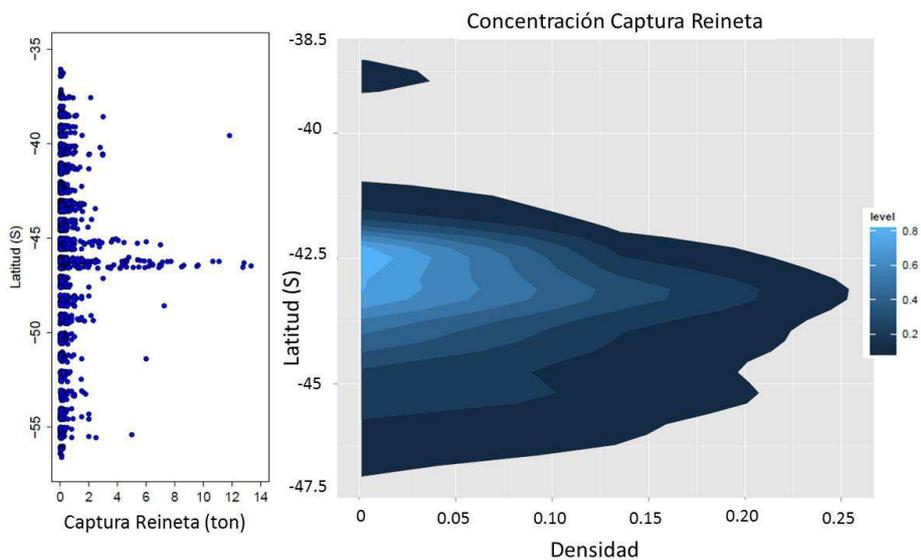


Figura 41. Distribución latitudinal de lances con captura y focos de densidad.

Distribución latitudinal de lances con captura de reineta (Panel Izquierdo); Focos de densidad/concentración de captura de reineta (Panel Derecho) desde la pesquería demersal zona sur-austral (PDA).

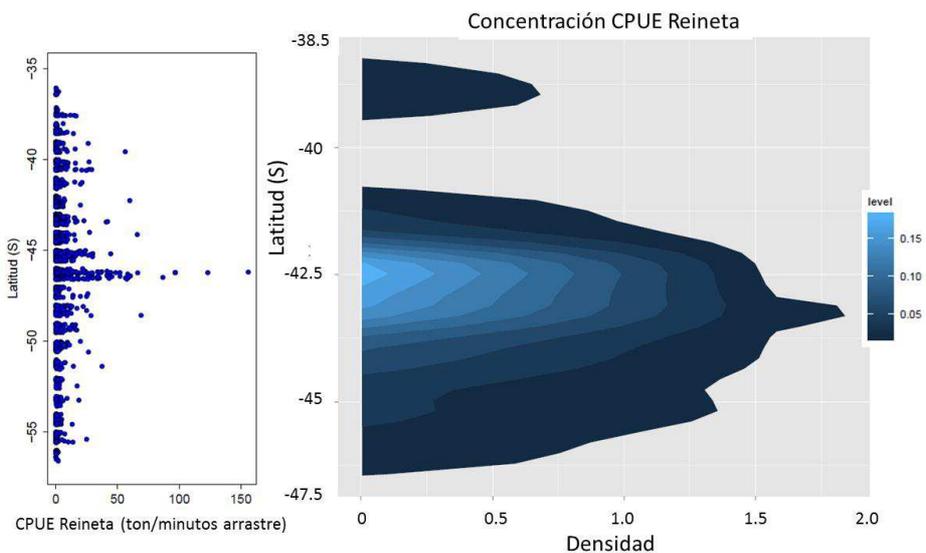


Figura 42. Distribución latitudinal de CPUE y focos de densidad.

Distribución latitudinal del rendimiento (CPUE) de reineta (Panel Izquierdo); Focos de densidad/concentración de la CPUE de reineta (Panel Derecho) desde la pesquería demersal zona sur-austral (PDA).

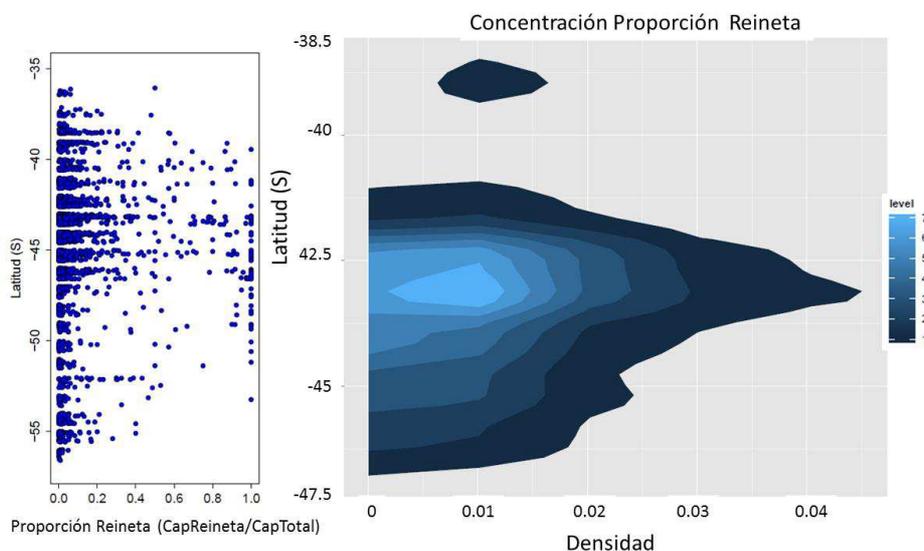


Figura 43. Distribución latitudinal de lances con captura efectiva y focos de densidad.

Distribución latitudinal de la proporción de reineta en los lances con captura efectiva (Panel Izquierdo); Focos de densidad/concentración de la proporción de reineta (Panel Derecho) desde la pesquería demersal zona sur-austral.

La información proveniente de los cruceros de investigación incluyen un total de 656 lances con captura de reineta georeferenciados entre los 30°S y 57°S grados de latitud y entre la milla y 200 millas náuticas de distancia a la costa. Los registros de captura fluctuaron entre 1 y 1400 kilogramos como máximo registro en un lance; el primer cuantil de la información disponible se registró en 4 kilogramos por lance mientras que el tercer cuantil indicó 54 kilogramos por lance, obteniéndose 12 kilogramos por lance como valor de mediana en la serie de datos analizados. A nivel temporal, se observa que los cruceros desarrollados entre 2005 a 2010 se registraron los mayores valores de captura por lance. Los cruceros de investigación son desarrollados en ciertos meses del año, lo cual responde a la evaluación de otros recursos objetivos (merluzas), lo cual debe ser tenido en cuenta para hacer las inferencias a nivel temporal, no obstante, se observa mayores valores de captura en los cruceros desarrollados en los meses de marzo y septiembre. En la **Figura 44**, se presenta diagramas Boxplot para la serie de registros obtenidos en crucero de investigación.

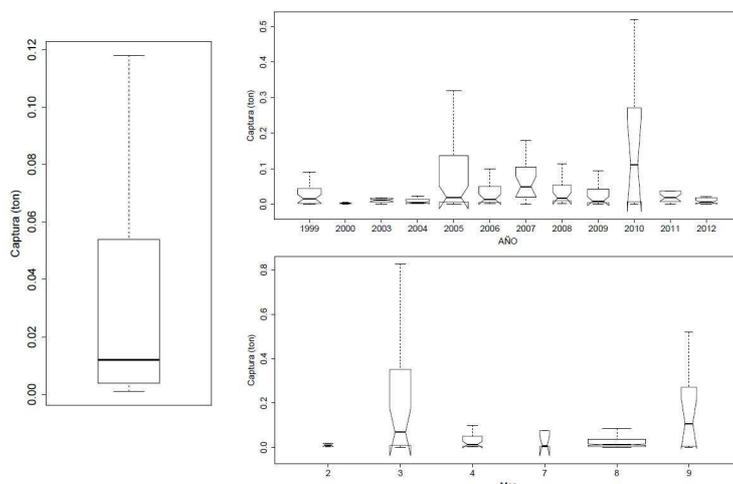


Figura 44. Diagramas BoxPlot para los registros desde cruceros de investigación.

Diagramas BoxPlot para los registros desde cruceros de investigación los cuales cubren desde los 30°S y 57°S grados de latitud y entre la milla y 200 millas náuticas de distancia a la costa.

Los índices de abundancia obtenidos desde los cruceros de investigación dan cuenta de la existencia de dos zonas diferenciadas latitudinalmente tanto para la información de las capturas, rendimientos de pesca y proporción de la captura de reineta por lance (**Figuras 45 a 47**). Los valores obtenidos para cada uno de los índices de abundancia son similares entre zonas, la primera de ellas se observa con valores centrados en los 40°S de latitud, mientras que la segunda zona presenta valores centrados en los 45°,5 S de latitud.

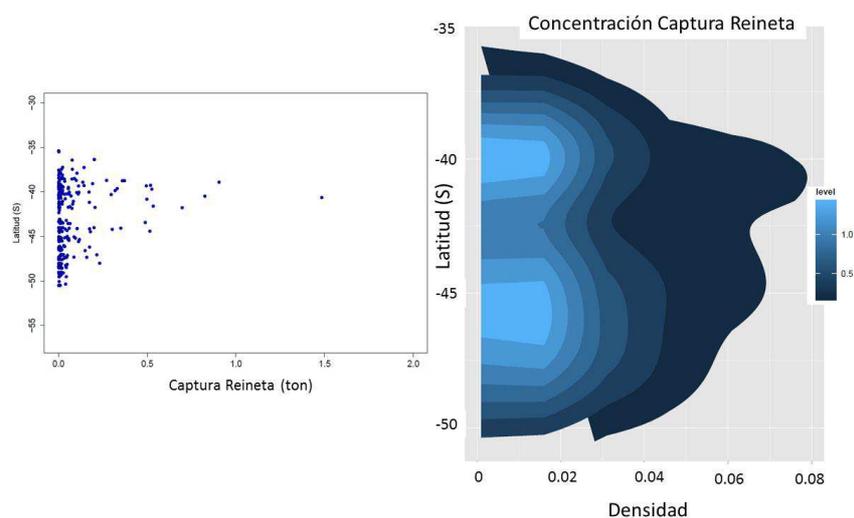


Figura 45. Distribución latitudinal de lances con captura y focos de densidad.

Distribución latitudinal de lances con captura de reineta (Panel Izquierdo); Focos de densidad/concentración de captura de reineta (Panel Derecho) desde registros obtenidos en cruceros de investigación.

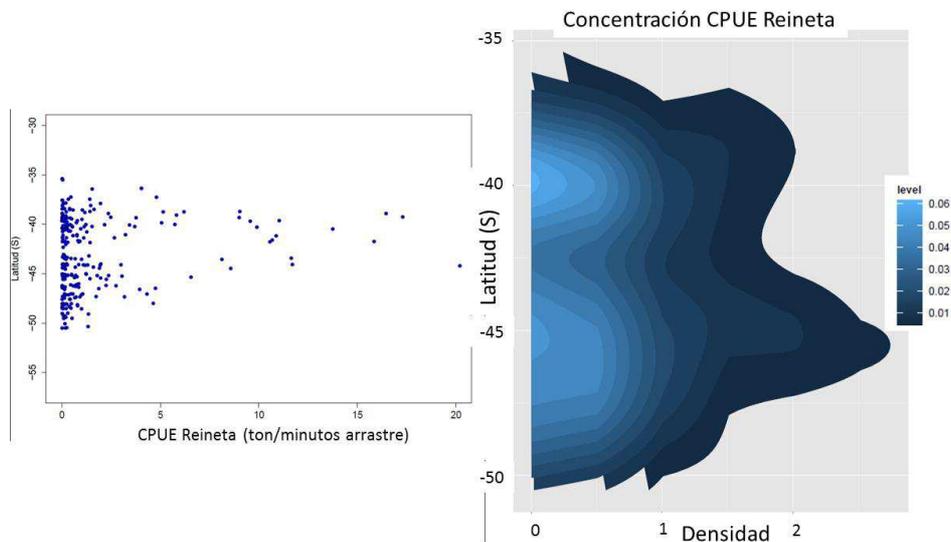


Figura 46. Distribución latitudinal del CPUE y focos de densidad.

Distribución latitudinal del rendimiento (CPUE) de reineta (Panel Izquierdo); Focos de densidad/concentración de la CPUE de reineta (Panel Derecho) desde registros obtenidos en cruceros de investigación.

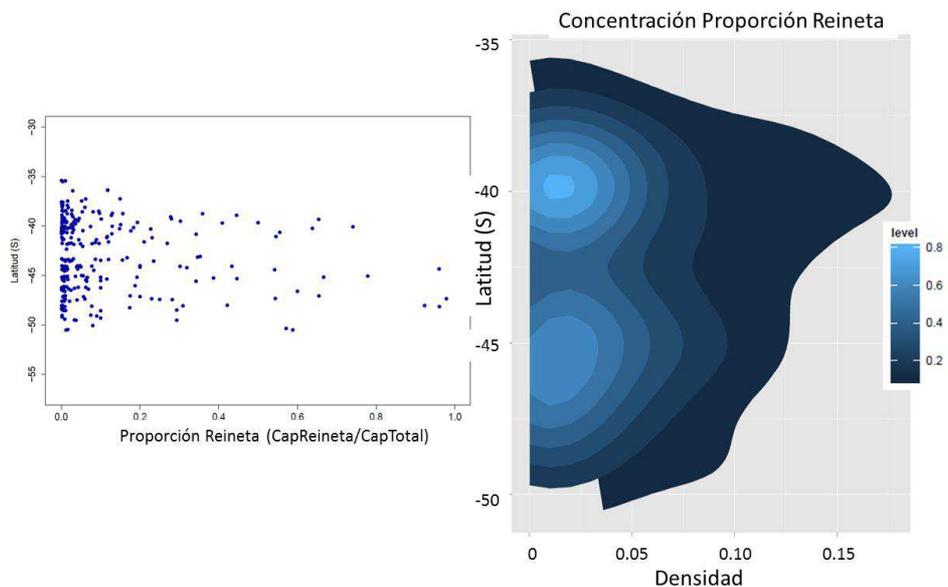


Figura 47. Distribución latitudinal de lances con captura efectiva y focos de densidad.

Distribución latitudinal de la proporción de reineta en los lances con captura efectiva (Panel Izquierdo); Focos de densidad/concentración de la proporción de reineta (Panel Derecho) desde registros obtenidos en cruceros de investigación.

Se realizó un análisis integrado de toda la información disponible, consolidando una única base de datos, esto en virtud que la información desde la pesquería demersal en la zona centro-sur y zona sur austral son obtenidas a partir de una flota arrastrera industrial que presenta similares características de esfuerzo y artes de pesca. Por otro lado, los lances de pesca asociados a los cruceros de investigación son realizados mediante un arte de pesca de arrastre de media agua. En la **Figura 48**, se presenta mapa con la información integrada de lances georeferenciados con presencia de reineta.

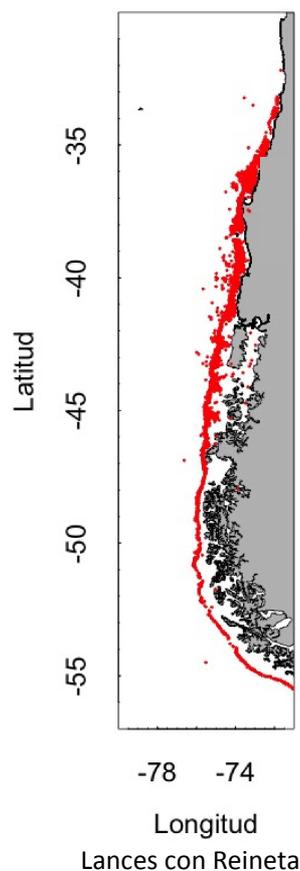


Figura 48. Información integrada de Lances georeferenciados con captura de reineta.

Desde la pesquería demersal Zona Centro-Sur; Pesquería Aguas Profundas; Cruceros de Investigación. Serie 1997 a 2012.

Resultados del análisis integrado de las distintas fuentes de información, reflejan un patrón de distribución latitudinal para todos los índices de abundancia de reineta, sugiriendo la existencia de dos zonas de concentración diferencial tanto en las capturas como de rendimientos (CPUE) y proporción de reineta. Se sugiere la existencia de una primera zona comprendida entre los 35° S y 40° S de latitud con valores bajos de abundancia de reineta, cuyo centro se observa en los 37,5 S de

latitud, y una segunda zona con valores altos de abundancia de reineta comprendida entre los 41°S y 47°,5 S de latitud con centro en los 43°S de latitud (**Figura 49**).

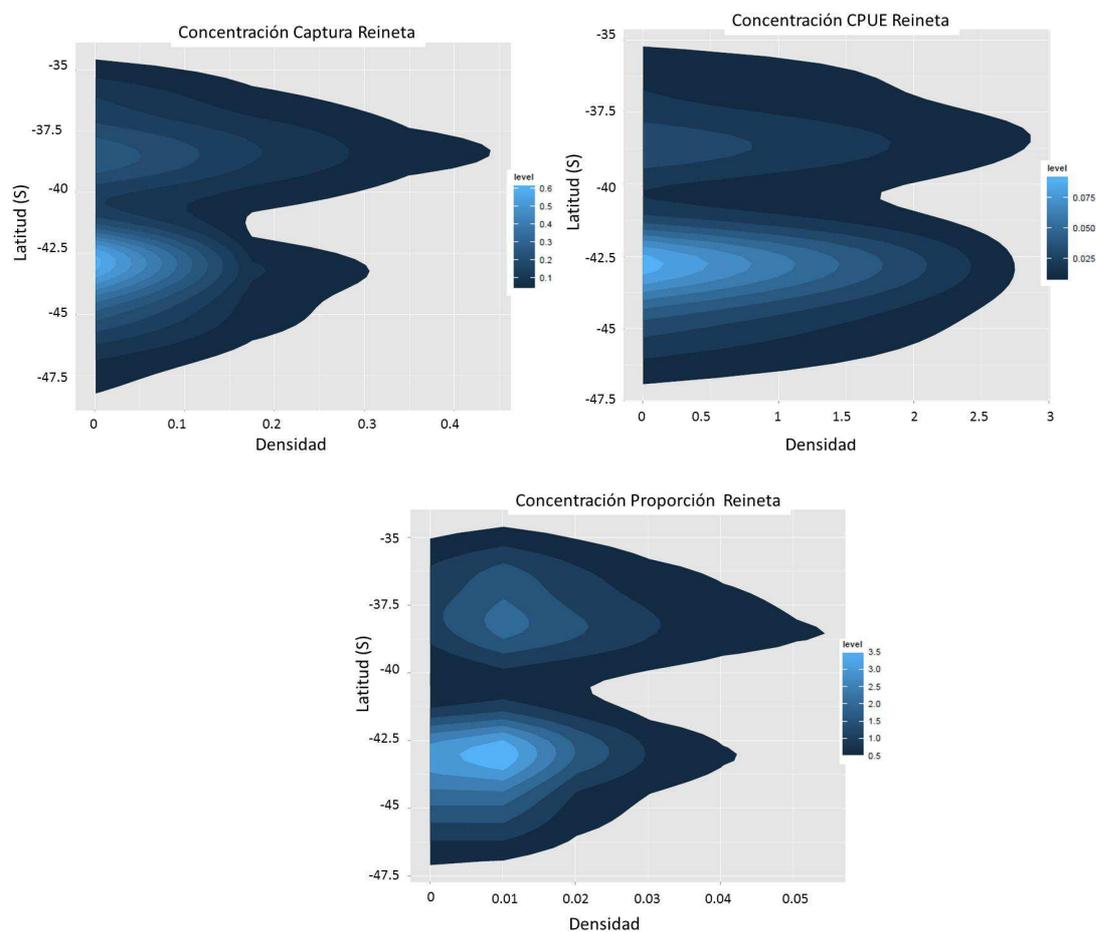


Figura 49. Distribución latitudinal de indicadores de abundancia de reineta.

i) Captura por lance (Panel Superior Izquierdo); ii) Rendimiento por lance (Panel Superior Derecho); proporción de reineta por captura total en cada lance (Panel Inferior). Base de datos integrada.

El análisis de los índices de abundancia mediante Modelos Aditivos Generalizados (GAM) para determinar patrones latitudinales en reineta, entrega resultados concordantes con la existencia de un patrón latitudinal de abundancia, existiendo dos zonas altamente diferenciadas (**Figura 50**). La primera zona comprendida entre 35°S y 40°S latitud con valores bajos de abundancia, y una segunda zona comprendida entre los 41,0°S y 50°S con valores altos de abundancia de reineta.

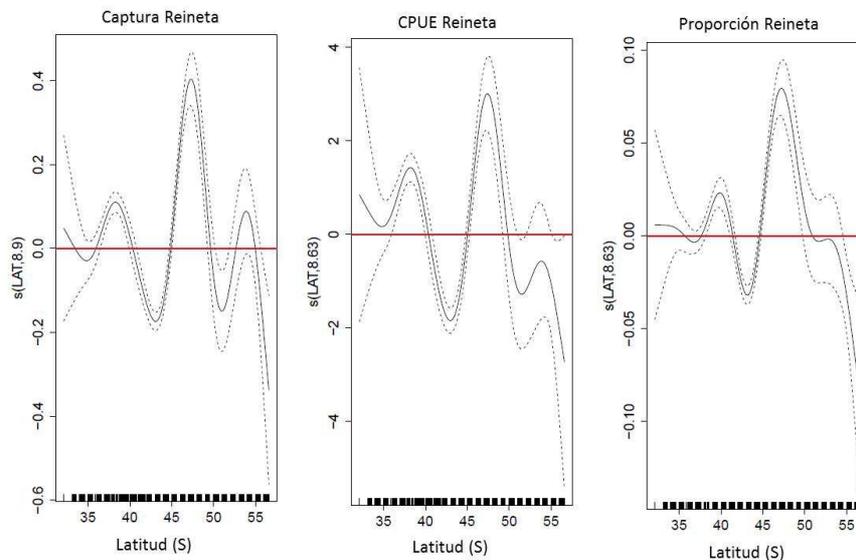


Figura 50. Distribución y patrones latitudinales de abundancia de reineta.
Mediante Modelos Aditivos Generalizados.

Talla y Peso Medio

Los patrones de distribución de abundancia de reineta, sugieren la existencia de 2 zonas distintas; la primera de ellas comprendida entre los 35°S y 40°S latitud (zona norte) y una segunda zona comprendida entre los 41,0°S y 57°S (zona sur); concordante con estos resultados se pudo agrupar los rasgos biológicos de 53 mil ejemplares capturados por la flota industrial que opera entre los 30°S y 57°S de latitud.

En la **Figura 51**, se presenta la distribución de frecuencias de tallas en centímetros y pesos en gramos de ejemplares de reineta capturados tanto en la zona norte como en la zona sur, para la serie de datos comprendida entre os años 1997 y 2012.

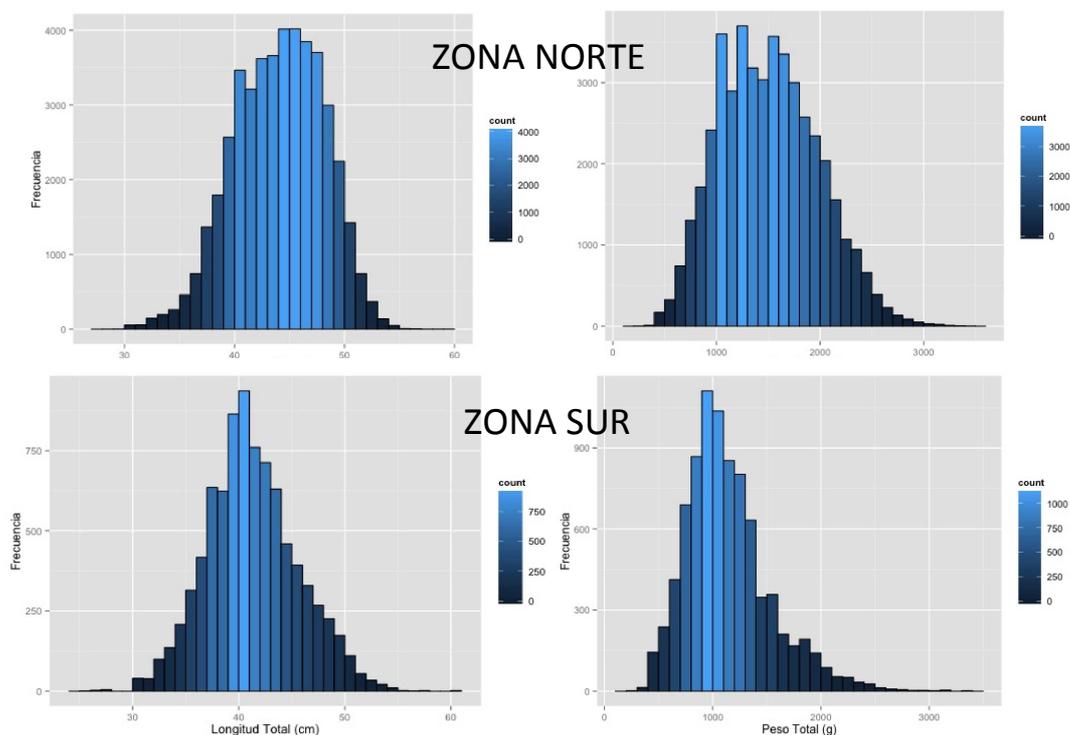


Figura 51. Estructuras de tallas y pesos en reineta.

Ejemplares capturados en la zona norte (entre los 35°S y 40°S) y la zona sur (entre los 41,0°S y 57°S) para la serie histórica 1997 a 2012.

En la **Figura 52**, se presenta un boxplot de las tallas y peso medios por zonas según el patrón de abundancia. Los resultados indican que en la zona comprendida entre los 35°S y 40°S latitud (**zona norte**) se registró la captura de ejemplares de mayor talla y peso promedio, registrándose una talla promedio de 44,0 cm (longitud total) con rangos entre los 28 y 59 cm; a diferencia de la zona comprendida entre los 41,0°S y 57°S (**zona sur**) la cual presentó la captura de ejemplares de menor talla y peso, con una talla media de 41,0 cm (longitud total) con rangos entre los 25 y 60 cm.

En cuanto al peso total, los ejemplares capturados la zona norte presentan un mayor peso promedio (1500 g) frente a aquellos capturados en la zona sur que presentaron un peso promedio de 1130 g con un rango de peso observado entre los 290 g y 3300 g.

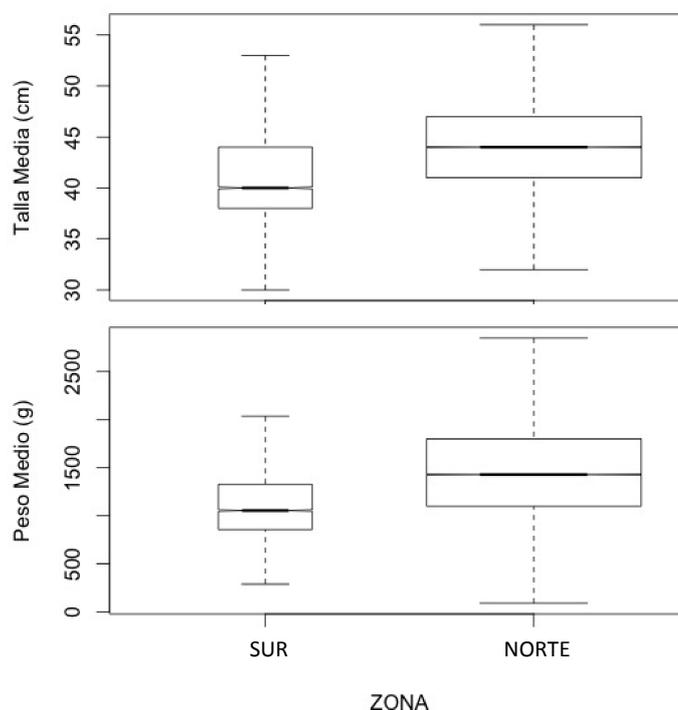


Figura 52. Box Plot de la talla media y peso medio en reineta

Un análisis mediante Modelos Lineales Generalizados (GLM) para la talla y peso de los ejemplares capturados evaluando el factor zona, sugiere diferencias significativas de estos rasgos biológicos entre zonas; siendo los ejemplares de reineta de la zona “B” (norte) de mayor tamaño y peso que aquellos capturados en la zona “A” (sur). Parámetros de los GLM realizados se presentan en la **Tabla 41**.

Tabla 41. Estadísticos de los Modelos Lineales Generalizados realizados para la talla y peso evaluando el factor zona.

Variable/Factor	n	gl	Sum. Sq	Mean. Sq	F value	p-value
Talla /Factor (Zona)	53676	1	54353	54353	3206.7	<2.2 ⁻¹⁶
Peso /Factor (Zona)	53676	1	8.2 ⁸	8.0 ⁸	3786.8.1	<2.2 ⁻¹⁶

Adicionalmente, se realizó análisis para la talla y peso de los ejemplares al interior de cada zona evaluando los efectos de factores temporales como el año y el mes, los resultados de los GLM se presentan en la **Tabla 42**, estos sugieren diferencias significativas de estos rasgos biológicos entre

años y meses al interior de cada zona; sin embargo, para la zona sur las variaciones en tallas y pesos son mejor explicadas por el efecto año, mientras que en la zona norte las variaciones son mejor explicadas por el efecto mes.

Tabla 42. Estadísticos de los Modelos Lineales Generalizados realizados para la talla y peso al interior de cada zona evaluando factores temporales.

Zona/Variable/Factor	gl	R ² ajustado	Error Estándar Residual	Mean. Sq	F value	p-value
Zona Sur /Talla/ Factor (Año)	5	47%	4.113	26088.4	1542	<2.2 ⁻¹⁶
Zona Sur /Talla/ Factor (Mes)	11	18%	5.119	4631	176.7	<2.2 ⁻¹⁶
Zona Sur /Peso/ Factor (Año)	5	42%	395.4	195815	1252.8	<2.2 ⁻¹⁶
Zona Sur /Peso/ Factor (Mes)	11	24%	452.5	513353	250.7	<2.2 ⁻¹⁶
Zona Norte /Talla/ Factor (Año)	6	6%	4.042	8443.9	519.3	<2.2 ⁻¹⁶
Zona Norte /Talla/ Factor (Mes)	11	31%	3.459	22271	1861.5	<2.2 ⁻¹⁶
Zona Norte /Peso/ Factor (Año)	6	7%	462.6	128341	599.8	<2.2 ⁻¹⁶
Zona Norte /Peso/ Factor (Mes)	11	34%	388.2	329848	2188.3	<2.2 ⁻¹⁶

En la **Tabla 43**, se presentan los resultados de la búsqueda información referente al registro de tallas medias y rangos de tallas reportados para el recurso reineta frente al litoral Chileno.

Tabla 43. Talla media y rango de tallas registrados para el recurso reineta frente al litoral Chileno.

Talla Media	Rango Talla	Localidad/Zona	Pesquería	Fuente
	21 – 58 cm	Zona Norte 35°20 S/38°50S	Enmalle	Oyarzun et al. 2013
	15 - 57 cm	Zona Sur 43°S- 101°W		Pavlov 1994
46.5 cm	30.5 – 58.5 cm		Enmalle	Canales et al. 2014
40.5 cm	20.5 – 64.5 cm		Espinel	Canales et al. 2014
44.0 cm	28 – 59 cm	Zona Norte	Arrastre	Presente estudio
41.0 cm	25 – 60 cm	Zona Sur	Arrastre	Presente estudio

Relación Longitud – Peso (RLP)

En la **Figura 53**, se presenta la relación longitud-peso (RLP) del recurso reineta para la información registrada tanto en la zona norte como en la zona sur, igualmente se presenta la relación utilizando el total de información disponible. En la **Tabla 44**, se presentan los parámetros de la relación Longitud-Peso obtenidos en el presente estudio, se resalta que los coeficientes b obtenidos para ambas zonas son distintos de 3, indicando una relación alométrica entre el peso y la longitud del pez, lo cual también ha sido reportados por otros autores (Oyarzun et al. 2013; Canales et al. 2014). Se incluye en esta tabla valores reportados por otros autores frente al litoral Chileno.

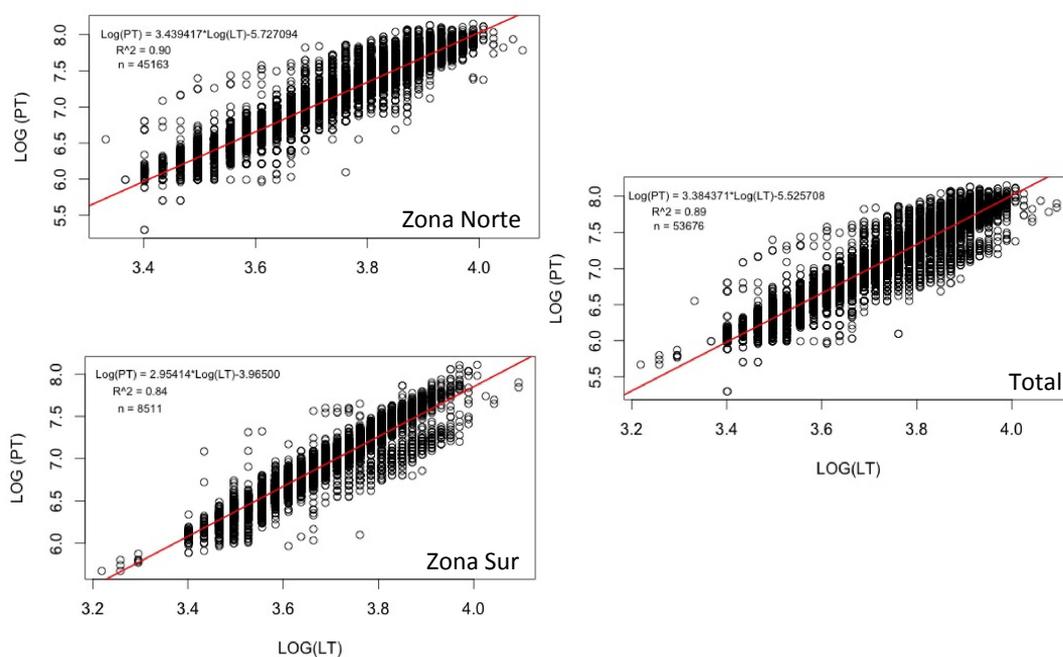


Figura 53. Relación longitud – Peso para el recurso reineta

Conforme a la información registrada en cada zona según patrones de distribución de abundancia. Se incluye relación utilizando el total de la información disponible.

Los resultados del análisis con Modelos Mixtos No-lineales, realizado con el objetivo de registrar posibles diferencias significativas en los parámetros de la relación longitud-peso entre zonas, sugieren que no se presentan diferencias significativas en esta relación a nivel zonal; los residuales de este análisis se presentan en la **Figura 54**.

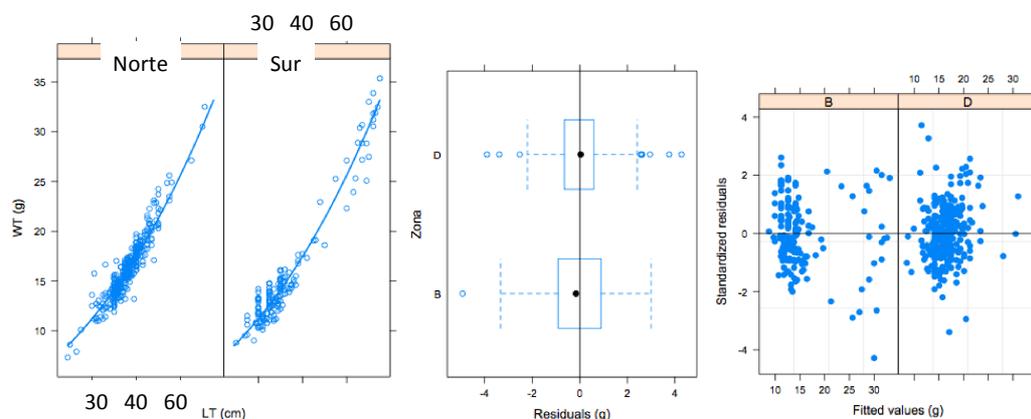


Figura 54. Relación longitud-peso para reineta en las distintas zona.
Residuales del análisis mediante modelos no-lineales de efectos mixtos.

Tabla 44. Parámetros de la relación longitud-peso de reineta por zonas.

a	b	n	R ²	Zona	Fuente
0.003256	3.44	45163	0.90	Zona Norte	Presente estudio
0.018968	2.94	8511	0.84	Zona Sur	Presente estudio
0.0242	2.84	375	0.91	Zona Norte	Oyarzún et al. 2013
0.0163	3.014		0.682	2003	Canales et al. 2014
0.0046	3.338		0.782	2004	Canales et al. 2014
0.0032	3.433		0.847	2005	Canales et al. 2014
0.0087	3.184		0.853	2006	Canales et al. 2014
0.0012	3.697		0.891	2007	Canales et al. 2014
0.0039	3.392		0.960	2008	Canales et al. 2014
0.0052	3.319		0.939	2009	Canales et al. 2014
0.0030	3.463		0.955	2010	Canales et al. 2014
0.0064	3.263		0.928	2011	Canales et al. 2014
0.0147	3.040		0.906	2012	Canales et al. 2014
0.0061	3.271		0.937	2013	Canales et al. 2014

En la **Figura 55** se registra las proyecciones de los pesos estimados a una longitud dada según los parámetros RLP reportados en la **Tabla 44**; se sugiere una cierta diferencia de esta relación al aplicar

los parámetros reportados por Oyarzun et al. 2013 y aquellos determinados para la zona sur en este estudio. Finalmente, en la **Figura 56**, se presenta la tendencia de Log a y Log b.

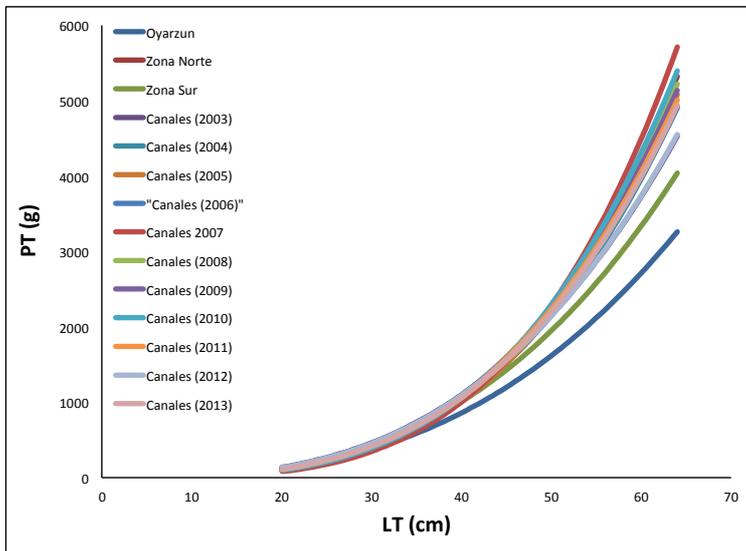


Figura 55. Proyecciones de curvas de peso a una longitud dada. Respecto a los parámetros RLP, de cada autor, para el recurso reineta.

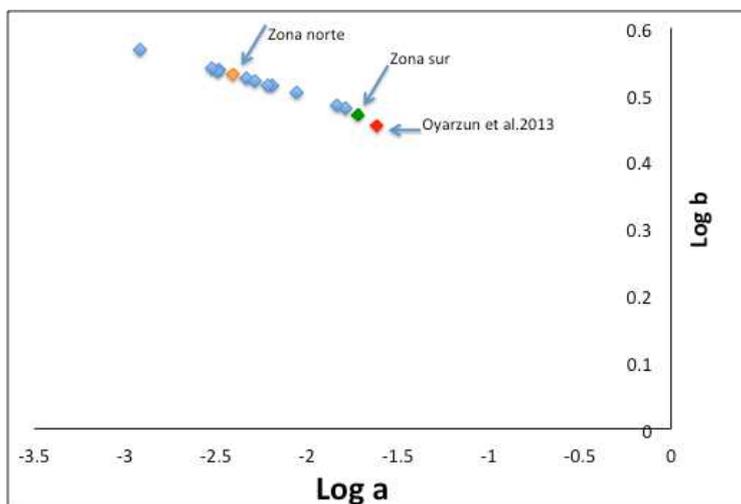


Figura 56. Parámetros de RLP Log transformados

Tasas de Crecimiento

La distribución de frecuencia de tallas mensuales para cada una de las zonas identificadas mediante los patrones de abundancia (zona norte y zona sur), presentan en la **Figura 57**. En la zona norte, se contó con 45712 registros de talla, los cuales presentaron un rango entre los 28 y 59 cm; registrándose ejemplares durante todos los meses para el periodo 2004 a 2011. Por su parte en la zona sur, se contó con 16200 registros de talla, en un rango entre 25 a 60 cm.

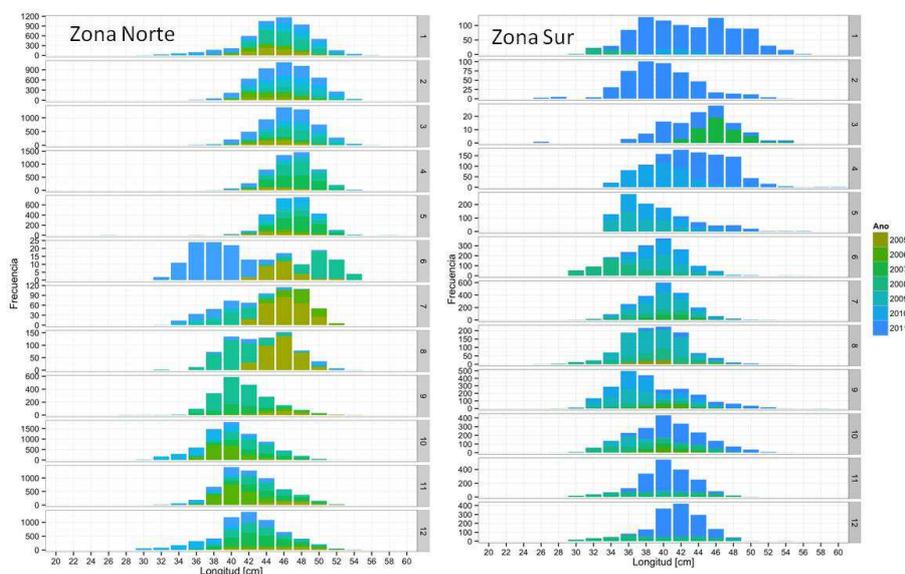


Figura 57. Frecuencia de tallas mensual para la zona norte (33° a 40° S) y zona sur (41° a 55° S) registradas durante el periodo 2004 a 2011.

Resultados de la identificación de cohortes, mediante el programa computacional MIX para cada una de las zonas, se presentan en las **Figuras 58 y 59**. En la zona norte se identificaron 30 cohortes desde la distribución de frecuencia mensual de tallas, mientras que en la zona sur se identificaron 33 cohortes.

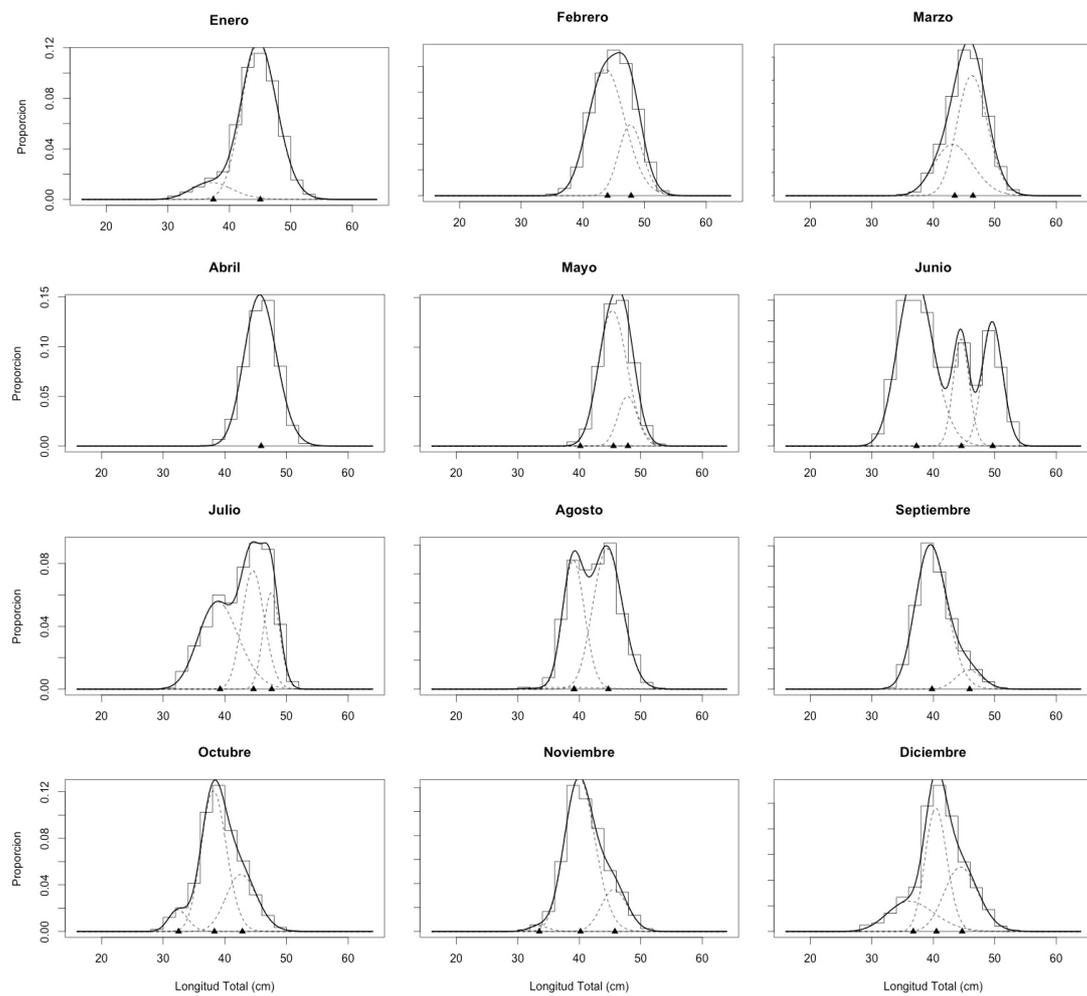


Figura 58. Resultados de la identificación de cohortes desde la distribución de frecuencia de tallas mensual, para la zona norte.

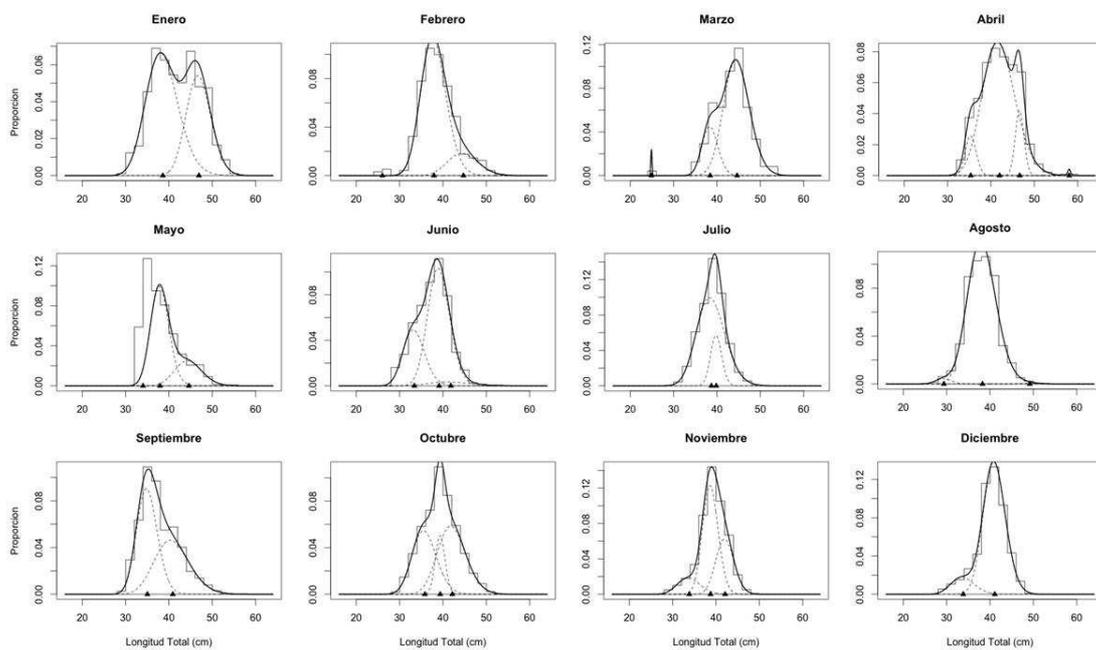


Figura 59. Resultados de la identificación de cohortes desde la distribución de frecuencia de tallas mensual, para la zona sur.

La asignación de clases de edad para las cohortes identificadas en la zona norte se observa en la **Figura 60**. Las diferentes edades están representadas por el contraste de colores registrándose un total de 8 clases de edad. Nótese que al pasar de una clase de edad a otra más avanzada y de una cohorte a la siguiente siempre la derivada dL/dt es positiva, condición necesaria dentro de la metodología recomendada por Roa (1993). Las clases de edad identificadas en la zona sur se presentan en la **Figura 61**, registrando un total de 11 clases de edad.

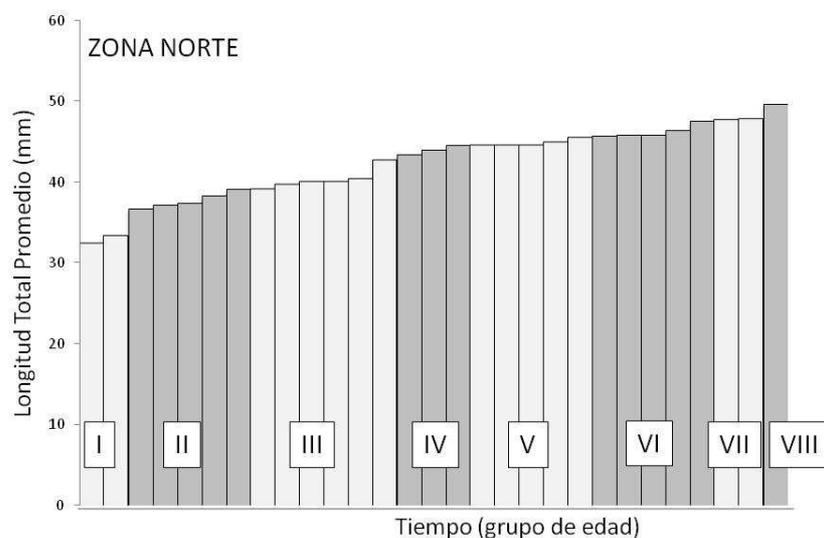


Figura 60. Clases de edad del recurso reineta identificadas desde la distribución de frecuencia de tallas para la zona norte.

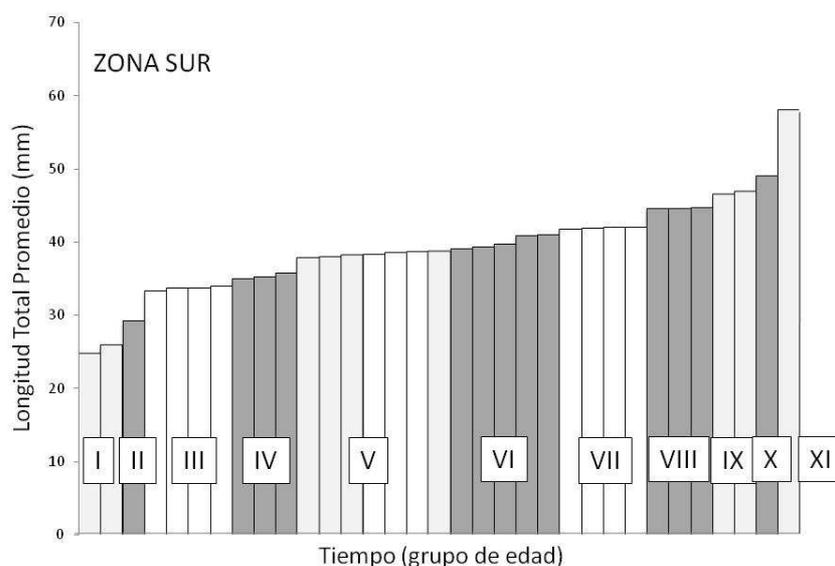


Figura 61. Clases de edad del recurso reineta identificadas desde la distribución de frecuencia de tallas para la zona sur.

Para la modelación del crecimiento se asignó edades absolutas a cada clase de edad obtenida, esto como alternativa al no encontrar valores en literatura que indicaran la edad de entrada a la pesquería para esta especie. El proceso de estimación de parámetros considero ajustes no-lineales mediante regresiones

implementadas en modulo nls- R projet, además incluyó procedimientos de remuestreo Montecarlo de los valores de ajuste entregando como resultado la densidad de probabilidad alrededor de los valores centrales de cada parámetro, los resultado obtenidos para la ambas zonas se presentan en la **Figura 62**.

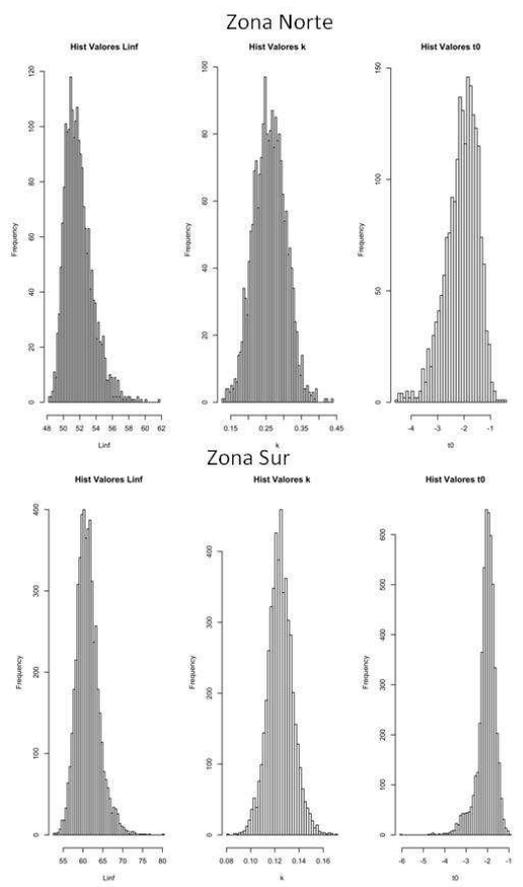


Figura 62. Resultados del procedimiento de remuestreo Montecarlo para el ajuste de los parámetros de crecimiento de reineta en cada una de las zonas evaluadas.

En la **Tabla 45**, se presentan los parámetros de la función de crecimiento para la especie en las zonas de evaluación determinadas por los patrones de densidad, se incluye antecedentes reportados por Ciro et al. (2003) investigación en la que analizó ejemplares de reineta capturados en lo que corresponde nuestra zona norte. En la **Figura 63**, se presenta la curva de crecimiento ajustada para esta especie en cada una de las zonas evaluadas.

Tabla 45. Resumen de los parámetros de crecimiento estimados (sexo combinados) obtenidos en el presente análisis; se incluye los reportados por Oyarzún et al (2013) asumiendo un crecimiento tipo von Bertalanffy. (EAE: Error asintótico estándar, LI= Límite inferior, LS=Límite superior).

ZONA	Parámetro	Valor	EAE	LI (95%)	LS (95%)
NORTE	Loo (cm)	51.61	1.623	48.28	55.94
	k (año ⁻¹)	0.258	0.047	0.16	0.35
	to (año)	-2.04	0.617	-3.306	-0.77
SUR	Loo (cm)	60.9	2.853	55.13	66.77
	k (año ⁻¹)	0.129	0.010	0.102	0.146
	to (año)	-2.02	0.401	-2.87	-1.16
NORTE (Oyarzun et al 2013)	Loo (cm)	58.95	2.176	54.68	63.23
	k (año ⁻¹)	0.28	0.034	0.21	0.35
	to (año)	-0.37	0.217	-0.80	0.06

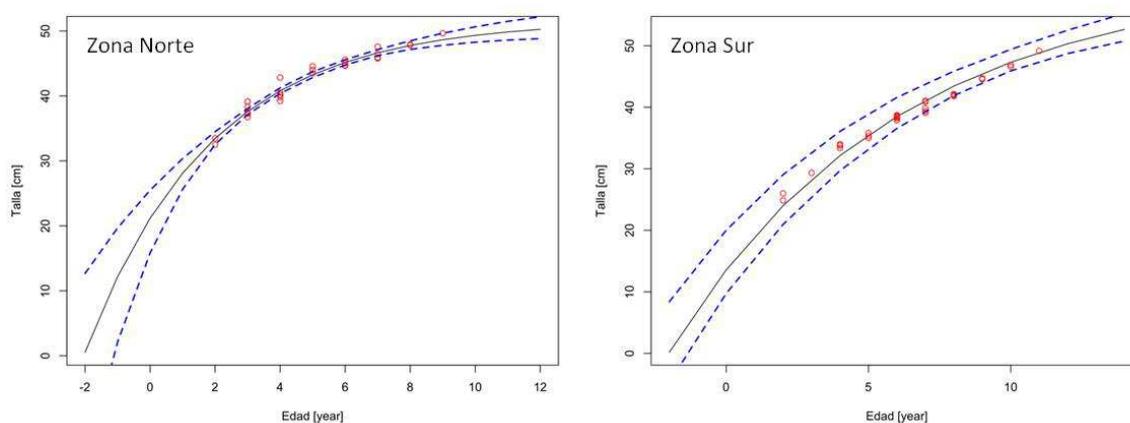


Figura 63. Curva de crecimiento ajustada del recurso Reineta en las zonas evaluadas.

La evaluación de tasas de crecimiento a partir de ecuación propuesta por Roa & Tapia (1998), sugiere diferencias significativas en el crecimiento de ejemplares de reineta capturados en diferentes regiones (**Figura 64**); donde los ejemplares registrados en la zona sur presentarían una menor tasa de crecimiento que aquella registrada para ejemplares registrados en la zona norte; sin embargo los ejemplares en zona sur alcanzarían una mayor longitud infinita (L_{inf}) que aquellos reportados para la zona norte.

Los resultados del crecimiento parecen coincidir con anteriores análisis, donde para ejemplares de la zona sur se registra un rango de talla más amplio, mayor cantidad de cohortes identificadas desde la distribución de frecuencia de tallas y la asignación de un mayor número de grupos de edad; frente a los resultados obtenidos desde información proveniente de ejemplares capturados en la zona norte.

Índices Reproductivos

La base de datos disponible presenta una escasa información de la condición biológica reproductiva de los ejemplares de reineta capturados; obteniéndose un total de 1649 registros de IGS (702 para la zona norte y 907 para la zona sur) y 1534 registros de Estados de Madurez Sexual macroscópica (EMS) (627 para la zona norte y 907 para la zona sur).

En la **Figura 64**, se presenta la información mensual y por zona de los valores de IGS y EMS registrados para la serie 1997 a 2012. Se puede observar que para ambas zonas se registran ejemplares con poco desarrollo reproductivo durante todo el año, según lo indica el registro de ejemplares en EMS 2 (inmaduro) y bajos valores del indicador reproductivo de IGS. Por otro lado, según la información disponible se puede sugerir un periodo reproductivo centrado en los meses de verano-otoño para la zona sur; mientras que en la zona norte parece estar desplazado a la época de invierno, resultados similares han sido planteados por Leal & Oyarzún (2003) quienes identifican ejemplares sexualmente maduros durante todo el año, con un máximo de desove en el invierno (junio a agosto), resultados basados en un análisis de ejemplares capturados frente a Lebu ($37^{\circ}37'LS-73^{\circ}40'W$) entre enero y septiembre de 2001. Por otro lado, Pavlov (1991) plantea una principal época reproductiva en primavera-verano para ejemplares de reineta capturados en aguas oceánicas ($42^{\circ}59'-47^{\circ}01'LS$; $107^{\circ}19'-126^{\circ}58'W$).

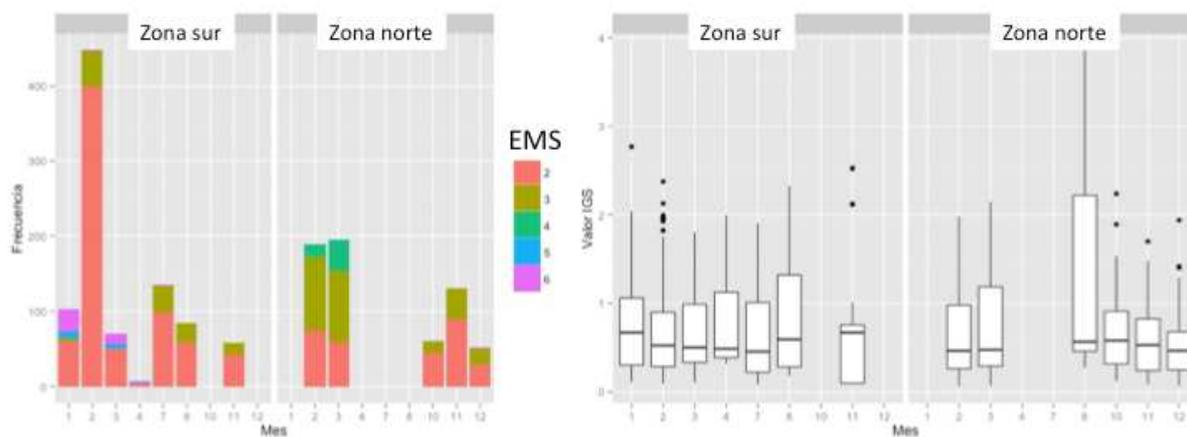
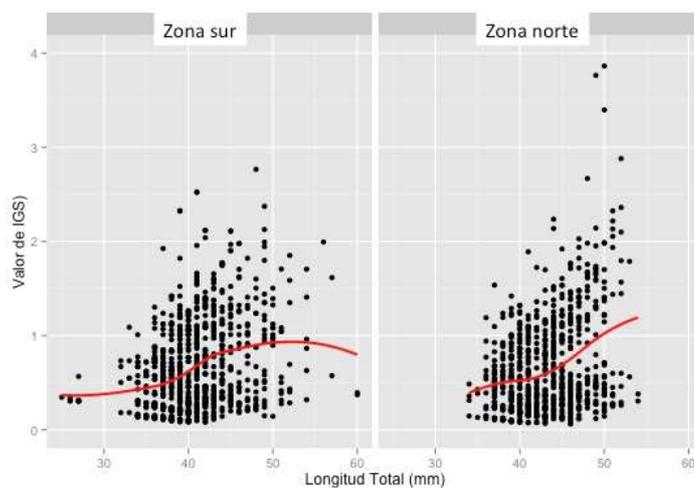


Figura 64. Información mensual y por zona de valores de IGS y estados de madurez (macroscópicos).

En la **Figura 65**, se presenta información del indicador reproductivo de IGS a la talla para cada una de las zonas; se observa un cambio de tendencia “punto de inflexión” del desarrollo gonadal medido como valor de IGS en ejemplares sobre los 41 cm de LT para la zona sur, mientras que para la zona norte este cambio de tendencia se aprecia en ejemplares sobre los 44 cm de LT.



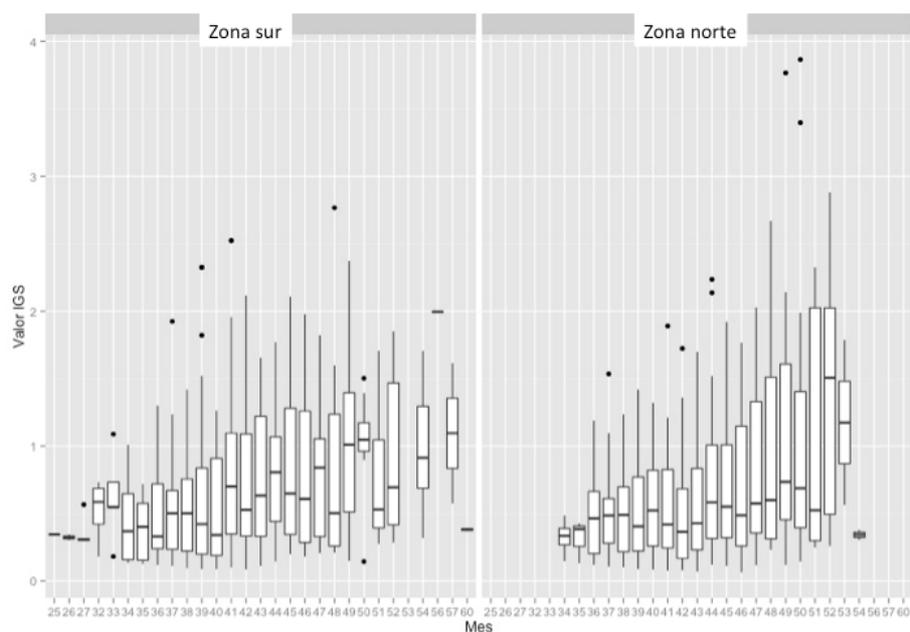


Figura 65. Información de valores de IGS a la talla para cada una de las zonas de estudio.

Se realizó un análisis de la información del indicador reproductivo de IGS mediante Modelos Aditivos Generalizados (GAM), evaluando el efecto de la talla y efecto temporal (mes) para determinar patrones dentro de cada una de las zonas. En la **Figura 66**, se presentan los resultados de los modelos aditivos generalizados para determinar los efectos temporales y de la talla sobre el indicador de IGS; respecto a la talla los resultados obtenidos son coherentes con los anteriormente presentados (ver **Figura 59**), observándose un efecto de la talla sobre el valor de IGS donde en la zona norte se registra en ejemplares sobre los 44 cm de LT, mientras que en la zona sur este efecto se presenta en ejemplares sobre los 41 cm de LT. Por otro lado, los factores temporales (mes) entregan una mayor explicación sobre los valores de IGS en la zona norte; este efecto no se aprecia claramente en la zona sur. En la **Tabla 46**, se presentan estadísticos importantes de los modelos desarrollados.

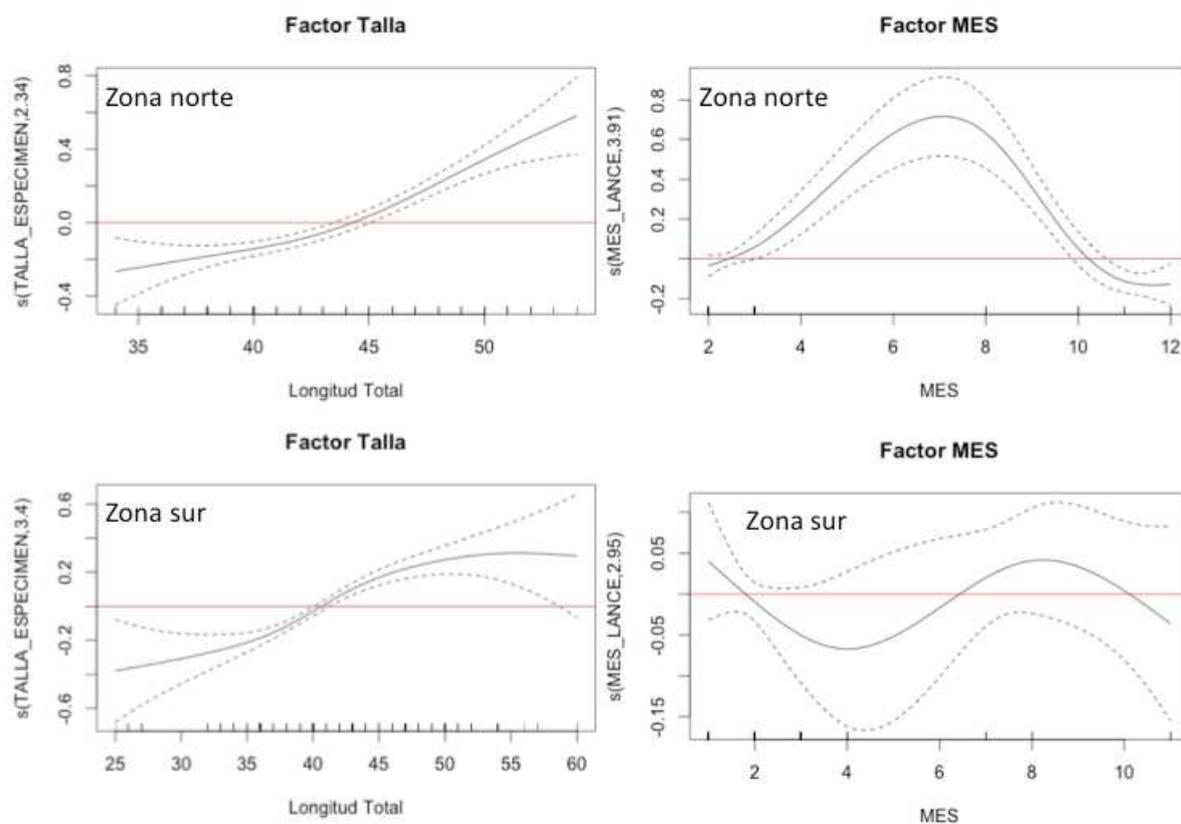


Figura 66. Modelos Aditivos Generalizados para evaluar el efecto de la talla y temporal (mes) sobre el indicador reproductivo de IGS para cada una de las zonas de estudio.

Tabla 46. Resultados de los Modelos Aditivos Generalizados por zonas.

Zona Norte	Error standar	Desviianza explicada	AIC
Factor Talla	0.01837	11.5%	1085.6
Factor Temporal	0.01876	7.9%	1118.4
Zona Sur			
Factor Talla	0.01517	10.4%	1161.8
Factor Temporal	0.01598	0.6%	1254.8

La información reproductiva disponible no permite realizar una estimación adecuada de la talla media de madurez por zonas, limitando la comparación de esta variable.

Factor de Condición

En la **Figura 67**, se presenta resultados de los Modelos Aditivos Generalizados realizados para el análisis de la información disponible del factor de condición de los ejemplares de reineta. Los resultados son concordantes con la información de índices reproductivos, sugiriendo una posible diferencia de periodos reproductivos y de descanso “almacenamiento de energía” del recurso reineta conforme a la información disponible por zonas. Los estadísticos principales de los GAM se presentan en la **Tabla 47**.

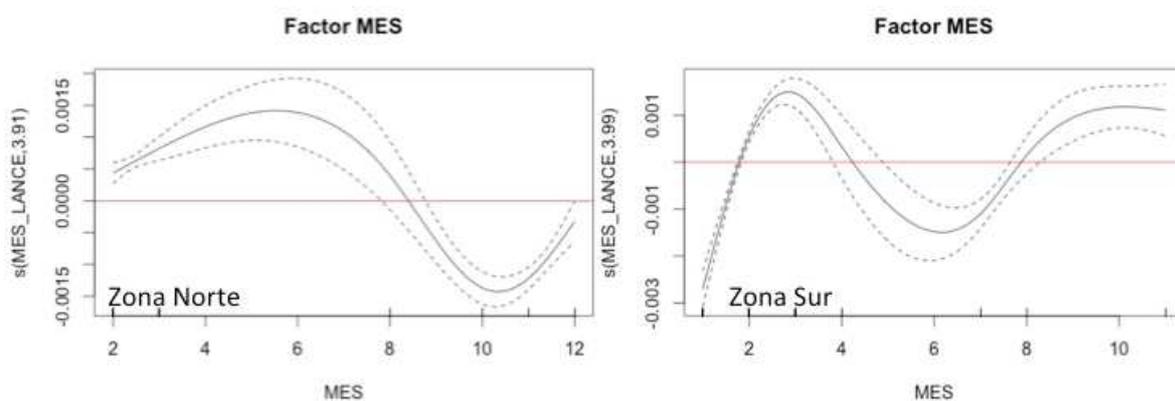


Figura 67. Modelos Aditivos Generalizados para información del factor de condición se evalúa el efecto temporal para cada una de las zonas de estudio.

Tabla 47. Resultados de los Modelos Aditivos Generalizados por zonas.

	Error standar	Desviianza explicada	AIC
Zona Norte Factor Temporal	5.7^{-5}	22.8%	-7481.8
Zona Sur Factor Temporal	7.2^{-5}	22.7%	-8521.5

Conclusiones

Empleando un total de 12 mil lances georeferenciados con captura de reineta, provenientes tanto de la actividad pesquera industrial como de cruceros de investigación los cuales dan cuenta de una cobertura espacial entre los 30°S y 57° S de latitud y una serie temporal entre 1997 y 2012, se logró establecer patrones de abundancia del recurso.

La distribución espacial de los indicadores de abundancia de reineta sugiere un patrón con dos zonas distintas tanto en captura, rendimiento de pesca y proporción de reineta en los lances. Las densidad/concentración de registros tanto de captura, rendimiento de pesca y proporción de reineta indican la diferenciación de una zona comprendida entre los 35° S y 40° S de latitud con valores de abundancia de reineta bajos, cuyo centro se observa en los 37°,5 S de latitud, mientras que también se da cuenta de una zona diferenciada con valores altos de abundancia de reineta la cual se observa entre los 41°S y 47°,5 S de latitud con centro en los 43°S de latitud.

La modelación de distribución latitudinal de los indicadores de abundancia de reineta mediante modelos aditivos generalizados, también dan cuenta de un patrón latitudinal diferencial entre la zona al norte de los 40°S de latitud y la zona al sur de los 41° S de latitud; siendo la zona sur la que presenta los mayores valores de captura y rendimiento de reineta concentrados en los 43°S de latitud. A partir de la determinación de patrones de distribución de abundancia de reineta, se realizó un análisis de los rasgos biológicos (talla y peso) de los ejemplares capturados en las distintas zonas. Se analizó un total de 53 mil registros de tallas y pesos para la misma cobertura espacial y serie temporal de datos. Los resultados sugieren diferencias en los ejemplares de cada zona, siendo los ejemplares capturados en la zona norte de mayor tamaño y peso que los ejemplares capturados en la zona sur. El análisis con modelos lineales generalizados para la talla y el peso evaluando el factor zona de procedencia, sugieren diferencias significativas entre zonas, con una disminución en la longitud y peso total promedio de norte a sur. La estructura de tamaños revela la presencia de ejemplares de

mayor tamaño en la zona norte (44,0 cm LT promedio), en contraste con lo registrado en la zona sur, donde se registra rangos de talla superiores (entre los 25 y 60 cm de LT), con una moda relevante de ejemplares con 41,0 cm de LT. Los resultados del análisis de la relación longitud-peso, mediante Modelos Mixtos No-lineales, sugieren la no existencia de diferencias significativas entre zonas, lo cual puede ser ratificado al observar pocas diferencias entre las curvas de proyecciones de peso empleando parámetros de la RLP reportados por distintos autores.

La información biológica de la condición reproductiva de los ejemplares de reineta fue escasa, obteniéndose un total de 1649 registros de IGS; 1534 registros de Estados de Madurez Sexual macroscópica (EMS) y 1649 registros que permitieron obtener el factor de condición. Resultados del análisis sugieren una posible diferencia de periodos reproductivos y de descanso “almacenamiento de energía” del recurso reineta conforme a la información disponible por zonas.

Los análisis orientados a determinar los parámetros y tasas de crecimiento de reineta, sugieren que existen diferencias significativas entre los ejemplares capturados en zonas distintas. Se observa que ejemplares registrados en la zona sur presentarían una menor tasa de crecimiento que aquella registrada para ejemplares en la zona norte; sin embargo los ejemplares en zona sur alcanzarían una mayor longitud infinita (L_{inf}) que aquellos reportados para la zona norte.

Los resultados del crecimiento parecen coincidir con otros análisis, donde para ejemplares de la zona sur se registra un rango de talla más amplio, mayor cantidad de cohortes identificadas desde la distribución de frecuencia de tallas y la asignación de un mayor número de grupos de edad; frente a los resultados obtenidos desde información proveniente de ejemplares capturados en la zona norte.

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

Edwin J. Niklitschek, Félix P. Leiva, Yessica Robles, Cristóbal Garcés
Centro i~mar, Universidad de Los Lagos

Metodología de trabajo

Para el análisis integrado de la información proporcionada por la microquímica de otolitos, infrafauna, morfometría y microsátélites, se utilizó un enfoque de modelos de mezcla de distribuciones finitas (Everitt & Hand 1981, Millar 1987, Smith & Campana 2010), ajustados por máxima verosimilitud. En particular, se utilizó el procedimiento descrito por Niklitschek et al. (2014) para mezclas de origen desconocido, el cual consiste en comparar, a través del Criterio de Información de Akaike, AIC (Akaike 1973), la verosimilitud de modelos (hipótesis) alternativos respecto del número de orígenes presentes en una o más mezclas. En el caso del presente análisis se consideró un número variable de uno a cuatro orígenes y un número fijo de cuatro mezclas, correspondientes a las cuatro regiones ecogeográficas en que se dividió el área de estudio. El modelo ajustado siguió la forma general propuesta por Smith & Campana (2010),

$$l(\psi|\mathbf{X}) = \prod_{a=1}^A \prod_{s=1}^S \prod_{m=1}^M \hat{p}_{as} \cdot g_m(x_{am}|\psi_m)$$

donde,

A, S, M: número de ecoregiones, orígenes y marcadores, respectivamente

\hat{p}_{as} = proporción estimada de contribución del origen s a la ecoregión a

g_m = función de densidad de probabilidad para cada marcador m ($\sim MVN(\hat{\mu}_m, \hat{\Sigma}_m)$)

x_{am} = matriz de valores individuales observados para cada marcador m en la ecoregión a

ψ_m = vector de parámetros ($\hat{\mu}_m, \hat{\Sigma}_m$)

Para facilitar la convergencia de los modelos de mezcla y aproximarse al supuesto de distribución normal multivariada, se aplicó los siguientes procedimientos de reducción dimensional: (i) análisis de componentes principales para microsatélites y morfometría (dos primeros componentes), y (ii) escalamiento multidimensional no-métrico para la composición de la infrafauna (basado en distancias Bray-Curtis, solo especies presentes en 9 o más individuos, e individuos con presencia de 2 o más taxa). Dado que la composición relativa de isótopos estables en otolitos fue naturalmente bidimensional, se utilizó directamente sus valores estandarizados (media=0, ds=1). Por causa del azar, existieron sólo 69 ejemplares donde se encontró presencia de dos o más taxa de parásitos y que coincidentemente fueron analizados respecto de sus marcadores moleculares, isótopos estables en otolitos y morfometría corporal. Por este motivo el análisis integrado se realizó considerando dos conjuntos de datos: un primer conjunto con los 69 peces antes indicados y otro con 121 ejemplares para los cuales se contó con información molecular, isotópica y morfométrica.

Los valores iniciales de los vectores de medias (μ_m) y matrices de covarianza (Σ_m), correspondientes a cada marcador (metales o isótopos) y cada uno de los 1-4 orígenes hipotéticos, fueron estimados a partir de los datos, previamente agrupados en un número de conglomerados equivalente al de la hipótesis evaluada. Estos conglomerados fueron formados maximizando la verosimilitud de los mismos, utilizando para ello un algoritmo EM (expectation-maximization), implementado en el paquete R-mixture (Browne & McNicholas 2015). En el caso específico del modelo de 4 orígenes, se utilizó además valores iniciales derivados directamente de las medias y covarianzas estimadas para cada una de las 4 ecoregiones.

Resultados

El análisis integrado de las distintas fuentes de información mostró que la hipótesis de origen único fue la más verosímil e informativa (**Tabla 48**), con un valor de AIC=1,458, sustancialmente menor que las otras tres hipótesis evaluadas (AIC=3.743-9.507). La falta de evidencia sobre la existencia de múltiples orígenes fue consistente con la decreciente verosimilitud de los modelos con mayor número de orígenes hipotéticos (**Tabla 48**).

Tabla 48. Análisis comparativo de modelos de mezcla.

Análisis comparativo de modelos de mezcla de distribuciones finitas considerando diferentes hipótesis sobre el número de orígenes de *Brama australis* presentes en las cuatro ecoregiones biogeográficas analizadas. EM=expectation-maximization; ZBG=zonas biogeográficas (Spalding et al. 2007); IE=Isótopos Estables en otolitos; MC=Morfometría Corporal; MS=Micro-satélites; IF=Composición Infauna; AIC=Criterio de Información de Akaike (1973).

N° orígenes	Parámetros iniciales	Fuentes de información					
		IE+MC+MS (n=121)			IE+MC+MS+IF (n=69)		
		Log- verosim.	N° parám.	AIC	Log- verosim.	N° parám.	AIC
1	EM	-714	15	1.458	383	20	807
2	EM	-1.837	34	3.743	1.098	44	2.284
3	EM	-3.198	53	6.502	1.983	68	4.101
4	EM	-4.681	72	9.507	2.961	92	6.106
4	ZBG	-4.681	72	9.507	2.961	92	6.106

Discusión

El análisis integrado de los marcadores naturales, genotípicos y fenotípicos utilizados en el presente estudio confirmó la falta de evidencia sobre múltiples unidades tanto evolutivas, como demográficas, indicadas por el análisis parcial de cada uno de estos marcadores. De esta manera, el stock de *B. australis* vulnerado por las pesquerías que operan en la costa chilena parece poseer un mismo acervo genético (microsatélites), utilizar hábitats similares de crianza (isótopos estables en zonas nucleares de otolitos) y alimentación (infauna), y estar afectado por factores ambientales, también similares (morfometría corporal).

La información generada por el presente proyecto permite especular la existencia de unas pocas zonas de desove altamente conectadas y de una o pocas zonas de crianza (primeros meses de vida) ambientalmente homogénea(s). Esta homogeneidad podría asociarse a la utilización de un área geográfica relativamente discreta o a la asociación estrecha con alguna masa de agua estable, probablemente a nivel sub-superficial. Lo anterior, hace pensar que la extensa distribución latitudinal de adultos de *B. australis*, a lo largo de la costa de Chile resulta de una dispersión activa desde zonas mucho más acotadas de desove y crianza. La homogeneidad de la composición parasitaria, por su

parte, lleva a pensar que existe gran mezcla entre adultos de latitudes muy distintas. Esto, junto al desplazamiento estacional de las capturas a lo largo de la costa, sugiere la existencia de migraciones reproductivas importantes, seguidas de baja fidelidad a las zonas de alimentación.

Entre las cuatro eco-regiones analizadas, llama la atención la ecorregión nor-magallánica (Canal de Chacao-Península de Taitao), para la cual el análisis microquímico e isotópico de los otolitos mostró un grupo de datos más homogéneo, con errores de clasificación bajo el 20%, independientemente del tipo o combinación de marcadores empleado. Esta zona concentra la mayor parte del esfuerzo y de las capturas comerciales durante el invierno (julio-septiembre), las que luego se desplazan a la ecorregión sur-peruana durante primavera-verano, con capturas decrecientes o nulas durante el otoño. Considerando la evidencia existente sobre un posible período de desove invernal de esta especie (Leal & Oyarzún 2003), es posible suponer una migración reproductiva de *B. australis* desde diferentes zonas de alimentación a una o más áreas de desove, altamente conectadas y ubicadas entre los 44°30' y los 47°S. La mayor parte de los huevos y larvas sería, además retenida o desplazado hacia una zona común de crianza, aún pendiente de localizar. Como primera hipótesis, es posible pensar en un desplazamiento pasivo hacia el norte, alcanzando la plataforma de la ecorregión sur-peruana, como ocurriría en *Macruronus magellanicus* (Niklitschek et al. 2014), la cual desova en la misma área y período que proponemos para *B. australis*. La mayor variabilidad en las señales químicas de las secciones nucleares de otolitos de ejemplares capturados en otras eco-regiones, podría ser explicada mediante dos hipótesis básicas: (i) transporte de una proporción (pequeña) de huevos y larvas a zonas secundarias de crianza, seguido de algún nivel de fidelidad a zonas de alimentación asociadas a cada ecorregión; (ii) contribución desde otras unidades demográficas ubicadas fuera del área de estudio o no bien representadas en el muestreo efectuado.

Consideraciones sobre el ciclo de vida de *Brama australis*

Tomando en consideración: i) la existencia de dos zonas discretas de pesca, ubicadas al norte de Puerto Saavedra y al sur del Canal de Chacao; ii) la reducción drástica en los rendimientos pesqueros en el norte a partir del mes de abril de cada año, no se refleja en capturas importantes en la zona sur hasta el mes de junio; iii) que no existe evidencia de capturas importantes en la zona intermedia, que denoten un desplazamiento costero entre los meses de abril y junio; iv) que la composición isotópica de los otolitos sugiere la utilización de zonas de crianza más cálidas y menos productivas que las

aguas costeras del SE Pacífico; y v) la presencia de parásitos típicamente oceánicos en los adultos analizados de reineta, es posible plantear, a manera de hipótesis el siguiente ciclo de vida:

El contingente principal de Reineta migraría a desovar desde sus zonas de alimentación estival, ubicadas en la eco-región Sur-Peruana (36-39°S) hacia zonas de desove ubicadas en aguas oceánicas, probablemente ubicadas al este de los 80°W y al norte de los 40°S, entre los meses de abril y junio de cada año. Luego retornarían para utilizar zonas de alimentación ubicadas en la eco-región nor-Magallánica, es decir, entre el Canal de Chacao y la Península de Taitao. Esta última zona sería también el área principal de reclutamiento a la pesquería. Desde ella, la mayor parte de los adultos migraría hacia el norte, a partir de octubre de cada año, para completar así un nuevo ciclo anual, similar al ya descrito. Contingentes secundarios de adultos permanecerían en aguas costeras y postergarían su desove o desovarían tardíamente en áreas de desove secundarias, probablemente ubicadas hacia el norte del rango de distribución de la especie. Este grupo explicaría los valores de IGS relativamente altos, observados en adultos costeros hacia el final del invierno (Leal & Oyarzún 2003). Es posible, por último, imaginar la existencia de otro contingente secundario, que parecería migrar hacia el extremo sur y podría seguir un ciclo alternativo al ya descrito, pero aún muy difícil de dilucidar.

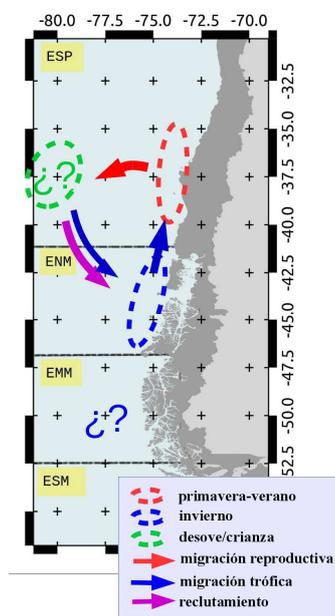


Figura 68. Ciclo de vida dominante de reineta, *Brama australis*, propuesto como hipótesis a partir de la información recopilada durante el presente estudio.

“Origen natal y distribución geográfica de Reineta en Chile”

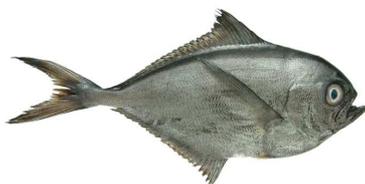
FIP N°2013-21

Programa Taller Difusión de Resultados

Universidad de Concepción

Sala Minera Escondida

Concepción, martes 15 de diciembre de 2015



09:00 – 09:20 Presentación del proyecto // Ricardo Galleguillos G., *Universidad de Concepción*.

09:20 – 09:40 Diseño, y aplicación de plan de muestreo // Jorge Sateler G., *Instituto de Fomento Pesquero*

09:40 – 10:00 Estado del arte referente a la identificación de unidades evolutivas y demográficas relevantes para el manejo pesquero // Sandra Ferrada Fuentes., *Universidad de Concepción*

10:00 - 10:40 Identificación y caracterización genética de las unidades evolutivas de reineta en la costa chilena //

Cristian B. Canales A., ADN nuclear, marcadores microsatélites., *Universidad de Concepción*

Victoria Herrera Y., ADN mitocondrial, Citocromo Oxidasa I., *Universidad de Concepción*

10:40 – 11:00 Café

11:00 – 12:40 Identificación y caracterización de las principales unidades demográficas de la reineta presentes en la costa chilena.

Aproximación Morfométrica Corporal, Claudio Carrasco., *Universidad de Concepción*

Aproximación Parámetros de Historia de Vida., Milton Pedraza, *Consultor Independiente*

Aproximación Parasitológica; Marcelo Oliva., *Universidad de Antofagasta*

Aproximación Microquímica de Otolitos, Edwin Niklitschek., *Universidad de Los Lagos*

12:40 – 13:00 Estimación del número de orígenes (zonas de desove y/o crianza), y su contribución relativa a cada unidad demográfica identificada y zona principal de captura // Edwin Niklitschek H., *Universidad de Los Lagos*

13:00 – 13:30 Discusión de resultados, consideraciones generales.

13:30 Cierre del Taller



Asistentes

Ricardo Galleguillos G., Universidad de Concepción.

Jorge Sateler G., Instituto de Fomento Pesquero

Sandra Ferrada Fuentes., Universidad de Concepción

Cristian B. Canales A., Universidad de Concepción

Victoria Herrera Y., Universidad de Concepción

Claudio Carrasco., Universidad de Concepción

Milton Pedraza, Consultor Independiente

Marcelo Oliva., Universidad de Antofagasta

Edwin Niklitschek., Universidad de Los Lagos

Pamela Toledo, Universidad de Los Lagos

Cesar Camaño, Universidad de Concepción

L. Camila Bustos Molina, Unidad de Pesquerías Demersales, Subsecretaría de Pesca

Discusión de resultados, Consideraciones generales

A continuación se exponen las principales consideraciones respecto a los resultados y conclusiones del proyecto:

Se destaca los esfuerzos en muestreo realizados por el equipo del Instituto de Fomento Pesquero, en particular la rigurosidad en el almacenamiento y envío de las muestras.

Se destaca los esfuerzos en muestreo de ejemplares provenientes de la zona austral, al sur de la boca del Guafo procedentes de la pesca Industrial, y de los buques de investigación Cabo de Hornos.

Se recolectaron y analizaron más ejemplares de los comprometidos.

Se plantearon tres consultas relativas al muestreo:

1) ¿Porque no se incluyeron muestras de los artesanales VII Región?; L. Camila Bustos (SSPA).

R: Si bien en la VII región se advierte desembarque artesanal de reineta en los registros oficiales, la actividad es baja y esporádica. Esto dificulta la detección de embarcaciones con presencia de la especie y por lo tanto su muestreo. El diseño de muestreo propuesto en la Oferta Técnica consideró personal embarcado y dado que en la VII Región la flota reinetera monitoreada por el IFOP corresponde a botes menores de 9 metros, no era posible embarcar observadores científicos por la capacidad de las naves. Para futuros estudios es posible asignar una zona de referencia a esta flota,

dado el escaso radio de acción de las embarcaciones y de esta manera favorecer la inclusión de muestras de una zona más amplia, sobre la base de una georreferenciación menos estricta.

2) ¿Es correcta la posición de las muestras situadas en el mar interior de la X Región?; Edwin Niklitchek (U. Los Lagos).

R: Se revisó la base de datos y efectivamente se detectó un error de asignación de zona. El muestreo en cuestión es de la Zona 3, barco FRIOSUR VIII, Fecha zarpe 1/10/2014 y Fecha recalada el 6/10/2014, el cual dice: Longitud inicio -73.11 y debe decir -75.11.

Sin embargo no se debe descartar la presencia de la especie en algunas zonas de aguas interiores tal como lo indicado en el trabajo de San Martín y Leal (2011). En efecto, antecedentes recopilados en otros estudios (evaluación directa de pelágicos) demuestran la presencia de *Brama australis* en aguas interiores de la X y XI regiones.

3) ¿Porque aparece una franja tan delgada de distribución de reineta en el mapa de San Martín et. al.,(2011)? Edwin Niklitchek (U. Los Lagos).

R: Se consultó a San Martín sobre el mapa de distribución de reineta y comentó que se hizo en base a datos históricos de la pesquería de arrastre de la zona austral y cruceros de evaluación del B/I Abate Molina, por lo cual la mayoría de los puntos se sitúa en la zona de caladeros de la plataforma continental. Además se revisaron cruceros de evaluación de jurel y pesquería industrial pelágica, pero la presencia de reineta fue mínima. El mapa no consideró la pesquería artesanal, información que según datos del proyecto Seguimiento, evidencia una distribución de reineta más extendida hacia el oeste.

Se indica en futuros estudios evaluar y considerar el efecto de la independencia de las muestras en los resultados.

Se destaca que en el análisis genético de las muestras, se evidencia la presencia de ejemplares del género *Xenobrama*. Futuros estudios deberían considerar la presencia de esta especie en las capturas de *Brama australis* y lograr una correcta identificación para aislar o separar los resultados relativos a cada especie.

Debido a la presencia de ejemplares de *Xenobrama*, y la distribución geográfica que se amplía hacia el Pacífico oeste, se sugiere en futuros estudios incluir ejemplares provenientes de los mares de Nueva Zelanda.

En el análisis genético no se observan diferencias significativas al agrupar las muestras entre zonas administrativas, al analizar las muestras en un contexto biogeográfico, la zona mesomagallánica muestra índices de estructuración genética de mayor magnitud, pero no significativos. Se sugiere realizar un análisis de poder estadístico considerando las cinco zonas biogeográficas.

En el análisis de morfometría corporal se evidencia diferencias significativas en las formas corporales de ejemplares provenientes de la zona centro-sur y la zona Austral, diferencias que no se aprecian visualmente en las muestras. Estas diferencias se consideran marginales, sin tener claridad de la significancia biológica de esta diferenciación estadística.

El análisis de patrones de historia de vida, en términos de patrones de distribución de abundancia, sugiere la existencia de dos zonas distintas en cuanto a valores de captura, rendimiento de pesca y presencia del recurso reineta en la costa chilena; este patrón de distribución de la abundancia es concordante con diferencias estadísticamente significativas en la estructura de tamaños y pesos de los ejemplares capturados en cada zona. Adicionalmente, el análisis de tasas de crecimiento mostro diferencias estadísticamente significativas entre los ejemplares provenientes de zonas distintas. En términos de indicadores reproductivos, los datos disponibles no permiten aseverar particularidades del proceso reproductivo, ni mucho menos discriminar el mismo entre zonas de manera definitiva. Finalmente, se destaca que los resultados encontrados deben ser tomados de manera referencial y ser indagados con mayor profundidad, debido a que la base de datos utilizada (sector industrial) solo representa un 10% de las capturas a nivel nacional. Se sugiere hacer esfuerzos de investigación y manejo para mejorar tanto la georeferenciación de la información proveniente de la flota artesanal como determinar el proceso/ desarrollo reproductivo del recurso.

En el caso del análisis de la fauna parasitaria, las diferencias estadísticas observadas se indican sólo para especies de parásitos en particular, correspondiendo a parásitos típicos de peces más oceánicos (e.g. Didymozoida) como tunidos y scombridos, lo que permite sugerir que los ejemplares analizados están en algún momento de su ciclo de vida presente en aguas oceánicas. La comunidad parasitaria no muestra diferencias entre las muestras analizadas.

Los resultados de la química de otolitos, en particular, carbono 13, y magnesio, si bien indican diferencias significativas en comparaciones entre la zona mesomagallánica y el resto, y agrupando las muestras en zonas administrativas, estas diferencias se consideran marginales, sin un patrón lógico que permita identificar diversos orígenes de las muestras analizadas.

Al considerar los resultados de las diversas herramientas de estudio aquí utilizadas, se considera la identificación de una sola unidad evolutiva de la reineta en el área de estudio, sin identificar y delimitar más de una unidad demográfica como parte de esta gran agrupación reproductiva.



Fotografía Equipo Científico
Proyecto
“Origen natal y distribución geográfica de Reineta en Chile”
FIP N°2013-21
Programa Taller Difusión de Resultados
Universidad de Concepción
Sala Minera Escondida
Concepción, martes 15 de diciembre de 2015

5. Referencias

- ABRAMOFF, M. D., MAGELHAES, P. J. & RAM, S. J. 2004. Image Processing with ImageJ. *Biophotonics International* 11(7):36-42.
- AKAIKE, H. 1973. Information theory and an extension of the maximum likelihood principle. In: *Second International Symposium on Information Theory* pp. 267–281. Budapest.
- ALDANA, M., OYARZUN, J. & GEORGE_NASCIMENTO, M. 1995. Isopodos parasitos como indicadores poblacionales del jurel *Trachurus symmetricus murphyi* (Nichols, 1920) (Pisces:Carangidae) frente a las costas de Chile. *Biología Pesquera (Chile)* 24:23-32.
- ALI, S., BARAT, PANDEY, A, SIVARAMAN, G. K., SAHOO, P. K. & SATI, J. 2014. Mitochondrial Dna Variation and Population Genetic Structure of Snow Trout from Kumaun and Garhwal Himalayan Regions of India. *Journal of Ecophysiology and Occupational Health* 14: 23-31.
- ANDERSON, S., BANKIER, A.T., BARRELL, B. G., DE BRUIJN, M. H., COULSON, A. R., DROUIN, J., EPERON, I. C., NIERLICH, D. P., ROE, B. A., SANGER, F., SCHREIER, P. H., SMITH, A. J., STADEN, R. & YOUNG. I. G. 1981. Sequence and organization of the human mitochondrial genome. *Nature* 290: 457– 465.
- ARCOS, D., NÚÑEZ, S. & ACUÑA, A. 1996. Variabilidad de pequeña escala en la zona nerítica del sistema de surgencia de Talcahuano (Chile Central): identificación y dinámica de áreas de retención larval. *Gayana Oceanología* 4(1): 21-58.
- ARKHIPKIN, A. I., SCHUCHERT, P. C. & DANYUSHEVSKY, L. 2009. Otolith chemistry reveals fine population structure and close affinity to the Pacific and Atlantic oceanic spawning grounds in the migratory southern blue whiting (*Micromesistius australis australis*). *Fisheries Research* 96: 188–194.
- ASHFORD, J. & JONES, C. 2007. Oxygen and carbon stable isotopes in otoliths record spatial isolation of Patagonian toothfish (*Dissostichus eleginoides*). *Geochimica et cosmochimica acta* 71: 87–94.
- AVISE, J. C. & LANSMAN, R. A. 1983. Polymorphism of mitochondrial DNA in populations of higher animals. Pp. 147-164. En M. NEI and R. K. KOEHN, eds. *Evolution of Genes and Proteins*. Sinauer, Sunderland, Mass., USA.
- AVISE, J. C. 1995. Mitochondrial DNA polymorphism and a connection between genetics and demography of relevance to conservation. *Conservation Biology*, 9: 686-690.

- AVISE, J. C. 1998. *The Genetic Gods: Evolution and Belief in Human Affairs*. Harvard University Press, Cambridge, MA. 279 pp.
- AVISE, J. C. 2000. *Phylogeography. The History and Formation of Species*. Harvard University Press.
- AVISE, J. C. 2004. *Molecular markers, Natural History and Evolution*. (II Edición). Sinauer Ed.
- AVISE, J.C. 1989. A role for molecular geneticists in the recognition and conservation of endangered species. *Trends in Ecology and Evolution*, **4**: 279-281.
- BARLOW, G.W. 1961. Causes and significance of morphological variations in fishes. *Systematic Zoology* 10: 105-107.
- BARNETT-JOHNSON, R., PEARSON, T. E., RAMOS, F. C., GRIMES, C. B. & MACFARLANE, R. B. 2008. Tracking natal origins of salmon using isotopes, otoliths, and landscape geology. *Limnology and Oceanography* 53: 1633–1642.
- BATES, D., MAECHLER, M. & BOLKER, B. 2012. lme4: Linear mixed-effects models using S4 classes. R package version 2.15.1. <http://CRAN.R-project.org/package=lme4>.
- BEGG, G. A, WALDMAN, J. R. 1999. An holistic approach to fish stock identification. *Fisheries Research* 43: 35–44.
- BEGG, G. A. 2005. Life history parameters. In: *Stock identification methods: Applications in fishery science* (Ed. by S. Cadrin, K. D. Friedland & J. Waldman), pp. 119–150. Elsevier Academic Press.
- BENJAMINI, Y., & YEKUTIELI, D. 2001. The control of the false discovery rate in multiple testing under dependency. *Annals of Statistics* 29: 1165–1188.
- BIRKY, C. W., MARUYAMA, T. & FUERST, P. 1983. An approach to population genetic and evolutionary genetic theory for genes in mitochondria and chloroplasts, and some results. *Genetics* 103: 513-527.
- BOOSTEIN, F. L. 1991. *Morphometric tools for landmark data: Geometry and Biology*. New York: Cambridge University Press.
- BOWEN, B. W. 1998. What is wrong with ESUs? The gap between evolutionary theory and conservation principles. *Journal of Shellfish Research* 17:1355–1358.
- BROOKFIELD, J. 1996. A simple new method for estimating new allele frequency from heterozygote deficiency. *Molecular Ecology* 5: 453-455.

- BROWN, W. M. 1983. Evolution of animal mitochondrial DNA. Pp. 62-88 in M. Nei and R. K. Koehn, eds. *Evolution of genes and proteins*. Sinauer, Sunderland, Mass.
- BROWN, W. M. 1985. The mitochondrial genome of animals. In: MacIntyre, R. J. (Ed.). *Molecular Evolutionary Genetics*. Plenum, New York: 95–130.
- BROWN, W. M., E. M. PRAGER, A. WANG, AND A. C. WILSON. 1982. Mitochondrial DNA sequences of primates: tempo and mode of evolution. *Journal of Molecular Evolution* 1: 225-239.
- BROWN, W. M., GEORGE, JR. M. & WILSON, A. C. 1979. Rapid evolution of animal mitochondrial DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 76: 1967-1971.
- BROWNE, R. P. & McNICHOLAS, A. E. & P. D. 2015. *Mixture: Mixture Models for Clustering and Classification*.
- BUSH, A. O., LAFFERTY, K. D., LOTZ, J. M., & SHOSTAK, A. W. 1997. Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis et al. revisited. *Journal of Parasitology* 83: 575–583.
- CADENASSO, M., PICKETT, A. & GROVE, J. 2006. Dimensions of ecosystems complexity: heterogeneity, connectivity and history. *Ecological Complexity* 3:1-12.
- CADRIN, S. X. & FRIEDLAND, K. D. 1999. The utility of image processing techniques for morphometric analysis and stock identification. *Fisheries Research* 43: 129-139.
- CAMPANA, E. & THORROLD, S. 2001. Otoliths, increments, and elements: keys to a comprehensive understanding of fish populations?. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 58: 30–38.
- CAMPANA, S. 2005. Otolith science entering the 21st century. *Marine and Freshwater Research* 56: 485–495.
- CAMPANA, S. E. 1999. Chemistry and composition of fish otoliths: pathways, mechanisms and applications. *Marine Ecology Progress Series* 188: 263–297.
- CAMPANA, S. E., FOWLER, A. J. & JONES, C. M. 1994. Otolith elemental fingerprinting for stock identification of Atlantic cod (*Gadus morhua*) using laser ablation ICPMS. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 51: 1942–1950.
- CANALES-AGUIRRE, C. B., FERRADA, S., HERNÁNDEZ, C. E. & GALLEGUILLOS, R. 2010b. Population structure and demographic history of *Genypterus blacodes* using microsatellite loci. *Fisheries Research* 106: 102-106.

- CANCINO, C., PEÑA, A., GARVISO, P. 1999. Caracterización morfológica de *Brama australis* (Valenciennes, 1837) (Perciformes; Bramidae) de la Bahía de Valparaíso, Chile. *Revista de Biología Marina y Oceanografía* 34(2): 181-195.
- CANN, R. L., STONEKING, M. & WILSON, A. C. 1987. Mitochondrial DNA and human evolution. *Nature* 325:31–36.
- CAO, L., LIANG, X. F., DU, Y., ZHENG, H., YANG, M., & HUANG, W. (2013). Genetic population structure in *Siniperca scherzeri* (Perciformes: Siniperca) in China inferred from mitochondrial DNA sequences and microsatellite loci. *Biochemical Systematics and Ecology*, 51, 160-170.
- CÁRDENAS, L., SILVA, A. X., MAGOULAS, A., CABEZAS, J., POULIN, E. & OJEDA F. P. 2009. Genetic population structure in the Chilean jack mackerel, *Trachurus murphyi* (Nichols) across the South-eastern Pacific Ocean. *Fisheries Research* 100: 109-115.
- CARLSSON, J. 2008. Effects of microsatellite null alleles on assignment testing. *Journal Heredity* 99: 616-623.
- CARLSSON, J., MCDOWELL, J. R., DÍAZ-JAIMES, P., CARLSSON, J. E. L., BOLES, S. B., GOLD, J. R. & GRAVES, J. E. 2004. Microsatellite and mitochondrial DNA analyses of Atlantic bluefin tuna (*Thunnus thynnus thynnus*) population structure in the Mediterranean Sea. *Molecular Ecology* 13: 3345-3356.
- CASACCI, L. P., BARBERO, F. & BALLETTTO, E. 2014. The “Evolutionarily Significant Unit” concept and its applicability in biological conservation. *Italian Journal of Zoology* 81(2): 182-193.
- CASSELMAN, J. M., COLLINS, J. J., CROSSMAN, E. J., IHSEN, P. E. & SPANGLER, G. R. 1981. Lake white fish (*Coregonus clupeaformis*) stocks of the Ontario waters of Lake Huron. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 38: 1772-1789.
- CASTILLO-OLGUÍN, E., URIBE-ALCOCER, M. & DÍAS-JAIMES, P. 2012. Assessment of the population genetic structure of *Sphyrna lewini* to identify conservation units in the Mexican Pacific. *Ciencias Marinas* 38(4): 635-652.
- CASTOE, T. A., POOLE, A. W., DE KONING, A. P. J., JONES, K. L., TOMBACK, D. F., OYLER-MCCANCE, S. J., FIKE, J., LANCE, S. L., STREICHER, J. W. E. N. & SMITH, D.D. POLLOCK. 2012. Rapid microsatellite 63 identification from Illumina paired-end genomic sequencing in two birds and a snake. *PLoS ONE* 7:e30953.

- CEBALLOS, S. G. 2011. Estructura genética poblacional, historia demográfica y variación fenotípica del róbalo, *Eleginops maclovinus* (Perciformes). Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires.
- CHAPUIS, M. P. & ESTOUP, A. 2007. Microsatellite null alleles and estimation of population differentiation. *Molecular Biology and Evolution* 24: 621-631.
- CHAVEZ, R., VALDIVIA, I. & OLIVA, M. E. 2007. Local variability in metazoan parasites of the pelagic fish species, *Engraulis ringens*: implications for fish stock assesment using parasites as biological tags. *Journal of Helminthology* 81: 113-116.
- CORTÉS, N., OYARZÚN, C. & GALLEGUILLOS, R. 1996. Diferenciación poblacional en sardina común *Strangomera bentincki* (Norman. 1936). II: Análisis multivariado de la morfometría y merística. *Revista de Biología Marina* 31(2): 91-105.
- CRANDALL, K.A., BININDA-EMONDS, O. R. P., MACE, G. M., WAYNE, R. K. 2000. Considering evolutionary processes in conservation biology. *Trends in Ecology and Evolution*, 17: 390-395.
- CRISCI, J. & LÓPEZ-ARMENGOL, F. 1983. Introducción a la Teoría y Práctica de la Taxonomía Numérica. Secretaría General de la O.E.A., Washington D.C.
- DAKIN, E. & AVISE, J. C. 2004. Microsatellite null alleles in parentage analysis. *Heredity* 93: 504- 509.
- DAMMANNAGODA, S. T., HURWOOD, D. A. & MATHER, P. 2011. Genetic analysis reveals two stocks of skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*) in the north western Indian Ocean. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 68(2): 210-223.
- DE GUIA, A. P. O. & SAITOH, T. 2007. The gap between the concept and definitions in the Evolutionarily Significant Unit: The need to integrate neutral genetic variation and adaptive variation. *Ecological Research* 22:604–612.
- DEWOODY, J. A. & AVISE, J. C. 2000. Microsatellite variation in marine, freshwater and anadromous fishes compared with other animals. *Journal of Fish Biology* 56: 461–473.
- DIZON, A. E., LOCKYER, C., PERRIN, W. F. ET AL. (1992) Rethinking the stock concept: a phylogeographic approach. *Conservation Biology* 6:24 -36.
- DOBZHANSKY, T. 1950. Mendelian populations and their evolution. *Ame. Nat.* 84: 401-410.
- DUJARDIN, J. P. 2008. Morphometrics applied to medical entomology. *Infection, Genetics and Evolution* 8:875-890.

- DUNCAN, M., JAMES, N., FENNESSY, S. T., MUTOMBENE, R. J. & MWALE, M. 2015. Genetic structure and consequences of stock exploitation of *Chrysoblephus puniceus*, a commercially important sparid in the South West Indian Ocean. *Fisheries Research* 164: 64-72.
- DUTTON, P. H., RODEN, S. E., STEWART, K. R., LACASELLA, E., TIWARI, M., FORMIA, A., THOMÉ, J. C., LIVINGSTONE, S. R., ECKERT, S., CHACON-CHAVERRI, D., RIVALAN, P. & ALLMAN, P. 2013. Population stock structure of leatherback turtles (*Dermochelys coriacea*) in the Atlantic revealed using mtDNA and microsatellite markers. *Conservation Genetics* 14: 625-636.
- ELSDON, T. S. & GILLANDERS, B. M. 2002. Interactive effects of temperature and salinity on otolith chemistry: challenges for determining environmental histories of fish. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 59: 1796–1808.
- ELSDON, T. S., WELLS, B. K., CAMPANA, S. E., GILLANDERS, B. M., JONES, C. M., LIMBURG, K. E., SECOR, D. H., THORROLD, S. R. & WALTHER, B. D. 2008. Otolith chemistry to describe movements and life history parameters of fishes: hypotheses, Assumptions, limitations and inferences. *Oceanography and Marine Biology* 46: 297–330.
- ESA, Y., & ABDUL RAHIM, K. A. (2013). Genetic Structure and Preliminary Findings of Cryptic Diversity of the Malaysian Mahseer (*Tor tambroides* Valenciennes: Cyprinidae) Inferred from Mitochondrial DNA and Microsatellite Analyses. *BioMed research international*, 2013.
- EVERITT, B. S. & HAND, D. J. 1981. Finite mixture distributions. Chapman & Hall, London New York. 143 pp.
- EXCOFFIER, L. & LISCHER, H. 2010. Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources* 10:564-567.
- EXCOFFIER, L., LAVAL, G. & SCHNEIDER, S. 2005. Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online* 1:47–50.
- EXCOFFIER, L., SMOUSE, P. E., & QUATTRO, J. M. 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: Application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics* 131: 479- 491.
- FERRADA, S., HERNÁNDEZ, K., MONTOYA, R. & GALLEGUILLOS R. 2002. Estudio poblacional del recurso anchoveta (*Engraulis ringens* Jenyns 1842) (Clupeiforme, Engraulidae), mediante análisis de ADN. *Gayana* 66 (2): 243 – 249.

- FRANKHAM, R., BALLOU, J. D. & BRISCOE, D. A. 2002. Introduction to Conservation Genetics. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- FRASER, D. J. & BERNATCHEZ, L. 2001. Adaptive evolutionary conservation: towards a unified concept for defining conservation units. *Molecular Ecology* 10: 2741-2752.
- FROESE, R. & PAULY D. (EDS). 2013. Fish base. World Wide Web electronic publication.
- GALLEGUILLOS, R., FERRADA, F., CANALES-AGUIRRE C., HERNÁNDEZ, C., OLIVA, M., GONZÁLEZ, M. T., CUBILLOS, L., NIKLITSCHK, 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: 221 pp.
- GALLEGUILLOS, R., FERRADA, S., HERNÁNDEZ, C. E., CANALES-AGUIRRE, C., AEDO, G., SAN MARTÍN, M. & ASTETE, S. 2008. Unidades poblacionales del bacalao de profundidad. Informe Final Proyecto FIP 2006-41. In: p. 165. Universidad de Concepción, Concepción.
- GEORGE -NASCIMENTO, M. 1996. Populations and assemblages of metazoan parasites in the hake *Merluccius gayi* (Guichenot) (Gadiformes: Merluccidae) from the southeastern Pacific Ocean: Stock implications. *Journal of Fish Biology* 48:557-568.
- GEORGE-NASCIMENTO, M. 2000. Geographical variations in the jack mackerel *Trachurus symmetricus murphyi* populations in the southeastern Pacific Ocean as evidenced from the associated parasite communities. *Journal of Parasitology* 86:929-932.
- GEORGE-NASCIMENTO, M., GARCÍAS, F. & MUÑOZ, G. 2002. Parasite body volume and infracommunity patterns in the southern pomfret *Brama australis* (Pisces: Bramidae). *Revista Chilena de Historia Natural* 75: 835-839.
- GONZÁLEZ, L. & CARVAJAL, J. 1994. Estudio parasitológico de *Merluccius australis* (Hutton, 1872) del mar interior de Aysén. *Investigaciones. Pesqueras (Chile)* 38:75-85.
- GRANT, W. & WAPLES, R. 2000. Spatial and Temporal Scales of genetic variability in marine and anadromous species: En: Parsons, T., Harrison, P., Editores. Implications for fisheries oceanography. pp 93.
- GRUENTHAL, K. M., ACHESON, L. K. & BURTON, R. S. 2007. Genetic structure of natural populations of California red abalone (*Haliotis rufescens*) using multiple genetic markers. *Marine Biology* 157: 1237-1248.
- GUILLOT, G., ESTOUP, A., MORTIER, F. & COSSON, J.F. 2005b. A spatial statistical model for landscape genetics. *Genetics* 170:1261-1280.

- GUILLOT, G., MORTIER, F. & ESTOUP, A. 2005a. Geneland: A program for landscape genetics. *Molecular Ecology Notes* 5: 712-715.
- HADFIELD, J. D. 2010. MCMC methods for multi-response generalized linear mixed models: the MCMCglmm R package. *Journal of Statistical Software* 33: 1–22.
- HALL T. A. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series* 41: 95-98.
- HEBERT, P. D. N., CYWINSKA, A., BALL, S. L. & DEWAARD, J. 2003. Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society Biological Sciences* 270: 313-321.
- HEDGECOCK, D., BARBER, P. & EDMANDS, S. 2007. Genetics approaches to measuring connectivity. *Oceanography* 20(3): 70-79.
- HERNÁNDEZ, S., DALEY, R., WALKER, T., BRACCINI, M., VARELA, A., FRANCIS, M. P. & RITCHIE, P. A. 2015. Demographic history and the South Pacific dispersal barrier for school shark (*Galeorhinus galeus*) inferred by mitochondrial DNA and microsatellite DNA mark. *Fisheries Research* 167: 132-142.
- HERRINGTON, W. C., BEARSE, H. M. & FIRTH, E.E. 1939. Observations on the life history, occurrence and distribution of the redfish parasite *Sphyrion lumpi*. United States Bureau of Fisheries, Special Report 5:1-18.
- HØIE, H., OTTERLEI, E. & FOLKVORD, A. 2004. Temperature-dependent fractionation of stable oxygen isotopes in otoliths of juvenile cod (*Gadus morhua* L.). *Journal of Marine Science* 61: 243–251.
- HORAI, S., KONDO, R., NAKAGAWA-HATTORI, Y., HAYASHI, S., SONODA, S. & TAJIMA, K. 1993. Peopling of the Americas, founded by four major lineages of mitochondrial DNA. *Molecular Biology and Evolution* 10: 23–47.
- HURLBUT, T. & CLAY, D. 1998. Morphometric and meristic differences between shallow and deepwater populations of St Lawrence. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 55:2274-2282.
- HUTCHINGS, J., SWAIN, D., ROWE, S., EDDINGTON, J., PUVANENDRAN, V. & BROWN, J. 2007. Genetic variation in life-history reaction norms in a marine fish. *Proceedings of The Royal Society B* 27: 1693-1699.

- IANNACONE, J. & ALVARINO, L. 2013. Parasitological indices of Pacific pomfret *Brama japonica* Hilgendorf, 1878 (Osteichthyes, Bramidae) acquired at fishing terminal of Chorrillos Lima, Peru. *Neotropical Helminthology* 7: 117 - 132.
- IHAKA, R. & GENTLEMAN, R. 1996. R: A language for data analysis and graphics. *Journal of Computational and Graphical Statistics* 5: 299-314.
- IHERING, H. V. 1891. On the ancient relations between NewZeland and South America. *Transactions and Proceedings of the New Zealand Institute* 24:431-445.
- IHSSEN, P. E., BOOKE, H. E., CASSELMAN, J. M., MCGLADE, J. M., PAYNE, N. R. & UTTER, F. M. 1981. Stock identification: materials and methods. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 38: 1838-1855.
- JARNE, P. & LAGODA, P. J. L. 1996. Microsatellites, from molecules to populations and back. *TREE* 11: 424-429.
- KABATA, Z. 1981. Relegation of *Hatschekia acuta* Barnard, 1948, to synonymy with *Hatschekia conifera* Yamaguti, 1939 (Copepoda: Siphonostomatoida). *Canadian Journal of Zoology* 59:2080-2084.
- KALISH, J. M. 1991. Oxygen and carbon stable isotopes in the otoliths of wild and laboratory-reared Australian salmon (*Arripis trutta*). *Marine Biology* 110: 37-47.
- KARL, S. A. & BOWEN, B. W. 1999. Evolutionary significant units versus geopolitical taxonomy: molecular systematics of an endangered sea turtle (Genus *Chelonia*). *Conservation Biology* 13:990-999.
- KINSEY, S. T., ORSOY, T., BERT, T. M. & MAHMOUDI, B. 1994. Population structure of the Spanish sardine *Sardinella aurita*: natural morphological variation in a genetically homogenous population. *Marine Biology* 118: 309-317.
- KLECKA, W. R. 1980. *Discriminant analysis*. Sage Publications, Beverly Hills.
- KLINGENBERG, C. P. 2011. Anintegrated software package for geometric morphometrics. *Molecular Ecology Resources* 11:353-357.
- LAI, H. L. & HELSER, T. 2004. Linear mixed-effects models for weight-length relationships. *Fisheries Research* 70:377-387.
- LAIKRE, L., MILLER, L. M., PALMÉ, A., PALM, S., KAPUSCINSKI, A. R., THORESSON, G. & RYMAN, N. 2005. Spatial genetic structure of northern pike (*Esox lucius*) in the Baltic Sea. *Molecular Ecology* 14: 1955-1964.

- LANDI, M., GAROIA, F., PICCINETTI, C. & TINTI, F. 2005. Isolation of polymorphic microsatellite loci from the European anchovy, *Engraulis encrasicolus*. *Molecular Ecology* 5: 266–268.
- LARSSON, L. C., LAIKRE, L., PALM, S., ANDRÉ, C., CARVALHO, G. & RYMAN, N. 2007. Concordance of allozyme and microsatellite differentiation in a marine fish, but evidence of selection at a microsatellite locus. *Molecular Ecology* 16: 1135–1147.
- LEAL, E. & OYARZÚN, C. 2003. Talla de madurez y época de desove de la reineta (*Brama australis* Valenciennes, 1836) en la costa central de Chile. *Investigaciones marinas* 31: 17–24.
- LEAR, W. H. & WELLS, R. 1984. Vertebral averages of juvenile cod. *Gadus morhua*. From coastal waters of eastern New found land and Labrador as indicators of stock origin. *Journal of the Northwest Atlantic Fishery Science* 5: 23–31.
- LENORMAND, T. 2002. Gene flow and the limits to natural selection. *Trends in Ecology & Evolution* 17:183–189.
- LESTER, R. J. G. & MACKENZIE, K. 2009. The use and abuse of parasites as stock markers for fish. *Fisheries Research* 97: 1–2.
- LEVENE, H. 1960. Robust tests for equality of variances. In: *Contributions to probability and statistics: essays in honor of Harold Hotelling* (Ed. by I. Olkin, S. G. Ghurye, W. Hoeffding, W. G. Madow & H. B. Mann), pp. 278–292. Stanford University Press, Stanford, California (USA).
- LIBRADO, P., ROZAS, J. 2009. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics* 25: 1451–1452.
- LITTLE, R. C., MILLIKEN, G. A., STROUP, W. W. & WOLFINGER, R. D. 1996. SAS system for mixed models. Sas Institute Inc., Cary, N.C. 455 pp.
- LOPEZ, L., RETUERTO, R., ROILLOA, S., SANTISO, X. & BARREIRO, R. 2015. A multi-faceted approach for assessing evolutionary significant conservation units in the endangered *Omphalodes littoralis* subsp. *gallaecica* (Boraginaceae). *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* 17(1): 54–65.
- LOVE, M. S. 1980. Isolation of olive rockfish, *Sebastes serranooides*, populations off Southern California. *Fishery Bulletin* 77: 975–983.
- LUCK, G. W., DAILY, G. C. & EHRLICH, P. R. 2003. Population diversity and ecosystem services. *Trends in Ecology and Evolution* 18: 331–336.

- MACHADO-SCHIAFFINO G, GARCIA-VAZQUEZ E. 2011. Population structure of long tailed hake *Macruronus magellanicus* in the Pacific and Atlantic oceans: Implications for fisheries management. *Fisheries Research*. 111(3) 164–169
- MACKENZIE, K. & ABAUNZA, P. 2005. Parasites as biological tags in (Cadrin, Friedland & Waldman eds) *Stock identification methods: applications in fisheries science*. 211-226.
- MACKENZIE, K. 1983. Parasites as biological tags in fish population studies. *Advances Applied Biology* 7: 251–331.
- MACLEAN, J., EVANS, O. 1981. The stock concept, discreteness of fish stocks and fisheries management. *Canadian Journal in Fisheries and Aquatic Sciences* 38: 1889-1898.
- MARCUS, L. E., CORTI, M., LOY, A., NAYLOR, G. J. P. & SLICE, D. 1996. *Advances in Morphometrics*. Plenum Press. New York.
- MATSCHINER, M., HANEL, R. & SALZBURGER W. 2009. Gene flow by larval dispersal in the Antarctic notothenioid fish *Gobionotothen gibberifron*. *Molecular Ecology* 18: 2573-2587.
- MATTIUCCI, S. & NASCETTI, G. 2008. Advances and trends in the molecular systematics of anisakid nematodes, with implications for their evolutionary ecology and host-parasite co-evolutionary processes. *Advances in Parasitology* 66: 47-148.
- MCKEOWN, N. J., ARKHIPKIN, A. I. & SHAW, P. W. 2015. Integrating genetic and otolith microchemistry data to understand population structure in the Patagonian Hoki (*Macruronus magellanicus*). *Fisheries Research* 164: 1-7.
- MEAD, G. W. 1972. *Bramidae*. *Dana Report* 81:1-166.
- MELVIN, G., DADSWELL, D. M. J. & MCKENZIE, J. A. 1992. Usefulness of meristic and morphometric characters in discriminating populations of American shad (*Alosa sapidissima*) (Ostreichthyes; Clupeidae) inhabiting a marine environment. *Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 49:266-280.
- MILLAR, R. B. 1987. Maximum likelihood estimation of mixed stock fishery composition. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 44: 583–590.
- MORITZ, C. & FAITH, D. P. 1998. Comparative phylogeography and the identification of genetically divergent areas for conservation. *Molecular Ecology* 7(4): 419-429.
- MORITZ, C. 1994. Defining ‘evolutionary significant units’ for conservation. *Trends in Ecology and Evolution* 9:373–375.

- MORITZ, C. 1995. Uses of molecular phylogenies for conservation. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 349(1327): 113-118.
- MORITZ, C. 2002. Strategies to protect biological diversity and the evolutionary processes that sustain it. *Systematic Biology* 51(2): 238-254.
- MUÑOZ, G., CORTÉS, N., ARRIAZA, M. & OYARZÚN, C. 1995. Alimentación de una especie poco conocida, *Brama australis*, en la costa centro sur de Chile. *Revista de Biología Pesquera* 24: 51-55.
- MURTA, A., ABAUNZA, P., CARDADOR, F. & SÁNCHEZ, F. 2008. Ontogenetic migrations of horse mackerel along the Iberian coast. *Fisheries Research* 89: 186-195.
- NELSON, J. S. 2006. *Fishes of the world*. John Wiley and Sons, New York. 610 p.
- NIKLITSCHKEK, E. J., SECOR, D. H., 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. (Ed. by E. Niklitschek, P. Toledo & A. Lafon), pp. 73-81. Universidad Austral de Chile (Centro Trapanada), Coyhaique, Chile.
- NIKLITSCHKEK, E. J., SECOR, D. H., TOLEDO, P., LAFON, A. & GEORGE-NASCIMENTO, M. 2010. Segregación de stocks de merluza de tres aletas en la Patagonia: integrando evidencia obtenida de microquímica de otolitos y parásitos. Concepción, Chile.
- NIKLITSCHKEK, E. J., SECOR, D. H., TOLEDO, P., VALENZUELA, X., CUBILLOS, L. A. & ZULETA, A. 2014. Nursery systems for Patagonian grenadier off Western Patagonia: large inner sea or narrow continental shelf?. *ICES Journal of Marine Science* 71: 374-390.
- NOBLE, E. & NOBLE, G. 1982. *Parasitology "The Biology of Animal Parasites"*. Lea & Febiger. 5ta Edición. Filadelfia. 522 pp.
- OJEDA F. P. 1982. *Iconografía de los principales recursos pesqueros*. Subsecretaría de Pesca, 112 pp.
- OLDEWAGE, W. H. 1993. Morphological variation in *Hatschekia conifera* Yamaguti, 1939 (Copepoda: Siphonostomatoida) from the Southern Atlantic Ocean. *Crustaceana* 65:41-45.
- OLIVA, M. & BALLÓN, I. 2002. Parasites of the Chilean hake *Merluccius gayi* as a tool for stocks discrimination. *Fisheries Research* 56: 313-320.

- OLIVA, M. 1999. Metazoan Parasites of the jack mackerel *Trachurus murphyi* Nichols, 1920 (Teleostei, Carangidae) in a latitudinal gradient from South America (Chile and Perú). *Parasites* 6 (3): 223-230.
- OLIVA, M. E. & GONZALEZ, M.T. 2004. Metazoan parasites of *Sebastes capensis* from two localities in northern Chile as tools for stock identification. *Journal of Fish Biology* 64 (1), 170-175.
- OLIVA, M. E. & SÁNCHEZ, M. 2005. Metazoan parasites and commensals of the northern Chilean scallop *Argopecten purpuratus* (Lamarck, 1819) as tools for stock identification. *Fisheries Research* 71: 71-77.
- OLIVA, M. E. 2001. Metazoan parasites of *Macruronus magellanicus* from southern Chile as Biological tags. *Journal Fish Biology* 58: 1617-1622.
- OLIVA, M. E., VALDIVIA, I. M., COSTA, G., FREITAS, M. A., PINHEIRO DE CARVALHO, M., SÁNCHEZ, L. & LUQUE, J. L. 2008. What can metazoan parasites reveal about the taxonomy of *Scomber japonicus* Houttuyn in the coast of South America and Madeira Islands?. *Journal of Fish Biology* 72: 545–554.
- OLIVA, M., GONZALEZ, M. T. & ACUÑA, E. 2004. Metazoan Parasite Fauna as Biological Tag for the Habitat of the Flounder *Hippoglossina macrops* from Northern Chile, in a Depth Gradient. *Journal of Parasitology* 90:1374-1377.
- OYARZÚN, C. 2001. Catálogo de los peces presentes en el sistema de corrientes de Humboldt frente a Chile Centro-Sur. Departamento de Oceanografía. 108 pp.
- PANNELLA, G. 1971. Fish otoliths: daily growth layers and periodical patterns. *Science* 173: 1124–1127.
- PAVÉZ, P., MELO, T., CERIOLA, H., HURTADO F. & RASMUSSEN, P. 1998. Análisis y Evaluación de la Pesquería de la Reineta (*Brama australis*) en el Litoral de la V Región. Proyecto FIP 96- 26. Informe Final.
- PAVLOV, Y. U. P. 1991. Information on Morphometrics and Ecology of Pomfrets of the Genus *Brama* inhabiting the Southeast Pacific Ocean. *Journal of Ichthyology* 31: 120-124.
- PEAKALL, R. & SMOUSE, P. E. 2012. GenAIEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research – an update. *Bioinformatics* 28:2537-2539.
- PEMBERTON, J. M., SLATE, J., BANCROFT, D. R. & BARRETT, J. A. 1995. Non amplifying galleles at microsatellite loci: caution for parent- age and population studies. *Molecular Ecology* 4: 249-252.

- PEQUEÑO, G. 1989. Peces de Chile. Lista sistemática revisada y comentada. *Revista de Biología Marina (Valparaíso)* 24 (2):1-132.
- PEREYRA, R. T., SAILLANT, E., PRUETT, C. L., REXROAD, C. E., ROCHA-OLIVARES, A. & GOLD, J. R. 2004. Characterization of polymorphic microsatellites in the Pacific sardine *Sardinops sagax sagax* (Clupeidae). *Molecular Ecology Notes* 4: 739–741.
- PINHEIRO, J. C. & BATES, D. M. 2000. Mixed effects models in S and S-PLUS. Springer Verlag, New York (USA). 528 pp.
- REISS, H., HOARAU, G., DICKEY-COLLAS, M. & WOLFF, W. J. 2009. Genetic population structure of marine fish: mismatch between biological and fisheries management units. *Fish and Fisheries* 10(4): 361-395.
- RICO, C., RICO, I. & HEWITT, G. M. 1997. Stock composition in North Atlantic populations of whiting using microsatellite markers. *Journal of Fish Biology* 51: 462-475.
- ROHLF, F.J. 1990. Fitting curves to outlines. En *Proceedings of the Michigan Morphometrics Workshop* (Rohlf FJ y Bookstein FL. eds.). Special Publ. No. 2. The University of Michigan Museum of Zoology. Pp. 167-177.
- ROOKER, J. & SECOR, D. H. 2004. Stock structure and mixing of Atlantic bluefin tuna: evidence from stable d13C and d18O isotopes in otoliths. *Collective Volume of Scientific Papers ICCAT* 56: 1115–1120.
- ROOKER, J. R., SECOR, D. H., DE METRIO, G., SCHLOESSER, R., BLOCK, B. A. & NEILSON, J. D. 2008. Natal homing and connectivity in Atlantic bluefin tuna populations. *Science* 322: 742–744.
- RUBINOFF, D. 2006. Utility of mitochondrial DNA barcodes in species conservation. *Conservation Biology* 20: 1026–1033.
- RYDER, O. A. 1986. Species conservation and systematics: the dilemma of subspecies. *Trends in Ecology and Evolution*, 1: 9-10.
- RYMAN, N. & JORDE, P.E. 2001. Statistical power when testing for genetic heterogeneity. *Molecular Ecology* 10: 2361-2373.
- RYMAN, N. & PALM, S. 2006. POWSIM: a computer program for assessing statistical power when testing for genetic differentiation. *Molecular Ecology Notes* 6:600-602.
- RYMAN, N., PALM, S. & ANDRÉ, C. ET AL. 2006. Power for detecting genetic divergence: differences between statistical methods and marker loci. *Molecular Ecology* 15:2031-2045.

- SAN MARTÍN, M., LEAL, E., LILLO, S. 2011. Antecedentes sobre distribución y batimetría de la reineta *Brama australis* en la costa de Chile. *Consenso Ciencias del Mar XXXI*. Viña del Mar.
- SANKURATHRI, C. S., KABATA, Z. & WHITAKER, D.J. 1983. Parasites of the Pacific hake, *Merluccius productus* (Ayres, 1855) in the Strait of Georgia, in 1974–1975. *Syesis* 16: 5–22.
- SCHUCHERT, P. C., ARKHIPKIN, A. I. & KOENIG, A. E. 2010. Traveling around Cape Horn: otolith chemistry reveals a mixed stock of Patagonian hoki with separate Atlantic and Pacific spawning grounds. *Fisheries Research* 102: 80–86.
- SEARLE, S. R. 1987. *Linear models for unbalanced data*. Wiley, New York (USA).
- SECOR, D. H. 1999. Specifying divergent migrations in the concept of stock: the contingent hypothesis. *Fisheries Research* 43: 13–34.
- SECOR, D. H. 2010. Is otolith science transformative? New views on fish migration. *Environmental Biology of Fishes* 89: 209–220.
- SELKOE, K. A. & TOONEN, R.J. 2006. Microsatellites for ecologists: a practical guide to using and evaluating microsatellite markers. *Ecology Letters* 9: 615–629.
- SLATKIN, M. 1995. A measure of population subdivision based on microsatellite allele frequencies. *Genetics* 139: 457–462.
- SMITH, S. J. & CAMPANA, S. E. 2010. Integrated stock mixture analysis for continuous and categorical data, with application to genetic-otolith combinations. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 67: 1533–1548.
- SPALDING, M. D., FOX, H. E., ALLEN, G. R., DAVIDSON, N., FERDAÑA, Z. A., FINLAYSON, M., HALPERN, B. S., JORGE, M. A., LOMBANA, A. L., LOURIE, S. A. & OTHERS 2007. Marine ecoregions of the world: a bioregionalization of coastal and shelf areas. *BioScience* 57: 573–583.
- SPANAKIS, E., TSIMENIDES, N., ZOURES, E. 1989. Genetic difference between populations of sardine *Sardina pilchardus*, and anchovy *Engraulis encrasicolus*, in the Aegean and Ionian seas. *Journal of Fish Biology* 35: 365–378.
- SPEARE, P. 1994. Relationships among black marlin *Makaira indica*, in Eastern Australian coastal waters, inferred from parasites. *Australian Journal Marine and Freshwater Research* 45: 535–549.

- STANLEY, R. D., LEE, D.L. & WHITAKER, D.J. 1992. Parasites of Yellowtail rockfish, *Sebastes flavidus* (Ayres, 1862) (Pisces: Teleostei), from the Pacific coast of North America as potential biological tags for stock identification. *Canadian Journal of Zoology* 70: 1086–1096.
- STOCKWELL, C. A., MULVEY, M., & JONES, A. G. 1998. Genetic evidence for two evolutionarily significant units of White Sands pupfish. *Animal Conservation*, 1(03), 213-225.
- SWAIN, D. P. & FOOTE, C. J. 1999. Stocks and chameleons: the use of phenotypic variation in stock identification. *Fisheries Research* 43: 113-128.
- TAYLOR, E. B. & MCPHAIL, J. D. 1985. Burst swimming and size-related predation of newly emerged coho salmon *Oncorhynchus kisutch*. *Transactions of the American Fisheries Society* 114:546–551.
- TAYLOR, B. L. & DIZON, A. E. (1996). The need to estimate power to link genetics and demography for conservation. *Conservation Biology*. 10: 661 – 664.
- TAYLOR, B. L. & DIZON, A. E. (1999). First policy then science: why a management unit based solely on genetic criteria cannot work. *Molecular Ecology*, 8(s1), S11-S16.
- TAYLOR, B. L. 2005. Identifying units to conserve. *Marine mammal research: Conservation beyond crisis*. The John Hopkins University Press, Baltimore, MD: 149–164.
- THOMPSON, J. D., GIBSON, T. J., PLEWNIAK, F., JEANMOUGIN, F. & HIGGINS, D. G. 1997. The CLUSTAL_X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Research* 25: 4876-4882.
- TORRES, P., JERCIC, M. I., WEITZ, J. C., DOBREW, E. K. & MERCADO, R. A. 2007. Human Pseudoterranovosis, an Emerging Infection in Chile. *Journal of Parasitology* 93: 440-443.
- TURAN, C. 2004. Stock identification of Mediterranean horse mackerel (*Trachurus mediterraneus*) using morphometric and meristic characters. *Journal of Marine Science* 61: 774-781.
- UNTERGRASSER, A., CUTCUTACHE, I., KORESSAAR, T., YE, J., FAIRCLOTH, B.C., REMM, M. & ROZEN, S.G. 2012. Primer3 - new capabilities and interfaces. *Nucleic Acids Research* 40, e115
- VALDIVIA, I., CHAVEZ, R. & OLIVA, M. E. 2007. Metazoan Parasites of *Engraulis ringens* as tools for stock discrimination along the Chilean coast. *Journal Fish Biology* 70: 1504-1511.
- VAN OOSTERHOUT, C., HUTCHINSON, W., WILLS, D. & SHIPLEY, P. 2004. MICRO-CHECKER: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Molecular Ecology Notes* 4: 535– 538.

- VANDEHEY, J., SLOSS, B., PEETERS, P. & SUTTON, T. 2009. Genetic structure of lake whitefish *Coregonus clupeaformis* in Lake Michigan. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 66: 382-393.
- VENABLES, W. N. & DICHMONT, C. M. 2004. GLMs, GAMs and GLMMs: an overview of theory for applications in fisheries research. *Fisheries Research* 70: 319–337.
- VENABLES, W. N. & RIPLEY, B. D. 2002. *Modern applied statistics with S*. Springer, New York. 495 pp.
- VENCES, M., THOMAS, M., MEIJDEN, A. V. D., CHIARI, Y. & VIEITES, D. R. 2005. Comparative performance of the 16S rRNA gene in DNA barcoding of amphibians. *Frontiers in Zoology* 2: 5.
- VERÍSSIMO, A., MCDOWELL, J. R. & GRAVES, J. E. 2010. Global population structure of the spiny dogfish *Squalus acanthias*, a temperate shark with an antitropical distribution. *Molecular Ecology* 19: 1651-1662.
- VERÍSSIMO, A., MCDOWELL, J. R. & GRAVES, J. E. 2011. Population structure of a deep-water squaloid shark, the Portuguese dogfish (*Centroscyrnus coelolepis*). *Journal of Marine Sciences* 68(3): 555-563.
- VIGILANT, L., STONEKING, M., HARPENDING, H., HAWKES, K. & WILSON, A.C. 1991. African populations and the evolution of human mitochondrial DNA. *Science*, 253: 1503-1507.
- VILAS, R., BOUZA, C., CASTRO, J., LÓPEZ, A. & MARTINEZ, P. 2010. Management units of brown trout from Galicia (NW: Spain) based on spatial genetic structure analysis. *Conservation Genetics* 11(3): 897-906.
- VILLALBA, C. 1986. Contribución al conocimiento del género *Hatschekia* Poche, 1902 en Chile (Copepoda: Hatschekidae) *Boletín Sociedad de Biología de Concepción* 37:155-170.
- VOGLER, A. P., DESALLE, R. 1994. Diagnosing units of conservation management. *Conservation Biology*, 6: 170-178.
- WAHLUND, S. 1928. Zusammensetzung von Population und Korrelationserscheinung vom Standpunkt der Vererbungslehre aus betrachtet. *Hereditas* 11: 65-106.
- WAHLUND, S. 1928. Zusammensetzung von Population und Korrelationserscheinung vom Standpunkt der Vererbungslehre aus betrachtet. *Hereditas* 11, 65-106.
- WALTHER, B. D. & LIMBURG, K. E. 2012. The use of otolith chemistry to characterize diadromous migrations. *Journal of Fish Biology* 81: 796–825.

- WANG, I. J. 2010. Recognizing the temporal distinctions between landscape genetics and phylogeography. *Molecular Ecology* 19: 2605–2608.
- WAPLES, R. D. 1998. Separating the wheat from the chaff: patterns of genetic differentiation in high gene flow species. *The Journal of Heredity* 98, 438–450.
- WAPLES, R. S. 1991. Pacific Salmon, *Oncorhynchus* spp. & the definition of “species” under the endangered species act. *Marine Fisheries Reviews* 53: 11-22.
- WARD, R. D., ZEMLAK, T. S., INNES, B. H., LAST, P. R. & HEBERT, P. D. N. 2005. DNA barcoding Australia's fish species. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences* 360: 1847–1857.
- WEIR, B. S. & COCKERHAM, C. 1984. Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution* 38(6): 1358-1370.
- WILSON, A. C., CANN, R. L., CARR, S. M., GEORGE, M., GYLLENSTEN, U. B., HELM-BYCHOWSKI, K. M., HIGUCHI, R. G., PALUMBI, S. R., PRAGER, E. M., SAGE, R. D. & STONEKING, M. 1985. Mitochondrial DNA and two perspectives on evolutionary genetics. *Biological Journal of the Linnean Society of London* 26: 375-400.
- WOOD, S. N. 2000. Modelling and smoothing parameter estimation with multiple quadratic Penalties. *Journal of the Royal Statistical Society: Series B* 62: 413-428.
- WOOD, S. N. 2003. Thin-plate regression splines. *Journal of the Royal Statistical Society: Series B* 65: 95-114.
- WOOD, S. N. 2006. *Generalized Additive Models: An Introduction with R*. Chapman and Hall/CRC.
- WOOD, S. N., AUGUSTIN, N. H. 2002. GAMs with integrated model selection using penalized regression splines and applications to environmental modelling. *Ecological Modelling* 157:157-177.
- 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. *Computers & Geosciences* 25: 1159–1166.
- XU, H., ZHANG, Y., XU, D., LOU, B., GUO, Y., SUN, X. & GUO, B. 2014. Genetic population structure of miiuy croaker (*Micthys miuy*) in the Yellow and East China Seas base on mitochondrial COI sequences. *Biochemical Systematics and Ecology* 54: 240-246.

- ZANE, L., BARGELLONI, L. & PATARNELLO, T. 2002. Strategies for microsatellite isolation. A review
Molecular Ecology 11: 1-16.
- ZUN, P., YIN, F., SHI, Z. & PENG, S. 2013. Genetic structure of silver pomfret (*Pampus argenteus* (Euphrasen, 1788)) in the Arabian Sea, Bay of Bengal, and South China Sea as indicated by mitochondrial COI gene sequences. Journal of Applied Ichthyology 29: 733-737.