INSTITUTO DE FOMENTO PESQUERO

INFORME FINAL

Revisión de la asignación por grupo de edad en la anchoveta de la zona norte

FIP N°2009-17 / Noviembre-2011

INFORME FINAL

Revisión de la asignación por grupo de edad en la anchoveta de la zona norte

FIP N° 2009-17 / Noviembre-2011

REQUIRENTE

FONDO DE INVESTIGACIÓN PESQUERA
Presidente Consejo de Investigación Pesquera
Pablo Galilea Carrillo

EJECUTOR

INSTITUTO DE FOMENTO PESQUERO, IFOP

Jefe División Investigación Pesquera
Mauricio Braun Alegría

Director Ejecutivo
Jorge Antonio Toro Da'Ponte

JEFE DE PROYECTO
Francisco Cerna Troncoso

AUTORES
Análisis Macro-estructura y Criterios de edad (IFOP)
Francisco Cerna T.
Cecilia Machuca R.
Amalia López A.
Rodolfo Serra B.
Vilma Ojeda C.

Análisis Micro-estructura (PUCV)
Guido Plaza P.
Guillermo Moyano A.
Daisy Carreño V.

COLABORADORES (IFOP)
Carlos Gaspar S.
Lizando Muñoz R.
Juan Carlos Saavedra N.

PREÁMBULO

1.- El CONSEJO DE INVESTIGACIÓN PESQUERA, representado por su Titular, don Jorge Chocair Santibáñez, y el INSTITUTO DE FOMENTO PESQUERO, Rut N° 61.310.000-8, representado legalmente por su Director Ejecutivo don Juan Mauricio Braun Alegría, suscribieron, con fecha 5 de octubre de 2009, el convenio para la ejecución del proyecto FIP N° 2009-17 denominado "REVISIÓN DE LA ASIGNACIÓN POR GRUPO DE EDAD EN LA ANCHOVETA DE LA ZONA NORTE". El CONSEJO DE INVESTIGACIÓN PESQUERA, mediante Decreto Exento N° 1618, de 26 de octubre de 2009 aprobó el convenio indicado.

2.- En conformidad con lo establecido en el N° 7 de la cláusula quinta del citado convenio el INSTITUTO DE FOMENTO PESQUERO se obligó a entregar al CONSEJO DE INVESTIGACIÓN PESQUERA, los siguientes informes: Informe de avance. Pre-informe final. Informe final y preparación, revisión y envío de Publicación Científica.

3.- Además, en conformidad con la cláusula décimo primera el INSTITUTO DE FOMENTO PESQUERO se obligó a entregar al CONSEJO DE INVESTIGACIÓN PESQUERA, los siguientes informes y bases de datos: a) Un informe de avance, al término del 7° mes de iniciado el proyecto. b) Un pre-informe final, a entregar al término del 14° mes de iniciado el proyecto. c) Un informe final al término del 16° mes de iniciado el proyecto habida consideración de las observaciones al pre-informe final.

4.- Mediante Carta IFOP/DIP/N°213/2011/DIR N°554 el INSTITUTO DE FOMENTO PESQUERO hizo entrega del Informe Final en los términos establecidos en el convenio, específicamente en la letra b) de la cláusula décimo primera.

5.- El CONSEJO DE INVESTIGACIÓN PESQUERA, a través de Carta FIP N° 329, de 20 de octubre del año 2011, realizó observaciones menores al Informe Final, según la facultad contenida en la cláusula quinta del convenio.

6.- El INSTITUTO DE FOMENTO PESQUERO ha efectuado las correcciones indicadas en las observaciones del CONSEJO DE INVESTIGACIÓN PESQUERA dentro de los plazos establecidos en el inciso tercero de la cláusula décimo tercera. Las correcciones realizadas se encuentran incorporadas en las páginas, a saber:

a) Página 5 a la 8: Se incluyó resumen ejecutivo en inglés.
b) Página 56 último párrafo: se corrigen las tasas de crecimiento.
c) Página 57, Tabla 5: Se ajustaron las relaciones longitud (cm) y edad (días) y se corrige coeficiente de determinación (r^2).
d) Archivo de datos "EDADCREC.dbf" fue corregido de acuerdo a las indicaciones del evaluador.
e) Archivo de datos "EDADJUNV.dbf" fue corregido de acuerdo a las indicaciones del evaluador.
f) Archivo de datos "EDADADUL.dbf" fue corregido de acuerdo a las indicaciones del evaluador.
g) Archivo de Word "Índice Base de Datos.doc" fue corregido de acuerdo a las indicaciones del evaluador.

7.- En presente documento contiene el Informe Final corregido con el propósito de que sea evaluado por el CONSEJO DE INVESTIGACIÓN PESQUERA en el plazo a que se refiere el inciso primero de la cláusula décimo tercera proceda a efectuar la calificación pertinente.

1. RESUMEN EJECUTIVO

La anchoveta de la zona norte es un recurso de gran importancia económica y social, cuya unidad poblacional es compartida con el Perú y se distribuye entre 16°S y 24°S. El manejo de la pesquería nacional se realiza sobre la base de capturas totales permisibles, vedas reproductivas y de reclutamiento. La captura total permisible se estima de los resultados de un modelo de evaluación de stock estructurado por edades.

El problema original de este estudio se basa en que durante el período de reclutamiento del verano se registran ejemplares entre 5 y 12 cm LT, siendo difícil aceptar por ejemplo, que un ejemplar de 8 a 9 cm provenga del desove de agosto-septiembre, de acuerdo con la función de crecimiento previamente aceptada para esta especie. Lo anterior junto con el largo período de desove y consiguiente largo período de reclutamiento, constituyen una base fundada para pensar que el reclutamiento de verano contiene mezcla de clases anuales, lo que a su vez origina fuertes dudas sobre la validez de los criterios actualmente empleados para clasificar la anchoveta por grupo de edad.

El objetivo de este estudio fue revisar la determinación de edad de la anchoveta y definir criterios mejorados de asignación de edad y grupos de edad. Esto se llevó a cabo verificando la correcta estimación de edad de los ejemplares de un año.

Este informe final recoge los resultados de actividades correspondientes a los cuatro objetivos específicos del proyecto incorporando en el análisis la micro-estructura de otolitos de anchovetas juveniles colectados entre noviembre 2009 y octubre 2010 en la zona norte de Chile. Un notorio hallazgo fue la ocurrencia de dos tipos de otolitos con rasgos micro-estructurales distintivos en otolitos de

juveniles con longitudes menores a 10 cm LT, los cuales fueron incluso evidentes en muestras sin preparar. Tipo A, de consistencia translucida (hialina) y tipo (B), mayoritariamente opaco y con menor resolución en los micro-incrementos diarios. A pesar de estas diferencias se logró caracterizar la micro-estructura en un total de 300 otolitos sagitales.

Otro hallazgo distintivo del presente estudio fue el elevado crecimiento de la especie durante su fase larval y juvenil temprana, donde ejemplares cuya edad fluctuó entre los 56 y 77 días alcanzaron en promedio 8 cm de longitud total. Si esto se compara con las observaciones hechas en la macro-estructura del otolito, el primer anillo hialino de crecimiento que comienza a formarse en el borde del otolito (a una distancia de 0,695 mm desde el núcleo) en peces con tallas entre 7,5 a 12,0 cm, tiene una periodicidad inferior a la anual y correspondería a una zona de crecimiento lento, cuya naturaleza permanece por dilucidarse.

Los hallazgos evidenciaron que la anchoveta del norte *Engraulis ringens* creció a una tasa diaria global promedio de 1,2 mm d^{-1} en los primeros dos meses de vida, donde alcanzó aproximadamente los 8 cm de longitud total. En la etapa juvenil tardía, la relación talla-edad a nivel global y por cohorte mensual de nacimiento se ajustó significativamente a un modelo Laird-Gompertz, demostrando que para el rango de juveniles analizados (7-12 cm) el crecimiento se tornó asintótico, presumiblemente vinculado al proceso inicial de primera madurez sexual. En este mismo etapa la especie disminuyó su tasa de crecimiento, tiempo durante el cual se inició la formación de la primera zona hialina a aproximadamente los 71 días de vida. No obstante, se observó que la especie fue capaz de alcanzar los 12 cm longitud total en aproximadamente 4 meses de vida. Evidencia adicional para este elevado crecimiento fue la relación entre la distribución de frecuencia de la fecha de captura y las fechas de nacimientos, donde se demostró que en promedio los

juveniles de *E. ringens* reclutan a los 3-4 meses de vida en forma consistente durante prácticamente todo un ciclo anual, proveyendo de múltiples cohortes para sostener un reclutamiento permanente de esta especie en la zona norte de Chile.

Mediante una técnica de pulido serial en posición sagital fue posible revelar la micro-estructura en otolitos de adultos (13,0-17,5 cm LT) de *E. ringens*, lo que permitió obtener una secuencia completa de micro-incrementos primarios (presumiblemente diarios) que fluctuaron entre 154 y 378, desde el primordio hasta el borde de otolitos, los cuales no coincidieron con la edad anual asignada de 2-3 años. La ausencia de concordancia puede obedecer a dos posibles fenómenos distintos, a saber: 1) puede ser producto de una interrupción del crecimiento que afectó la depositación a nivel de micro-incrementos primarios, o 2) puede ser un indicador de que la longevidad de la especie está siendo sobre-estimada, al utilizar el criterio de dos bandas anuales para asignación de la edad.

Varias preguntas claves surgen de los hallazgos del presente estudio, en relación a la problemática original, *i.e., ¿Engraulis ringens* es una especie que maximiza todo su potencial para alcanzar su longitud asintótica en el primer año de vida, a costa de reducir drásticamente su crecimiento para maximizar la reproducción?, ¿O simplemente estamos en presencia de una sobre-estimación de la edad en algunos engráulidos, que podrían ser mucho menos longevos de lo que se ha conocido hasta ahora? Estas interrogantes adquieren importancia en función de los recientes hallazgos en otros clupeidos (Pierce *et al*. 2001; Lessa *et al.* 2008), donde se ha demostrado que la frecuencia de formación de las bandas opacas y hialinas mostraron tener una periodicidad de sólo meses, por causas aún desconocidas.

Para resolver estas interrogantes en la anchoveta *E. ringens* se torna urgente desarrollar un estudio en el corto plazo, que permita validar la periodicidad diaria de los micro-incrementos a nivel juvenil y adulto, debido que una potencial sobre-estimación de la edad en esta especie estaría afectando notoriamente las medidas de manejo de la pesquería.

Sin embargo, los resultados alcanzados permiten sugerir un cambio en los criterios de asignación de grupos de edad hasta ahora aplicados. Se propone la asignación de grupos de edad que considere la edad determinada para cada pez sin referencia a una fecha arbitraria de nacimiento, que permitiría tener una correcta distribución de los peces reclutas (peces de edad cero) durante todo el año y representaría de mejor forma la dinámica de la anchoveta de la zona norte de Chile, cuyo desove prolongado origina múltiples cohortes durante el año.

ABSTRACT

The Northern anchovy is a resource of a great economic and social importance, whose stock unit is shared with Peru and distributed between -16° and -24°. The fishery national management realized on based of Total Allowed Captures-TAC, closed season by reproduction or recruitment. TAC is estimated by results of assessment stock model structured by ages.

The original problem of this study produced in the summer recruitment, where registered specimens between 5 and 12 cm LT being difficult to accept, for example that a specimen of 8 and 9 cm came from spawning August-September, according to the growth function previously accepted for this specie. Above, jointly with the spawning long period and recruitment long period constitute a sound basis for thinking that the summer recruitment contains a mix of annual classes, which in turn arises strong doubts about criteria validity currently used for classifying anchovy by age group.

This study aims to review age anchovy determination and to define criteria improved on age assignment and age groups. This was performed by verifying the correct age estimation of a specimen of one year old.

This final report collect the activities results equivalent to four specific project objectives including in the analysis the microstructure of juvenile anchovies otoliths compiled between November 2009 and October 2010 in northern area of Chile. A notable finding was the occurrence of two types of otoliths with distinctive micro-structural features in juvenile otoliths with lengths less than 10 cm LT, which were evident in non- prepared samples. Type A: (hyaline) translucent consistency and, type B: mostly opaque and less resolution in the daily micro-increments. Despite

these differences did characterize the micro-structure in a total of 300 sagittal otoliths.

One of the main finding in this study was the high growth of the specie during the larval and early juvenile phase, where specimens, whose age fluctuated between 56 and 77 days, reached in average 8 cm total length. If this is compared with the observation made in the otolith's macro-structure, the first hyaline growth ring begins forming in the otolith's edge, at a distance of 0.695 mm from nucleus, in fishes of 7.5 to 12.0 cm with a periodicity less than one year, which would correspond to an area of slow growth, whose nature remains still unknown.

Los hallazgos evidenciaron que la anchoveta del norte *Engraulis ringens* creció a una tasa diaria global promedio de 1.2 mm d-1 en los primeros dos meses de vida, donde alcanzó aproximadamente los 8 cm de longitud total. En la etapa juvenil tardía, la relación talla-edad a nivel global y por cohorte mensual de nacimiento se ajustó significativamente a un modelo Laird-Gompertz, demostrando que para el rango de juveniles analizados (7-12 cm) el crecimiento se tornó asintótico, presumiblemente vinculado al proceso inicial de primera madurez sexual.

The findings showed that the north anchovy, i. e., *Engraulis ring*ens, grew at an overall average daily rate of 1.2 mm d-1 in its first life months, where reached a total length of 8 cm. In the juvenile late phase, the relation length-age al a global level and by monthly birth cohort adjusted significantly to Laird-Gompertz model showing that the growth turned asymptotic for the juvenile ranges analyzed (7-12 cm) presumably linked to the initial process of first sexual maturity.

At this stage, the specie decreased its growth stage, during which time began the formation of the first hyaline area about 71 life days. However, observed that the

specie was able to reach 12 cm total length after approximately four life months. The relation between frequency distribution of catch date and the birth dates were the evidence of the high growth obtained, where was shown that in average the E. ringens juveniles recruit at the 3 - 4 life months in a consistent form during a whole annual cycle.

Through a technique of serial polishing applied on the otoliths in sagittal was possible to reveal the micro-structure in adults' otoliths (13.0-17.5 cm LT) of E. ringens, which allowed obtaining a complete sequence of primary micro-increments, presumably daily, which fluctuated between 154 and 378 from the primordium to the otoliths' edge. These measurements did not coincide with the 2-3 years old age assigned annually.

The concordance absence may be a consequence of two different phenomena, namely: 1°) It could be product of a growth interruption, which could have affected the deposit at level of micro-increments primary; or 2°) It could be an indicator that the age of specie is being overestimated, using the annual two-band criterion for age assignment.

A lot of key questions arise of the finding of this study in relation to the original problem, i.e., is *E. ringens* a specie that maximizes all its potential to reach its asymptotic length in the first year of life, at the expense of drastically reducing its growth for maximizing reproduction?,

Or merely, we are in presence of an overestimation of the age in some *engraulids*, which could be much less long-lived than it has been known until today? These questions become important when related to recent findings in other *Clupeidae* (Pierce et al. 2001; Lessa et al. 2008) where it has been shown that the formation

frequency of opaque and hyaline bands showed a periodicity of only months for reasons still unknown.

To resolve these questions is urgent to develop a study in short term, that allows validating the daily periodicity of micro-increments at juvenile and adult level since a potential overestimation of age in this specie would be affecting notoriously the measurements of fisheries management.

Nevertheless, the results achieved allow suggesting a change in the assignment criteria of age groups till today applied. It proposed allocation of age groups that considers the age determined for each fish without reference to an arbitrary birth date.

2. ÍNDICE GENERAL

		Página
1.	**RESUMEN EJECUTIVO / ABSTRACT**	**1**
2.	**ÍNDICE GENERAL**	**9**
3.	**ÍNDICE DE TABLAS, FIGURAS Y ANEXOS**	**12**
4.	**ANTECEDENTES**	**24**
5.	**OBJETIVOS GENERAL**	**30**
6.	**OBJETIVOS ESPECÍFICOS**	**30**
7.	**METODOLOGÍA**	**31**
7.1	Muestreo	31
7.2	Determinación de las fechas de nacimiento de juveniles	33
7.2.1	Análisis de la micro-estructura de otolitos	33
7.2.1.1	Caracterización de la micro-estructura	33
7.2.1.2	Precisión lectura micro-incrementos diarios	36
7.2.1.3	Lectura de micro-incrementos y tasa de crecimiento diario	36
7.2.1.4	Verificación de micro-incrementos primarios con Microscopía Electrónica de Barrido (SEM)	37
7.2.2	Determinar las fechas de nacimiento de los ejemplares a través del año	38
7.3	Verificar la correcta estimación de edad de ejemplares de un año	38
7.4	Revisión de los criterios utilizados para asignar edad y grupo de edad	39
7.4.1	Análisis de la macro-estructura de otolitos	39
7.4.1.1	Caracterización de tipos de otolitos de acuerdo a la edad anual	40
7.4.1.2	Precisión en la estimación de edad anual	40
7.4.1.3	Periodicidad en la formación de *annuli*	41
7.4.2	Análisis del tipo de núcleo	42
7.4.3	Revisión de los criterios de asignación de grupo de edad	42

8. RESULTADOS ---------- 43

8.1 Muestreo ---------- 43

8.2 Determinación de las fechas de nacimiento de juveniles ---------- 44
8.2.1 Análisis de la micro-estructura de otolitos ---------- 44
8.2.1.1 Caracterización de la micro-estructura ---------- 44
8.2.1.2 Precisión lectura micro-incrementos diarios ---------- 52
8.2.1.3 Lectura de micro-incrementos diarios y tasas de crecimiento diario 53
8.2.1.4 Verificación de micro-estructura con Microscopio Electrónica Barrido (SEM) ---------- 63
8.2.2 Determinar las fechas de nacimiento de los ejemplares a través del año ---------- 66

8.3 Verificar la correcta estimación de edad de ejemplares de un año ----- 69

8.4 Revisión de los criterios utilizados para asignar edad y grupo de edad 77
8.4.1 Análisis de la macro-estructura de otolitos ---------- 77
8.4.1.1 Caracterización de tipos de otolitos de acuerdo a la edad anual - 77
8.4.1.2 Precisión en la estimación de edad anual ---------- 84
8.4.1.3 Periodicidad en la formación de *annuli* ---------- 85
8.4.2 Análisis del tipo de núcleo ---------- 87
8.4.3 Revisión de los criterios de asignación de grupo de edad --------- 90

8.5 Sobreoferta 1: Análisis del crecimiento anual ---------- 94

8.6 Sobreoferta 2: Evaluación hipótesis crecimiento – mortalidad ---------- 96

9. DISCUSIÓN ---------- 101

10. CONCLUSIONES ---------- 112

11. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS ---------- 115

ANEXOS:

Anexo I. Antecedentes generales necesarios para entender el desarrollo metodológico.

Anexo II. Taller metodológico de otolitos de anchoa. Instituto Tecnológico Pesquero y Alimentario (AZTI) e Instituto de Fomento Pesquero (IFOP).

Anexo III. Taller comparación ce resultados en determinación de edad diaria de anchoveta. Instituto De Fomento Pesquero (IFOP) y el Instituto Del Mar Del Perú (IMARPE).

Anexo IV. Presentaciones. Taller interno IFOP de discusión de resultados y revisión de los criterios de asignación de grupos de edad de anchoveta propuestos; y Taller oficial de Difusión de resultados del FIP 2009-17.

Anexo V. Dedicación horaria del equipo de trabajo FIP N° 2009-17.

Anexo VI. Base de datos FIP N° 2009-17.

3. ÍNDICE DE TABLAS FIGURAS Y ANEXOS

TABLAS

Tabla 1. Número de otolitos de anchovetas juveniles (< 12 cm) y adultas submuestreadas por mes y zona para análisis de microincrementos. ZS quiere decir a zona sur del Perú.

Tabla 2. Análisis de varianza con dos factores fijos para evaluar la elegibilidad de micro-incrementos de otolitos en 30 juveniles de Anchoveta del Norte. Factor 1: lector con diferentes grados de experiencia y factor 2: calidad de la preparación de los otolitos para análisis micro-estructural (alta, media y baja).

Tabla 3. Análisis de homogeneidad de varianza (a) y de contraste de medias (ANDEVA; b) para evaluar la hipótesis de que el log10 de crecimiento global (TCG) de juveniles E. ringens no varió significativamente por cada cohorte de nacimiento, cuando el tamaño de muestra fue superior a 13 ejemplares.

Tabla 4. Parámetros derivados de un ajuste de un modelo Laird-Gompertz a juveniles E. ringens de entre 7,5 y 12 cm LT, recolectados en la zona norte de Chile, desde noviembre 2010 a octubre 2011.

Tabla 5. Coeficientes de la relación longitud-edad para juveniles de Anchoveta del Norte, agrupados por mes de captura.

Tabla 6. Estadísticas generales de Longitud Total (cm) y Edad diaria de 285 juveniles de *Engraulis ringens* en la zona norte, reveladas utilizando análisis de la micro-estructura de otolitos sagitales. DE: desviación estándar.

Tabla 7. Estadísticas generales de talla, edad y variables morfométricas asociadas derivadas de análisis micro y microscópico de otolitos de Engraulis ringens. FC: Fecha de captura; FN: Fecha de nacimiento; ED: edad en dìas; RC: Radio desde el primordio (PR) hasta el extremo posterior del cauda; RAR Radio desde el PR hasta el extremo posterior del antirostro; RARCV: Radio desde el PR hacia el área del antirostro con mayor visibilidad; EARCV; Edad al RARCV; DV: Diámetro estimado al RARCV; AB: Anillos Bianaules; DT: Diámetro total medido desde el extremo del rostro a cauda; D1-D5; medidas de DT a cada marca hialina identificada macroscópicamente.

Tabla 8. Parámetros de crecimiento y error estándar (E.S) estimados con el modelo de von Bertalanffy, para sexos combinados de la anchoveta de la zona norte de Chile (Arica – Antofagasta) año biológico 2009-2010. IC 95% corresponde al intervalo de confianza, n al tamaño de muestra y r2 al coeficiente de determinación.

Tabla 9. Estadísticas general de los ejemplares utilizados para aplicar el Método tradicional para evaluar la relación Crecimiento-Mortalidad en juveniles de E. ringens.

FIGURAS

Figura 1. Evolución de la madurez sexual de la anchoveta del norte de Chile a través del índice gonadosomático (IGS). Fuente: Martinez *et al.* (2009).

Figura 2. Ilustración del método SGEM, para la preparación de secciones de otolitos para el análisis de Micro-incrementos. **A**: Aplicación de cera termoplástico; **BC**: Mezcla de componentes de resina epóxica; **D& E**: Montaje del otolito; **FJ**: Creación del bloque; **HJJK**: Pulido de la sección; **LMNO**: Montaje de la sección (Fuente Plaza *et al*. 2005).

Figura 3. Fotografías bajo luz trasmitida de análisis micro-estructural de otolitos en posición longitudinal de 2 juveniles Engraulis ringens colectados en la zona norte de Chile, durante y diciembre 2009 (a; edad 126 días, LT= 12 cm ; Aumento: 10X) y noviembre de 2009 (b: Edad 98 días, LT= 11 cm ; 40X).

Figura 4. Fotografías bajo luz trasmitida de análisis micro-estructural de otolitos **Tipo A,** de juveniles *Engraulis ringens* colectados en la zona norte de Chile, durante diciembre de 2010. **1**: LT= 7.5 cm ; 40X; **2**:8 cm LT= ;40X; **3**: LT=8 ; 40 X; ***Asp***= área sobrepulida; ***Pr***: primordium.

Figura 5. Fotografías bajo luz trasmitida de análisis micro-estructural de 1 tolito **Tipo B,** de un juvenil de 9 cm y 70 días de edad de *Engraulis ringens* colectado en la zona norte de Chile, durante noviembre de 2010. **1**: 10X, el area del polígono denota la zona difusa; **2**: 40X; **3**: 40 X. Los círculos denotan la identificación de un incremento diario. $\boldsymbol{A_{sd}}$= Anillos subdiarios; $\mathbf{A_d}$= Anillos dobles. La flecha denota la dirección hacia donde the hizo el zoom a las fotos de 40X.

Figura 6. Fotografías bajo luz trasmitida de análisis micro-estructural de otolitos en posición sagital de 1 juveniles *Engraulis ringens* recolectado la zona norte de Chile, durante y diciembre 2009 (**a**; edad 98 días, LT= 11 cm ; Aumento: 40X).

Figura 7. Tasa de crecimiento media (TCM) de juveniles con otolitos tipo Tipo A (1), colectados en diciembre 2010) y Tipo B (2), de juveniles *Engraulis ringens* colectados en noviembre 2010.

Figura 8. Perfiles de grosor de micro-incrementos diarios de otolitos de dos juveniles de E. ringens de 11, 5 cm de LT asociados a invierno y verano de 2009.

Figura 9. Fotografías bajo luz trasmitida de análisis micro-estructural de otolitos en posición sagital de 1 juvenil de *Engraulis ringens* (edad 90 días, LT= 10 cm), recolectados en la zona sur del Perú en Mayo de 2010; (A) 100X; (B) Zona del primordio a 400X; (C) zona media a 200X; (D) Borde del otolito a 200X.

Figura 10. Distribución de frecuencia de longitud (a), edad (b) y (c) la relación talla-edad de una muestra de de 40 juveniles recolectadas en el Sur del Perú en octubre del 2010.

Figura 11. Medias marginales derivadas de un Análisis de Varianza de dos factores fijos (1: experiencia del lector y 2: calidad de la preparación) para evaluar la elegibilidad de micro-incrementos de otolitos en 30 juveniles de Anchoveta del Norte.

Figura 12. Ilustración de los cambios en la tasa de crecimiento global media por cada cohorte de nacimientos desde julio de 2009 a julio de 2010, de reclutas de *E. ringens* en el norte de Chile. Las barras verticales denotas 1 desviación estándar.

Figura 13. Relación talla-edad mediante un ajuste de un modelo Laird-Gompertz a juveniles de *E. ringens* en el norte de Chile. Los parámetros del ajuste se indican en la Tabla 5.

Figura 14. Relación Longitud-edad para otolitos de juveniles de Anchoveta del Norte, agrupados por mes de captura. Los parámetros se entregan en la Tabla 6.

Figura 15. Relación Longitud-Radio para otolitos de juveniles de Anchoveta del Norte, agrupados por mes de captura.

Figura 16. Relación Ancho del otolito-edad (**a**) y Radio-Edad (**b**) para otolitos de juveniles de Anchoveta del Norte, colectados en noviembre y diciembre de 2009. La líneas rojas proyectadas denotan la el ancho y radio de los otolitos ala formación de la primera zona hialina en función de la edad de los ejemplares.

Figura 17. Fotografías bajo luz trasmitida de análisis micro-estructural de otolitos en sección transversal de 1 ejemplar adulto (LT= 15, 3 cm) de *Engraulis ringens,* colectado en la zona norte de Chile. Aumento= 40X; La flecha denota el comienzo de la depositación de la zona hialina. AD= Área difusa.

Figure 18. Fotografías bajo luz trasmitida de análisis micro-estructural de 1 otolito en sección longitudinal de 1 ejemplar adulto (LT= 17, 5 cm) de *Engraulis ringens,* colectado en la zona norte de Chile. Magnificación a 1000 X (inmersión) en la zona cercana al primordio (a), zona media de crecimiento rápido (b) y hacia el borde del otolito (c). (c1) denota la misma zona del borde del otolito a 400X de magnificación.

Figura 19. Fotografías bajo luz trasmitida de análisis micro-estructural de 1 otolitos en sección sagital de 1 ejemplar adulto (LT= 17 cm) de *Engraulis ringens,* colectado en la zona norte de Chile. (A) Magnificación a 40X; (B & C) Ilustración de una zona sin pulir hacia el borde de los otolitos donde lo micro-incrementos primarios son claramente visibles a 400X de aumento (D) Perfil de grosor de los incrementos a través de la flecha.

Figura 20. Fotografías bajo luz trasmitida de análisis micro-estructural para ilustrar el efecto de sobrepulido hacia los bordes de otolitos sagitales de *Engraulis ringens,* colectado en la zona norte de Chile. (A) Imagen normal (A) e invertida a 400X de la misma zona ilustrada en Figura 20 C.

Figura 21. Fotografías bajo observación en microscopía electrónica de barrido de secciones de otolitos de 1 ejemplar de Engraulis ringens de 15 cm de LT recolectado en la Zona norte de Chile. D= Zona probe en carbonato; L= Zona rica en carbonato; Me= marca de eclosión; Pr= primordio. Regla= 10 um. (a) área cerca al núcleo; (b) área de crecimiento rápido.

Figura 22. Ilustración de la relación entre talla de los reclutas, fecha de captura y fecha de nacimiento, estimada a través de análisis de la micro-estructura de otolitos sagitales de la anchoveta *Engraulis ringes* en el norte de Chile.

Figura 23. Fotografías bajo luz trasmitida de análisis micro-estructural para ilustrar el proceso de lectura de micro-incrementos primarios en adultos de *Engraulis ringens,* recolectados en la zona norte de Chile.

Figura 24. Fotografías bajo luz trasmitida a 400X de análisis micro-estructural de 1 otolitos en sección sagital de 1 ejemplar adulto (LT= 14 cm; numero de incrementos primarios=175) de *Engraulis ringens,* colectado en la zona norte de Chile.

Figura 25. Fotografía bajo luz trasmitida a 100X de aumento para ilustrar las medidas morfométricas utilizadas para relacionar la micro-estructura con la macro-estructura de otolitos de adultos de *Engraulis ringens,* recolectados en la zona norte de Chile.

Figura 26. Fotografías bajo luz trasmitida a 100X (A) y 400X (B) de análisis micro-estructural de 1 otolito en sección sagital de 1 ejemplar adulto (LT= 17 cm) de *Engraulis ringens,* ilustrando el área de transición a la cual se pudo obtener una cuantificación de micro-incrementos con mayor resolución. RARCV=Radio hacia el área del antirostro con mayor visibilidad.

Figura 27. Fotografía bajo luz reflejada de un otolito para ilustrar las medidas morfométricas utilizadas para comparar la información de la micro y macro-estructura de otolitos de adultos de *E. ringens*.

Figura 28. Modelo Laird-Gompertz ajustado a la relación edad-radio en adultos de *Engraulis ringens*

Figura 29. Imágenes de otolitos de anchovetas juveniles corresponden a peces capturados en Diciembre 2010 con tallas que fluctuaron entre los 5, 6 y 7 cm LT.

Figura 30. Imágenes de otolitos de anchovetas juveniles. Corresponden a otolitos de peces capturados en Diciembre 2009. A y B) peces de 7,5 cm LT y borde hialino pequeño; C y D) peces de 8,0 cm LT y borde hialino. El anillo presente en el borde corresponde a una disminución del crecimiento ocurrida antes del año de vida, desde los 2 a 4 meses de vida. Por lo cual corresponde a peces de edad cero.

Figura 31. Imágenes de otolitos de anchovetas juveniles capturados en noviembre 2009. A) 10 cm LT borde hialino; B) 10 cm LT se observa anillo hialino formado y borde opaco pequeño; C) 11,5 cm LT se observa anillo hialino formado y borde opaco; D) 12,5 cm LT un anillo formado cerca del borde opaco pequeño, anillo hialino de una periodicidad menor al año. Peces de edad cero.

Figura 32. Imágenes de otolitos de anchovetas de 1 año de edad. A) pez de 13 cm LT 1 anillo y borde hialino; B) pez de 13 cm LT se observa 1 anillo marcado, segundo anillo débil y borde hialino; C) Pez 13,5 cm LT

presenta las mismas características que B ; D) pez de 14 cm LT, otolito presenta primer anillo marcado, anillo falso y segundo anillo marcado más borde hialino, anillo en el borde tiene una periodicidad menor de dos años, este es un otolito típico de 1,5 años.

Figura 33. Imágenes de otolitos de anchovetas de 2 años de edad. A) pez de 15,5 cm LT y otolito con tres anillos y borde hialino, edad 2 años; B) pez de 15 cm LT se observa 3 anillos marcado y borde hialino, 2 años de edad.

Figura 34. Imágenes de otolitos de anchovetas de 3 años de edad. A) pez de 17 cm LT y otolito con 2 anillos anuales y borde hialino, edad 3 años, hacia el rostro se pueden parear 6 anillos para constituir 3 años de edad; B) pez de 17,5 cm LT se observa 2 anillos anuales marcados y borde hialino, 3 años de edad, hacia el rostro se pueden parear 6 anillos para constituir 3 años de edad, considerando 2 anillos por año.

Figura 35. Corresponde al análisis de precisión de estimación de la edad. A) ploteo del número de anillos de periodicidad bianual estimados en otolitos de anchoveta por dos lectores en forma independiente. La línea continua corresponde a la bisectriz y la punteada al valor promedio de los puntos. B) frecuencia de lecturas correspondientes a las diferencias entre los lectores. APE corresponde al porcentaje de error promedio y CV al coeficiente de variación en porcentaje.

Figura 36. Proporción del tipo de borde (opaco o hialino) por mes de anchoveta de la zona norte de Chile (Arica a Antofagasta) entre febrero 2009 y septiembre 2010. A) Proporción del borde para peces de 1 año de edad; B) peces de más 1 año de edad.

Figura 37. Imágenes de otolitos de anchovetas juveniles en los cuales se observa el tipo de núcleo. El otolito del lado izquierdo corresponde a un pez de 11,5 cm de longitud total en que se aprecia el núcleo hialino o translúcido, con luz reflejada (foto superior) y transmitida (foto inferior). El otolito del lado derecho corresponde a un pez de 10 cm de longitud total, en éste se observa un núcleo opaco. La medida en las imágenes corresponde a 1 milímetro.

Figura 38. Distribución mensual del porcentaje del tipo de núcleo (hialino u opaco) presente en el núcleo del otolito de anchoveta de la zona norte de Chile (Arica - Antofagasta).

Figura 39. Porcentaje del tipo de núcleo (hialino u opaco) del otolito por zona de captura de anchoveta de la zona norte de Chile (Arica - Antofagasta) y sur del Perú.

Figura 40. Proporción del tipo de borde, temperatura superficial del mar de la zona norte de Chile, distribución mensual del índice gonadosomático, frecuencia porcentual de reclutas y sus fechas de nacimiento para la anchoveta.

Figura 41. Estructura de edad de anchoveta para la zona norte de Chile por trimestre desde julio 2009 a junio 2010. Los gráficos de la izquierda

corresponden a la estructura de edad construida de acuerdo a los criterios de asignación de edad tradicionales, en tanto que los gráficos de la derecha corresponden a la estructura construida con nuevo criterio que considera solo la edad directamente estimada en los otolitos.

Figura 42. Curva de crecimiento de von Bertalanffy de anchoveta de la zona norte de Chile (Arica a Antofagasta). Los puntos menores a 1 año de edad corresponden a edad diaria estimada a través de análisis de microestructura de juveniles (peces menores a 12 cm longitud total).

Figura 43. Fotografías ilustrativas de un otolito de un juvenil de E. ringes de 7.5 cm LT recolectado el 2 de octubre de 2009 en el norte de Chile, denotando los eje de medición de los grosores de los microincrementos; Flecha roja= Eje de medición; Flecha negra; Eje de corrección (radio máximo).

Figura 44. Comparación del radio a la edad (a) y el grosor medio a la edad (b) entre individuos correspondientes a una población original y aquellos pertenecientes a una población de sobrevivientes, para las cohortes especificadas en la tabla 9.

ANEXOS

Anexo I. Antecedentes generales necesarios para entender el desarrollo metodológico

Anexo II. Taller metodológico de otolitos de anchoa. Instituto Tecnológico Pesquero y Alimentario (AZTI) e Instituto de Fomento Pesquero (IFOP)

Anexo III. Taller comparación ce resultados en determinación de edad diaria de anchoveta. Instituto De Fomento Pesquero (IFOP) y el Instituto Del Mar Del Perú (IMARPE).

Anexo IV. Presentaciones. Taller interno IFOP de discusión de resultados y revisión de los criterios de asignación de grupos de edad de anchoveta propuestos y Taller oficial de difusión de resultados del FIP 2009-17

Anexo V. Dedicación horaria del equipo de trabajo FIP N° 2009-17.

Anexo VI. Base de datos FIP N° 2009-17.

4. ANTECEDENTES

La anchoveta (*Engraulis ringens*) es el componente central, o especie clave, del Ecosistema de la Corriente de Humboldt, por lo tanto su interrelación con el resto de las especies es fundamental para mantener la integridad de dicho ecosistema. La anchoveta de la zona norte es un recurso de gran importancia económica y social. La pesquería, localizada entre 18°21'S y 24°S, data su inició a fines de la década del cincuenta y se caracterizar por destinar la captura a la producción de harina y aceite. A comienzos de la década de los setenta la abundancia de este recurso disminuye de manera importante, junto a lo anterior se registra un aumento de la abundancia de la sardina (*Sardinops sagax*) que pasó a constituir el recurso principal de esta pesquería desde mediados de los setenta. La anchoveta permanece en un régimen de baja abundancia hasta aproximadamente 1985, cuando la situación se revierte y vuelve a aumentar su abundancia y a constituirse en el principal recurso pesquero de la zona norte. Esta alternancia entre ambas especies se produce debido a cambios inter-decadales del ambiente, que provocan su cambio de régimen de abundancia. Antecedentes detallados sobre la variabilidad inter-decadal de los recursos de peces pelágicos se encuentra bien descritos por Serra (1983 y 1991), Lluch-Belda *et al.* (1992), Schwarztlose *et al.* (1999) y Yáñez *et al.,* (2001).

La anchoveta de la zona norte es un recurso compartido con el Perú, constituyendo una unidad de stock que se distribuye entre 16°S y 24°S (Serra, 1983). También es objeto de explotación en el sur del Perú, donde sustenta otra pesquería importante con niveles altos de captura.

El problema

El manejo de la pesquería nacional se realiza sobre la base de capturas totales permisibles y vedas reproductivas y de reclutamiento. La captura total permisible se estima de los resultados de un modelo de evaluación de stock estructurado por edades. A la fecha la evaluación de stock se realiza sobre la base de año calendario; sin embargo, se ha considerado necesario modificar la estructura de edad de la captura a año biológico, para incluir adecuadamente el resultado del largo proceso reproductivo que comprende desde agosto hasta febrero (invierno a verano; ver figura 1), que genera la nueva cohorte de anchoveta. Este extenso proceso reproductivo se traduce en un proceso de reclutamiento a la pesquería que ocurre a través de la mayor parte del año, tanto en la pesquería peruana como en la chilena. No obstante que desde diciembre a febrero se produce el mayor ingreso de reclutas a la pesquería, se observan reclutas durante casi todo el año, registrándose frecuentemente un máximo secundario en los meses de invierno, caracterizado por la presencia de ejemplares menores de 11,5 cm de longitud total.

En el reclutamiento de verano se registran ejemplares entre aproximadamente 5 y de 12 cm LT, siendo difícil aceptar por ejemplo, que un ejemplar de 8 a 9 cm provenga del desove de agosto-septiembre, de acuerdo con la función de crecimiento aceptada (Barría *et al.* 1999) o comunicada por G. Claramunt (com.pers.). Lo anterior, junto a los extensos períodos de desove y reclutamiento, constituyen una base fundada para pensar que el reclutamiento de verano contiene mezcla de clases anuales, lo que a su vez origina fuertes dudas sobre la validez de los criterios actualmente empleados para clasificar la anchoveta por grupo de edad.

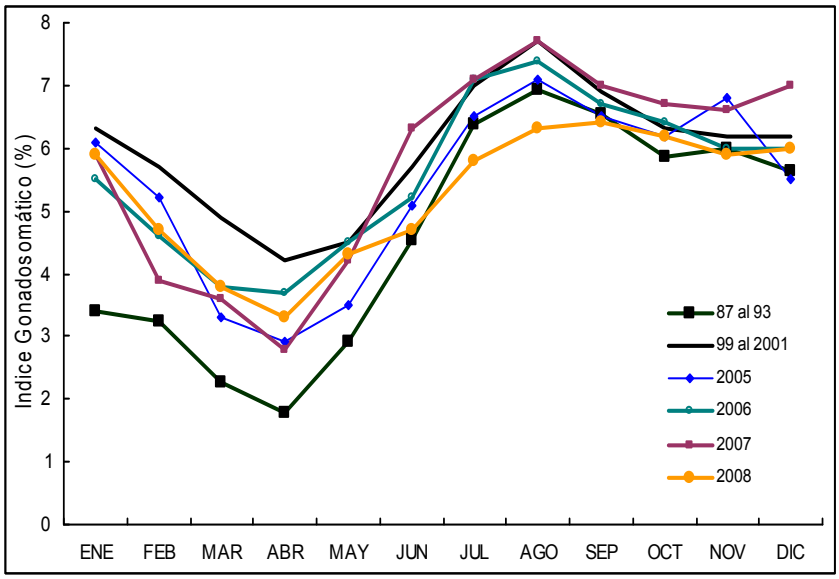


Figura 1. Evolución de la madurez sexual de la anchoveta del norte de Chile a través del índice gonadosomático (IGS). Fuente: Martinez *et al.* (2009).

Por otra parte, la existencia de un desove prolongado de la anchoveta en la zona norte de Chile, desde invierno (desove principal) hasta el verano, provoca que el crecimiento durante el primer año de vida de esta especie esté sujeto a la influencia de variaciones de las condiciones ambientales (*e.g.*, oceanográficos, productividad). Bajo este escenario, surgen dudas en relación a la estimación de edad de este recurso, las que aún no han sido completamente aclaradas.

- ¿Cuál es el tiempo de formación de la primera zona hialina, en relación al ciclo anual?
- ¿Se forma el primer *annulus* en el primer año de vida en esta especie?

Estas interrogantes tienen asidero porque hasta la fecha no se conocen las causas definitivas que gatillan la formación de la zona opaca y hialina en peces teleósteos (Pearson, 1996). En zonas templadas, donde las variaciones en temperatura son más marcadas, el anulo se ha encontrado asociado a la estación

de invierno (bajas temperaturas) en la mayoría de las especies. Paralelamente, la formación del annulus también se ha encontrado asociado a la reproducción en un gran número de especies.

En 1968 un estudio macroscópico de otolitos *sagittae* de anchoveta presente en aguas litorales de Perú señala la formación de dos anillos hialinos y dos opacos por año (Chirinos & Chumán, 1968). Más adelante, Aguayo (1976) indica también que, a través del análisis de borde, observó la formación de dos anillos translúcidos, uno en invierno con frecuencia máxima en julio y el otro en primavera, con frecuencia máxima en diciembre. Chirinos & Chumán (*op. cit.*) señalan a este respecto que la formación de este segundo anillo estaría probablemente relacionado con un "ritmo en el metabolismo vinculado al desarrollo gonadal" y que no estaría asociado con una disminución en la tasa de crecimiento por presentarse en una época de gran disponibilidad de alimentos. Posteriormente, en un estudio de mayor resolución, para la anchoveta del sur del Perú, Morales-Nin (1989), a través de microincrementos en el otolito y análisis de borde, concluye que esta especie formaría una banda hialina anual la que se verificaría entre noviembre y diciembre. Del mismo modo, para otras especies del género *Engraulis*, como *Engraulis mordax* en baja California México (Gallardo-Cabello, 1984) y *Engraulis encracicolus* en España (Cermeño *et al*. 2003) los estudios muestran la formación de un anillo de crecimiento hialino (traslúcido) por año, pero en el periodo de invierno.

Aunque los estudios efectuados parecen evidenciar que el primer annulus en *E. ringens* correspondería a una segunda zona hialina, el tiempo de formación y su periodicidad permanecen en controversia. Recientemente, en el proyecto FIP 2004-38 "*Validación de la edad de la Anchoveta en el norte de Chile*", se validó la formación del primer annulus de esta especie, utilizando aproximaciones indirectas derivadas de la micro-estructura de los otolitos y análisis de progresión modal de

tallas. Esta investigación demostró que el primer annulus se forma aproximadamente a los 2943,9 y 2738,2 µm de longitud del otolito en la anchoveta del norte y del sur, respectivamente. Adicionalmente, se demostró que la primera zona hialina es una estructura secundaria que se forma aproximadamente a los 250 días. A pesar de lo importante de estos hallazgos, se requiere validar la formación del primer annulus utilizando la lectura de micro-incrementos diarios de otolitos de juveniles y adultos de esta especie.

La controversia sobre el crecimiento de esta especie se hace más patente durante el primer año de vida, debido a que en dicho periodo, el individuo debe dirigir gran parte de su energía para sostener la primera reproducción, sin sacrificar el crecimiento somático. En este sentido se conoce, por ejemplo, que las especies que habitan la plataforma parecen llegar a la madurez mientras el crecimiento somático sigue en curso (Clarke *et al*., 2003). Adicionalmente, permanece en controversia si un ejemplar que desova repetidamente en el período principal (desovador parcial), puede ser capaz de recuperarse fisiológicamente para soportar un segundo periodo de desove. Y si éste fuera el caso, como afectaría la periodicidad de las bandas de crecimiento lento (zona hialina) el desgaste energético asociado a la reproducción. Aquí adquiere importancia descartar la posibilidad que en el área de estudio, la existencia de los picos reproductivos no sean productos de dos sub-grupos que compartan una área de desove pero segregados temporalmente.

Además de las controversias anteriormente descritas, una publicación reciente en el arenque brasileño, *Opisthonema oglinum* ha levantado nuevas interrogantes sobre la longevidad de pequeños pelágicos (Lessa *et al.* 2008). La longevidad de esta especie había sido estimada entre 4-8 años usando lecturas de bandas opacas y translúcidas en otolitos enteros. Sin embargo, mediante el uso de micro-incrementos diarios los autores demostraron que el mayor porcentaje de crecimiento ocurren en el primer año de vida, alcanzando edades máximas de 14

meses. Casos similares de sobrestimación de edad, mediante el uso de micro-incrementos diarios, han sido reportados para otros clupeidos, como por ejemplo *Sardinops aurita* (Boely *et al*. 1982) y *H. jaguana* (Pierce *et al*. 2001). Estos hallazgos han conducido a inferir que en especies de crecimiento rápido la frecuencia de depositación de las bandas opacas y hialinas pueden tener una periodicidad de sólo meses, por causas aún desconocidas. En contraposición a estos hallazgos se encuentra el estudio de Cermeño *et al*. (2003). En este estudio ejemplares juveniles capturados fueron mantenidos en cautiverio por dos años. Durante dicho periodo, los ejemplares depositaron dos bandas hialinas, aunque los micro-incrementos diarios sub-estimaron la edad real, presumiblemente debido a las condiciones de cautiverio.

Las problemáticas descritas hacen necesario realizar una investigación en la escala intra-anual que permita realizar un seguimiento al proceso de crecimiento de las anchovetas y de su reclutamiento a la pesquería, a fin de determinar el patrón de formación de los anillos anuales. Necesariamente este seguimiento debe hacerse sobre la base anillos diarios a fin de determinar la fecha de nacimiento de las anchovetas, producto de su largo período reproductivo, y por consiguiente sus edades al momento de iniciar su reclutamiento a la pesquería. Esto permitirá identificar el período reproductivo del cual provienen aquellos peces que reclutan a la pesquería.

Es importante destacar que errores importantes en la matriz de captura a la edad afectan la determinación de los niveles de abundancia y de explotación del stock y por tanto la eficacia del manejo de la pesquería. En consecuencia la correcta determinación de la edad y su clasificación por grupos de edad o clase anual son de fundamental importancia.

5. OBJETIVO GENERAL

Revisar la determinación de edad de la anchoveta y definir criterios mejorados de asignación de edad y grupos de edad.

6. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

6.1 Determinar la fecha de nacimiento de los juveniles a través del año.

6.2 Verificar la correcta estimación de edad de los ejemplares de un año.

6.3 Revisar los criterios utilizados para asignar edad y grupos de edad, proponiendo nuevos criterios de asignación en caso de ser necesario.

6.4 Contrastar estos criterios con los utilizados en otras pesquerías de pequeños pelágicos.

7. METODOLOGÍA

7.1 Muestreo

Las muestras fueron obtenidas desde el muestreo regular que realiza el IFOP en la pesquería pelágica de la Zona Norte a través del "Programa de Seguimiento del Estado de Situación de las Principales Pesquerías Nacionales. Investigación Situación Pesquería Pelágica Zona Norte, 2009 y 2010", y del Crucero de evaluación hidroacústico de anchoveta entre la XV y II Región, que realiza anualmente el IFOP en diciembre con el buque científico "Abate Molina" (RECLAN XV-II). El área del estudio abarca entre los 18°21'03''S y 24°00'00''S desde la costa hasta las 200 millas, la que se divide en tres zonas de pesca, de acuerdo al siguiente detalle:

ZONA	Límite norte		Límite sur
Zona Arica	18°21'03''S	-	19°30'00''S
Zona Iquique	19°30'00''S	-	21°25'00''S
Zona Antofagasta	21°26'00''S	-	24°00'00''S

En cada estrato de talla, se tomó una muestra aleatoria de ejemplares, a los cuales se les midió la longitud total con una precisión 0,5 cm y el peso con una precisión de 0,1 g; además, se determinó el sexo, el estado de madurez y se les extrajeron los otolitos. Los otolitos son puestos en cartones con 24 perforaciones circulares, de tamaño estándar, en los que se coloca el rótulo de secuencia por el anverso y timbre con datos de procedencia por el reverso. Los rótulos que identifican a cada otolito se corresponden con la información de cada ejemplar

contenida en el formulario de muestreo de otolitos FD-9/PE-7-2. El detalle del procedimiento de muestreo está contenido en el manual de muestreo del IFOP y corresponden a documentos certificados por el sistema de gestión de calidad SGC Nch ISO 9001/2000. De la misma forma los procedimientos de recepción, almacenamiento y ensayos realizados en la determinación de edad de las especies hidro-biológicas están contenidos en el documento de Sistema de gestión de la calidad Laboratorio Edad y Crecimiento de IFOP, SGC Nch ISO 17025.

El muestreo consideró la colecta, en forma mensual, de un total de 25 pares de otolitos por intervalo de clase de talla (0,5 cm) en las bases del IFOP en la zona norte, con longitudes que abarcaron entre los 5 y 19 cm LT. Debido a que los ejemplares juveniles (< 12 cm LT) son menos abundantes en la pesquería, se puso especial atención en encontrar, para cada mes estas tallas. El muestreo en distintos puertos/zonas fue considerado para asegurar la obtención del tamaño de muestra requerido mensualmente, considerando que la anchoveta de estas latitudes corresponde a la misma población con un origen de desove común (Serra, 1983).

El tamaño de muestra para análisis de micro-estructura no responde a un criterio estadístico, sino más bien a la necesidad de equilibrar el costo y el tiempo requerido para preparar secciones de alta resolución, que permitan examinar los micro-incrementos. Se debe considerar, también la eliminación de aquellas muestras que después de la preparación no mostraron una resolución suficiente para análisis de micro-incrementos diarios.

7.2 Determinar las fechas de nacimiento de juveniles

7.2.1 Análisis de la micro-estructura de otolitos

7.2.1.1 Caracterización de la micro-estructura

a) Preparación de otolitos de peces juveniles

Para observar la micro-estructura de los otolitos peces juveniles es necesario obtener una lámina de alrededor de 50 µm de grosor en el plano sagital, frontal o transversal. Este proceso normalmente tiene que ser llevado a cabo manualmente usando lijas de distinta graduación. El procedimiento básico consiste en embeber el otolito en resina epóxica, pulirlo hasta revelar el primordio y los microincrementos primarios (MP), y posteriormente montar la sección en un portaobjeto, para finalmente observarla a través de un microscopio óptico. Mayores detalles de estos procedimientos han sido descrito en Secor et al. (1992) y Plaza et al. (2005; **Fig. 2**).

Para examinar los incrementos diarios se utilizó un pulido en posición sagital en otolitos de juveniles menores a 8 cm. Los otolitos fueron pulidos por ambos lados utilizando el método SGEM. Se observó una ligera concavidad en otolitos de juveniles mayores a 10 cm, lo que dificultó en algunos la obtención completa de micro-incrementos desde el primordio hasta el borde del otolito en pulido sagital. En otolitos de juveniles entre 8 y 10 cm se aplicó un doble pulido diferencial, en que se buscó obtener la mejor resolución del primordio en la cara cóncava, pero sin perder la resolución en los bordes en el pulido de la cara convexa. En juveniles de mayor talla se requirió efectuar cortes transversales y longitudinales, que permitieron obtener secciones de elevada resolución. Se optó por las secciones longitudinales, debido que ofreció mayor control del pulido al acercarse

al primordium, utilizando marcas externas, como por ejemplo la posición del antirostro (**Fig. 3**).

Después de la obtención de una sección fina y de elevada resolución, los MP fueron medidos desde el núcleo hacia la periferia del otolito. El radio máximo (RM), correspondiente a la distancia mayor desde el primordio hasta el borde del otolito en dirección caudal con aumentos 200X. La lectura de los MP fue realizada por dos lectores a fin de determinar el nivel de concordancia y precisión en la identificación de los micro-incrementos. No obstante, para evaluar preliminarmente el grado de concordancia en la lectura, se realizó previamente un ejercicio de concordancia en el cual participaron 5 lectores, lo cuales analizaron 30 otolitos en distintos tiempos.

Todas las lecturas y mediciones fueron realizadas dos veces para cada otolito y por dos lectores independientes, utilizando la herramienta “Caliper” del analizador de imágenes IMAGE-pro-plus. Se realizó además una tercera lectura para dirimir aquellos casos en los que hubo discordancia, si aun así permitía la discordancia el otolito era eliminado de la lectura. Las lecturas de microincrementos fueron hechas en el otolito izquierdo.

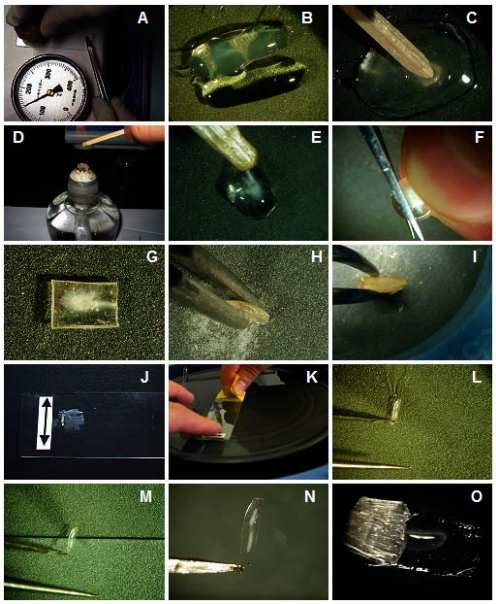


Figura 2. Ilustración del método SGEM, para la preparación de secciones de otolitos para el análisis de Micro-incrementos. **A**: Aplicación de cera termoplástico; **BC**: Mezcla de componentes de resina epóxica; **D& E**: Montaje del otolito; **FJ**: Creación del bloque; **HJJK**: Pulido de la sección; **LMNO**: Montaje de la sección (Fuente Plaza *et al.* 2005).

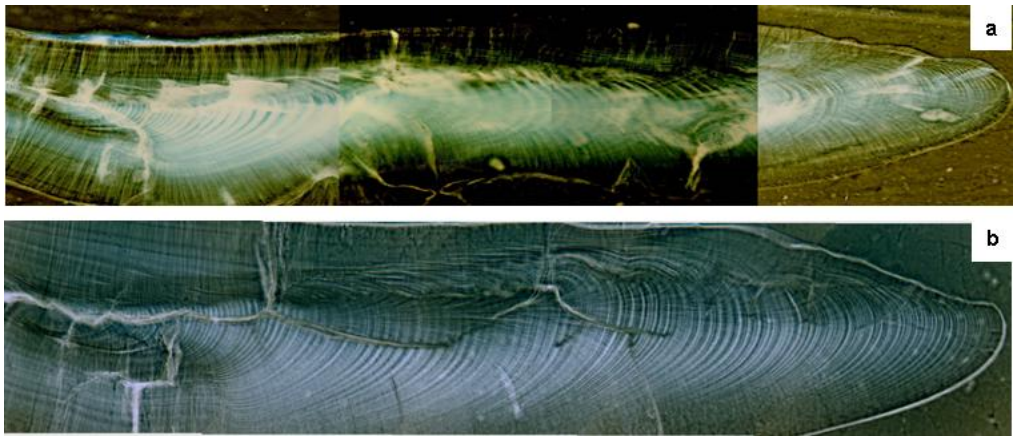


Figura 3. Fotografías bajo luz trasmitida de análisis micro-estructural de otolitos en posición longitudinal de 2 juveniles *Engraulis ringens* colectados en la zona norte de Chile, durante y diciembre 2009 (**a**; edad 126 días, LT= 12 cm ; Aumento: 10X) y noviembre de 2009 (**b:** Edad 98 días, LT= 11 cm ; 40X).

b) Caracterización de la micro-estructura

Se realizó una caracterización de la microestructura de los otolitos de juveniles de anchoveta menores a 9 cm. Esta se basó en la disposición y resolución de los microincrementos primarios en el otolito, además de las tasas de crecimiento.

7.2.1.2 Precisión en la lectura de micro-incrementos diarios

Para evaluar si la asignación de la edad diaria fue influenciada por el lector se diseño un procedimiento comparativo en otolitos Tipo A. Para este efecto, 30 otolitos de juveniles, pulidos en posición sagital fueron datados por lectores con diferentes grados de experiencia en lectura de micro-incrementos diarios, 1 (Ex) Lector experto; (En) 1 Lector entrenado, y 2 lectores principiantes (Lp1 y Lp2).

Se realizó un análisis de varianza con dos factores fijos. Factor 1:lector con diferentes grados de experiencia y factor 2: calidad de la preparación de los otolitos (alta, media y baja).

7.2.1.3 Lectura de micro-incrementos y tasa de crecimiento diario

La lectura de los micro-incrementos diarios se realizó con un microscopio de luz con 400X de aumento. Para un mejor análisis se tomaron fotografías con un analizador de imagen DIG 20 LABOMED U.S.A. Con este aumento fue necesario realizar tres tomas consecutivas para abarcar todo el eje de lectura, las que fueron ensambladas en una única imagen.

Un análisis de concordancia o precisión de la lectura de microincrementos diarios fue realizada entre cuatro lectores, quienes estimaron la edad por separado en distintos tiempos, sin disponer de información biológica o pesquera de las

muestras, que influencie su lectura. El ejercicio fue hecho para 30 otolitos de peces juveniles, con preparación sagital, de tallas que fluctuaron entre los 7,5 y 11,5 cm LT.

Se estimó la tasa de crecimiento global (TCG) en milímetros para cada ejemplar mediante la siguiente fórmula:

$$TCG = \frac{(TL - e)}{Edad} \cdot 10$$

donde TL= es la longitud total del ejemplar en centímetros, “e” el tamaño al momento de la eclosión, definido como 2,5 mm por Llanos-Rivera y Castro (2006) para la zona norte de Chile.

Se determinaron las relaciones talla-edad global, talla-edad por fecha de cohorte, longitud del pez-radio del otolito, relación edad-radio otolito versus edad-ancho del otolito.

7.2.1.4 Verificación de micro-incrementos primarios con Microscopía Electrónica de Barrido (SEM).

En la propuesta técnica se propuso utilizar como complemento la Microscopía Electrónica de Barrido en el análisis de la micro-estructura de otolitos de ejemplares mayores a 12 cm. Sin embargo, los micro-incrementos de menor grosor observado estuvieron muy por encima del límite de Resolución de Microcopio óptico (Ver Resultados); por consiguiente no fue necesario efectuar SEM. No obstante, se analizaron muestras con SEM para tener una aproximación de micro-estructura utilizando está técnica. Los procedimientos metodológicos utilizados fueron los siguientes. A los otolitos, previamente pulidos usando la metodología SGEM, se eliminaron las impurezas mediante el uso de solución

Alumina BUEHLER de 1 um. Posteriormente fueron tratados con una solución de ácido clorhídrico al 1% por 15 segundos, siguiendo los procedimientos descritos por Cermeño et al. (2006). Los análisis se llevaron a cabo en Laboratorio de Microscopía Electrónica de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Pontificia Universidad Católica de Chile.

7.2.2 Determinar las fechas de nacimiento de los ejemplares a través del año.

Las fechas de nacimiento (FN) de los juveniles procesados en cada mes fueron estimadas restando el número total de incrementos la fecha de captura. Debido a que los micro-incrementos primarios no han sido validados para *Engraulis ringens*, (pero sí en otros engráulidos como *E. mordaz*) se realizó un análisis y caracterización de los microincrementos primarios a fin de establecer los criterios de identificación para los de periodicidad diaria. Se construyeron distribuciones de frecuencias de las FN para los individuos colectados en los meses de noviembre, diciembre y enero.

7.3 Verificar la correcta estimación de edad de los ejemplares de año

El tiempo de formación de la primera zona hialina se define en esta propuesta como “el número de días que transcurren entre el inicio y término del depósito de la zona translúcida, zona con menor depósito de carbonato de calcio”. Al denominar “hialino” a los anillos de crecimiento lento, se está empleando la terminología de común uso en estos estudios presentada por Kalish et al. (1995). Este análisis requiere de la convergencia de las observaciones y estimaciones de la edad diaria con las realizadas macroscópicamente en el otolito entero.
Para esto se estimó la relación longitud del pez-edad en días, radio del otolito-longitud del pez y entre edad-radio vs edad-ancho anillo.

7.4 Revisión los criterios utilizados para asignar edad y grupo d edad

7.4.1 Análisis de la macro-estructura de otolitos

Para obtener la correcta estimación de edad de los ejemplares de un año se debe verificar el tiempo de formación de la primera zona translúcida (ZT) o hialina presente en el otolito entero observado macroscópicamente a fin de estimar la periodicidad de ésta.

El otolito derecho del par sagitta fue sumergido en una cápsula petri de fondo negro y aceite como solución clarificante. La observación de esta estructura se realizó con un microscopio estereoscópico trinocular, el cual dispone de una cámara de video conectada a un computador provisto del software Image-Pro plus (*Mediacibernetyc*).

Con este sistema de análisis de imagen se tomaron 2 fotografías con 20X de aumento, una por la cara externa y otra por la cara interna, donde se identificó el núcleo y se realizaron las siguientes mediciones en milímetros: diámetro total (distancia entre el rostro y cauda); radio total (distancia desde el núcleo hacia el cauda); distancia entre el núcleo y el inicio de la primer anillo hialino; distancia entre el núcleo y el término del primer anillo hialino.

Para facilitar la comparación con la micro-estructura, en orden a identificar el primer annulus, se identificó la ubicación, distancia en mm desde el núcleo, en que comienza y termina de formarse el primer anillo hialino ubicado en la matriz del otolito o en el bode del mismo.

La posición de este anillo será sobrepuesta en el gráfico que relaciona el radio del otolito con la edad en días a fin de establecer la periodicidad de formación de esta primera marca hialina observada en el otolito entero de anchoveta. De la misma forma se relacionó el segundo anillo hialino, que actualmente es considerado annulus, con el número de microincrementos primarios (edad en días) a fin de identificar si este se forma transcurrido un año de vida del pez.

7.4.1.1 Caracterización de los tipos de otolitos de acuerdo a su edad anual

Se realizó además una caracterización de los distintos tipos de otolitos, Tipo 0 (cero años de vida), Tipo I (1 año), Tipo II (2 años), considerando la nueva información de microestructura de los otolitos levantada en este estudio y los criterios tradicionales empleados para identificar los annuli en otolitos de anchoveta. Estos criterios de lectura de edad anual de anchoveta fueron objeto de análisis de precisión entre lectores, estimando el índice de error promedio (APE), el coeficiente de variación (CV) y un análisis gráfico del sesgo por edad (Campana 2001).

7.4.1.2 Precisión en la estimación de edad anual

Se aplicaron dos medidas de error, que reflejan el grado de dificultad promedio en la determinación de edad, a saber: el Porcentaje de Error Promedio (APE) Beamish y Fournier (1981) y el coeficiente de variación (CV).
Beamish y Fournier (1981) calculan el Porcentaje de Error Promedio (APE) como:

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

donde,

N : Número de peces que se les asignó edad;
R : Número de veces que fue leída la muestra;
Xij : i-ésima determinación de edad del j-ésimo pez;
Xj : Edad promedio calculada para el j-ésimo pez;

Ambos métodos, al promediar en un solo valor la variabilidad que encierran las diferentes edades, ocultan la diferencia de precisión entre las mismas por lo que si se desea averiguar al interior de la muestra, es conveniente apoyarse en métodos gráficos y estadísticos que asocien una a una las observaciones de las muestras (Campana, 2001)

De esta forma estos indicadores promedios serán complementados con el uso del método gráfico (promedio de la edad estimada por un lector con respecto a otro lector patrón) y su coeficiente de variación (CV) como modo de representar el sesgo a la edad. (Campana, 2001).

7.4.1.3 Periodicidad en la formación de *annuli*

Para identificar el tipo de borde, se tomó una imagen con 40X y luz transmitida. Se presenta un análisis del porcentaje mensual del tipo de borde del otolito entero. El análisis de borde se refiere a la identificación del tipo de anillo, de crecimiento rápido (opaco) o de crecimiento lento (hialino o translúcido), que se observa en el borde del otolito. El porcentaje mensual del tipo de anillo formado en el borde permite identificar la periodicidad de formación de estos anillos. En este informe se analiza el tipo de borde del primer anillo en formación cuya periodicidad será determinada en este mismo estudio.

7.4.2 Análisis del tipo de núcleo

Para el total de ejemplares juveniles que fue objeto de estimación de la edad diaria se caracterizó el tipo de núcleo, hialino u opaco, a través del análisis macroscópico del otolito derecho que no fue preparado para micro-estructura. Con esta información se estimó el porcentaje de cada tipo de núcleo por mes de nacimiento de los peces y por zona utilizando en este último análisis la fecha de captura. El propósito de este análisis fue utilizar el tipo de núcleo para poder clasificar la procedencia temporal y/o espacial de peces analizando el otolito macroscópicamente.

7.4.3 Revisión de los criterios de asignación de grupo de edad

Los resultados de este estudio referidos a fechas de nacimiento, validación de la periodicidad de los anillos de crecimiento, la información de estación de desove, temperatura superficial de mar, permitieron definir nuevos criterios de asignación de grupo de edad (GE).

8. RESULTADOS

8.1 Muestreo

El número total de peces juveniles analizados en este estudio para este estudio, entre noviembre de 2009 y octubre de 2010, correspondió a 458 ejemplares, con tallas que fluctuaron entre los 7,5 y 11,5 cm de longitud total. Los peces adultos seleccionados correspondieron a 75 ejemplares con talla entre 12,0 y 17,5 cm de longitud total. En la mayoría de los meses los peces juveniles seleccionados correspondieron al total de los ejemplares muestreados durante esos meses. Durante el 2010, en junio no se registraron capturas de ejemplares juveniles, en tanto en agosto existió veda de anchoveta en la zona de estudio. El análisis de adultos tuvo como objetivo obtener otolitos que permitieran identificar y validar el primer annulus y caracterizar microscópicamente la estructura de cada tipo de otolito según su edad. El detalle del tamaño de muestra se presenta en la **Tabla 1**.

Tabla 1.
Número de otolitos de anchovetas juveniles (< 12 cm) y adultas analizados por mes y zona para análisis de micro-incrementos. ZS: Zona Sur del Perú.

		Arica		Iquique		Antofagasta		ZS Perú	Total	
Año	Mes	Juveniles	Adultos	Juveniles	Adultos	Juveniles	Adultos	Juveniles	Juveniles	Adultos
2009	Noviembre		9	45			6		45	15
	Diciembre	48	3	6	3		4		54	10
2010	Enero	39	9		9		7		39	25
	Febrero	64	2				2		64	4
	Marzo	63	2		3				63	5
	Abril			21					21	
	Mayo			24		16		24	64	
	Junio		1		3		2	13	13	6
	Julio	23			4			14	37	4
	Agosto									
	Septiembre	5			5		1		5	6
	Octubre			53					53	
	Tortal	242	26	149	27	16	22	51	458	75

8.2 Determinación de las fechas de nacimiento de juveniles

8.2.1 Análisis de la micro-estructura de otolitos

8.2.1.1 Caracterización de microestructura

a) Tipos de otolitos

Un primer hallazgo distintivo, al analizar la micro-estructura en pulido sagital de juveniles de anchoveta menores de 10 cm LT, fue la presencia de dos tipos de otolitos, con patrones micro-estructurales diferentes, definidos como Tipo A y Tipo B.

Tipo A: La resolución de los micro-incrementos en este tipo de otolitos fue alta, pudiéndose distinguir con nitidez aquellos incrementos regulares, concéntricos y con alta definición de aquellos mas difusos e irregulares identificados como sub-diarios. En general, el patrón de formación de micro-incrementos pudo agruparse entre zonas (**Fig. 4(1) Fig. 5 (1)**). La primera zona (**Zona A**) formada inmediatamente después de una zona difusa rodeando un primordium central y opaco (14,0±0,5 μm) bajo luz trasmitida y se extendió hasta aproximadamente los primeros 30 días. El grosor medio de los incrementos diarios en esta zona fluctuó entre 4 y 10 μm, (7,4± 1,6 μm) mostrando un incremento secuencial, una apariencia regular y ausencia casi absoluta de anillos sub-diarios. La Zona inmediatamente posterior se extendió entre los 20 y 50 días mostrando incrementos bien definidos, con grosores fluctuando entre 9 y 22 μm (18,3 ± 3,1 μm). En esta zona el patrón de formación fue más irregular con presencia de anillos dobles y otras discontinuidades de crecimiento. Hacia los borde de los otolitos se observó una disminución marcada en el grosor de los micro-incrementos, que dificultó la lectura en áreas con exceso de pulido (**Fig. 4(1)**). Un aspecto distintivo de los otolitos **Tipo A**, fue que algunos los micro-incrementos

diarios fueron visibles en muestras sin pulir (incluso cerca del primordium, **Fig. 4(1)**), donde se evidenció una transición de opaco a hialino en el patrón de depositación hacia los bordes de los otolitos (**Fig. 4(3)**).

Tipo B: Los otolitos **tipo B** mostraron un patrón similar de formación de los micro-incrementos a los descrito para el **Tipo A**, con cambios en el grosor de los incrementos en función de edad en las zonas descritas (**Figura 4.2 - 4.4**). Para evaluar si el grosor de los micro-incrementos varió significativamente con la edad, se efectuó un de Análisis de Varianza de medidas repetidas (RM-ANOVA) considerando el tipo de otolitos como factor fijo y el grosor de los micro-incrementos a intervalos de 5 días, como variables dependientes. El RM-ANOVA mostró diferencias significativas en el grosor con la edad, pero si una ausencia de significancia al comparar entre los tipos de otolitos. Un rasgo distintivo adicional en el patrón de formación de micro-incrementos en otolitos Tipo B fue la pérdida de resolución en la zona B, que impidió en muchos casos distinguir los micro-incrementos diarios en un eje de medida único. No obstante, se pudieron distinguir los micro-incrementos diarios en otras zonas del otolito y/o discontinuidades buscado las áreas de mayor resolución (**Figura 4.2 - 4.4**). A diferencia de los otolitos Tipo A, los micro-incrementos diarios no fueron visibles en otolitos sin preparar, excepto hacia los bordes.

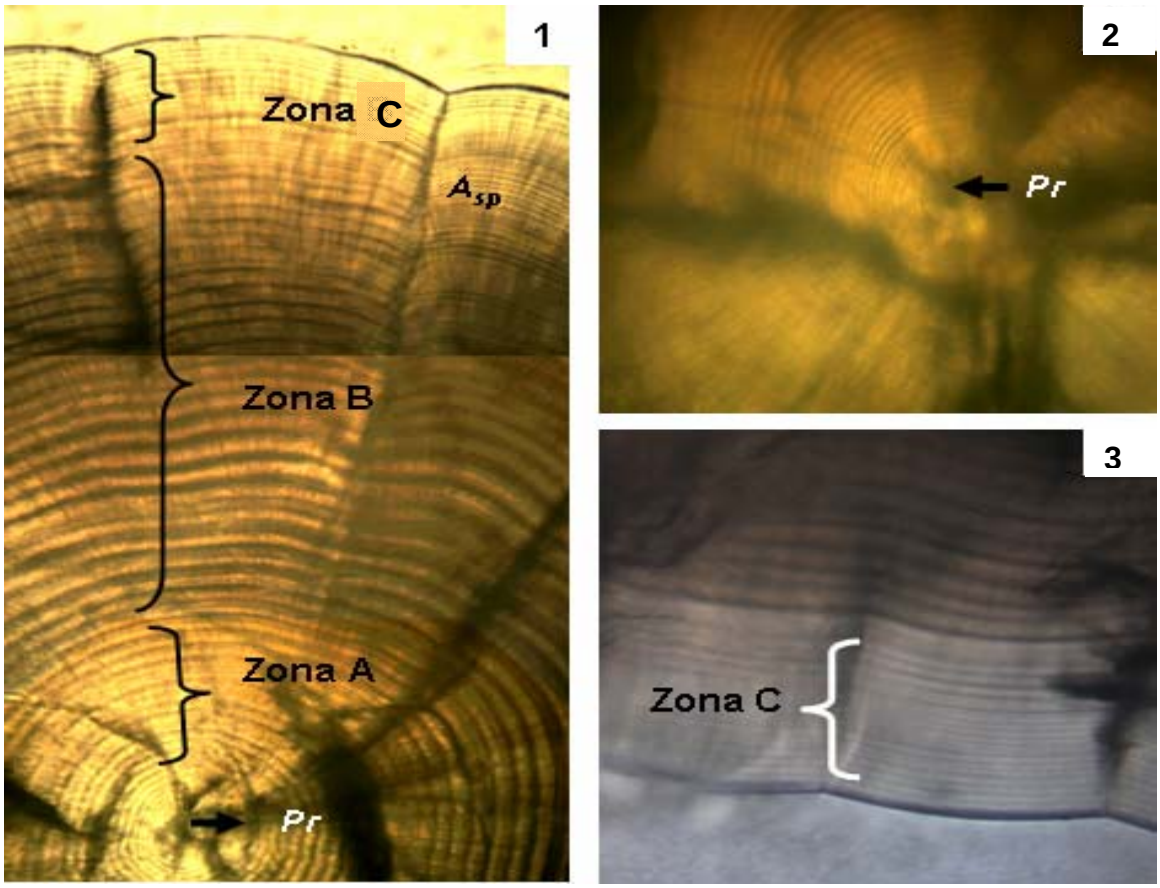


Figura 4. Fotografías bajo luz trasmitida de análisis micro-estructural de otolitos **Tipo A,** de juveniles *Engraulis ringens* colectados en la zona norte de Chile, durante diciembre del 2009. **1**) otolito de un pez de 7,5 cm LT, observado con 40X; **2**) otolito de un pez de 8 cm LT ; observado con 40X; **3**) pez de 8 cm LT; 40 X. ***Asp*=** área sobrepulida; ***Pr***: primordium.

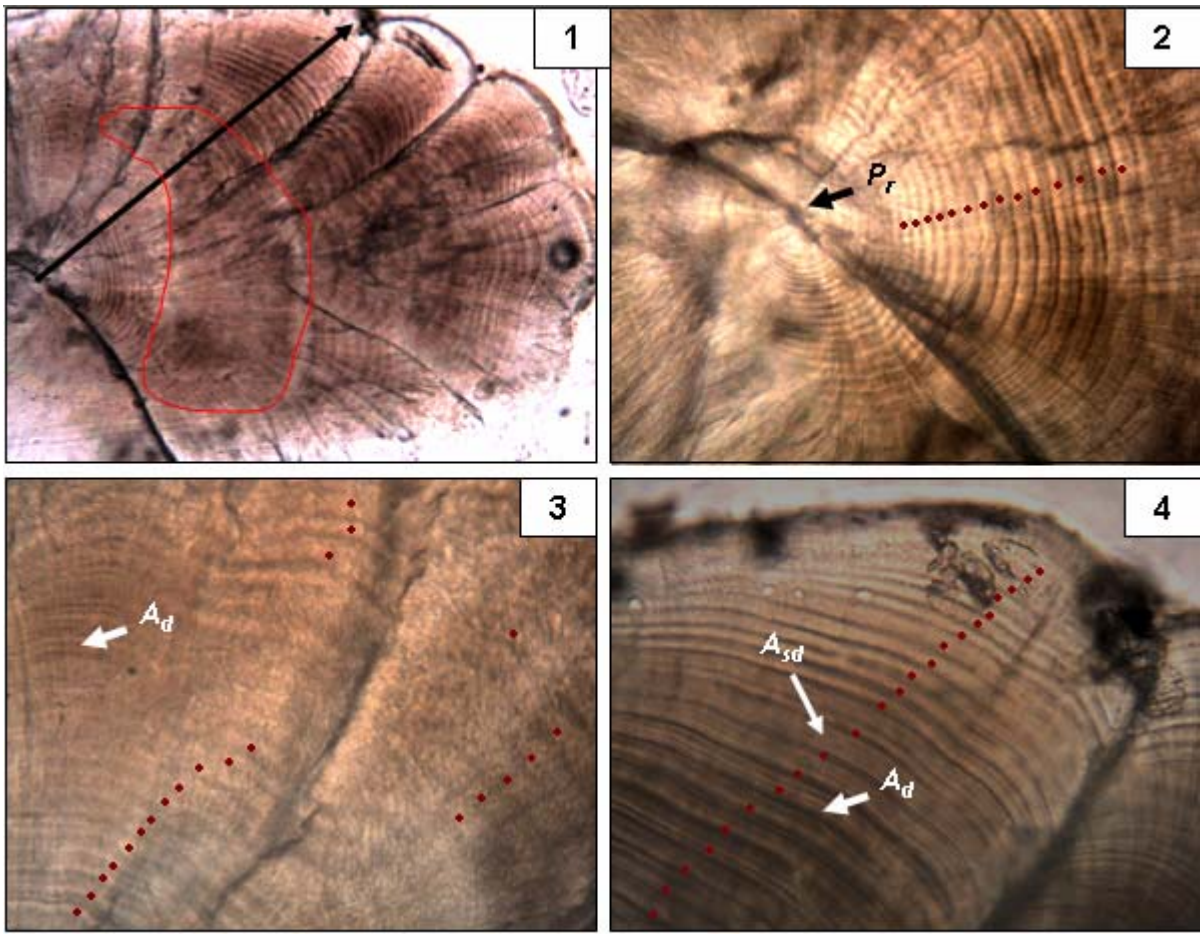


Figura 5. Fotografías bajo luz trasmitida de análisis micro-estructural de 1 tolito **Tipo B,** de un juvenil de 9 cm y 70 días de edad de *Engraulis ringens* colectado en la zona norte de Chile, durante noviembre de 2009. **1**) 10X, el área del polígono denota la zona difusa; **2)** 40X; **3**) 40 X. Los círculos denotan la identificación de un incremento diario. $\boldsymbol{A_{sd}}$= Anillos subdiarios; $\mathbf{A_d}$= Anillos dobles. La flecha denota la dirección hacia donde se hizo el zoom a las fotos de 40X.

b) <u>Micro-estructura de otolitos en juveniles de mayor tamaño</u>

Similarmente a lo observado en juveniles < 10 cm LT, los reclutas de entre 10 y 12 cm de longitud total, presentes durante gran parte del ciclo anual analizado, mostraron también una resolución de los micro-incrementos adecuado para la

identificación de los micro-incrementos diarios. La elevada resolución fue evidente tanto en secciones longitudinales desde el primordio hasta el borde de los otolitos (**Fig. 3ab**; **Fig. 6)**. Un aspecto cualitativo que se pudo observar fue la existencia de cambios aparentes en el grosor de los micro-incrementos en las diferentes cohortes mensuales. La **Figura 7**, por ejemplo ilustra el perfil del grosor de los incrementos de dos ejemplares nacidos en diciembre y julio del 2009, donde se apreció un patrón opuesto de crecimiento del otolito. (**Fig. 8**).

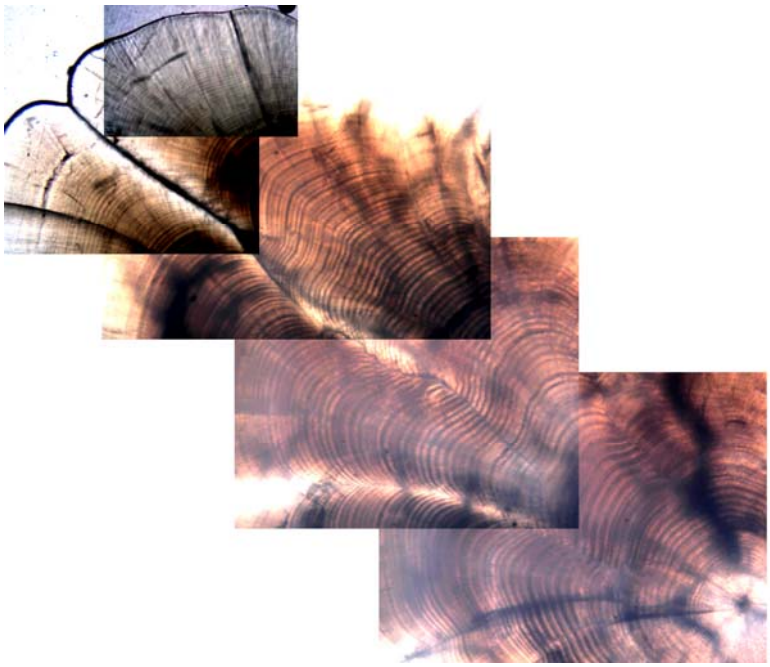


Figura 6. Fotografías bajo luz trasmitida de análisis micro-estructural de otolitos en posición sagital de un pez juvenil *Engraulis ringens* recolectado la zona norte de Chile, durante diciembre 2009 (edad 98 días, LT= 11 cm ; Aumento: 40X).

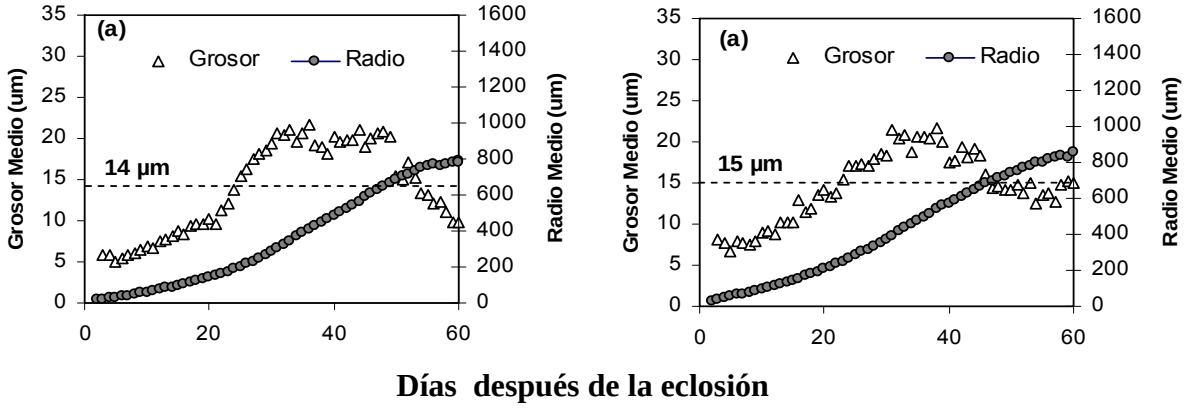


Figura 7. Tasa de crecimiento media (TCM) de juveniles con otolitos tipo Tipo A (1), colectados en diciembre 2010) y Tipo B (2), de juveniles *Engraulis ringens* colectados en noviembre 2010.

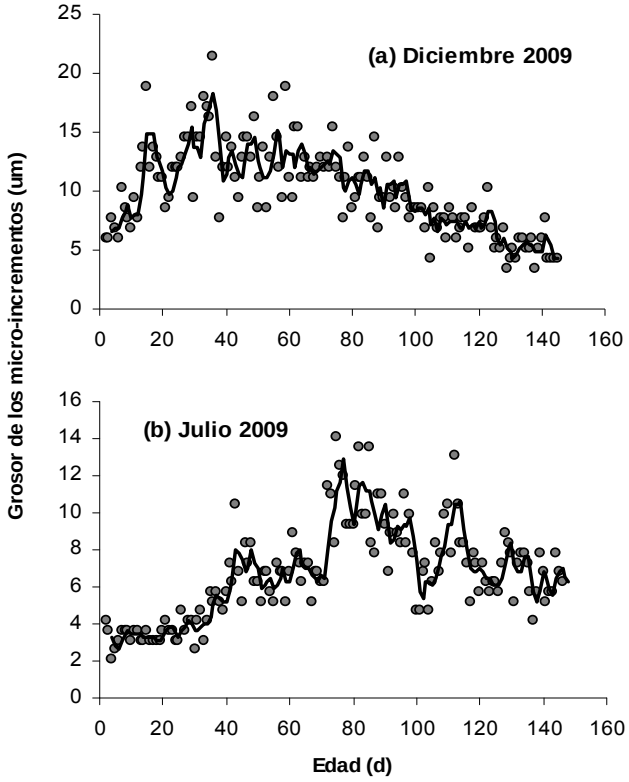


Figura 8. Perfiles de grosor de micro-incrementos diarios de otolitos de dos juveniles de E. ringens de 11, 5 cm de LT asociados a invierno y verano de 2009.

c) Micro-estructura de los otolitos del sur del Perú

Una muestra de 50 juveniles de entre 7,5 y 11, 5 cm (media 9,43±1,56) de LT recolectados en octubre del año 2010 estuvo disponible para análisis de su micro-estructura. La resolución de los micro-incrementos fue similar a la los otolitos de la zona norte de Chile, pudiéndose seguir una secuencia desde el primordio hacia el borde del otolito sagital en secciones sagitales (**Fig. 9)**. Las edades de los juveniles leídos fluctúo entre 70 y 138 días (**Fig. 10).** A pesar que el rango de longitud fue adecuado para ajustar una función talla edad, se descartó del análisis debido a la existencia de dos grupos distintivos e independientes (**Fig. 10c**).

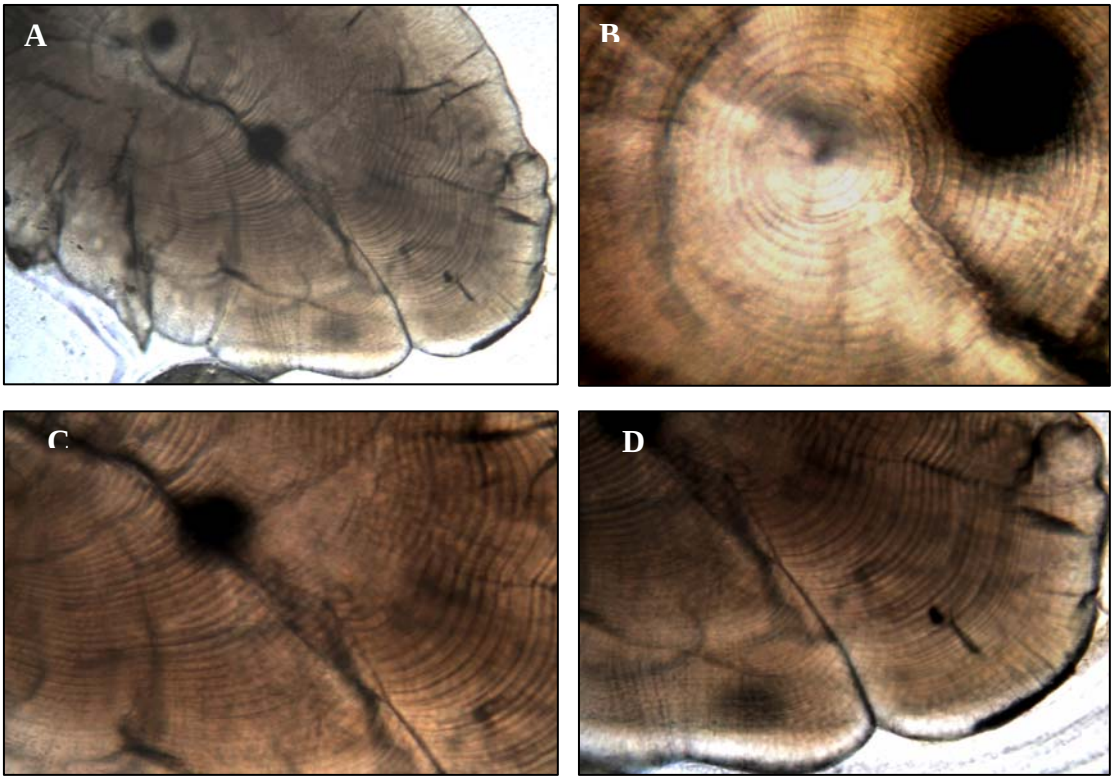


Figura 9. Fotografías bajo luz trasmitida de análisis micro-estructural de otolitos en posición sagital de 1 juvenil de *Engraulis ringens* (edad 90 días, LT= 10 cm), recolectados en la zona sur del Perú en mayo de 2010; (A) 100X; (B) Zona del primordio a 400X; (C) zona media a 200X; (D) Borde del otolito a 200X.

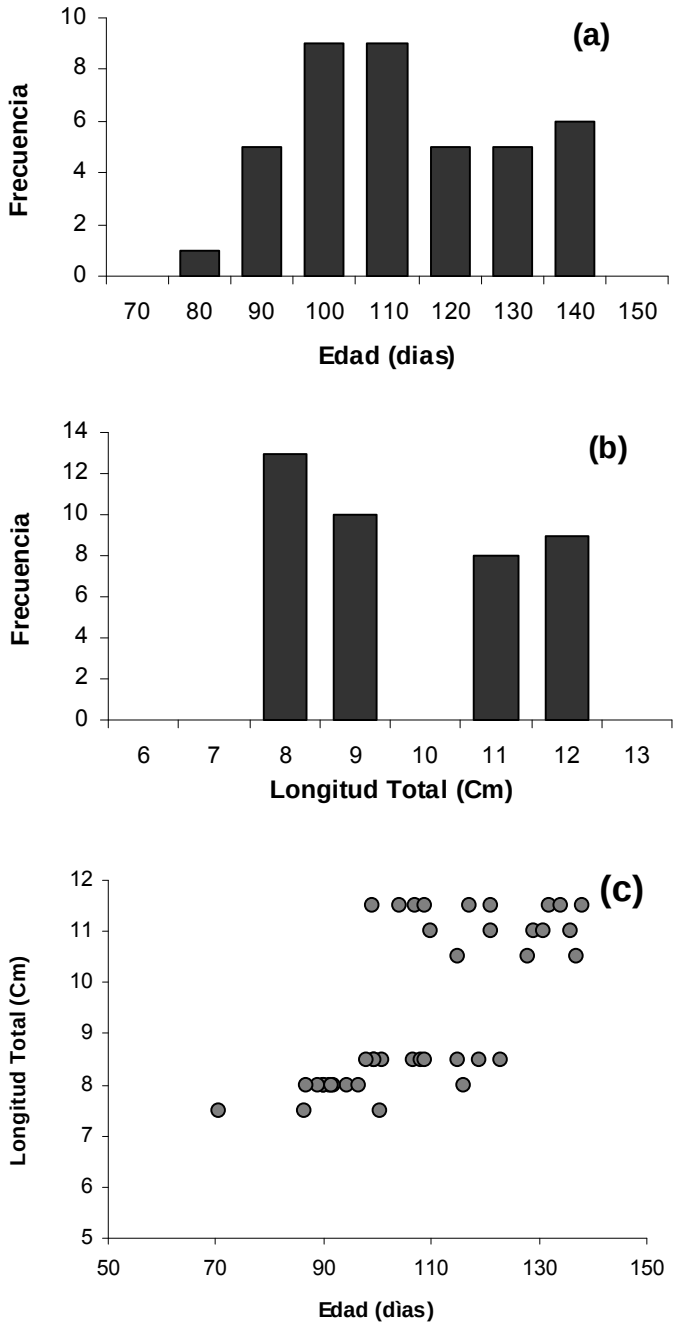


Figura 10. Distribución de frecuencia de longitud (a), edad (b) y (c) la relación talla-edad de una muestra de de 40 juveniles recolectadas en el Sur del Perú en octubre de 2010.

8.2.1.2 Precisión en la lectura de micro-incrementos diarios.

Para evaluar si la asignación de la edad diaria fue influenciada por el lector se diseño un procedimiento comparativo en otolitos Tipo A. Para este efecto, 30 otolitos de juveniles, pulidos en posición sagital fueron datados por lectores con diferentes grados de experiencia en lectura de micro-incrementos diarios, 1 (Ex) Lector experto; (En) 1 Lector entrenado, y 2 lectores principiantes (Lp1 y Lp2). Adicionadamente a la asignación de edad se determinó la calidad de la preparación en función de la resolución de los micro-incrementos diarios: (A) muestras con alta resolución, (B) resolución media y (C) muestras con resolución baja, en la cual los micro-incrementos fueron difíciles de distinguir. El análisis de varianza de dos factores no detectó diferencias significativas en el número de anillos contados entre los 4 lectores. No obstante, el efecto de la calidad de la preparación fue significativo, explicando el 31% de la variabilidad total, siendo la calidad "baja" la de mayor efecto (**Tabla 2, Fig. 11**).

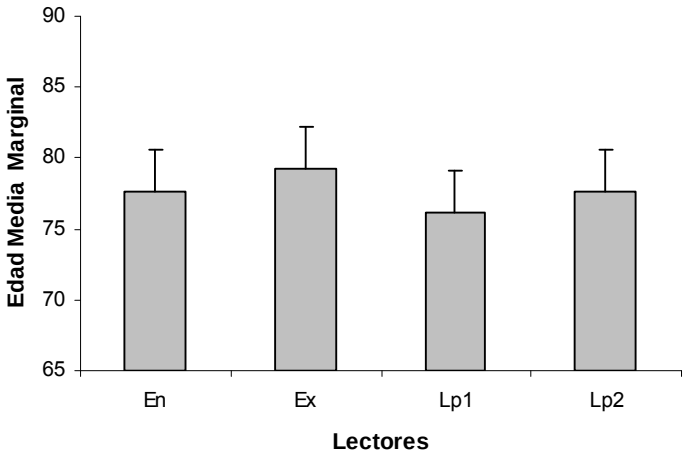


Figura 11. Medias marginales derivadas de un Análisis de Varianza de dos factores fijos (1: experiencia del lector y 2: calidad de la preparación) para evaluar la elegibilidad de micro-incrementos de otolitos en 30 juveniles de anchoveta del norte.

En forma adicional se efectuaron dos experiencias con laboratorios externos para verificar la precisión de las lecturas de los micro-incrementos en sección pulidas de otolitos de *E. ringens*. La primera se efectuó en el marco del Taller Metodológico AZTI-IFOP y la segunda en el Taller IMARPE-IFOP. En ambas experiencias no se detectaron dificultades tanto en la identificación como en la precisión de las lecturas. Mayores detalles de los resultados se entregan en los **ANEXOS I y III**.

Tabla 2.
Análisis de varianza con dos factores fijos para evaluar la elegibilidad de micro-incrementos de otolitos en 30 juveniles de anchoveta del norte. Factor 1: lector con diferentes grados de experiencia y factor 2: calidad de la preparación de los otolitos para análisis micro-estructural (alta, media y baja).

Fuente	SCE	df	CME	F	p	np
Model	13317,5	11	1210,68	5,02	0,0000	0,34
Intercepto	378207,7	1	378207,74	1568,52	0,0000	0,94
Lector	597,1	3	199,03	0,83	0,4826	0,02
Calidad	12288,4	2	6144,20	25,48	0,0000	0,32
Lector * Cal	878,6	6	146,43	0,61	0,7240	0,03
Error	26041,4	108	241,12			
Total	643711,0	120				
Corrected Total	45354,89	149				

8.2.1.3 Lectura de micro-incrementos y tasas de crecimiento diario.

a) Tasa de Crecimiento Global

En el periodo de estudio, la tasa de crecimiento global (TCG) fluctuó entre 0,84 mmd^{-1} a 1,2 mmd^{-1}, mostrando una elevada variabilidad (heterogeneidad de varianza). (**Fig. 12**). Para establecer si existieron diferencias significativas en la TCM por mes de nacimiento se efectúo una ANDEVA de una vía excluyendo los meses con tamaños de muestra menores a 13 individuos. Como las variables en forma de razones y/o tasas presentan una variabilidad intrínseca mayor a variables convencionales, la TCG fue transformada a LOG +0,5. El análisis no mostró diferencias significativas en la TCG (p=0,23) entre los cohortes mensuales (**Tabla 3**).

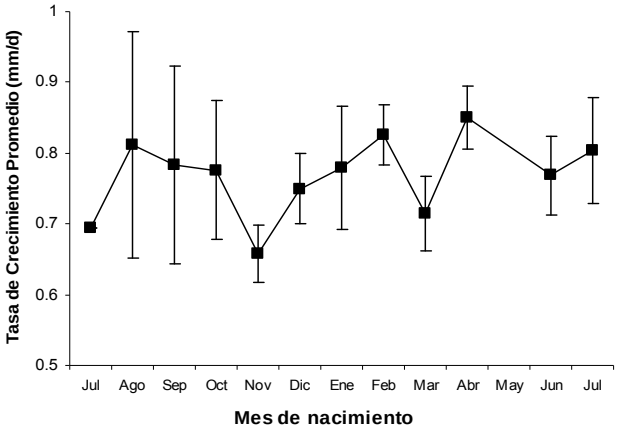


Figura 12. Ilustración de los cambios en la tasa de crecimiento global media por cada cohorte de nacimientos desde julio de 2009 a julio de 2010, de reclutas de *E. ringens* en el norte de Chile. Las barras verticales denotan 1 desviación estándar.

Tabla 3.
Análisis de homogeneidad de varianza (a) y de contraste de medias (ANDEVA; b) para evaluar la hipótesis de que el $\log_{10}$ de crecimiento global (TCG) de juveniles *E. ringens* no varió significativamente por cada cohorte de nacimiento, cuando el tamaño de muestra fue superior a 13 ejemplares.

	Estadístico Levene	GL1	GL2	P		
(a)	1,24	7	263	0,281		
	Fuente de variabilidad	SC	GL	CM	F	P
(b)	Entre Grupos	0,055	7	0,0	1,325	0,238
	Intra-Grupos	1,546	263	0,0		
	Total	1,601	270			

b) <u>Relación talla - edad</u>

La relación Talla-edad de todos los ejemplares combinados mostró una elevada variabilidad para el rango de longitud (7,5-12,0 cm) y edad analizada (57-160 días) (**Fig. 13a**.), particularmente después del tercer mes de vida, donde se observó que juveniles de una misma longitud pueden tener edad de hasta 50 días

de diferencia. A pesar de la aparente variabilidad y el reducido rango de longitud, se observó un patrón de crecimiento asintótico que se ajustó significativamente a un modelo Laird-Gompertz de la forma:

$$L_x = L_\infty \exp[-\exp(-\alpha\{age - X_0\})] \quad (1)$$

En esta ecuación la tasa de crecimiento instantánea (TCI) a cualquier edad es estimada como TCI= $\alpha \cdot L_x$ ($ln\ L_\infty - ln\ L_x$) y la TCA al punto de inflexión (el punto que marca el mayor crecimiento) se estimó como $TCA_{pi} = \alpha \cdot L_{Xo}$ ($ln\ L_\infty - ln\ L_{Xo}$), donde L_{X0} es la longitud estimada a X_0. El modelo cuyos parámetros se muestran en la **Tabla 4** describe una notoria caída en el crecimiento entre el tercer y quinto mes de vida cuando los juveniles se encuentran entre los 9 y 12 cm de longitud total. El modelo estimó una máxima tasa instantánea de crecimiento de 1,4 mmd^{-1} al punto de inflexión de 37 días (**Tabla 4**). Para evaluar si la estacionalidad del desove podría estar afectando la aparente variabilidad en la relación talla-edad, se hizo un análisis por separado por cohorte de nacimiento. Sólo la cohorte de de octubre de 2009 tuvo una rango de talla suficiente para este tipo de análisis. Aunque el ajuste mejoró debido a la menor variabilidad, las tasas de crecimiento estimadas fueron similares al análisis global (**Fig. 13b; Tabla 4**).

Tabla 4.
Parámetros derivados de un ajuste de un modelo Laird-Gompertz a juveniles *E. ringens* de entre 7,5 y 12,0 cm LT, recolectados en la zona norte de Chile, desde noviembre 2009 a octubre 2010.

Cohorte	L_∞	*a*	X_0	*TL at* X_0	TCI_{pi}	r^2
Global	11,150	0,037	37,183	4,102	1,376	0,744
Octubre 2009	11,601	0,034	33,747	4,268	1,147	0,869

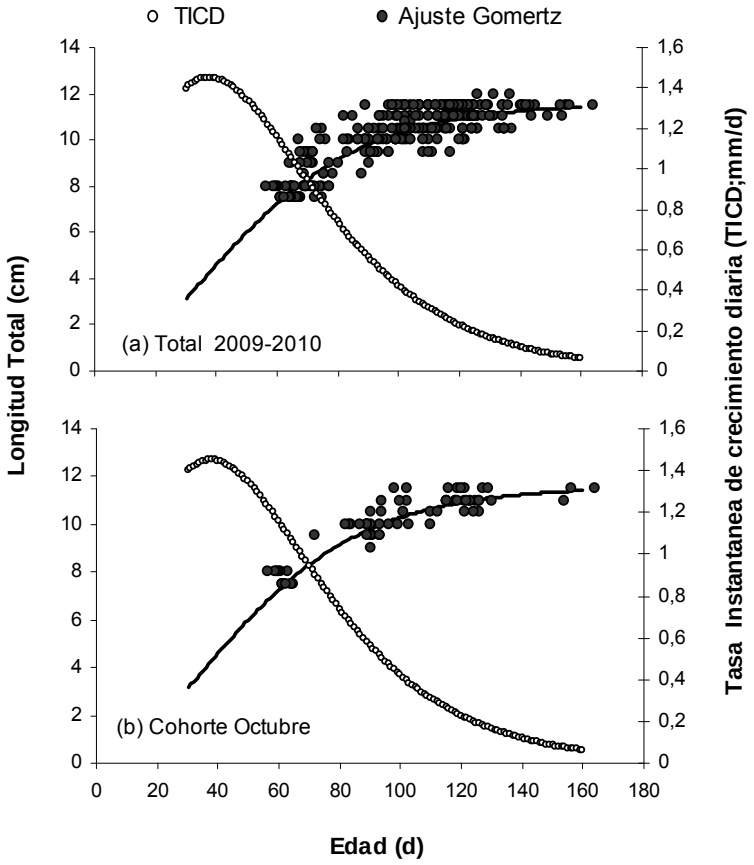


Figura 13. Relación talla-edad mediante un ajuste de un modelo Laird-Gompertz a juveniles de *E. ringens* en el norte de Chile. Los parámetros del ajuste se indican en la **Tabla 4**.

c) <u>Relación Talla-Edad por Fecha de Captura</u>

La relación talla-edad pudo ser analizada en meses en que el rango de tamaño fue mayor, y dicha relación siguió una tendencia lineal significativa. La edad explicó entre el 30 y 90% de la variabilidad en la longitud para juveniles en un rango de 7,5 y 12,0 cm de longitud total. La tasas de crecimiento media (pendiente de la función) varió entre 0,035 y 0,097 cmd^{-1}, variando significativamente entre los tres meses analizados (ANCOVA $p<0,05$). (**Fig. 14**).

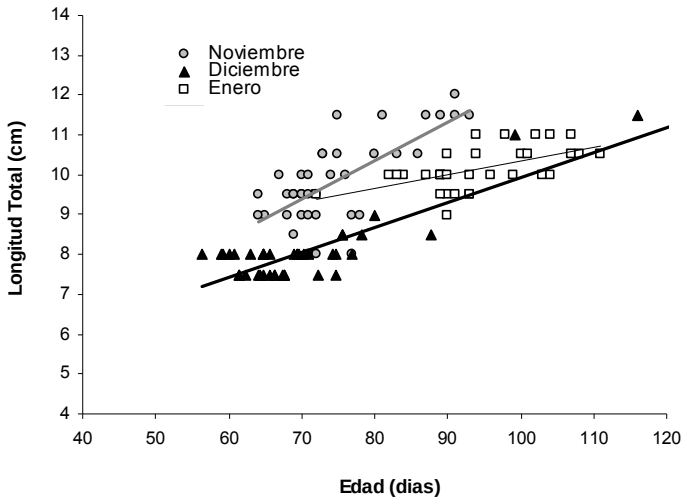


Figura 14. Relación Longitud-edad para otolitos de juveniles de anchoveta del norte, agrupados por mes de captura. Los parámetros se entregan en la **Tabla 5**.

Tabla 5.
Coeficientes de la relación longitud (cm) - edad (días) para juveniles de anchoveta del norte, agrupados por mes de captura.

Mes	n	a ± SE	b ± SE	r^2
Nov	38	2,63 ± 0,12	0,097 ± 0,02	0,49
Dic	44	3,68 ± 0,25	0,063 ± 0,03	0,91
Ene	32	6,88 ± 0,86	0,035 ± 0,09	0,33
Total	114	4,52 ± 0,41	0,060 ± 0,05	0,57

d) <u>Relación Longitud- Radio</u>

La relación entre el radio máximo, medido desde el primordio hacia el eje posterior máximo del otolito y la longitud total fue analizada en un total de 130 juveniles en función del mes de captura. Se debe subrayar que para efectos de retro-cálculo en estudios posteriores, es imprescindible revelar si la relación RO-

LT sigue una tendencia lineal. Para cubrir un mayor rango de datos la información fue combinada en los tres meses analizados, resultando la función global estadísticamente significativa (**Fig. 15**).

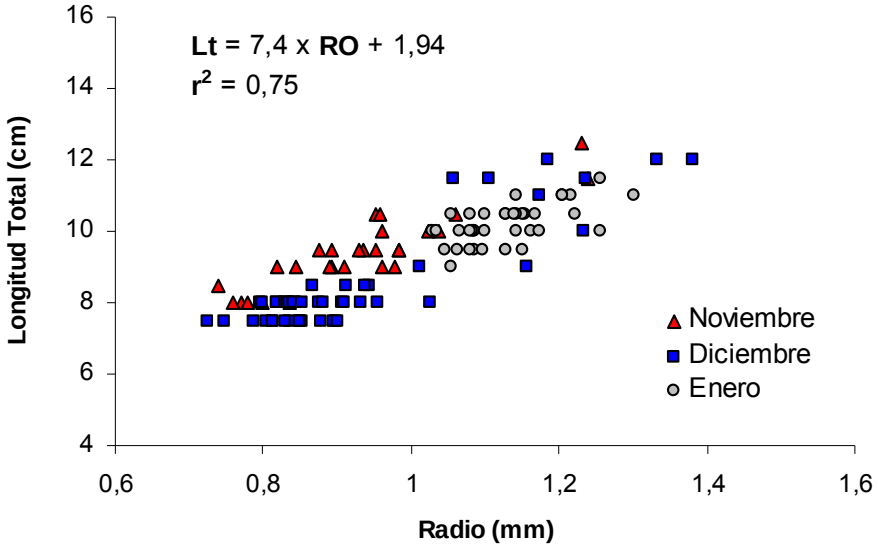


Figura 15. Relación Longitud-Radio para otolitos de juveniles de anchoveta del norte, agrupados por mes de captura.

A continuación se describen los resultados asociados al cumplimiento del segundo objetivo específico del proyecto: Determinar la fecha de nacimiento de los juveniles a través del año.

e) <u>Relación Edad-Radio vs Edad-Ancho</u>

Ajustes logarítmicos fueron los mejores modelos para representar la relación Edad- Ancho del otolito ($p<0,001$; **Fig. 16a**) y Edad-Radio (RO) ($p<0,001$; **Fig. 16b**) en muestras de 100 juveniles y 128 juveniles, respectivamente. Para tener una primera aproximación de la edad a la formación de la primera zona hialina (PZH), se midió el radio desde el primordio hasta el comienzo de formación de la

primera zona hialina visible en una muestra aleatoria de 38 juveniles, siguiendo el mismo eje antero-posterior del radio máximo, resultado en valores medios de 0.91±0.15 mm, y edades proyectadas de 73 días cuando la ecuación exponencial de las variables invertidas (Edad=30,01*exp (0,97*Radio)) fue utilizada. Una segunda aproximación resultó de medir directamente las el ancho del núcleo opaco en la zona media del otolito en juveniles >14 cm, pulidos en posición transversal (**Fig. 17**), resultando en valores medios de 2,00±0,15 mm, y edades observadas de 73 días, cuya ecuación es: Edad=29,70*exp(0,45*ancho.

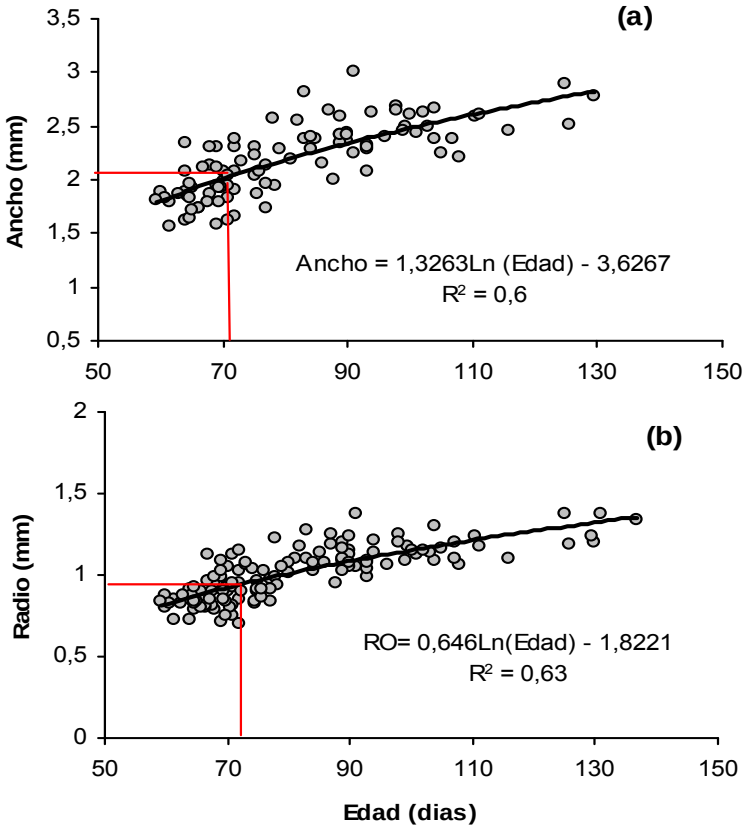


Figura 16. Relación Ancho del otolito-edad (**a**) y Radio-Edad (**b**) para otolitos de juveniles de anchoveta del norte, colectados en noviembre y diciembre de 2009. La líneas rojas proyectadas denotan la el ancho y radio de los otolitos a la formación de la primera zona hialina en función de la edad de los ejemplares.

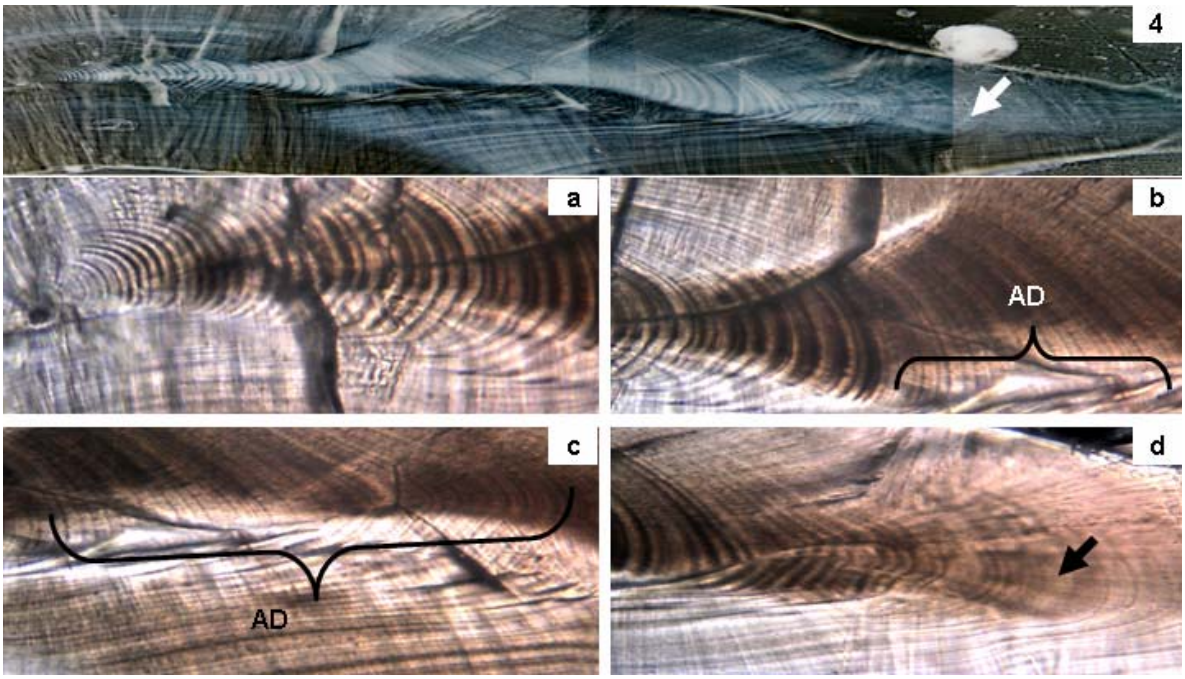


Figura 17. Fotografías bajo luz trasmitida de análisis micro-estructural de otolitos en sección transversal de un ejemplar adulto (LT= 15, 3 cm) de *Engraulis ringens,* colectado en la zona norte de Chile. Aumento= 40X ; La flecha denota el comienzo de la depositación de la zona hialina. AD= Área difusa

f) <u>Análisis de la micro-estructura de adultos *E. ringens*</u>

Se efectuó un estudio piloto de análisis de la micro-estructura de otolitos de ejemplares mayores a 12 cm LT, con el fin de determinar el procedimiento metodológico adecuado para la preparación de otolitos de adultos que permitan revelar los micro-incrementos primarios. Este estudio se llevó a cabo en el marco del taller metodológico sobre comparación de criterios de asignación de edad entre el Centro Tecnológico del Mar y los Alimentos (AZTI) y el Instituto de Fomento Pesquero (IFOP). San Sebastián, 23 agosto 1 de septiembre de 2010.

España (Ver Anexo I). Las principales conclusiones y recomendaciones del estudio piloto fueron las siguientes:,

- Los micro-incrementos en el borde de los otolitos no aparecen fusionados.
- Se concluyó que a pesar de que el proceso es laborioso, existe potencial de revelar la micro-estructura de adultos de ambas especies, en un estudio que involucre un tamaño d muestra mayor y donde se ensaye combinando reexaminación en los bordes sin pulir, pulido parcial en plano sagital, pulido transversal y pulido longitudinal.
- Todo el pulido debiese estar acompañado de un proceso de toma de fotografías secuenciales que ayuden a la reconstrucción de toda la micro-estructura.

Posteriormente se efectuó un estudio en 60 otolitos de adultos de *E. ringens* en un rango de talla de entre 13 y 17 cm LT. Las secciones pulidas en posición longitudinal permitieron observar una secuencia completa de incrementos desde el primordio hasta el borde de los otolitos. Sin embrago, la interpretación de lo anillos primarios resultó difícil, particularmente en la zona de crecimiento rápido del otolito. (**Fig. 1b**), en ejemplares de tallas entre 15 y 17 cm LT. Resultados similares fueron encontrados cuando los otolitos fueron pulidos en sección transversal. Un aspecto importante de destacar fue que la resolución de los otolitos en el borde fue similar a la de los micro-incrementos primarios que rodean el primordio a 1000X aumento (**Fig. 18 c_2 y a**).

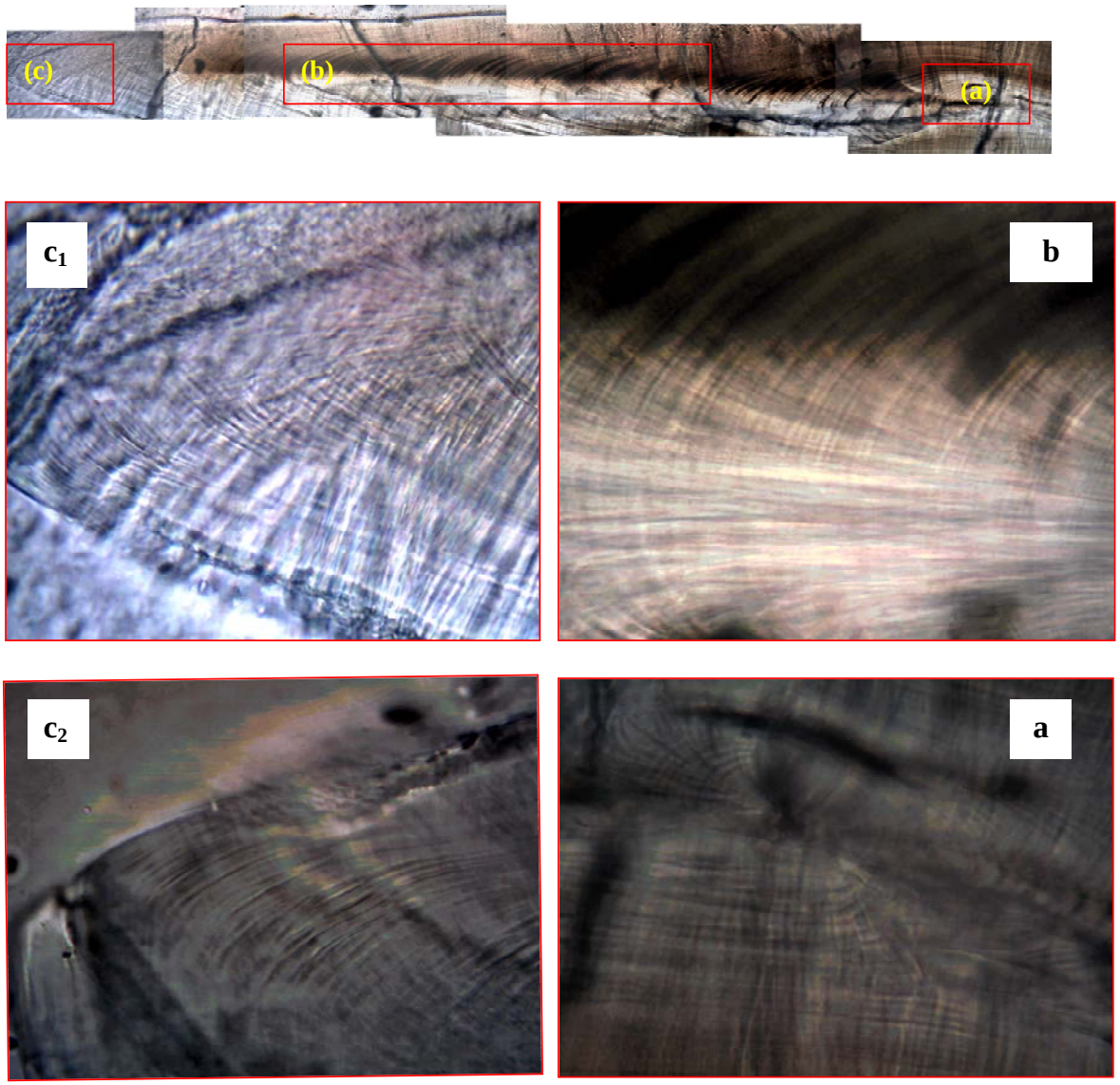


Figura 18. Fotografías bajo luz trasmitida de análisis micro-estructural de 1 otolito en sección longitudinal de 1 ejemplar adulto (LT= 17,5 cm) de *Engraulis ringens,* colectado en la zona norte de Chile. Magnificación a 1000 X (inmersión) en la zona cercana al primordio (a), zona media de crecimiento rápido (b) y hacia el borde del otolito (c). (c1) denota la misma zona del borde del otolito a 400X de magnificación.

Es bien conocido que el sobre-pulido resalta la aparición de artefactos visuales y incrementos sub-diarios, que dificulta la identificación de los micro-incrementos primarios, particularmente en área de crecimiento hialino. Para verificar este aspecto, presumiblemente más probable al pulir otolitos sagitales de adultos, se trató de identificar los micro-incrementos primarios hacia el borde del cauda (región de mayor área) en otolitos enteros embebidos en resina sin pulir. Sólo en 5 casos fue posible identificar micro-incrementos primarios, siguiendo este procedimiento. La **Figura 19**, ilustra la comparación de un área un otolito entero con el mismo posteriormente pulido, donde se mostró que los micro-incrementos primarios fueron evidentes en la primera con grosores entre 2,2 y 3,3 μm. El sobre-pulido gatillo la aparición de estructuras de mucho menor grosor (<1,5 μm) (**Fig. 20**).

8.2.1.4 Verificación de micro-estructura con Microscopio Electrónico Barrido (SEM)

La micro-estructura de otolitos de anchoveta bajo SEM en general mostraron baja resolución, particularmente en la zona de crecimiento hialino. De un total de 10 muestras de ejemplares sólo en una muestra se obtuvo una resolución adecuada para observar los micro-incrementos, particularmente en la región cercana al núcleo y en la zona de crecimiento rápido de la fase juvenil, donde la zonas de crecimiento ricas y pobres en carbonato pudieron ser distinguidas (**Fig. 21**). Los primeros anillos visibles se observaron a los 10-12 um, después de de una zona difusa rodeando un primordio central con diámetros entre 7-9 um. Los micro-incrementos en la zona de crecimiento rápido fluctuaron entre 10 y 18 um.

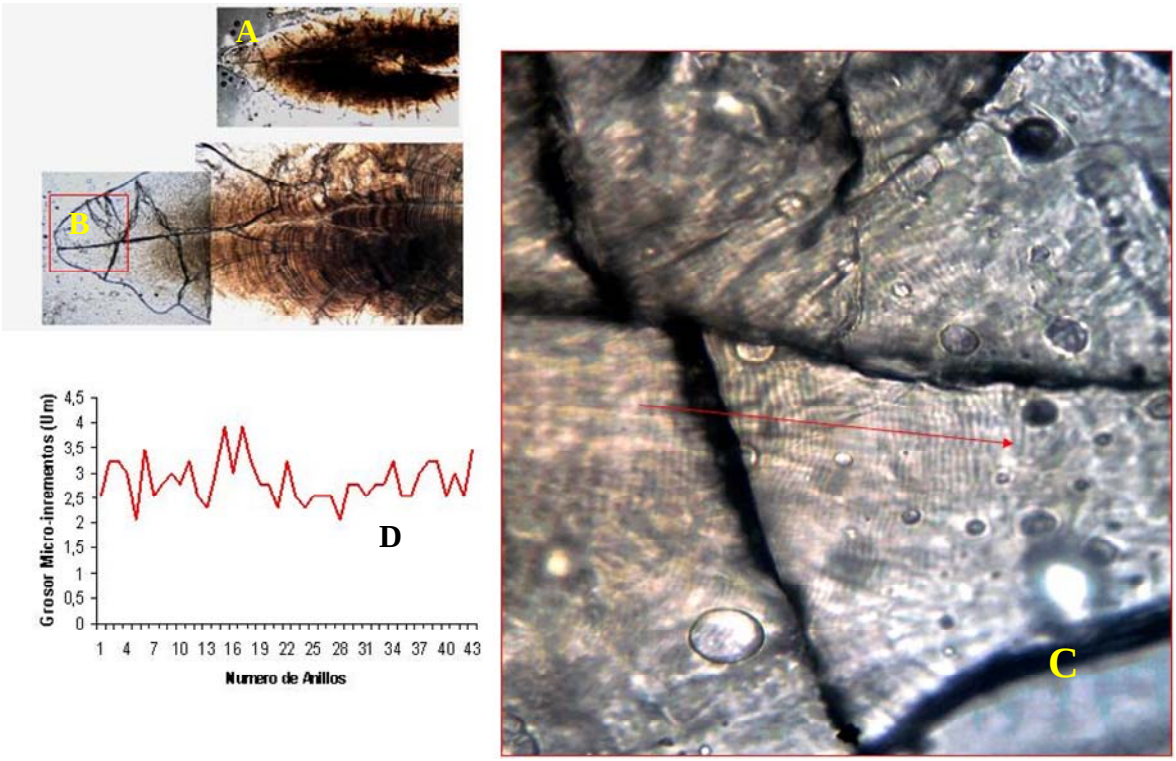


Figura 19. Fotografías bajo luz trasmitida de análisis micro-estructural de 1 otolitos en sección sagital de 1 ejemplar adulto (LT= 17 cm) de *Engraulis ringens,* colectado en la zona norte de Chile. (A) Magnificación a 40X; (B & C) Ilustración de una zona sin pulir hacia el borde de los otolitos donde lo micro-incrementos primarios son claramente visibles a 400X de aumento (D) Perfil de grosor de los incrementos a través de la flecha.

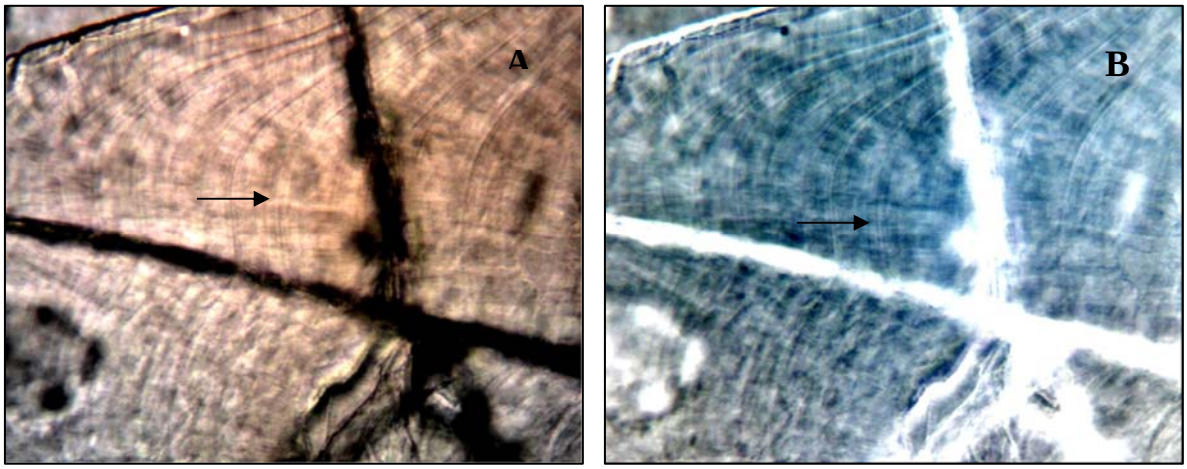


Figura 20. Fotografías bajo luz trasmitida de análisis micro-estructural para ilustrar el efecto de sobrepulido hacia los bordes de otolitos sagitales de *Engraulis ringens,* colectado en la zona norte de Chile. (A) Imagen normal (A) e invertida a 400X de la misma zona ilustrada en Figura 20 C.

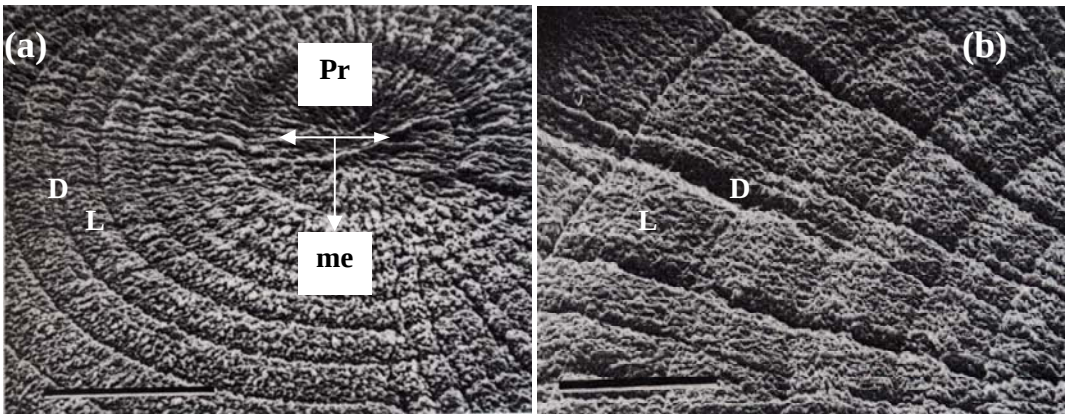


Figura 21. Fotografías bajo observación en microscopía electrónica de barrido de secciones de otolitos de 1 ejemplar de *Engraulis ringens* de 15 cm de LT recolectado en la Zona norte de Chile. D= Zona pobre en carbonato; L= Zona rica en carbonato; Me= marca de eclosión; Pr= primordio. Regla= 10 um. (a) Área cerca al núcleo; (b) área de crecimiento rápido.

8.2.2 Determinar las fechas de nacimiento de los ejemplares a través del año.

En función de los hallazgos de interpretación de los microincrementos se estimaron las fechas de nacimientos (FN) utilizando otolitos con preparación de calidad media y alta. El promedio de dos lecturas efectuadas por lectores independientes fue utilizado como estimación de la edad diaria. Las fechas de nacimiento fueron calculadas substrayendo a la fecha captura la edad diaria total. La edad diaria fue determinada contando el número de incrementos desde la segundo anillo concéntrico que rodea el primordium central hasta el borde del otolito. En total se logro analizar 285 otolitos, cuyas estadísticas generales se muestran en la **Tabla 6**, donde se evidencia que juveniles de entre 7,5 y 12,0 cm de LT (media=10,3±1,2), recolectados desde noviembre de 2009 a octubre de 2010, tuvieron edades que fluctuaron entre 56 y 166 días (media: 103±23 d).

Tabla 6.
Estadísticas generales de Longitud Total (cm) y Edad diaria de 285 juveniles de *Engraulis ringens* en la zona norte, reveladas utilizando análisis de la micro-estructura de otolitos sagitales. DE: desviación estándar.

Nacimiento	LT(cm)	±	DE	Min	Max	Edad (días)	±	DE	Min	Max	n
Jul/2009	12,0	±	.	12,0	12,0	137	±	.	137	137	1
Ago/2009	10,5	±	1,31	8,0	12,0	104	±	30	72	166	13
Sep/2009	9,2	±	1,35	7,5	11,5	90	±	30	64	155	67
Oct/2009	10,1	±	1,26	7,5	11,5	100	±	26	56	164	68
Nov/2009	10,5	±	0,51	9,5	11,0	121	±	9	108	149	22
Dic/2009	10,6	±	0,83	9,0	11,5	108	±	12	91	134	21
Ene/2010	11,3	±	0,29	10,5	11,5	114	±	12	85	141	25
Feb/2010	11,5	±	0,00	11,5	11,5	109	±	5	101	114	6
Mar/2010	11,2	±	0,53	9,5	11,5	122	±	7	112	142	19
Abr/2010	11,5	±	0,00	11,5	11,5	106	±	6	102	110	2
Jun/2010	11,2	±	0,41	10,5	11,5	113	±	5	105	118	6
Jul/2010	10,4	±	0,47	9,5	11,5	99	±	7	82	112	35
Total	10,3	±	1,2	7,5	12	103		23	56	166	285

La **Figura 22 a-c** ilustra las relación entre el tamaño de los ejemplares al periodo de reclutamiento conjuntamente con la estimación de las fechas de nacimiento de cada ejemplar. El rango de nacimiento de los reclutas analizados se extendió desde julio de 2009 a julio de 2010, excepto mayo de 2010, donde nos se observaron nacimientos (**Fig. 22c**). En términos generales se demostró que en cada uno de los meses analizado los juveniles vulnerables a la pesquería de tamaño entre 7 y 12 cm (**Fig. 22a**), fueron producto de un desove que ocurrió aproximadamente entre 3-4 meses previos **(Fig.22 b-c)**. Los resultados también confirman que la anchoveta en el norte de Chile presenta eventos de desove distribuidos prácticamente a largo de todo un ciclo anual. Se debe subrayar que en los meses de junio y agosto no se obtuvieron ejemplares para análisis de los micro-incrementos diarios.

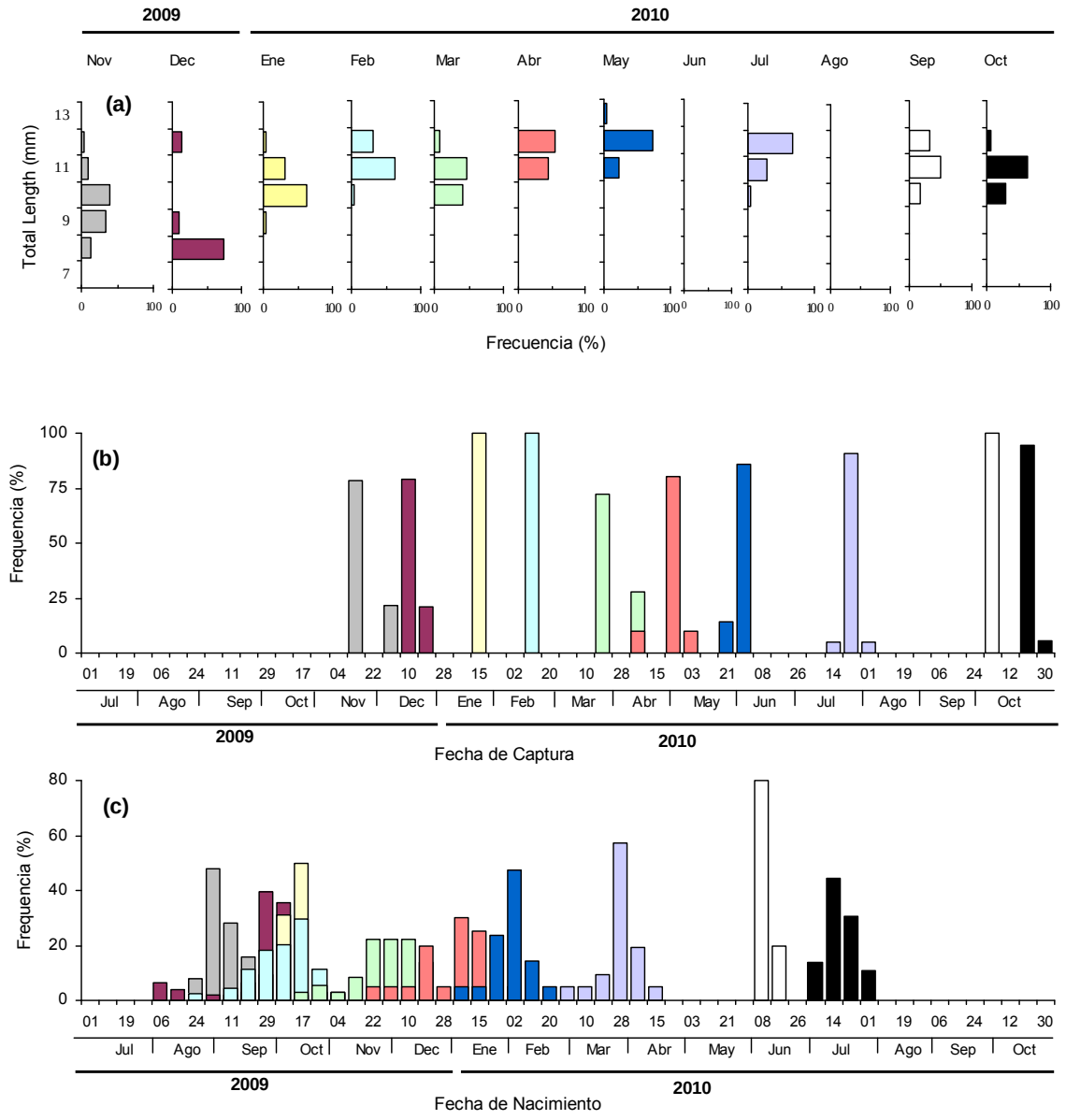


Figura 22. Ilustración de la relación entre talla de los reclutas, fecha de captura y fecha de nacimiento, estimada a través de análisis de la micro-estructura de otolitos sagitales de la anchoveta *Engraulis ringes* en el norte de Chile.

8.3 Verificar la correcta estimación de edad de los ejemplares de año

Los mejores resultados para revelar los micro-incrementos primarios en otolitos de adultos *E. ringens* fueron obtenidos cuando se efectuó un pulido serial en plano sagital, evitando sobre-pulir los bordes y tomando fotografías secuenciales con el progreso del pulido, lo que permitió una secuencia completa de micro-incrementos. La identificación de los micro-incrementos primarios fue posible siguiendo una trayectoria curva desde el primordio hacia el anti-rostro, zona en la cual el sobre-pulido fue inexistente (**Fig. 23**).

Figura 23. Fotografías bajo luz trasmitida de análisis micro-estructural para ilustrar el proceso de lectura de micro-incrementos primarios en adultos de *Engraulis ringens,* recolectados en la zona norte de Chile.

La **Figura 24** ilustra una secuencia completa magnificada de un ejemplar de 16 cm LT. El criterio de lectura siguió las recomendaciones emanadas del Taller AZTI-IFOP, *i.e.*, utilizar incremento de 40X-100X (inmersión) cerca del núcleo, 20X en la zonas de mayor crecimiento del otolito y 40-100X en las zonas del borde del otolito, particularmente cuando las tasas de crecimiento del otolitos se encuentren cercanas a 1 um/dia. En el caso de adultos de *E. ringens* el mejor procedimiento fue secuenciar los micro-incrementos primarios a 40X desde el primordio hasta el borde del otolito pulido, y combinando esta información con observación a 100X para identificar correctamente al anillo primario.

La preparación fue un proceso laborioso, debido a que muchos otolitos fueron destruidos durante el proceso de pulido. Finalmente, un total de 15 secciones de otolitos de adultos pulidos estuvieron disponibles para el análisis. En éstos la relación lineal entre el radio del otolito hacia el cauda (RC) con el radio del otolito hacia el rostro (RAR) no fue estadísticamente significativa (r^2=0,09; p=0,27), mientras que la relación RC con DT (diámetro total del otolito) fue altamente significante (r^2=0,9; p<0,001) (**Fig. 25**).

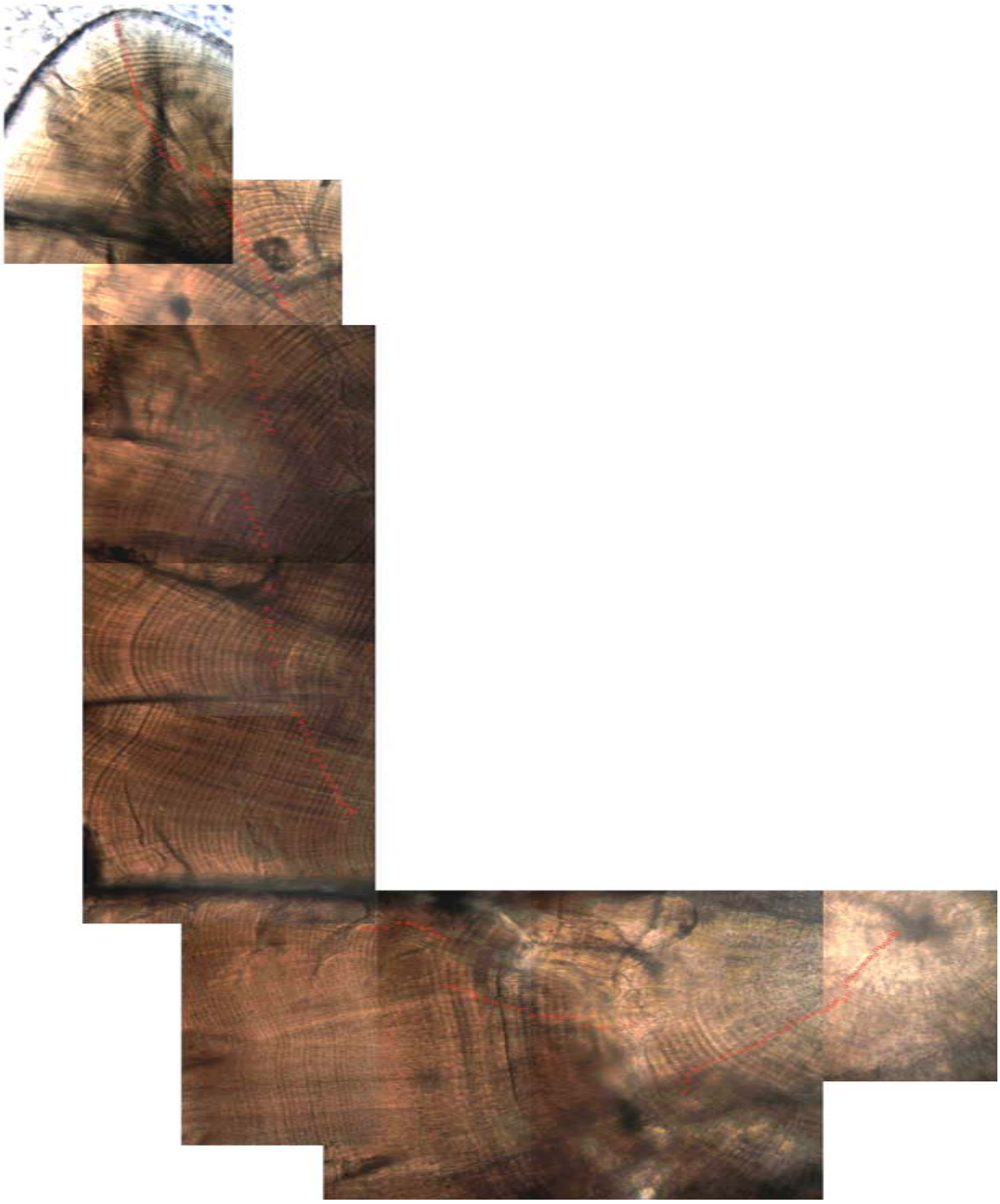


Figura 24. Fotografías bajo luz trasmitida a 400X de análisis micro-estructural de 1 otolitos en sección sagital de un ejemplar adulto (LT= 14 cm; número de incrementos primarios=175) de *Engraulis ringens,* colectado en la zona norte de Chile.

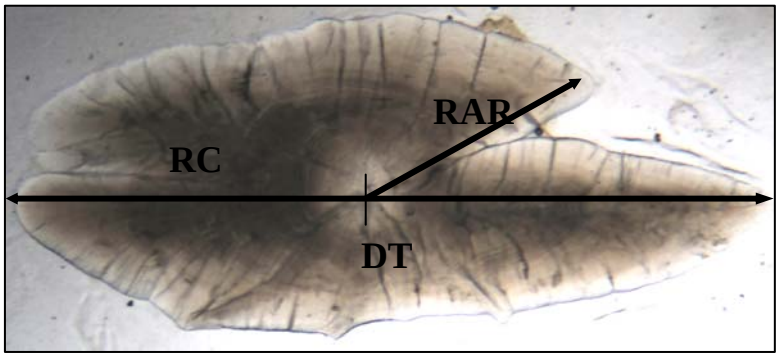


Figura 25. Fotografía bajo luz trasmitida a 100X de aumento para ilustrar las medidas morfométricas utilizadas para relacionar la micro-estructura con la macro-estructura de otolitos de adultos de *Engraulis ringens,* recolectados en la zona norte de Chile.

El número de micro-incrementos primarios en los ejemplares de adultos analizados fluctuaron entre 154 y 378 para ejemplares de entre 13,5 y 17,5 mm LT, respectivamente. En un total de 12 ejemplares pudo obtenerse una correspondencia entre el número de incrementos primarios y las medidas macroscópicas de los otolitos (**Tabla 7**). En algunos casos, particularmente en otolitos de entre 17,0 y 17,5 cm, se pudo cuantificar el número de incrementos desde el primordio hasta el área donde el grosor de los mismos disminuyó notoriamente. La resolución de lo incrementos fue menor hacia el borde del antirostro. En estos casos fue posible identificar el radio y el número de incrementos desde el primordio hasta la zona de mayor visibilidad hacia el rostro (RARCV), área después de la cual hubo una transición hacia un depositación de tipo hialina (**Fig. 26**).

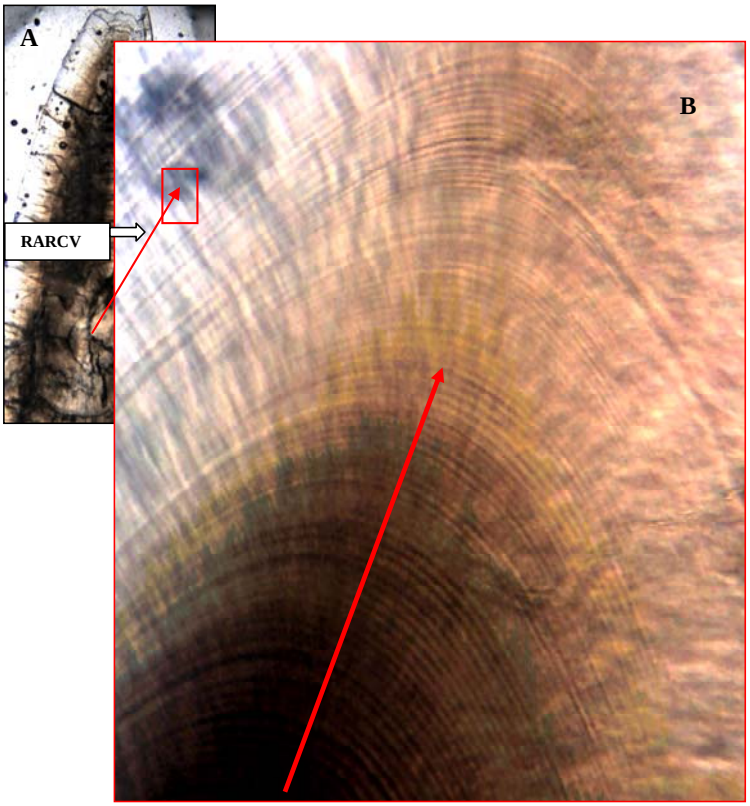


Figura 26. Fotografías bajo luz trasmitida a 100X (A) y 400X (B) de análisis micro-estructural de 1 otolito en sección sagital de 1 ejemplar adulto (LT= 17 cm) de *Engraulis ringens,* ilustrando el área de transición a la cual se pudo obtener una cuantificación de micro-incrementos con mayor resolución. RARCV=Radio hacia el área del antirostro con mayor visibilidad.

Tabla 7.
Estadísticas generales de talla, edad y variables morfométricas asociadas derivadas de análisis micro y macroscópico de otolitos de *Engraulis ringens*.

FC: Fecha de captura; FN: Fecha de nacimiento; ED: edad en dìas; RC: Radio desde el primordio (PR) hasta el extremo posterior del cauda; RAR Radio desde el PR hasta el extremo posterior del antirostro; RARCV: Radio desde el PR hacia el área del antirostro con mayor visibilidad; EARCV; Edad al RARCV; DV: Diámetro estimado al RARCV; AB: Anillos Bianaules; DT: Diámetro total medido desde el extremo del rostro a cauda; D1-D5; medidas de DT a cada marca hialina identificada macroscópicamente.

			Análisis de Micro-estructura de ototlitos					Análisis de Macro-estructura de otolitos								
FC	FN	Talla	ED	RC	RAR	RARCV	EARCV	DV	AB	EA	DT	D1	D2	D3	D4	D5
mar-10	sep-09	13,5	183	1,6	1,6			3,3	2	1,0	3,3	2,8	3,0			
ene-10	jun-09	14,5	200	1,8	1,2			3,7	3	1,5	3,7	2,6	3,2	3,5		
ene-10	abr-09	15,5	260	2,0	2,8			4,0	4	2,0	4,0	2,5	3,0	3,4	3,8	
ene-10	abr-09	17	266	1,9	1,5	1,3	198	3,3	4	2,0	4,1	2,6	3,2	3,6	3,9	
jul-10	jul-09	17	349	2,1	1,4	1,2	229	3,5	4	2,0	4,1	2,8	3,3	3,6	4,0	
jul-10	sep-09	17	287	2,0	1,3	1,1	197	3,5	4	2,0	4,0	2,7	3,1	3,5	3,8	
sep-10	nov-09	17	308	2,0	1,4		198	3,9	4	2,0	3,9	2,6	3,1	3,5	3,8	
jun-10	ago-09	17,5	305	2,0	1,5	1,3	212	3,8	5	2,5	4,3	2,8	3,2	3,6	3,8	4,0
jun-10	ago-09	17,5	301	2,1	1,5	1,2		3,6	5	2,5	4,3	2,6	3,0	3,4	3,8	4,1
sep-10	sep-09	17,5	378	2,0	1,4	1,2	300	3,7	5	2,5	4,4	*	3,3	3,6	3,9	4,2
sep-10	nov-09	17,5	310	2,0	1,4	1,1	203	3,4	5	2,5	4,3	2,8	3,3	3,6	3,9	4,1
	Media	16,5	286,1	2,0	1,5	1,2	219,6	3,6	4,1	2,0	4,0	2,7	3,1	3,5	3,8	4,1
	DE	1,4	57,6	0,1	0,4	0,1	37,3	0,2	0,9	0,5	0,3	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
	CV	8,4	20,1	6,5	28,4	6,9	17,0	6,3	23,1	23,1	7,6	4,4	3,8	2,0	1,9	1,6

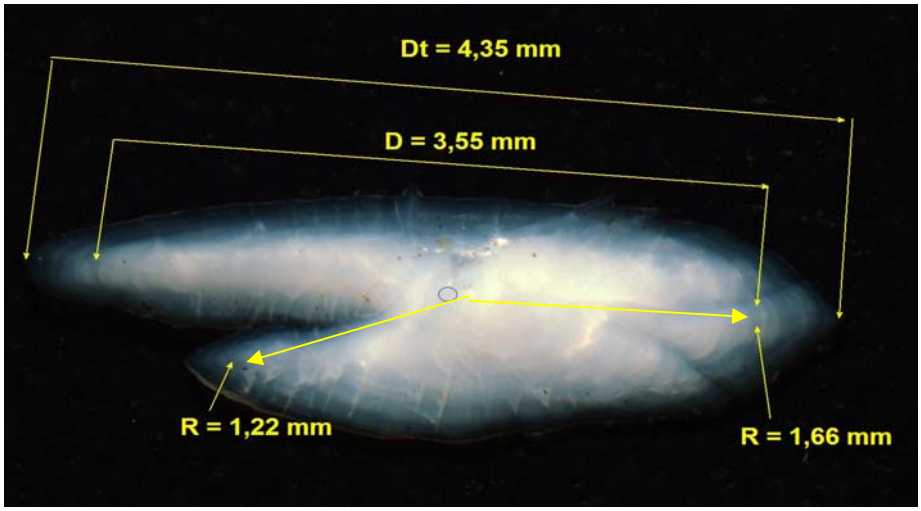


Figura 27. Fotografía bajo luz reflejada de un otolito para ilustrar las medidas morfométricas utilizadas para comparar la información de la micro y macro-estructura de otolitos de adultos de *E. ringens*.

La comparación de la micro-estructura de los otolitos en un mismo individuo se dificultó debido a dos aspectos:

1) Una vez pulido el otolito pierde las características de opacidad y hialinidad que le son propios antes de la preparación, es decir el número marcas visibles macroscópicamente no necesariamente se visualizan de forma idéntica en fina sección resultante.

2) La lectura a nivel diario se efectuó desde el primordio hacia el antirostro, a diferencia de que a nivel macroscópico se utilizó el cauda y el rostro para las lecturas y mediciones.

A pesar de estas limitaciones se pudo proyectar el RARCV al un diámetro total medio en forma macroscópica (DV), utilizando una simple regla de proporcionalidad a nivel individual (**Tabla 7**; **Fig. 25**). Los resultados demostraron que los DV fluctuaron entre 3,3 y 3,8 mm, que correspondería a 198 y 212 días a nivel microscópico y entre 1 y 1,5 años, a nivel de lectura macroscópica, respectivamente (**Tabla 7; Fig. 27**).

La relación RC-Edad, que representa el crecimiento del otolito en función de la edad, se ajustó significativamente a un modelo Laird-Gompertz de la forma $L_x=L_\infty \exp[-\exp(-\alpha \{age- X_0\})]$ (**Fig. 28**). El modelo determinó un crecimiento asintótico de 1999,7 μm y una tasa de crecimiento absoluta del otolito de 6,2 μm a los 148 días.

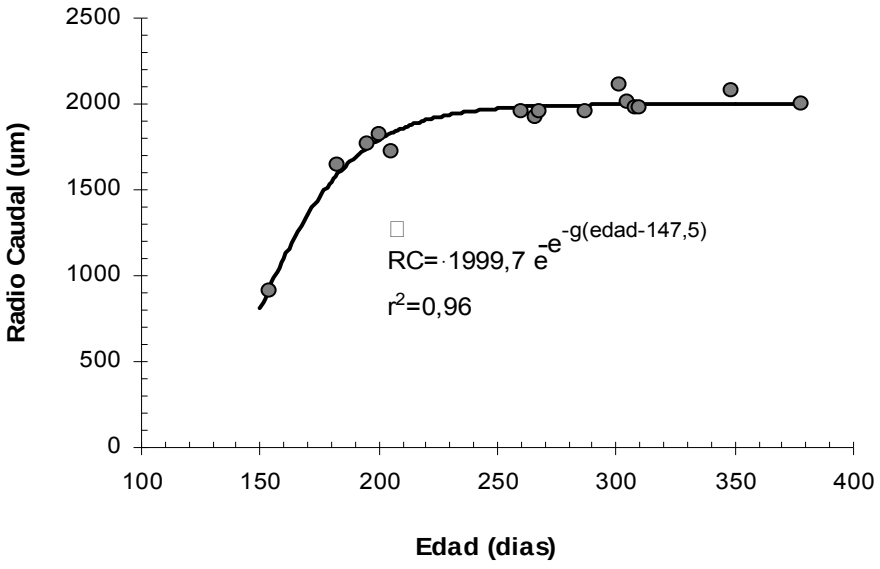


Figura 28. Modelo Laird-Gompertz ajustado a la relación edad-radio en adultos de *Engraulis ringens*

8.4 Revisión de los criterios utilizados para asignar edad y grupo de edad

8.4.1 Análisis Macro-estructura del otolito

8.4.1.1 Caracterización de tipos de otolitos de acuerdo a la edad anual

Con el análisis de otolitos anchoveta enteros se construyó una caracterización de cada tipo correspondiente a las cuatro primeras edades, edad 0, 1, 2 y 3. Esta caracterización de los otolitos que representan distintas edades de la anchoveta considera parte de los resultados de análisis de microestructura encontrados en este estudio. Estos resultados dicen relación con la periodicidad de la primera marca de crecimiento observada, que tendría un tiempo de formación menor al año, sin embargo se mantiene los criterios de asignación de edad anual utilizados hasta el

momento, no innovando, ya que el análisis de los microincrementos diarios para validación del primer annulus requiere de un estudio más acabado que permita rechazar o confirmar los resultados alcanzados en este trabajo. En resumen se mantiene el criterio de la presencia de 2 anillos de crecimiento hialino por año.
La descripción de los otolitos es la siguiente:

a) Otolitos Tipo I: Anchovetas de 0 años de edad

Como resultado de este estudio se puede constatar que el crecimiento rápido de esta especie en peces menores de 1 año de vida hace detenciones del crecimiento, formando anillos hialinos o translúcidos en forma irregular y en peces de aproximadamente 4 meses un anillo hialino marcado. De acuerdo con esto los otolitos de edad cero pueden ser caracterizados de la siguiente forma:

Peces menores a 4 meses de edad (aproximadamente < 7 cm LT).
En general un otolito de esta edad se caracteriza por una gran extensión de crecimiento opaco después del núcleo no exento de marcas hialinas muy débiles en su superficie. Estas marcas hialinas son descritas como anillos falsos o check, los que son fáciles de reconocer por ser sutiles y muy rara vez concéntrico. En algunos casos forman zonas densas, como manchas de material hialino (translúcido) (**Fig. 29**).

Peces de 4 meses de edad (aproximadamente de 7 a 9 cm LT).
La mayoría de los otolitos corresponden a peces que han reclutado a la pesquería con tallas superiores a 7 cm de longitud total (LT), en la gran mayoría de éstos se puede observar un anillo de crecimiento hialino en el borde, marcando una disminución en el crecimiento con una periodicidad anterior al año de vida. Este anillo se observa débil pero igualmente concéntrico que en peces de mayor talla (**Fig. 30**).

Peces > 4 meses de edad (> 9 cm LT).

En estos otolitos se observa un anillo hialino grueso en el borde, en algunas muestras puede presentar una forma de banda hialina formada por un grupo de anillos débiles. El peces de longitudes > 11,0 o 11,5 cm LT este anillo se observa desplazado hacia el centro y ha comenzado a depositarse material opaco (mayor cantidad de calcio) en el borde del otolito (**Fig. 31**).

Figura 29. Imágenes de otolitos de anchovetas juveniles corresponden a peces capturados en diciembre 2010 con tallas que fluctuaron entre los 5, 6 y 7,0 cm LT.

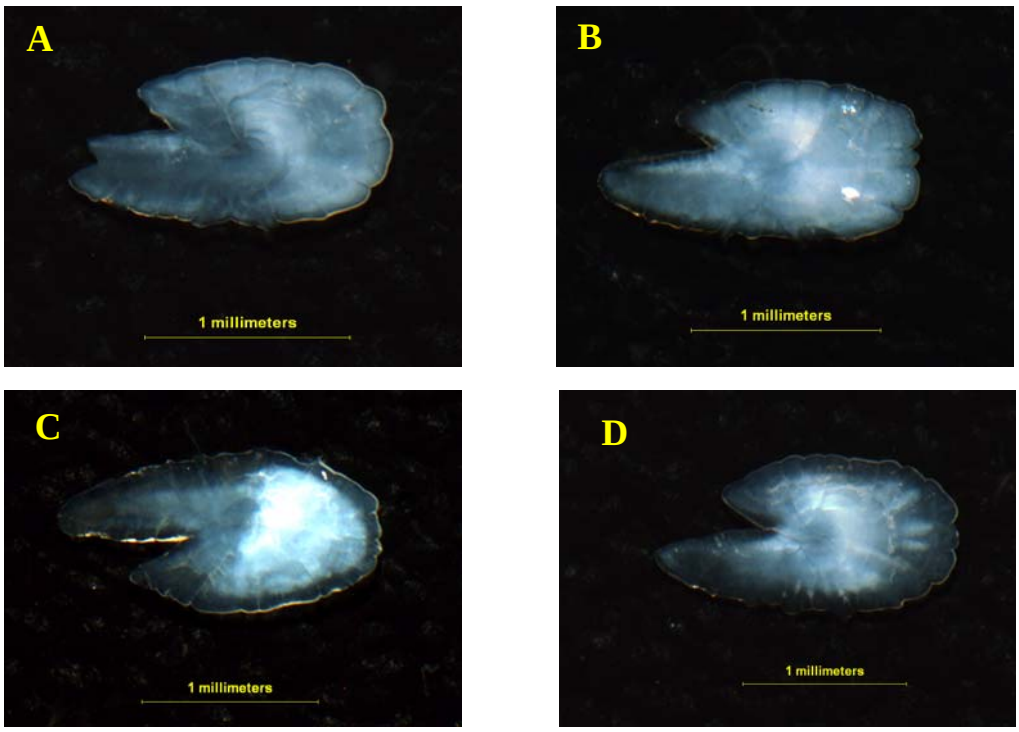


Figura 30. Imágenes de otolitos de anchovetas juveniles. Corresponden a otolitos de peces capturados en diciembre 2009. A y B) peces de 7,5 cm LT y borde hialino pequeño; C y D) peces de 8,0 cm LT y borde hialino. El anillo presente en el borde corresponde a una disminución del crecimiento ocurrida antes del año de vida, desde los 2 a 4 meses de vida. Por lo cual corresponde a peces de edad cero.

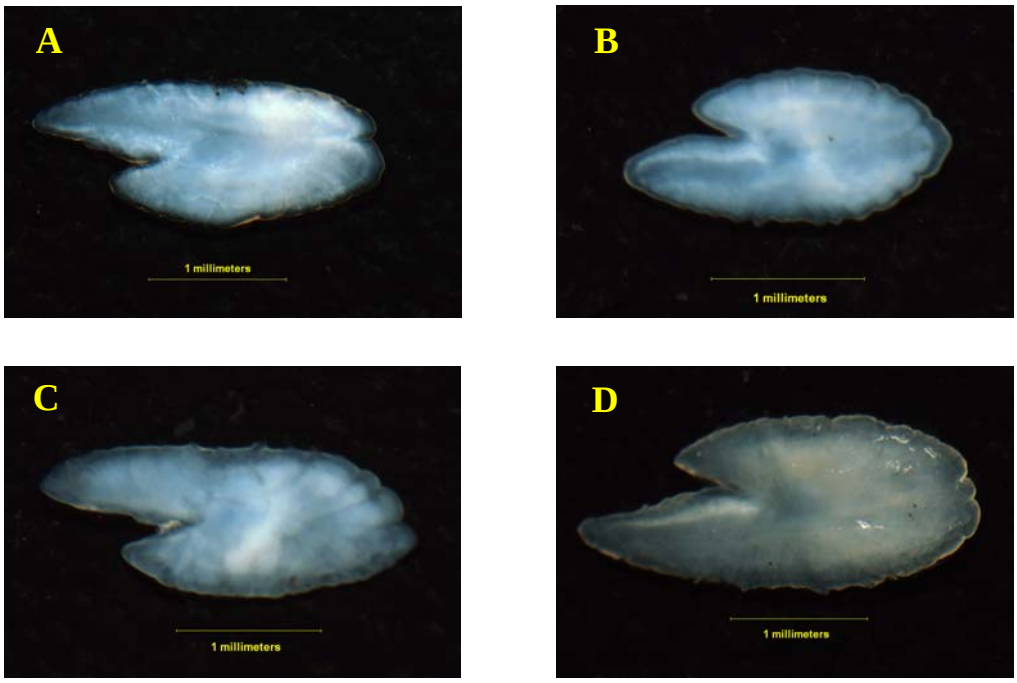


Figura 31. Imágenes de otolitos de anchovetas juveniles capturados en noviembre 2009. A) 10 cm LT borde hialino; B) 10 cm LT se observa anillo hialino formado y borde opaco pequeño; C) 11,5 cm LT se observa anillo hialino formado y borde opaco; D) 12,5 cm LT un anillo formado cerca del borde opaco pequeño, anillo hialino de una periodicidad menor al año. Peces de edad cero.

b) <u>Otolito Tipo II: anchovetas de 1 año de edad</u>

Estos otolitos presentan 2 o 3 bandas de crecimiento muy marcadas. El primer anillo tiene una periodicidad menor al año y se forma aproximadamente a los 4 meses de edad. El segundo anillo marcado tendía una periodicidad anual y corresponde a la detención de crecimiento invernal asociado a la puesta (**Fig. 31 A**). Esta marca presenta un diámetro de aproximadamente 3 mm.

Estos otolitos pueden presentan 3 anillos, de los cuales uno es check o anillo falso y se ubica antes del segundo anillo marcado, este último de periodicidad presumiblemente anual. En las **Figuras 32 B y C** se observa este anillo falso y el

1er anillo anual en el borde del otolito. Otro tipo de otolito de peces con 1 año de edad presenta 3 anillos marcados y en algunos casos también uno falso antes del segundo anillo marcado. De acuerdo a la siguiente secuencia: 1° marcado menor al año, 2° débil considerado falso; 3° marcado considerado anillo de crecimiento anual, 4° marcado en el borde o cerca de el, este anillo se considera de periodicidad menor a dos años de edad, debido a que no hay suficiente crecimiento opaco para ser considerado como una marca del segundo año de vida. Este es un típico otolito de 1,5 años de edad (**Fig. 32 D**).

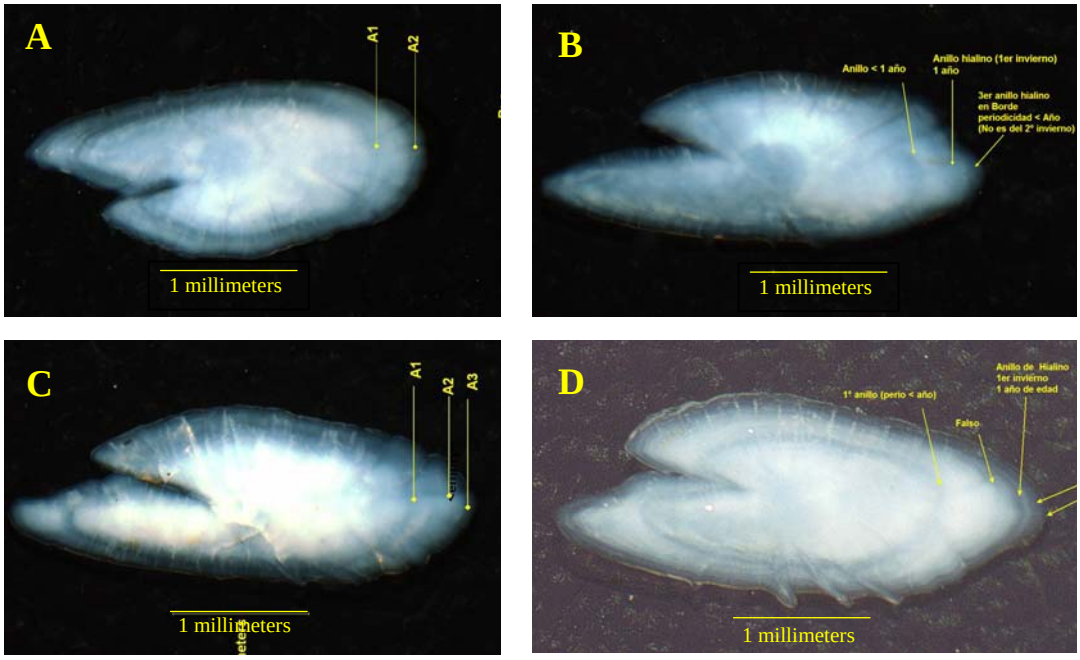


Figura 32. Imágenes de otolitos de anchovetas de 1 año de edad. A) pez de 13 cm LT 1 anillo y borde hialino; B) pez de 13 cm LT se observa 1 anillo marcado, segundo anillo débil y borde hialino; C) Pez 13,5 cm LT presenta las mismas características que B ; D) pez de 14 cm LT, otolito presenta primer anillo marcado, anillo falso y segundo anillo marcado más borde hialino, anillo en el borde tiene una periodicidad menor de dos años, este es un otolito típico de 1,5 años.

c) Otolito Tipo III: anchovetas de 2 años de edad

En la mayoría de los otolitos de 2 años de edad se continúa observando claramente el anillo marcado con periodicidad menor al año. El primer y segundo anillo anual son marcados y concéntricos, sin embargo hacia la cauda es posible que estos anillos correspondan más bien a banda con múltiples anillos que reflejan detenciones sucesivas del crecimiento (**Fig. 33 A y B**).

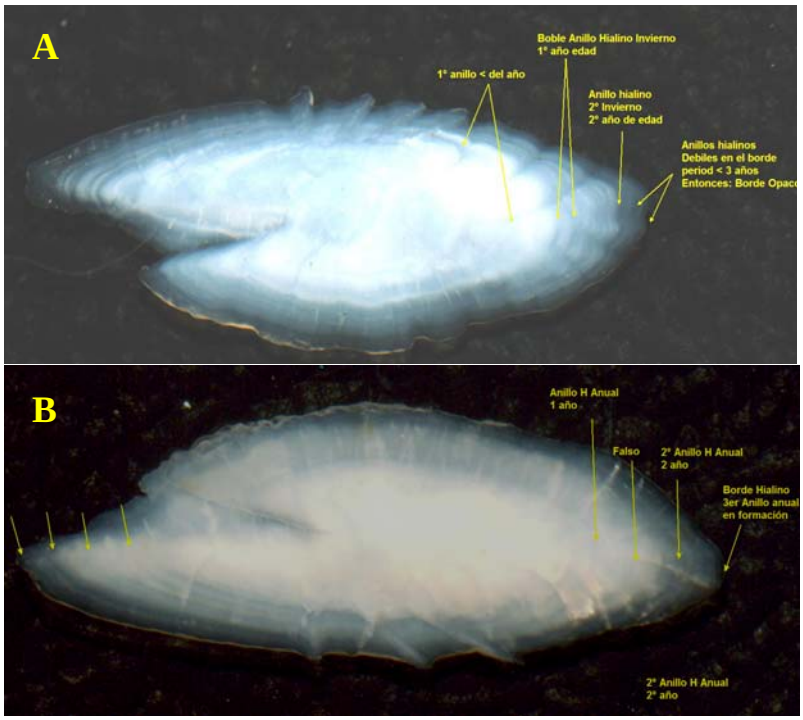


Figura 33. Imágenes de otolitos de anchovetas de 2 años de edad. A) pez de 15,5 cm LT y otolito con tres anillos y borde hialino, edad 2 años; B) pez de 15,0 cm LT se observa 3 anillos marcado y borde hialino, 2 años de edad.

d) Otolito Tipo 4. anchovetas de 3 años de edad

Los otolitos de peces con 3 años de edad pueden presentar anillos muy marcados aunque en la mayoría la resolución de los anillos se reduce y la apariencia general del otolito es más opaca (**Fig. 34 A**). En algunos otolitos se observa con menor

claridad el primer anillo con periodicidad menor al año (**Fig. 33 A y B**), que se aprecia muy marcado en los otolitos de peces juveniles.

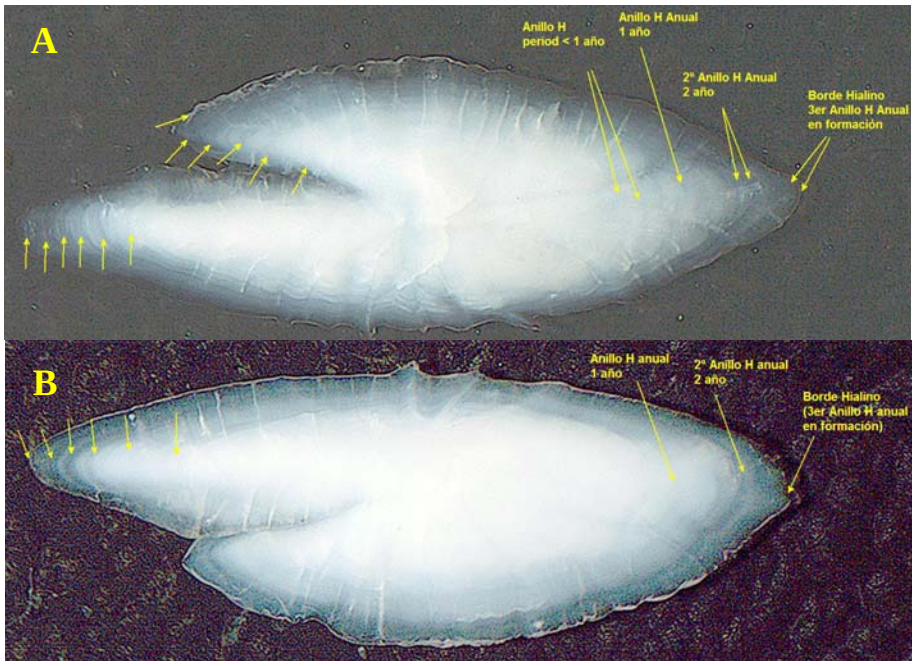


Figura 34. Imágenes de otolitos de anchovetas de 3 años de edad. A) pez de 17,0 cm LT y otolito con 2 anillos anuales y borde hialino, edad 3 años, hacia el rostro se pueden parear 6 anillos para constituir 3 años de edad; B) pez de 17,5 cm LT se observa 2 anillos anuales marcados y borde hialino, 3 años de edad, hacia el rostro se pueden parear 6 anillos para constituir 3 años de edad, considerando 2 anillos por año.

8.4.1.2 Precisión en la estimación de edad anual

El análisis de precisión en la estimación de la edad anual entre lectores independientes mostró un índice de error promedio (APE) de 8,6% y un coeficiente de variación de 12, 4 %. Aunque estos valores pueden ser relativamente altos para un pez de baja longevidad, el análisis gráfico de sesgo no mostró una tendencia en la lectura hacia sub o sobre estimación (**Fig. 35 A y B**).

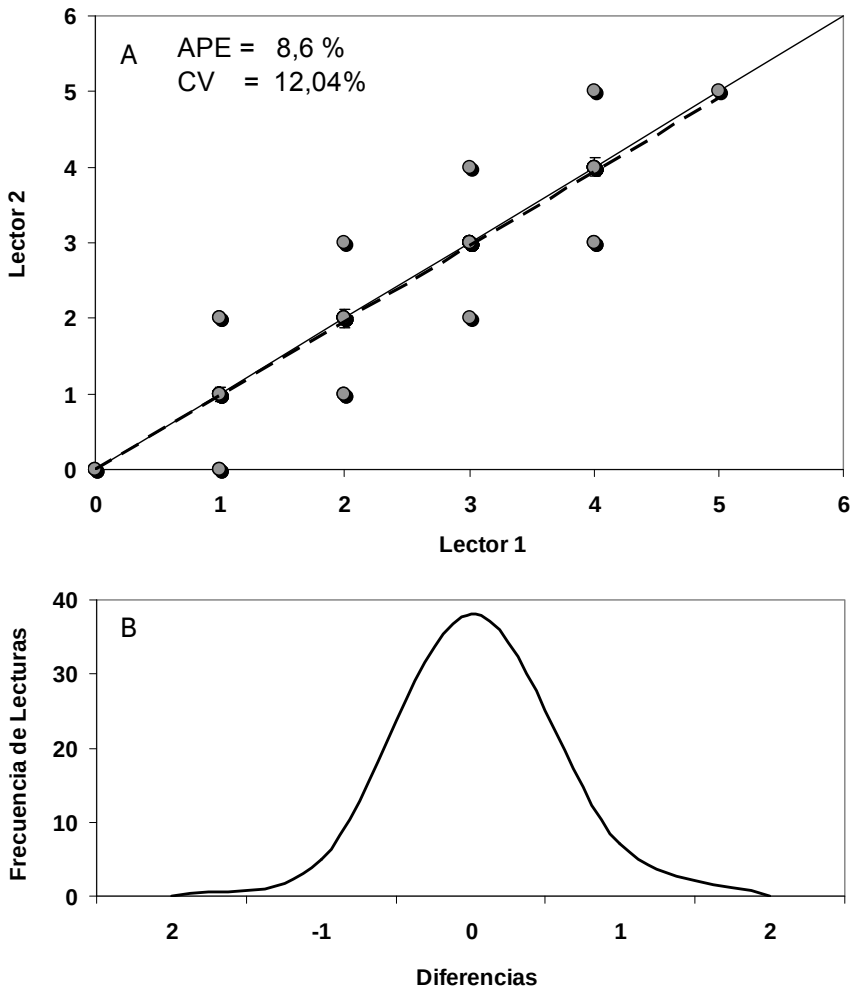


Figura 35. Corresponde al análisis de precisión de estimación de la edad. A) ploteo del número de anillos de periodicidad bianual estimados en otolitos de anchoveta por dos lectores en forma independiente. La línea continua corresponde a la bisectriz y la punteada al valor promedio de los puntos. B) frecuencia de lecturas correspondientes a las diferencias entre los lectores. APE corresponde al porcentaje de error promedio y CV al coeficiente de variación en porcentaje.

8.4.1.3 Periodicidad en la formación de *annuli*

El análisis de la proporción mensual del tipo de borde del otolito para peces de 1 año de edad no muestra una periodicidad anual en la formación del anillo opaco y

hialino. Durante el 2009 el borde opaco tuvo una proporción sobre 0,5 durante todo el año, disminuyendo exclusivamente durante el mes de mayo. Durante el año 2010 se observa una periodicidad más clara, registrando una alta proporción el borde opaco desde enero a mayo, para luego dar paso a una mayor proporción del borde hialino que registra un máximo en julio (**Figura 36 A**). La proporción del borde de otolitos de peces mayores a 1 año de edad no muestra una periodicidad en su formación, manteniendo el borde opaco una alta proporción durante todo el año 2009 y 2010.

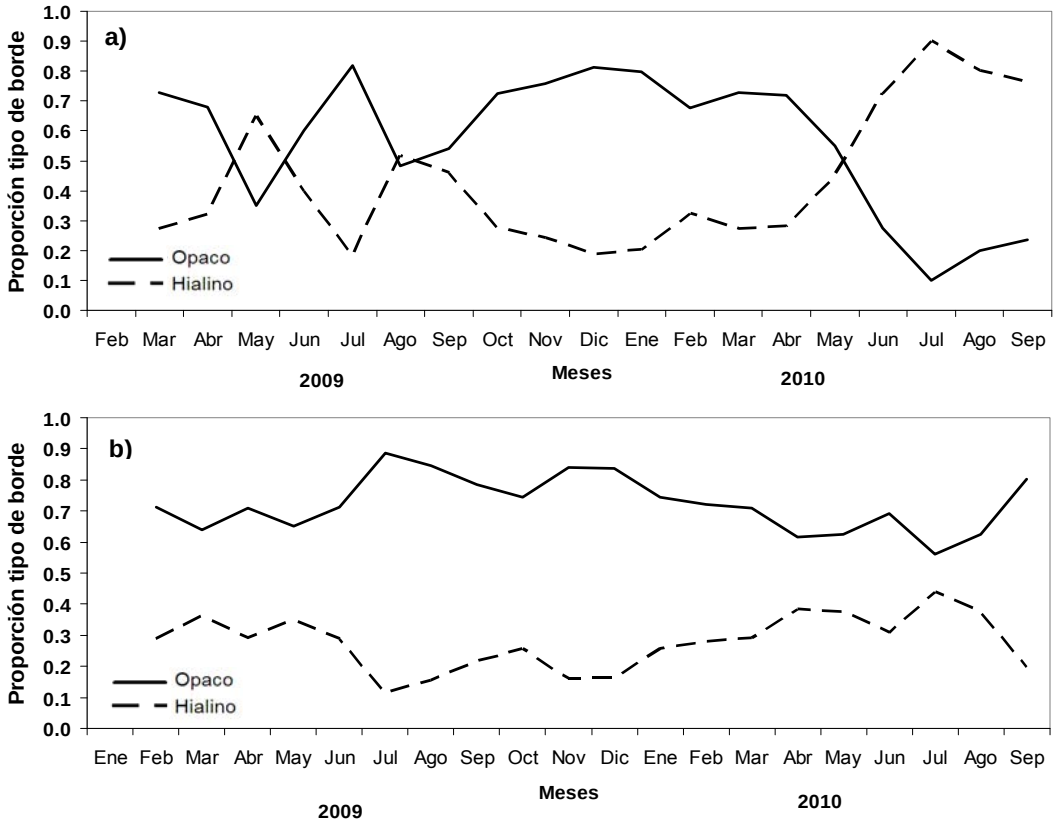


Figura 36. Proporción del tipo de borde (opaco o hialino) por mes de anchoveta de la zona norte de Chile (Arica a Antofagasta) entre febrero 2009 y septiembre 2010. A) Proporción del borde para peces de 1 año de edad; B) peces de más 1 año de edad.

8.4.2 Análisis del tipo de núcleo

La correcta estimación del tipo de núcleo en los otolitos enteros de anchoveta fue posible identificarlo con mayor precisión recurriendo a la observación con luz transmitida como apoyo a la realizada inicialmente con luz reflejada. Los otolitos de anchoveta de la zona norte, principalmente de Arica, presentan una concentración desigual de calcio en su superficie que dificulta la identificación y ubicación del tipo de núcleo, lo cual fue facilitado con el uso de luz transmitida (**Fig. 37**)

El porcentaje de núcleo hialino en otolitos de anchovetas juveniles (<12 cm LT), clasificados por su fecha de nacimiento, mostró valores mensuales por sobre el 50%, durante todos los meses de nacimiento entre agosto del 2009 y julio del 2010. Sin embargo, aunque en ningún mes prevalezcan los núcleos de tipo opaco, existe fluctuaciones mensuales del núcleo hialino, el cual mantiene valores por sobre el 75% desde marzo hasta octubre (otoño a inicio de primavera) y bajo el 75% desde noviembre a febrero (primavera-verano), siendo el valor menor el reportado en diciembre con un 53% (**Fig. 38**). El mayor porcentaje relativo del núcleo hialino durante los meses de otoño e invierno podría estar asociado a la ocurrencia de bajas temperaturas superficial del mar (TSM), ya que el núcleo hialino o translúcido, que presenta una menor cantidad de calcio, es propio de peces nacidos en invierno, en condiciones de temperaturas más bajas, en tanto que un núcleo opaco es característico de peces nacidos en época estival, bajo temperaturas más altas. De esta forma es lógico esperar, a la luz de las fechas de nacimiento estimadas en este estudio, que de noviembre a enero exista una tendencia a la disminución en el porcentaje de otolitos con núcleo hialino (Mosegaard and Madsen, 1996).

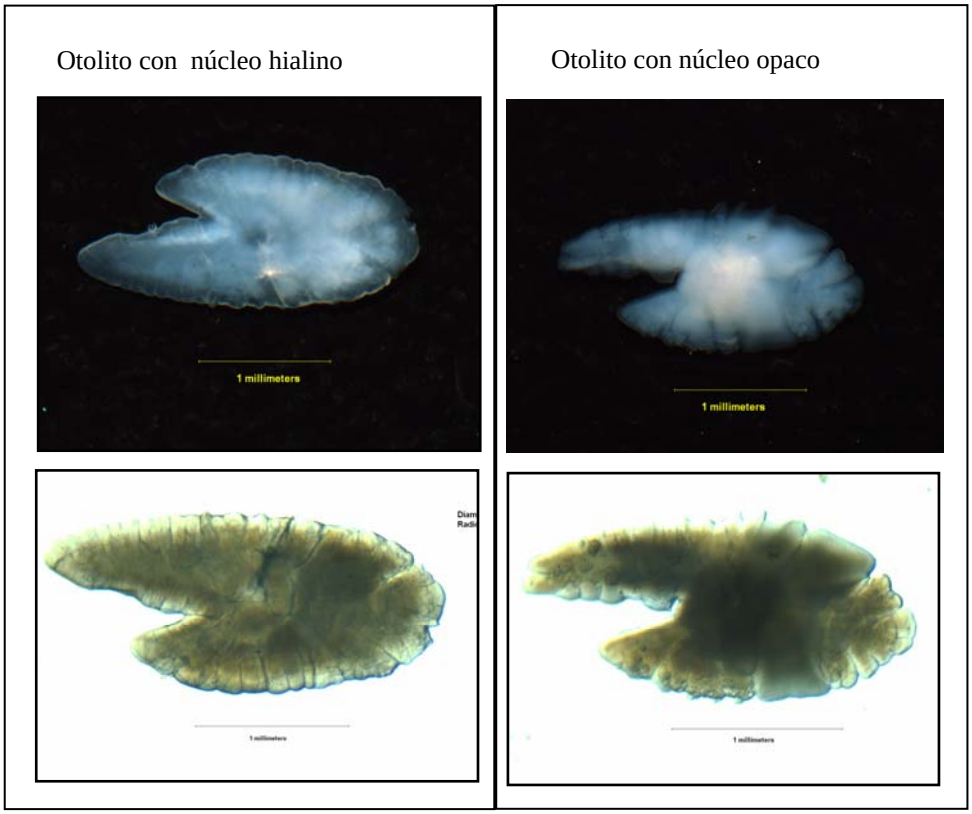


Figura 37. Imágenes de otolitos de anchovetas juveniles en los cuales se observa el tipo de núcleo. El otolito del lado izquierdo corresponde a un pez de 11,5 cm de longitud total en que se aprecia el núcleo hialino o translúcido, con luz reflejada (foto superior) y transmitida (foto inferior). El otolito del lado derecho corresponde a un pez de 10 cm de longitud total, en éste se observa un núcleo opaco. La medida en las imágenes corresponde a 1 milímetro.

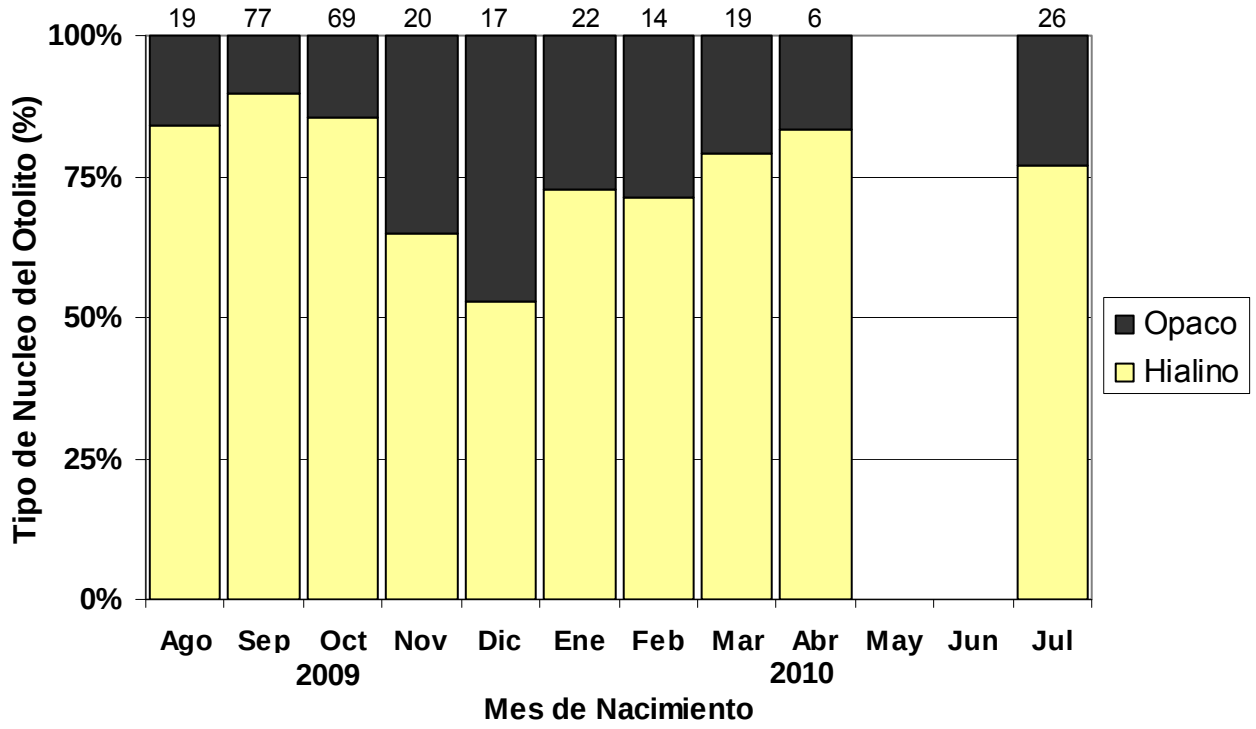


Figura 38. Distribución mensual del porcentaje del tipo de núcleo (hialino u opaco) presente en el núcleo del otolito de anchoveta de la zona norte de Chile (Arica - Antofagasta).Los meses de mayo y junio no disponemos de datos de fecha de nacimiento pareados con análisis de tipo de núcleo.

El análisis del porcentaje de tipo de núcleo por zona de captura muestra altos porcentajes de núcleos hialinos, por sobre el 75% para la zona sur del Perú, Arica e Iquique y un 67% para Antofagasta. Este resultado muestra que el tipo de núcleo hialino u opaco no es propio de un área en particular (**Fig. 39**). Sino más bien está asociado a variaciones de carácter estacional.

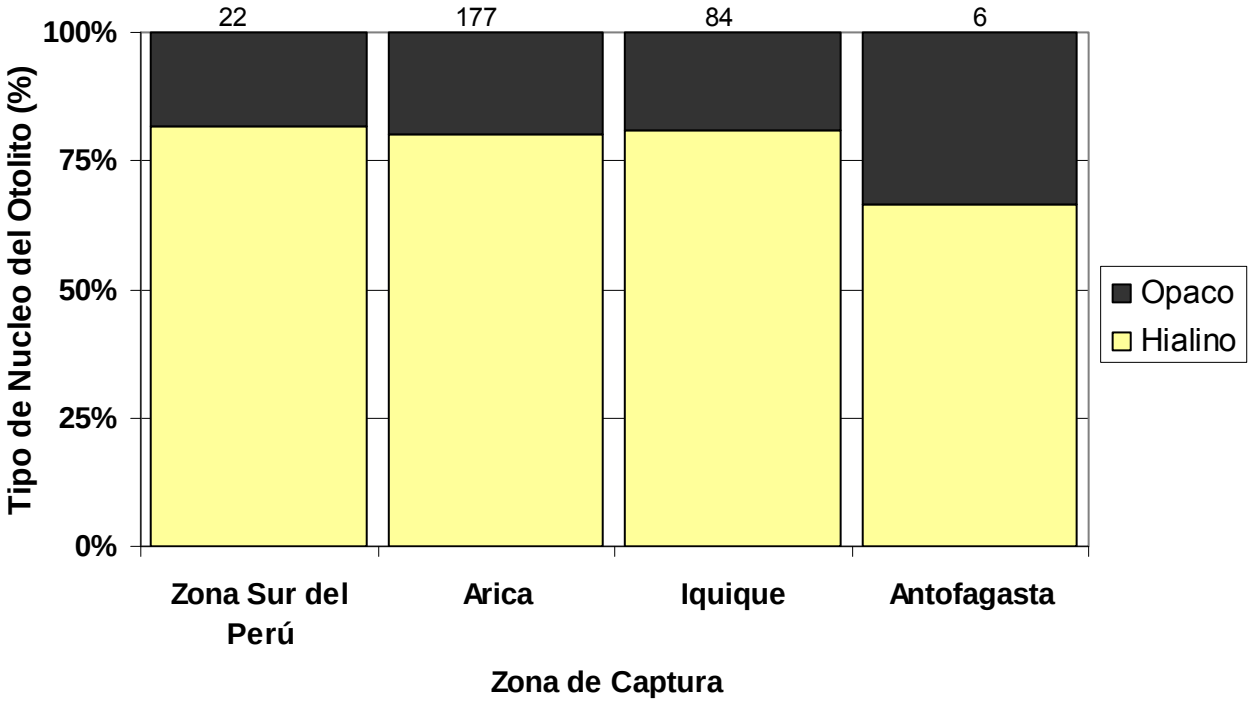


Figura 39. Porcentaje del tipo de núcleo (hialino u opaco) del otolito por zona de captura de anchoveta de la zona norte de Chile (Arica - Antofagasta) y sur del Perú. El número sobre las barras corresponde a número de observaciones.

8.4.3 Revisión de los criterios de asignación de grupo de edad

Considerando la información de estación de desove aportada por el análisis de Índice gonadosomático (IGS), temperatura superficial del mar, proporción del tipo de borde, frecuencia porcentual de reclutas por mes y frecuencia mensual de fechas de nacimiento de peces juveniles (reclutas) derivados del análisis de microestructura del otolito, se propone un nuevo criterio de asignación de grupos de edad.

El índice gonadosomático da cuenta de un desove permanente durante aproximadamente 9 a 10 meses del año (junio a febrero) con valores de IGS sobre el 4% y un máximo en el mes de agosto-septiembre donde se concentra la mayor proporción del desove. Este máximo desove a fines de invierno determina el periodo de mayor presencia de juveniles entre noviembre y febrero (reclutas de verano), sin embargo el permanente desove da origen a la aparición de juveniles reclutas durante el invierno, principalmente agosto a octubre como en el 2009, aunque otros años se han registrado desde junio a octubre. De acuerdo a los análisis de micro-incrementos primarios en otolitos de anchoveta, las altas tasas de crecimiento de los juveniles de esta especie reportadas en el presente estudio (ver resultados de micro-estructura en capitulo anterior), indican que los peces reclutados entre noviembre de 2009 y marzo 2010, con tallas entre 7 y 12 cm aproximadamente, nacieron entre julio y noviembre de 2009 (año biológico 2009-2010). De acuerdo a esta misma velocidad de crecimiento los peces juveniles aparecidos entre agosto y octubre (reclutas de invierno) nacieron entre los meses de abril a junio de 2009 (**Fig. 40**).

La asignación de grupos de edad considera la utilización por convención de una fecha de cumpleaños arbitraria, que de acuerdo al año biológico de las especies en el hemisferio sur es el primero de julio. De acuerdo a esta fecha el criterio debiera ser asignar GE 1 a los peces reclutas de invierno (**Fig. 40**) por haber nacido la mayoría de ellos antes de julio del 2009, criterio que actualmente se emplea. Sin embargo, esta decisión podría generar errores como: a) subestimar el reclutamiento al disminuir la representación de reclutas correspondientes a ejemplares de edad cero, b) considerar peces con 4 meses de vida como ejemplares de 1 año de edad, puede ser demasiado grosero para peces con crecimiento muy rápido, lo que probablemente afecte la correcta representación de la dinámica del recurso.

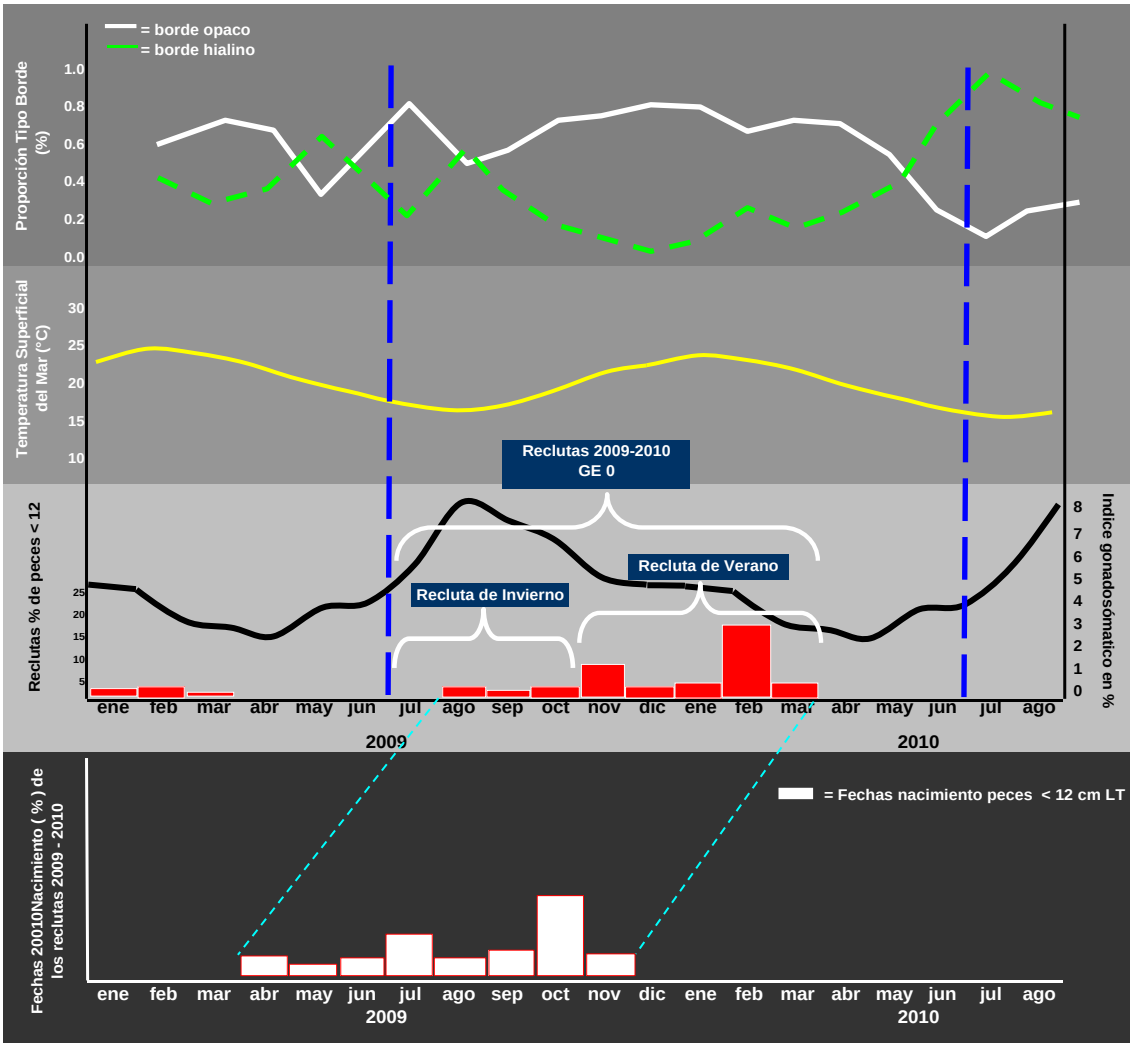


Figura 40. Proporción del tipo de borde, temperatura superficial del mar de la zona norte de Chile, distribución mensual del índice gonadosomático, frecuencia porcentual de reclutas y sus fechas de nacimiento para la anchoveta. La temperatura superficial del mar fue obtenida de AVHRR Oceans Pathfinder global equal-angle best SST with 9 x 9 km^2 resolution taken from the Physical Oceanography Distributed Active Archive Center (http:// podaac.jpl.nasa.gov/products/product102.html).

En este estudio se sugiere un sistema de asignación de grupos de edad que considere la edad determinada para cada pez sin referencia a una fecha arbitraria de nacimiento. Esto permitiría tener una correcta distribución de los peces reclutas (peces de edad cero) durante todo el año, que daría cuenta de mejor forma de la

dinámica de la anchoveta de la zona norte de Chile, que junto con presentar un desove permanente durante casi todo el año, exhibe una alta tasa de crecimiento somático, al menos en la etapa juvenil.

La estructura de edad que resulta de la aplicación de estos nuevos criterios de asignación de grupo de edad se muestra en la **Figura 41**. En esta figura se puede apreciar el aumento en la proporción de peces de edad cero respecto de la estructura de edad construida a partir del criterio tradicional, que arbitrariamente hacen desaparecer algunas cohortes al agrupar como GE 1 a peces con 4 meses de vida, durante el tercer y cuarto trimestre del año.

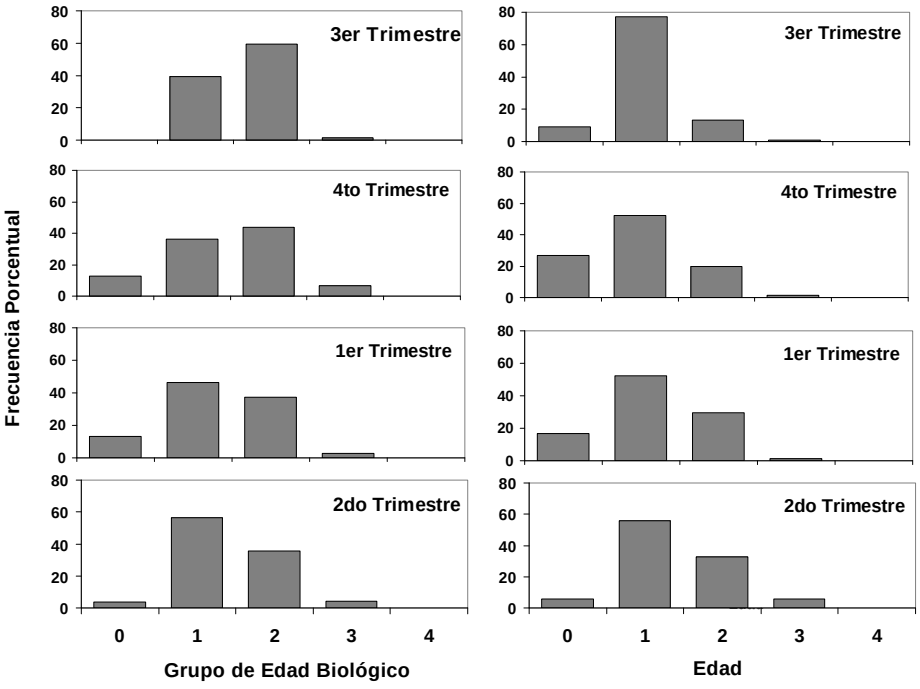


Figura 41. Estructura de edad de anchoveta para la zona norte de Chile por trimestre desde julio 2009 a junio 2010. Los gráficos de la izquierda corresponden a la estructura de edad construida de acuerdo a los criterios de asignación de edad tradicionales, en tanto que los gráficos de la derecha corresponden a la estructura construida con el nuevo criterio que considera solo la edad directamente estimada en los otolitos.

8.5 Sobreoferta 1: Análisis del crecimiento anual

Objetivo:

Estimar el crecimiento anual de anchovetas de la zona norte.

Metodología

La estimación de los parámetros de crecimiento de anchoveta se realizó ajustando los datos edad-talla al modelo de von Bertalanffy (von Bertalanffy, 1938). Los datos de edad corresponden a las estimaciones de edad anual, de ejemplares mayores e iguales a 1 año d edad, realizadas de acuerdo al procedimiento regular de lectura que consiste en observación del otolito a través de un microscopio estereoscópico con 20X de aumento y luz reflejada. Para mejorar el ajuste de los ejemplares de edad cero, se estimo la edad en días de ejemplares menores a 12 cm LT (< a 1 año de edad), a través del conteo de micro-incrementos primarios (MP) de acuerdo al procedimiento descrito para el objetivo 1 de este estudio.

Los datos edad-talla ajustados correspondieron a 2.833 otolitos enteros para edad anual y 313 ejemplares juveniles que se les estimó la edad diaria, la que fue transformada a fracción de años para ser analizada en conjunto con las lecturas anuales.

Ecuación de Von Bertalanffy:

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

donde:

L_t = promedio de la longitud horquilla a la edad t

L_∞ = longitud asintótica

t_0 = edad hipotética a la longitud cero

K = coeficiente de crecimiento

Resultados

Se presenta el resultado del análisis de crecimiento en talla de la anchoveta de la zona norte. Esta estimación se consideró los datos edad-talla de la lectura de edad anual junto con las lecturas de edad en días para los peces juveniles (< 12 cm LT). Los parámetros de crecimiento de von Bertalanffy son similares a lo registrado en los primeros estudios por Simpson y Buzeta (1967), en que se registra un K de 1,6 y L_∞ de 16,9 (**Tabla 8**). La tasa de crecimiento absoluto (K) es superior a la registrada por Barría et al. (1999), lo que es el reflejo de la alta tasa de crecimiento de los juveniles. En la **Figura 42** se muestra la curva de crecimiento en longitud de anchoveta, donde queda de manifiesto que esta especie maximiza su crecimiento en el primer año de vida, bajando la velocidad de crecimiento entre el primer y segundo año de vida, para luego a partir del segundo año prácticamente detenerse.

Tabla 8.
Parámetros de crecimiento y error estándar (E.S) estimados con el modelo de von Bertalanffy, para sexos combinados de la anchoveta de la zona norte de Chile (Arica – Antofagasta) año biológico 2009-2010. IC 95% corresponde al intervalo de confianza, n al tamaño de muestra y r^2 al coeficiente de determinación.

Parámetros	Estimación	E.S.	- IC 95%	+ IC 95%	n
L_∞ (cm)	16,132	0,0667	16,001	16,263	3146
K (año^{-1})	1,312	0,0374	1,239	1,385	
t_0 (años)	-0,487	0,0219	-0,529	-0,444	
r^2	0,678				

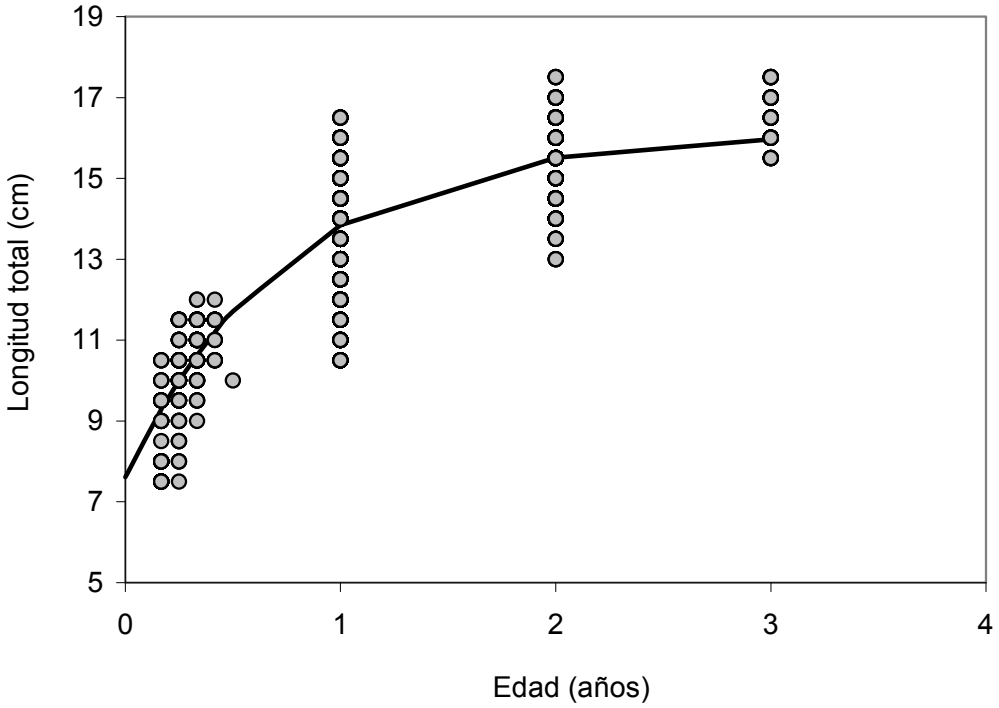


Figura 42. Curva de crecimiento de von Bertalanffy de anchoveta de la zona norte de Chile (Arica a Antofagasta). Los puntos menores a 1 año de edad corresponden a edad diaria estimada a través de análisis de micro-estructura de juveniles (peces menores a 12 cm longitud total).

8.6 Sobreoferta 2: Evaluación hipótesis crecimiento-mortalidad

La gran cantidad de información que se generado mediante el estudio de los micro-incrementos diarios de otolitos durante el desarrollo del proyecto FIP 2009-17, permitieron estimar los patrones de crecimiento en los estadios tempranos de la anchoveta *E. ringens*, y a su vez proveyeron información adicional para evaluar la relación crecimiento-mortalidad para esta especie. Al crecer más rápido las larvas alcanzan tamaños mayores a cualquier edad incrementando las posibilidades de sobrevivencia, en comparación con ejemplares de menor tamaño y crecimiento más lento (Leggett and DeBlois, 1994). Asimismo, si la mortalidad es tamaño-dependiente, las mayores tasas de crecimiento reducen el periodo en que

las larvas experimentan grandes mortalidades (Shepherd and Cushing, 1980). Adicionalmente, al crecer más rápido los individuos se demoran un menor periodo en pasar por los estados ontogénicos vulnerables (Chambers and Leggett 1994). Estos tres mecanismos pueden ser evaluados mediante el análisis de los micro-incrementos diarios de otolitos.

Objetivo

Revelar los procesos y mecanismos asociados al crecimiento y sobrevivencia en los estadios tempranos de la anchoveta *E. ringens* en la zona norte de Chile.

Metodología

La fuente básica para desarrollar esta investigación es la información derivada del grosor y radio a la que se forma cada incremento diario. Ya que este proceso está contemplado dentro de la metodología para el logro de los objetivos del proyecto FIP 2009-17, no se requieren procedimientos de laboratorio adicionales. Los procedimientos analíticos para desarrollar esta sobre-oferta se describen en Takasuka et al (2004); Hovenkamp, 1992; y Folkvord and Mosegaard (2002).

Se seleccionaron las secciones de otolitos pulidas con la mayor resolución. Cada micro-incremento fue medido a lo largo de una línea recta desde el primordio la borde del otolito, siguiendo el sector de mayor resolución de los anillos. Los micro-incrementos fueron medidos utilizando la herramienta “Caliper” del programa Image-pro Plus, en imagen pregrabadas tomadas en un mismo aumento y combinadas utilizando herramientas del software (**Fig. 43**). Cada grosor fue estandarizado al máximo radio medido desde el primordio al extremo posterior del cauda, para hacer comparables las mediciones entre individuos y cohortes.

Resultados

Para poner a prueba esta hipótesis era necesario comparar el crecimiento de las larvas recolectadas en aéreas de crianza con el crecimiento de los juveniles recientemente reclutados a la pesquería. La idea era revelar el grosor de los micro-incrementos (como proxy de las tasas de crecimiento diarias) para los primeros treinta días de vida de ejemplares de una cohorte original nacidos en un mismo día y/o semana. Posteriormente se identificaría la misma cohorte de sobrevivientes (juveniles) que nacieron en el mismo periodo. Si los sobrevivientes muestran grosores medios de los primeros 30 micro-incrementos significativamente mayores que la cohorte original, evidenciará que los que crecieron más rápidamente fueron los que sobrevivieron. Este procedimiento se denomina método tradicional para evaluar la relación crecimiento-mortalidad (Plaza *et al.* 2008). Durante el desarrollo del proyecto sólo se pudo contar con juveniles para el análisis y por consiguiente no se pudo llevar a cabo esta sobre-oferta en su modalidad original. .

No obstante se efectuó un análisis de la sobre-vivencia en el periodo juvenil en el rango de longitud de ejemplares colectados (7-8 cm LT), considerados la población original y evaluar si los sobre-vivientes (10-12 cm LT) fueron aquellos que tuvieron las mayores tasas de crecimiento. Se debe subrayar que ambos grupos ya han sobrevivido el periodo larval pero la hipótesis a verificar si los sobrevivientes últimos o definitivos fueron también aquellos que crecieron más rápidamente durante la fase larval.

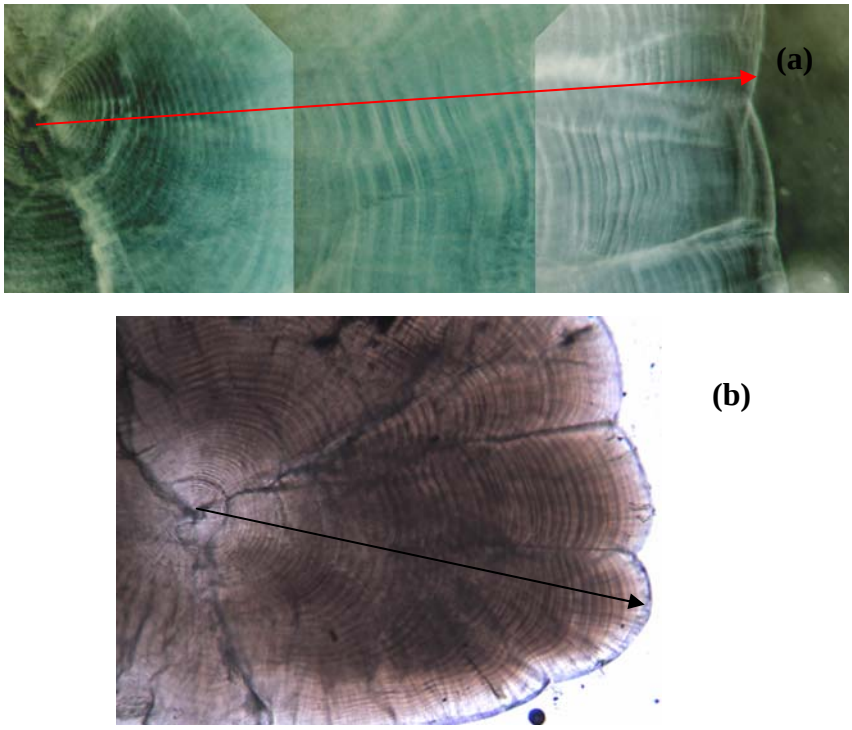


Figura 43. Fotografías ilustrativas de un otolito de un juvenil de *E. ringes* de 7.5 cm LT recolectado el 2 de octubre de 2009 en el norte de Chile, denotando los eje de medición de los grosores de los microincrementos; Flecha roja= Eje de medición; Flecha negra; Eje de corrección (radio máximo).

Se logró seguir dos cohortes, la Cohorte A y B, nacidos entre el 21 y 28 de septiembre de 2009 y 1 y 8 de octubre del 2010, respectivamente (Tabla 9). Se demostró que no existieron diferencias significativas en el crecimiento (RM-ANOVA $p>0.05$) para los primeros 30 días de vida entre la cohorte original y los sobrevivientes, rechazando una relación entre crecimiento y sobrevivencia para los juveniles tempranos y los reclutas tardíos en dicho periodo (Fig. 44). Entre el día 30 y 60 se apreciaron diferencias aparentes en el grosor de los micro-incrementos que no pudieron ser probabas estadísticamente, debido a que la heterogeneidad de varianza aumento con la edad.

Tabla 9
Estadísticas general de los ejemplares utilizados para aplicar el Método tradicional para evaluar la relación Crecimiento-Mortalidad en juveniles de *E. ringens*.

		Cohorte A	Cohorte B	N
Original	TL	7,79 ± 0,27	7,64 ± 0,24	15
	Edad	70,38 ± 2,39	62,10 ± 1,79	16
Sobrevivientes	TL	10,80 ± 0,45	10,88 ± 0,25	8
	Edad	133,60 ± 1,67	124,50 ± 4,51	10

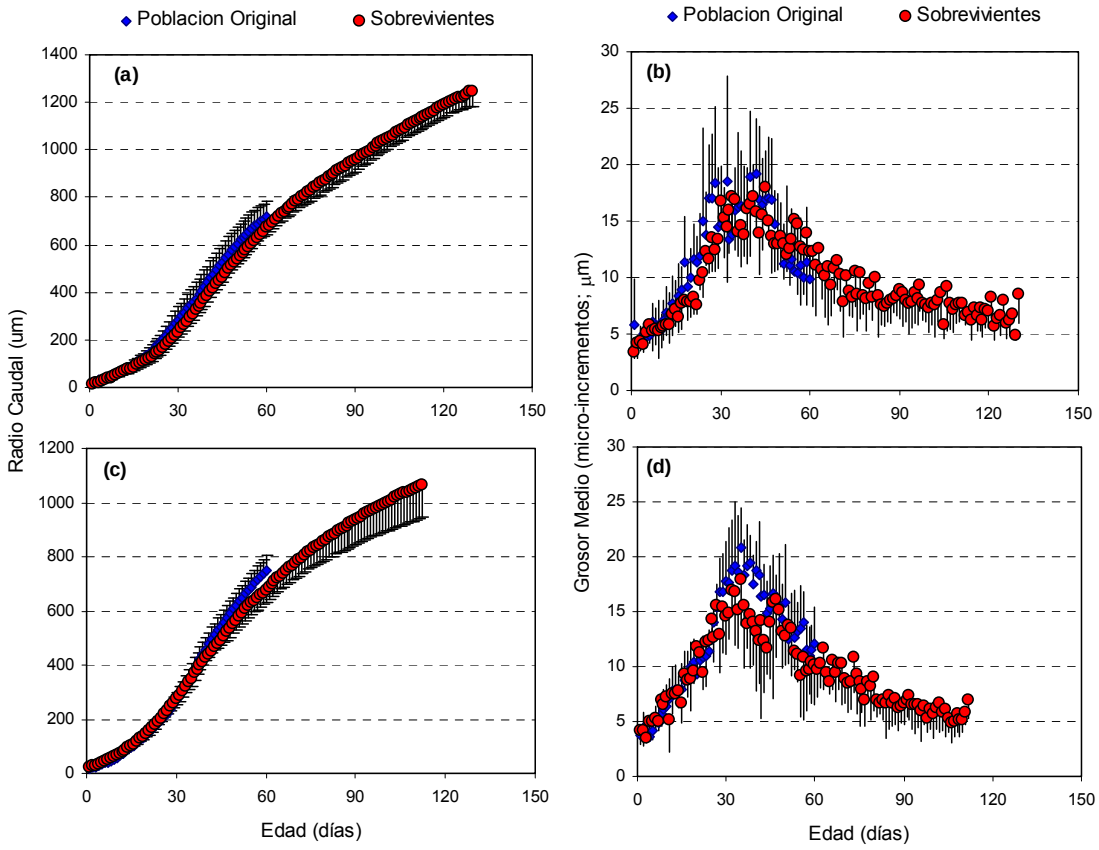


Figura 44. Comparación del radio a la edad (a) y el grosor medio a la edad (b) entre individuos correspondientes a una población original y aquellos pertenecientes a una población de sobrevivientes, para las cohortes especificadas en la tabla 9.

9. DISCUSIÓN

Micro-estructura de otolitos

Un notorio hallazgo de los resultados preliminares fue la ocurrencia de dos tipos de otolitos con rasgos micro-estructurales distintivos en otolitos de juveniles con longitudes menores a 9 cm LT, los cuales fueron incluso evidentes en muestras sin preparar. Hasta la fecha cambios en la micro-estructura de los otolitos entre Tipos de Otolitos durante el primer año de vida han sido reportados en varios estudios en peces clupeidos, pero generalmente estas diferencias han estado asociadas a variaciones en las tasas de crecimiento en función de la época de nacimiento y/o áreas de crianza. Estos cambios generalmente son atribuidos a diferencias en la temperatura del mar, factor que explica más del 50% de la variabilidad en el crecimiento en los estadios tempranos de peces teleósteos (Shepherd & Cushing, 1980). No obstante, en el presente estudio, los cambios en los patrones de crecimiento no parecieron estar asociados a los dos tipos de otolitos dentro de una misma población, debido a que los cambios en el grosor de los incrementos con la edad no mostraron diferencias significativas entre cada unos de ellos. Adicionalmente, se suma al hecho de que las fechas de nacimiento de los juveniles de ambos tipos fueron similares, descartándose por consiguiente un efecto estacional. Por lo tanto, las diferencias encontradas parecieran estar más vinculadas a patrones macro-estructurales diferentes de la cristalización en la matriz carbonato, lo que sugiere una probable mezcla de grupos con historias de vidas ontogenéticamente distintas. Esta inferencia, se sustenta en el hecho de que la forma del otolito en los peces adultos es altamente especie-específica, variando incluso entre poblaciones y/o grupos de individuos con historias de vidas independientes (Bird *et al.* 1996; Campana & Casselman 1993; Begg and Brown

2000, Tuset *et al.* 2003)). Por consiguiente, es razonable hipotetizar que otras características como la resolución y/o transparencia en la región nuclear (el área de crecimiento larval y juvenil temprana) pueda también estar registrando estas diferencias. Ya que otolitos Tipo A y Tipo B, pudieron ser también distinguidos en juveniles de mayor tamaño e incluso a nivel micro-estructural en otolitos de adultos, se recomienda desarrollar investigaciones futuras para cuantificar la ocurrencia de estos tipos otolitos en un tamaño de muestra mayor y sobre una escala espacial y temporal más amplia.

Un rasgo preliminar en el presente estudio fueron las aparentes diferencias estacionales en el grosor de los incrementos con la edad entre cohortes de invierno y verano, donde los micro-incrementos de otolitos de las cohortes de invierno parecieron mucho menos distintivos y de menor grosor que los de la cohorte de verano, particularmente durante los primeros 40-50 días de vida. Diferencias de este tipo han sido reportadas en otros clupeidos, *e.g.,* para las cohortes de otoño e invierno para el arenque *Etremeus teres (*Plaza *et al.* 2006) y para el arenque del atlántico *Clupea harengus* (Moksness & Fossum, 1991; Fossum & Moksness, 1993). Dada el extenso periodo de desove experimentado por *E. ringens* en un ciclo anual es altamente factible encontrar diferencias en las tasas de crecimiento de los otolitos sobre una base mensual. Esta inferencia se sustenta en el hecho de que las principales variables que controlan el crecimiento en los estadios tempranos de peces son temperatura (Miller *et al.,* 1988; Houde & Zastrow, 1993) y diponiblidad de alimento (Shepherd & Cushing, 1980; Jenkins, 1987), y ambas variables tienen una marcada estacionalidad en el norte de Chile. Un análisis del grosor de los micro-incrementos a las secciones de otolitos pulidas en el presente estudio, conjuntamente con información de variables ambientales que pudiesen estar disponibles, podría contribuir a verificar esta inferencia.

Crecimiento de juveniles de *Engraulis ringens*

Los siguientes dos hallazgos reportados en el presente estudio demuestran que esta especie tiene un elevado crecimiento en su fase larval y juvenil temprana: (i) Tasa de crecimientos globales cercanas a 1,2 mmd^{-1} para ejemplares menores a 8 cm LTl; y (ii) Tasas de crecimiento absolutas derivadas de la relación talla-edad de entre 1,2 y 1,4 mmd^{-1}, que se alcanzaron a los 37 días de vida. Adicionalmente, quedó demostrado que en promedio los ejemplares alcanzaron los 8 cm de longitud total entre los 56 y 77 días de edad. Esta tasa de crecimiento resulta aparentemente mayor a aquellas reportadas por otros estudios realizados en juveniles del género *Engraulis* para la etapa larval y juvenil temprana, utilizando micro-incrementos diarios de otolitos. A saber, para *E. mordax* se han reportado tasas de crecimiento entre 0,36 y 0,55 mmd^{-1} para juveniles de entre 10 y 35 mm de longitud (Hunter, 1976, Methot, 1983; Butler, 1989). En forma similar, las tasas de crecimiento variaron entre 0,49 y 0,73 mmd^{-1} para *E. japonicus* con longitudes entre 5-35 mm (Mitani, 1990; Takahashi *et al.,* 2001 y Takahashi and Watanabe, 2004a). Recientemente Cermeño et al. (2008) reportó tasas de crecimiento entre 0,56-0,77 mmd^{-1} para juveniles de *Engraulis encrasicolus* entre 5-53 mm de longitud estándar y edades entre 5 a 90 días. Aunque, la estimación del presente estudio es global, porque integra toda la etapa larval y juvenil temprana y los rangos de longitud no son estrictamente comparables, las tasas de crecimiento de *E. ringens* son notoriamente más elevadas. Sin embargo, las tasas de crecimiento absolutas reportadas recientemente en el presente estudio son similares a las reportadas para la anchoa europea *Engraulis encrasicolus* en el Golfo de Viscaya por Cermeño *et al.* (2010) (1,6 mmd^{-1}). Una evidencia a favor de esta comparación es el hecho de que las tasas de crecimiento medias (grosores medios) de los micro-incrementos en la zona de crecimiento rápido (Zona B) (**Figura 3-1**; **Figura 5 a** y **b**) para ambos tipos de otolitos (A y B) fluctuó entre 15 y 22 μm, similares a

lo reportado por Cermeño *et al.* (2008) para una zona similar del otolito en *E. encrasicolus* en que los incrementos fluctuaron entre 8 y 15 μm.

El elevado crecimiento en la etapa larval y juvenil temprana se contrasta con la marcada disminución en la tasas de crecimiento instantáneas (pendientes de la función talla edad: rango 0,3-0,7 mmd^{-1}) para el rango de edad y longitud de los ejemplares analizados. Si se considera un promedio global de 0,06 mmd^{-1}, les tomaría aproximadamente 70 días para alcanzar los 8 cm de longitud total. Estas proyecciones coinciden con las edades diarias máximas encontradas en individuos de 11,5 y 12,5 cm (120-140 días). Se debe destacar, sin embargo, la marcada disminución en la relación talla-edad para el mes, presumiblemente influenciada para el rango menor de longitud de los individuos analizados. La disminución en el crecimiento en la etapa juvenil tardía, coincidió con el comienzo de la formación de la primera zona hialina aproximadamente a los 70 días de vida, aspecto que explica la disminución en la tasa de crecimiento del otolito. Desafortunadamente hasta la fecha, no hay antecedentes en la literatura sobre estimaciones de tasa de crecimiento de engráulidos, con metodologías similares, para juveniles en el rango efectuado en el presente estudio. Sin embargo, es importante subrayar que en otras especies de clupeidos, se ha observado un patrón similar de reducción del crecimiento en la etapa juvenil tardía (después de la metamorfosis), asociada a la formación de la primera zona hialina (Plaza *et al.* 2006; Mosegaard & Madsen, 1996).

Un aspecto importante integrando ambos periodos (juvenil temprano y tardío), fue la elevada variabilidad en el crecimiento, reflejado fundamentalmente en la relación talla-edad a nivel poblacional para el rango de longitud (7,5-12,0 cm) de los juveniles recolectados. La elevada variabilidad resultó en una menor bondad de ajuste del modelo de Laird-Gompertz que el reportado recientemente para *E.*

encrasicolus por Cermeño *et al (*2008). Se debe destacar que las diferencias en el crecimiento a nivel inter-especifico en especies emparentadas pueden estar influenciadas por la propia ontogenia y por las influencias asociadas al ambiente en que cada especie habite. No obstante, no se debe descartar que la variabilidad en la relación talla-edad observada en el presente estudio para *E. ringens* sea meramente producto del extenso periodo de desove que cubrió gran parte de un ciclo anual. La reducción en la variabilidad en la relación talla-edad, observada cuando se separó el análisis por cohorte, argumenta a favor de esta inferencia. Desafortunadamente, no fue posible cuantificar los cambios estaciónales en el crecimiento a nivel poblacional debido a la carencia de ejemplares en un rango de longitud similar.

La característica de crecimiento rápido en los estadios tempranos pareció también extenderse a etapas posteriores del ciclo de vida de esta especie, a la luz de los resultados de la microestructura de otolitos de ejemplares de entre 13,0 y 17, 5 cm. El hallazgo mas distintivo, en este caso, fue la presencia de micro-incrementos hacia los bordes de los otolitos, claramente identificables a aumentos de 400X y 1000X y en un rango de entre 1,5 – 3,0 μm de grosor, muy superior al límite inferior de resolución de microscopia óptica. Esta característica permitió lograr secuencia completas de micro-incrementos cuyos resultados mostraron rangos de edades de entre 122 y 378 días. En función de estos hallazgos dos inferencias pueden plantearse: (1) Hay una notoria subestimación de la edad real (anual) debido a que los micro-incrementos concéntricos visibles hacia el borde del otolito son conjuntos de micro-incrementos diarios fusionados; (ii) los micro-incrementos observados son diarios y por consiguiente hay una notoria sobre-estimación de la edad de *E. ringens*.

Las dos inferencias son dependientes de un proceso de validación de la periodicidad de los micro-incrementos. Hasta la fecha sólo un estudio ha reportado información sobre de validación en cautiverio para adultos de una especie cercanamente emparentada (*E. encrasicolus*; Cermeño *et al.* 2003). En este estudio se logro tener en cautiverio adultos de esta especie por un periodo de aproximadamente 2 años. Los principales hallazgos de esta investigación fueron los siguientes: (a) Tasas de crecimiento medias del otolitos para adultos de 1,18±0,35 μmd^{-1}; (ii) los incrementos de los otolitos fueron fácilmente distinguibles a 400X de magnificación; (iii) Se comprobó la periodicidad diaria de los micro-incrementos en adultos mantenido por cortos periodos de tiempo; (iii) en juveniles capturados y mantenidos en condiciones experimentales hasta adulto la periodicidad fue menor a 1 incremento por día. Los resultados de resolución de los micro-incrementos pare *E. encrasicolus* son similares a *E. ringens*, en el contexto de que el grosor de los micro-incrementos en otolitos de adultos estuvieron muy por encima de la resolución de microscopia óptica (*c.a.* 0,2 $\mu mdia^{-1}$; Campana & Neilson, 1985). Resultado similares han sido reportados recientemente por Yukami *et al.* (2008) para la anchoveta japonesa *Engraulis japonicus*, donde el grosor de los micro-incrementos fue de aproximadamente 3 μm. Estos resultados sugieren que los micro-incrementos identificados y cuantificados podrían ser diarios, al menos desde el primordio hasta la región de mayor resolución, donde los micro-incrementos fueron cercano a 3 μm $día^{-1}$. Hasta esta zona los ejemplares analizados fluctuaron entre 198 y 212 días, muy por debajo de su primer año de vida. Estos resultados entregan evidencias adicionales para sugerir que esta especie parece maximizar prácticamente todo su potencial de crecimiento durante el primer año de vida.

Posterior a la región de transición la periodicidad de los micro-incrementos se torna más especulativa, debido a que se podría estar en presencia de un crecimiento

interrumpido, tal como ha sido descrito en algunas especies en los que se ha utilizado la micro-estructura de los otolitos para validar el primer annulos (Brothers *et al.,* 1976; Campana, 2001; La Mesa, 2007; Cermeño *et al.,* 2003; Paul & Horn, 2009; Hussy *et al.* 2010). En la mayoría de estos estudios, sin embargo, no se obtuvieron secuencias completas de micro-incrementos, mas bien se tuvo que recurrir a procedimientos de extrapolación en ciertas áreas para la validación. Por lo tanto, a este nivel se requiere con urgencia un estudio de validación para *E. ringens*, considerando que una potencial sobre-estimación de la edad en esta especie estaría afectando notoriamente las medidas de manejo de la pesquería.

El supuesto de depositación diaria se extiende también a la fase larval y juvenil en el presente estudio. Dicho supuesto estuvo basado en estudios de especies cercanamente emparentadas donde se ha confirmado la periodicidad diaria de los micro-incrementos tanto para larvas como para juveniles (*Engraulis encrasicolus;* Cermeño *et al.* 2003; Aldanondo *et al.* 2008; *Anchoa Mitchilli* Fives *et al.* 1986; *Clupea harengus* Geffen,1982; *Engraulis mordaz* Brothers *et al.* 1976*; Sardinops melanostictus* Hayashi *et al.* 1989). A esto se suma el hecho de que durante el periodo larval y juvenil existe una gran cantidad de estudios en otras especies que han confirmado que los micro-incrementos primarios tienen una tasa de depositación de 1 día (Hales 1991; Kayama *et al.* 2007; Soliman *et al* 2009; Morales-Nin *et al.* 2010). También se debe destacar que el criterio utilizado en el presente estudio para identificar los micro-incrementos primarios como diarios siguió los procedimientos descritos por Cermeño *et al.* (2006; 2008) para *Engraulis encrasicolus*. A lo anterior se suma la inexistencia de diferencias encontradas en lecturas efectuadas a ambas especies, utilizando dicho criterios en el marco del Taller Metodológico AZTI-IFOP. Todos estos argumentos otorgan confiabilidad a las conclusiones emanadas del presente, aún en ausencia de validación.

Para verificar esto se hicieron ensayos con microscopía electrónica de barrido (SEM). La falta de resolución de los micro-incrementos de *E. ringens* bajo SEM contrasta con los resultados de elevada resolución observados en microscopía óptica, coincidiendo con estudios que han reportados resultados similares en especies emparentadas (Palomera et al. 1988; Cermeño et al. 2006; Nakimi et al. 2010). La carencia de resolución en los micro-incrementos bajo SEM en engráulidos parecen estar asociadas a la baja densidad de la matriz orgánica, aunque todavía esta conclusión es especulativa en ausencia de protocolos metodológicos más acabados (Cermeño *et al.* 2006). En el contexto de la presente investigación, la elevada resolución de los micro-incrementos bajo microscopia de luz en individuos potencialmente adultos coincide con un estudio reciente en anchoveta japonesa, donde se validó experimentalmente que los micro-incrementos visibles bajo microscopía óptica hacia los bordes de los otolitos de adultos fueron producidos a una periodicidad diaria (Nakami *et al*. 2010).

Varias preguntas claves surgen de los hallazgos del presente estudio, en relación a la problemática original planteada en el presente estudio, *i.e., ¿Engraulis ringens* es una especie que maximiza todo su potencial para alcanzar su longitud asintótica en el primer año de vida, a costa de reducir drásticamente su crecimiento para maximizar la reproducción?, ¿O simplemente estamos en presencia de una sobre-estimación de la edad en algunos engráulidos, que podrían ser mucho menos longevos de lo que se ha conocido hasta ahora? Estas interrogantes adquieren importancia en función de los recientes hallazgos en el arenque brasileño, *Opisthonema oglinum*, que ha levantado nuevas interrogantes sobre la longevidad de pequeños pelágicos (Lessa *et al.* 2008). La longevidad de esta especie había sido estimada entre 4-8 años usando lecturas de bandas opacas y translúcidas en otolitos enteros. Sin embargo, mediante el uso de micro-incrementos diarios los autores demostraron que el mayor porcentaje de

crecimiento ocurren en el primer año de vida, alcanzando edades máximas de 14 meses. Casos similares de sobrestimación de edad, mediante el uso de micro-incrementos diarios, han sido reportados para otros clupeidos, como por ejemplo *Sardinops aurita* (Boeley *et al.* 1982) y *H. jaguana* (Pierce *et al.* 2001). Estos hallazgos han conducido a inferir que en especies de crecimiento rápido la frecuencia de formación de las bandas opacas y hialinas pueden tener una periodicidad de sólo meses, por causas aún desconocidas.

El análisis de microincrementos diarios en otolitos de juveniles indica que la anchoveta tiene un crecimiento muy rápido, lo cual confirma que el primer anillo observado en estos peces tiene un tiempo de formación inferior al año y a través del análisis de incrementos diarios en adultos (peces entre 12 y 17 cm LT) siguiere que el segundo e incluso el tercer anillo macroscópico observado en el otolito entero, no correspondería al año de vida. Aunque esta última evidencia podría requerir de un estudio mas profundo, nuestros análisis de periodicidad a través del análisis de borde no nos han permitido verificar la formación de los *annuli.* A excepción del trabajo de Aguayo (1976) en que determinó una periodicidad bianual en la formación de los anillos, ningún estudio posterior ha podido confirmar esto usando la proporción del tipo de borde. Situación que pudiera sugerir que efectivamente ninguno de estos anillos presenta una periodicidad anual.

Análisis macro-estructura del otolito

El otolito de anchoveta adulta es difícil de analizar macroscópicamente ya que presenta muchas marcas hialinas que muestran sucesivas detenciones del crecimiento durante el transcurso de su ontogenia. En un otolito de un ejemplar adulto dos tercios de su longitud corresponden a un crecimiento menor al año y sólo en el tercio restante de la estructura son identificados la totalidad de los

anillos que debieran tener una periodicidad anual. La mayoría de ellos están formados por paquetes de anillos fuertes y débiles (dobletes y tripletes) que dan cuenta de sucesivas detenciones del crecimiento en esta área. En resumen, la visión general de estos otolitos de adultos, donde incluso ha desaparecido el primer anillo marcado que se observa en juveniles, es de una estructura con una extensa área de crecimiento opaco que abarca aproximadamente dos tercios o tres cuartos del otolito, seguida el área restante (un tercio o un cuarto del total) mayoritariamente hialina. Este patrón da cuenta de una alta velocidad del crecimiento que no debe ser ignorada al definir los criterios de asignación de grupos de edad.

Análisis del tipo de núcleo del otolito

Los resultados del análisis de tipo de borde muestran una homogeneidad tanto temporal como espacial, dada por la persistencia de una mayor proporción de núcleo hialino en estos dos estratos. Si bien en el mes de diciembre aumenta el porcentaje de núcleo opaco este no alcanza a superar el 50%. En tanto que en la comparación por zonas tampoco se observan diferencias y los núcleos hialinos presentan porcentajes altos (>67%). Estos resultados no permiten utilizar el tipo de núcleo del otolito como una variable para clasificar la procedencia temporal (invierno o verano) y espacial (zonas de nacimiento) de las anchovetas de la zona norte de Chile y sur del Perú.

Criterios de asignación de grupos de edad

Los principales resultados hallados en el presente estudio son considerados para definir los criterios de asignación de grupos de edad, para lo cual en este estudio se sugiere un sistema de asignación de grupos de edad que considere la edad

determinada para cada pez sin referencia a una fecha arbitraria de nacimiento. Esto permitiría tener una correcta distribución de los peces reclutas (peces de edad cero) durante todo el año, que daría cuenta de mejor forma de la dinámica de la anchoveta de la zona norte de Chile. Este nuevo criterio obedece al prolongado periodo de desove de esta especie en la zona norte de Chile que origina un reclutamiento durante casi todo el año, que sólo una estructura de edad construida con un criterio flexible de asignación de grupo de edad puede recoger. La aplicación de este nuevo criterio de asignación de grupo de edad basado en la edad de los peces responde al rápido crecimiento de los juveniles, registrado en el presente estudio, donde el tiempo transcurrido desde el nacimiento al reclutamiento es corto (no más de 4 a 5 meses).

10. CONCLUSIONES

1. La resolución de los micro-incrementos fue elevada, particularmente en individuos menores a 10 cm, donde un doble pulido en posición sagital fue suficiente para relevar los micro-incrementos diarios desde el *primordium* hasta el borde del otolito.

2. Se reportó la ocurrencia de dos tipos de otolitos: Tipo A, de consistencia translucida (hialina) y tipo (B), mayoritariamente opaco y con menor resolución en los micro-incrementos diarios, presumiblemente vinculados a un efecto espacial que debería ser abordado en estudios posteriores.

3. Se encontró que los ejemplares nacidos en diciembre mostraron tasas de crecimiento del otolito (grosor de los micro-incrementos) mayores durante la fase larval (0-30 días) y menores en la etapa juvenil tardía (60-150 d) que aquellos ejemplares nacidos en julio, debido presumiblemente al efecto estacional sobre el crecimiento que podría corresponder a un efecto compensatorio.

4. Los hallazgos prelimares evidenciaron que durante la fase larval y juvenil temprana la anchoveta del norte *Engraulis ringens* crece a una tasa de crecimiento diaria promedio (1,1-1,4 mm d^{-1}), mayor que las reportadas hasta la fecha en otros engráulidos para los primeros dos meses de vida, donde alcanzó aproximadamente los 8 cm de longitud total.

5. La relación talla-edad a nivel global y por cohorte mensual de nacimiento se ajustó significativamente a un modelo Laird-Gompertz, demostrando que

para el rango de juveniles analizados (7-12 cm) el crecimiento se torno asintótico, presumiblemente vinculado al proceso inicial de primera madurez sexual.

6. La relación entre el radio del otolito y la longitud del pez fue lineal para el rango de tamaño de juveniles analizados. Este hallazgo permitirá utilizar retro-cálculo en las secciones de otolitos preparadas para reconstruir la historia de vida a nivel diario por cohorte de nacimiento, y de esta forma otorgar mayor información sobre la historia de vida de este recurso.

7. Considerando la información de mediciones de bordes y anillo hialinos queda en evidencia que en ejemplares de anchoveta juvenil se comienza a desarrollar un primer anillo hialino bien definido y concéntrico, cuando el otolito alcanza un radio de 0,695 mm y en algunos peces aún está en formación cuando el otolito presenta un radio de 1,39 mm. De acuerdo a la edad estimada en días en el presente estudio, esta zona hialina tendría una periodicidad inferior a la anual, alcanzándose su formación aproximadamente a los 70 días.

8. En la etapa juvenil tardía (8-12 cm LT), la especie disminuyó marcadamente su tasa de crecimiento durante el cual se inició la formación de la primera zona hialina a aproximadamente los 71 días de vida. No obstante, se observó que la especie fue capaz de alcanzar los 12 cm longitud total en aproximadamente 4 meses de vida.

9. La relación entre la distribución de frecuencia de la fecha de captura y las fechas de nacimientos demostró que en promedio los juveniles de *E. ringens* reclutan a los 3-4 meses de vida en forma consistente durante todo

un ciclo anual, proveyendo de múltiples cohortes para sostener un reclutamiento permanente de esta especie en la zona norte de Chile.

10. El análisis de la micro-estructura en adultos (13,0-17,5 cm LT) reveló una secuencia completa de micro-incrementos primarios (presumiblemente diarios) que fluctuaron entre 154 y 378, desde el primordio hasta el borde de otolitos, no coincidieron con la edad anual asignada equivalente a 2-3 años. La ausencia de concordancia puede obedecer a dos posibles fenómenos distintos, a saber: 1) puede ser producto de una interrupción del crecimiento que afectó la depositación a nivel de micro-incrementos primarios, o 2) puede ser un indicador de que la longevidad de la especie está siendo sobre-estimada, al utilizar el criterio de dos bandas anuales para asignación de la edad.

11. Se sugiere aplicar nuevos criterios de asignación de grupos de edad que considere la edad determinada para cada pez sin referencia a una fecha arbitraria de nacimiento. Esto permitiría tener una correcta distribución de los peces reclutas (peces de edad cero) durante todo el año, que representaría de mejor forma la dinámica de la anchoveta de la zona norte de Chile, cuyo desove prolongado origina múltiples cohortes durante el año.

11. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aguayo, M. 1976. Edad y Crecimiento de la anchoveta (*Engraulis ringens*, Jennyns) del norte de Chile (Arica-Iquique). Ser. Invest. Pesq. Inst Fom. Pesq., Chile 23: 51p.

Barría, P., Böhm, M. G., Aranis, A., Gili, R., Donoso, M., y S. Rosales, 1999. Evaluación indirecta y análisis de la variabilidad del crecimiento de sardina común y anchoveta en la zona Centro-Sur. Informe Final. FIP Nº 97-10. 115 pp + Anexos.

Beamish, R.J. and E.A. Fournier. 1981. A method for comparing the precision of a set of age determinations. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 38: 982-983.

Begg G Brown RW,2000. Stock identification of haddock *Melanogrammus aeglefinus* on Georges Bank based on otolith shape analysi.s Transactions of the American Fisheries Society. 129; 935-945.

Bird JL, Eppler DT, Checkley D. M. 1986. Comparison of herring otoliths using Fourier series shape analysis. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 43: 1228-1234.

Boely, T., Freon, P. & St_equert, B. (1982). La croissance de *Sardinella aurita* (Val., 1847) au S_en_egal. Oc_eanographie Tropicale 17, 103–119.

Boely, T., Freon, P. & St_equert, B. (1982). La croissance de *Sardinella aurita* (Val., 1847) au S_en_egal. Oc_eanographie Tropicale 17, 103–119.

Brothers EB, Mathews CP, Lasker R. (1976). Daily growth increments in otoliths from larval and adults fishes. Fishery Bulletin 74, 1–8.

Butler, J.L. 1989. Growth during the larval and juvenile stages of the northern anchovy, *Engraulis mordax,* in the California Current during 1980–84. Fish. Bull., 87: 64-652.

Campana SE, Casselman JM (1993). Stock discrimination using otoliths shape analysis. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 50: 162- 183.

Campana SE, Neilson JD. (1982). Daily growth increments in otoliths of starry flounder (*Platichthys stellatus*) and the influence of some environmental variablesin their production. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 39, 937–942.

Campana, SE. 2001. Accuracy, precision and quality control in age determination, including a review of the use and abuse of age validation methods. Journal of Fish Biology 59, 197–242.

Cermeño P, Uriarte A, Morales-nin B, Cotano M, Alvarez P. 2008. Setting up interpretation criteria for ageing juvenile european anchovy otoliths. Scientia Marina 72(4) 733-742.

Cermeño P, Uriarte A, Murgia DAM, Morales-Nin B. 2003. Validation of daily increment formation in otoliths of juvenile and adult European anchovy. J. Fish Biol. 62: 679–691.

Clarke M, Kelly J, Cconnolly J, Molloy P. 2003. A Life History Approach to the Assessment and Management of Deepwater Fisheries in in the Northeast Atlantic. J. Northw. Atl. Fish. Sci., 31: 401–412.

Chambers, R. C. and Leggett, W. C. 1987. Size and age at metamorphosis in marine fishes: an analysis of laboratory-reared winter flounder

(Pseudopleuonectes americanus) with a review of variation in other species. Canadian Journal of Fisheries Aquatic Sciences 44, 1936–1947.

Chirinos, A. y E. Chumán. 1968. Validez de la lectura de otolitos para determinar la edad de la anchoveta (*Engraulis ringens*). Inf. Inst. Mar Perú, Callao 22:34 p.

Fives J., S. M. Warlen and D. E. Hoss 1986. Aging and growth of larval bay anchovy, *Anchoa mitchilli* ,from the Newport River estuary, North Carolina. Volume 9, Number 4, 362-367.

Folkvord, A. and Mosegaard, H. 2002. Growth and growth analysis. In Manual of Fish Sclerochronology (Panfili, J., Pontual, H., Troadec, H. & Wright, P. J., eds), pp. 146–166. Brest, France: Ifremer-IRD coedition.

Fossum P, Moksness E. (1993). A study of spring-and autumnspawned herring (*Clupea harengus* L.) larvae in the Norwegian coastal current during spring 1990. Fisheries Oceanography, 2: 73–81.

Gallardo-Cabello. 1984. Determinación de la edad de la anchoveta *Engraulis mordax* Girard, en aguas de baja California norte (Pisces: Engraulidae).

Geffen, A. J., 1982: Otolith ring deposition in relation to growth rate in herring (Clupea harengus) and turbot (*Scophthalmus maximus*) larvae. Mar. Biol. 71, 317–326.

Hales LS (1991). Validation of daily increment formation in the otoliths of juvenile silver perch, *bairdiella-chrysoura*. Estuaries 14: 199-206.

Hayashi, A., Yamashita, Y., Kawaguchi, K. & Ishii, T. 1989. Rearing method and daily otolith ring of Japanese sardine larvae Nippon Suisan Gakkaishi 55, 997–1000.

Houde ED, Zastrow CE. (1993). Ecosystem- and taxon-specific dynamic and energetics properties of fish larvae assemblages. Bulletin of Marine Science 53, 290–335.

Hovenkamp, F. 1992. Growth-dependent mortality of larval plaice Pleuronectes platessa in the North Sea. Marine Ecology Progress Series 82, 95–101.

Hunter, J.R. - 1976. Culture and growth of Northern Anchovy *Engraulis mordax*, larvae. Fish. Bull., 74: 81-88.

Hussy K, Hinrichsen H, Fey§ DP, Walther Y; Velasco A (2010). The use of otolith microstructure to estimate age in adult Atlantic cod *Gadus morhua*. J. Fish Biol. 76, 1640–1654.

Jenkins, G. P. (1987). Age and growth of co-occurring larva of two flounder species, *Rhombosolea tapirina* and *Ammotretis rostratus*. Marine Biology 95, 157–166.

Kalish, J. M., R .J. Beamish, E. B. Brothers, J. M. Casselman, C. Francis, H. Mosegaard, J. Panfi li, E. D. Prince, R. E. Thresher, C. A. Wilson, and P. J. Wright. 1995. Glossary. In Recent developments in fi sh otoliths research (D. H. Secor, J. M. Dean, and S.E. Campana, eds.), p. 723–729. Belle W. Baruch Library in Marine Science, vol. 19, Univ. South Carolina Press, Columbia, S.

Kayama K, Tanabe T, Ogura M, Okuhara M, Tanaka S (2007). Validation of daily ring formation in sagittal otoliths of late juvenile skipjack tuna *Katsuwonus pelamis*. Fish. Sci. 73: 958-960.

La Mesa, M. 2007. The utility of otolith microstructure in determining the timing and position of the first annulus in juvenile Antarctic toothfish (*Dissostichus mawsoni*) from the South Shetland Islands. Polar Biology 30, 1219–1226. doi: 10.1007/s00300-007-0281-3.

Leggett, W. C. and DeBlois, E. 1994. Recruitment in marine fishes: is it regulated by starvation and predation in the egg and larval stage. Netherlands Journal of Sea Research 32, 119–134.

Lessa R, Duarte-neto N, Morize E, Maciel R. 2008. Otolith microstructure analysis with OTC validation confirms age overestimation in Atlantic thread herring *Opisthonema oglinum* from north-eastern Brazil. J. Fish Biol. 73: 1690–1700.

Llanos-Rivera A, Castro L (2006). Interpopulation difererences in temperature effects on *Engraulis ringens* yolk-sac larvae. Mar. Ecl. Prog. Ser. 312: 245-253.

Lluch-Belda, D., Schwartzlose, R.A., Serra, R., Parrish, R.H., Kawasaki, T., Hedgecock, D., Crawford, R.J.M. 1992. Sardine and anchovy regime fluctuations of abundance in four regions of the world oceans: a workshop report. Fisheries Oceanography 1, 339–347.

Martínez C, M.G. Böhm, L. Caballero, A. Aranis, R. Aravena, E. Díaz, M. Cortés, F. Cerna, V. Bocic, C. Machuca, L. Muñoz,, Z. Young, C. Vera, M. Nilo, E. Palta, 2009. Informe Final “Investigación Situación Pesquería Pelágica Zona Norte 2008”. Seguimiento del Estado de Situación de las Principales Pesquerías Nacionales. Subsecretaría de Pesca, Inst. Fom.

Pesq., Valparaíso, Chile, Chile. 183 p.+Anexos.

Methot R. D. 1983. Seasonal variation in survival of larval northern anchovy, *Engraulis mordax*, estimated from the age distribution of juveniles. Fish. Bull., 81: 741-750.

Miller TJ, Crowder LB, Rice JA, Marschall EA (1988). Larval size and recruitment mechanisms in fishes: toward a conceptual framework. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 45, 1657–1670.

Mitani, I. 1990. The biological studies on the larvae of Japanese anchovy, *Engraulis japonica* HOUTTUYN, in Sagami Bay. Spec. Rep. Kanagawa Prefectural Fish. Exp. Station, 5: 1-140.

Moksness E. and P. Fossum. 1991. Distinguishing spring- and autumn-spawned larvae (*Clupea harengus* L.) by otolith microstructure. ICES Journal of Marine Science, 48: 66-61.

Morales-Nin B, Grau A, Perez-Mayo S, Gil MD (2010). Marking of otoliths, age validation and growth of *Argyrosomus regius* juveniles (Sciaenidae). Fish. Res. 106; 76-80.

Morales-Nin, B. 1989. Age and growth of the southern stock of Peruvian anchoveta basedotolith microstructures and length frequency analysis, p. 179-188. In: D. Pauly, J. Mendo and I. Tsukayama (eds.) The Peruvian upwelling ecosystem: dynamics and interactions. ICLARM Conference Proceedings 18, 438 p. Instituto del Mar del Perú (IMARPE), Callao. Perú; Deutsche Gesellschaft für Technische Zusammenarbeit (GTZ) GmbH, Eschborn, Federal Republic of Germany; and International Center for Living Aquatic Resources Management (ICLARM), Manila , Philippines.

Mosegaard H, Madsen K.P. 1996. Discrimination of mixed Herring stocks in the North Sea using vertebral counts and otolith microstructure. ICES CM 1996/H:17.

Namiki S, Tanaka H, Katayama S, Funaki O, Aoki I, Oozeki Y. (2010). Validation of daily increment formation in otoliths of immature and adult Japanese anchovy Engraulis japonicus. Fis. Sci. 76: 951-959.

Palomera I. 1991. Vertical distribution of eggs and larvae of Engraulis encrasicolus in stratified waters of the western Mediterranean. Mar. Biol., 111: 37-44.

Paul, LJ, Horn PL. 2009. Age and growth of sea perch (*Helicolenus percoides*) from two adjacent areas off the east coast of South Island, New Zealand. Fisheries Research 95, 169–180. doi: 10.1016/j.fishres.2008.08.011.

Paza G. and M. Ishida. 2008. The growth–mortality relationship in larval cohorts of Sardinops melanostictus, revealed by using two new approaches to analyse longitudinal data from otoliths. Journal of Fish Biology 73, 1531–1553.

Pearson D. E. 1996. Timing of hyaline-zone formation as related to sex, location, and year of capture in otoliths of the widow rockfish, *Sebastes entomelas*. Fish Bull US 94:190-197.

Pierce, D. J., Mahmoudi, B. & Wilson, R. R. Jr. 2001. Age and growth of the scaled herring, *Harengula jaguana*, from Florida waters as indicated by microstructure of the sagittae. Fishery Bulletin 99, 202–209.

Pierce, D. J., Mahmoudi, B. & Wilson, R. R. Jr. 2001. Age and growth of the scaled herring, *Harengula jaguana*, from Florida waters as indicated by microstructure of the sagittae. Fishery Bulletin 99, 202–209.

Plaza G., Honda H. Sakaji H. Nashida K. (2006).Patterns of growth in the early life history of the round herring *Etrumeus teres*. Journal of Fish Biology. 68: 1421-1435.

Plaza G., Honda H, Sakaji H, Nashida K. 2005. Preparing fish sagittae for examination of daily growth increments of young-of-the-year fishes: A modification of the embed method. J. Fish Biol. 66: 592-597.

Schwartzlose, R.A., Alheit, J., Bakun, A., Baumgartner, T., Cloete, R., Crawford, R.J.M., Fletcher, W.J., Green-Ruiz, Y., Hagen, E., Kawasaki, T., Lluch-Belda, D., Lluch-Cota, S.E., MacCall, A.D., Matsuura, Y., Nevares-Martinez, M.O., Parrish, R.H., Roy, C., Serra, R., Shust, K.V., Ward, N.M., Zuzunaga, J.Z., 1999. Worldwide large-scale fluctuations of sardine and anchovy populations. South African Journal of Marine Science 21, 289–347.

Secor DH, Dean JM, Laban EH 1992. Otolith removal and preparation for microstructural analysis. In Otolith microstructure examination and analysis (Stevenson D.K. & Campana S.E. eds). pp. 19-57. Canadian Special Publication of Fisheries and Aquatic Science 117.

Serra R. 1991. Important life history aspects of the Chilean Jack Mackerel, *Trachurus symetricus murphy*. Invest. Pesq. Chile. 36: 67-83.

Serra, J.R. 1983. Changes in the abundance of pelagic resources along the Chilean coast. En: G. Sharp & J. Csirke (eds.). Proceedings of the expert consultation to examine changes in abundance and species composition of neritic fish resources. FAO Fish. Rep., 291: 255-284.

Shepherd JG. and Cushing DH. 1980. A mechanism for density dependent survival of larval fish as the basis of a stock-recruitment relationship. Journal du

conseil/ Conseil permanent international pour l'exploration de la mer 39, 160–167.

Simpson J.G y R. Buzeta. 1967. El crecimiento y la edad de la anchoveta (*Engraulis ringens,*Jenyns) en Chile basado en estudios de frecuencia de longitud. Bol. Cient. Inst. Fom. Pesq. Santiago, Chile 3:53.

Soliman V, Yamada H, Yamaoka K. 2009. Validation of daily sagittal increments in the golden-spotted rabbitfish *Siganus guttatus* (Bloch) using known-age larvae and juveniles. J. Appl. Icht. 25: 438-441.

Takahashi, M. and Y. Watanabe. 2004. Staging larval and early juvenile's Japanese anchovy based on the degree of guanine deposition. J. Fish. Biol., 64: 262-267.

Takahashi, M., Y. Watanabe, T. Knoshita and C. Watanabe. 2001. Growth of larval and early juvenile Japanese anchovy, *Engraulis japonicus*, in the Kuroshio-Oyashio transition region. Fish. Ocean., 10: 235-247.

Takasuka, A., Aoki, I. and Mitani, I. 2004. Three synergistic growth-related mechanisms in the short-term survival of larval Japanese anchovy *Engraulis japonicus* in Sagami Bay. Marine Ecology Progress Series 270, 217–228.

Tuset *et al.,* V.M. Tuset, A. Lombarte, J.A. González, J.F. Pertusa and M.J. Lorente, 2003. Comparative morphology of the sagittal otolith in *Serranus* spp. J. Fish Biol. 63: 1491–1504.

von Bertalanffy, L. (1938). A quantitative theory of organic growth (inquiries on growth laws II). Human Biology 10, 181–213.

Yáñez, E., M.A. Barbieri, C. Silva, K. Nieto & F. Espíndola. 2001. Climate variability and pelagic fisheries in northern Chile. Progress in Oceanography 49, 581-596.

Yukami R, Aoki I, Mitani I (2008) Daily age of adult Japanese anchovy *Engraulis japonicus* off eastern Honshu, Japan by otolith daily increment. Fish. Sci. 74: 1348-1350.

A N E X O S

A N E X O I

Antecedentes generales necesarios para
entender el desarrollo metodológico
(Guido Plaza Pasten, Phd)

Antecedentes generales necesarios para entender el desarrollo metodológico

Guido Plaza Pasten, Phd.

Para el cumplimento del objetivo general y los específicos, la presente estudio contempló el análisis de la micro y macro-estructura de los otolitos de la anchoveta *Engraulis ringens*. En forma previa se considera oportuno revisar algunos aspectos del ESTADO DEL ARTE sobre esta técnica, de manera de contribuir a la comprensión de los aspectos metodológicos que se desarrollarán posteriormente.

MICRO-ESTRUCTURA DE OTOLITOS

Micro-incrementos primarios

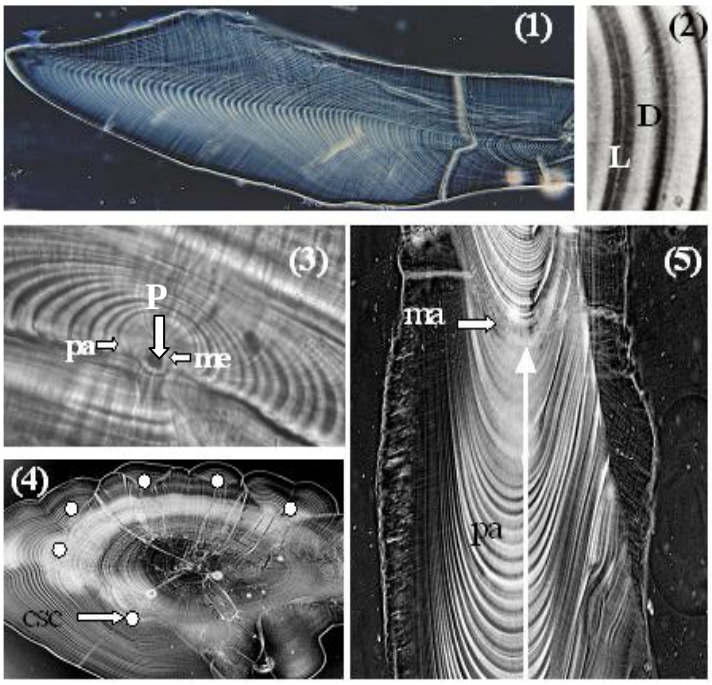


Figura 3. Fotografías de microscopía óptica ilustrando rasgos de la micro-estructura de los otolitos de peces juveniles (**1 &2**) Sagittae de un juveniles de *Sardinops melanosctitus* (Plaza *et al.* datos no publicados); (**3**) región del primordio de una otolito sagita del clupeido *Etremeus teres* (Plaza *et al*. 2005); (**4 & 5**) Secciones frontales y sagitales de un juvenil de un pez de roca (*Sebastes inermis*, Plaza et al. 2001). P=primordio; me= marca a la eclosión; pa=marca a la primera alimentación; CSC= Centros Secundarios de crecimiento.

Los micro-incrmenetos primarios (Fig. 3, Fotos 1~4) son formados por la sucesiva deposición de una capa rica en carbonato de calcio y de una capa rica en proteína pero de baja concentración en carbonato de calcio. Ambas capas son denominadas zonas L y D (Fig. 3, Foto 2), apareciendo como una zona clara y oscura bajo luz trasmitida, respectivamente. Panella (1971) fue quien descubrió estas estructuras y fue el primer en sugerir que su frecuencia de producción era diaria. El grosor de los MP puede fluctuar desde menos de 1 µm hasta acerca de los 15 µm o más. El grosor

de la zona "L" es de alrededor de 1 µm, mientras que el grosor de la zona "D" puede ser más variable. Los MD son solamente visibles a través de un microscopio, principalmente durante el primer año de vida del pez, debido a que su crecimiento es mayor durante dicho período. No obstante, los MP se siguen formando durante la vida del pez, aunque su periodicidad diaria es difícil de evaluar, debido a que su grosor disminuye notoriamente, cayendo más allá de la resolución de la microscopía óptica e incluso electrónica. Algunos incrementos sub-diarios pueden ocurrir, particularmente en aquellos períodos de crecimiento rápido. Estas estructuras son menos uniformes y regulares que los incrementos primarios, y por consiguiente pueden fácilmente ser distinguidos por un lector experimentado (Campana & Jones 1992).

El primordium

Los otolitos se desarrollan de uno o más estructuras parcialmente calcificadas denominada "primordium" (Fig. 3; *Foto 3; pr*), formado en el oído interno (Mann *et al*. 1983). Estos centros de crecimiento pueden ser circular, elongado o múltiple, dependiendo de la especie. En el caso de primordium múltiples éstos se fusionan para formar el centro del otolito. El término "núcleo" también ha sido usado para describir la parte central del otolito, aunque es recomendable usarlo solamente para describir un área mucho mayor que define la zona central en otolitos de peces adultos.

El primer anillo primario

Los otolitos se forman durante la última etapa de formación del huevo. Por algún tiempo después de su formación, los otolitos crecen continuamente y en la mayoría de los casos sin producir capas concéntricas u incrementos primarios. El comienzo de la formación del primer incremento primario varía de una especie a otra, pero en la mayoría de las especies estudias, el primer incremento aparece prominente y bien definido (Fig. 3; *Foto 3; pa*). En algunas especies la formación del primer incremento coincide con la eclosión (Lagardere 1989; Fig.3 *Foto 3, me=marca de eclosión*), y en otros con la primera alimentación (Geffen 1982; (Fig. 3; *Foto 3; pa=marca de primera alimentación*). En otras especies estructuras concéntricas han sido observadas antes de la eclosión, aunque aún no esta claro si estas estructuras son incrementos diarios, o meramente artefactos visuales.

Centro secundarios de crecimiento (CSC)

En algunas especies es posible apreciar centros secundarios de crecimiento análogos al primordium (Fig. 3; *Foto 4; círculos blancos*), del cual emanan nuevas estructuras concéntricas. Estos SCSs son más comunes en el otolito más grande (sagita). Varias hipótesis han sido planteadas para explicar el origen de estos SCSs, entre las cuales se pueden citar: (i) cambio de hábitat (Sogard 1991), cambios ontogenéticos en la dieta (Marks & Conover 1993) y/o cambios fisiológicos asociados a la metamorfosis (Hare & Cowen 1994).

Estructuras discontinuas (ED)

Las ED son elementos sobresalientes, irregulares que ocurren a través de los incrementos primarios. Estas ED pueden interrumpir la sucesión de los IP en forma cíclica u acíclica. Las ED pueden ser distinguidas bajo magnificaciones alta o bajas y generalmente requieren que el otolito sea previamente preparado. Las EDs son típicas de todas las especies y probablemente son productos del estrés ambiental al que los individuos están sujetos. Algunas EDs están relacionadas a eventos tales como asentamiento y/o metamorfosis y aparecen como drásticos cambios en el grosor del incremento (Fig. 3; *Foto 5; ma= marca de asentamiento*; *pa= Incrementos primarios post-asentamiento*).

Preparación de otolitos de peces juveniles

Para observar la micro-estructura de los otolitos peces juveniles es necesario obtener una lámina de alrededor de 50 µm de grosor en el plano sagital, frontal o transversal. Este proceso normalmente tiene que ser llevado a cabo manualmente usando lijas de distinta graduación. El procedimiento básico consiste en embeber el otolito en resina epóxica, pulirlo hasta revelar el primordio y los MP, y posteriormente montar la sección en un portaobjeto, para finalmente observarla a través de un microscopio óptico. Mayores detalles de estos procedimientos han sido descrito en Secor et al. (1992) y Plaza et al. (2005; Fig. 2).

MICRO-ESTRUCTURA DE LOS OTOLITOS EN CLUPEIDOS

El análisis de los micro-incrementos de otolitos, tanto en larvas como juveniles menores de 1 año de vida, ha sido llevada a cabo en un gran número de especies de peces, incluyendo clupeidos. En la mayoría de los casos en éstos últimos, los micro-incrementos primarios han presentado una elevada resolución y periodicidad diaria (Tabla 1). Estas características han permitido el uso de los micro-incrementos diarios validar annulli en ciertas especies. Por ejemplo, Miranda (1994) demostró a través de los micro-incrementos dairiso que la zona hialina correspondió efectivamente a un annulus en la anchoveta sud-africana (*Engraulis capensis*). Para el caso de la anchoveta *E. ringens*, en el sur del Perú, un procedimiento similar fue aplicado para validar el primer annulus (Barría *et al.* 1999).

Tabla 1. Estudios de validación de la periodicidad diaria en peces engráulidos y clupeidos (pendiente de la regresión Incrementos Primarios (IP) vs Edad no difiere significativamente de 1; b=1). Cod= Condiciones en que fue llevado a cabo el estudio; Lab= Laboratorio.

Especie (L=Larva; J=juvenil)	Cond.	Duración	Criterio de Validación	Fuente
Anchoa Mitchilli (L)	Lab	0-18 d	PI vs Edad; b=1	Fives et al. 1986
Clupea harengus (L)	Lab	0-120 d	PI vs Edad; b=1	Geffen 1982
Clupe payáis (L)	Lab	Metamorfosis	PI vs Edad; b=1	McGurk 1984
Opisthonema oglinum (J)	Lab	26-350 d	PI vs Edad; b=1	Lessa et al. 2008
*Engraulis encrasicolus * (L)*	Lab	0-35 d	PI vs Edad; b=1	Aldanondo et al. 2008
Engraulis encrasicolus (J)	Lab	82±1.2 mm LT	PI vs Edad; b=1	Cermeno et al. 2003
Engraulis mordaz (L)	Lab	Indefinido	PI vs Edad; b=1	Brothers et al. (1976)
Sardinops melanostictus (L)	Lab	5-30 d	PI vs Edad; b=1	Hayashi et al (1989)

MICRO-ESTRUCTURA DE OTOLITOS DE LA ANCHOVETA Engraulis ringens

Análisis de micro-incrementos diarios en Anchoveta *E. ringens* fueron reportados recientemente por el proyecto FIP 2004-38 "Validación de la edad de la Anchoveta en el norte de Chile".

Los principales hallazgos en relación a la micro-estructura de otolitos de esta especie se resumen a continuación:

(i) Elevada resolución de los micro-incrementos diarios en la fase larval.

(ii) Elevada resolución de los micro-incrementos entre annulli

Estos hallazgos demuestras que sería factible validar la formación del primer annulus, analizando el micro-incremento diarios de juveniles. Para verificar si la resolución puede también extenderse a la etapa juvenil temprana, el grupo de trabajo de la presente propuesta, efectuó un estudio piloto en juveniles de anchoveta del norte, entre 12 y 15 centímetros de longitud total, utilizando el método SGEM (Plaza et al. 2005). Los resultados preliminares confirmaron que efectivamente los micro-incrementos primarios son factible de reconocer en esta especie (Fig. 4abc). En general se aprecia, un marcado incremento en el grosor de los micro-incrementos entre los 50 y 120 días de vida. El carácter estacional de este rasgo podrá ser revelado en el marco del desarrollo del proyecto. En individuos de 12 cm LT, en los que aún no se aprecia la zona hialina, hay una disminución marcada en el grosor hacia el borde del otolito, pero aún son claramente visibles bajo microscopia óptica a aumentos de 40X (Fig. 4b). En juveniles de 15 cm LT, en los que se aprecia deposito de la zona hialina en el borde del otolito, los micro-incrementos aparecen claramente visibles al final de la región opaca previa, incluso en otolitos embebidos en resina epóxica (Fig. 4c). La región hialina, sin embargo, pierde resolución y requiere preparación por SGEM. .

Antecedentes generales necesarios para entender el desarrollo metodológico

Guido Plaza Pasten, Phd.

Para el cumplimento del objetivo general y los específicos, la presente estudio contempló el análisis de la micro y macro-estructura de los otolitos de la anchoveta *Engraulis ringens*. En forma previa se considera oportuno revisar algunos aspectos del ESTADO DEL ARTE sobre esta técnica, de manera de contribuir a la comprensión de los aspectos metodológicos que se desarrollarán posteriormente.

MICRO-ESTRUCTURA DE OTOLITOS

Micro-incrementos primarios

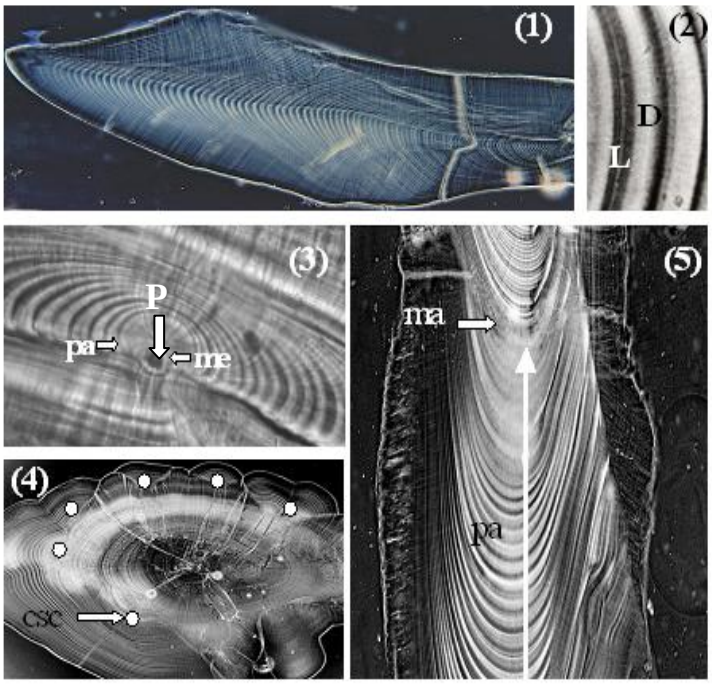


Figura 3. Fotografías de microscopía óptica ilustrando rasgos de la micro-estructura de los otolitos de peces juveniles (**1 &2**) Sagittae de un juveniles de *Sardinops melanosctitus* (Plaza *et al.* datos no publicados); (**3**) región del primordio de una otolito sagita del clupeido *Etremeus teres* (Plaza *et al*. 2005); (**4 & 5**) Secciones frontales y sagitales de un juvenil de un pez de roca (*Sebastes inermis*, Plaza et al. 2001). P=primordio; me= marca a la eclosión; pa=marca a la primera alimentación; CSC= Centros Secundarios de crecimiento.

Los micro-incrmenetos primarios (Fig. 3, Fotos 1~4) son formados por la sucesiva deposición de una capa rica en carbonato de calcio y de una capa rica en proteína pero de baja concentración en carbonato de calcio. Ambas capas son denominadas zonas L y D (Fig. 3, Foto 2), apareciendo como una zona clara y oscura bajo luz trasmitida, respectivamente. Panella (1971) fue quien descubrió estas estructuras y fue el primer en sugerir que su frecuencia de producción era diaria. El grosor de los MP puede fluctuar desde menos de 1 µm hasta acerca de los 15 µm o más. El grosor

de la zona "L" es de alrededor de 1 µm, mientras que el grosor de la zona "D" puede ser más variable. Los MD son solamente visibles a través de un microscopio, principalmente durante el primer año de vida del pez, debido a que su crecimiento es mayor durante dicho período. No obstante, los MP se siguen formando durante la vida del pez, aunque su periodicidad diaria es difícil de evaluar, debido a que su grosor disminuye notoriamente, cayendo más allá de la resolución de la microscopía óptica e incluso electrónica. Algunos incrementos sub-diarios pueden ocurrir, particularmente en aquellos períodos de crecimiento rápido. Estas estructuras son menos uniformes y regulares que los incrementos primarios, y por consiguiente pueden fácilmente ser distinguidos por un lector experimentado (Campana & Jones 1992).

El primordium

Los otolitos se desarrollan de uno o más estructuras parcialmente calcificadas denominada "primordium" (Fig. 3; *Foto 3; pr*), formado en el oído interno (Mann *et al*. 1983). Estos centros de crecimiento pueden ser circular, elongado o múltiple, dependiendo de la especie. En el caso de primordium múltiples éstos se fusionan para formar el centro del otolito. El término "núcleo" también ha sido usado para describir la parte central del otolito, aunque es recomendable usarlo solamente para describir un área mucho mayor que define la zona central en otolitos de peces adultos.

El primer anillo primario

Los otolitos se forman durante la última etapa de formación del huevo. Por algún tiempo después de su formación, los otolitos crecen continuamente y en la mayoría de los casos sin producir capas concéntricas u incrementos primarios. El comienzo de la formación del primer incremento primario varía de una especie a otra, pero en la mayoría de las especies estudias, el primer incremento aparece prominente y bien definido (Fig. 3; *Foto 3; pa*). En algunas especies la formación del primer incremento coincide con la eclosión (Lagardere 1989; Fig.3 *Foto 3, me=marca de eclosión*), y en otros con la primera alimentación (Geffen 1982; (Fig. 3; *Foto 3; pa=marca de primera alimentación*). En otras especies estructuras concéntricas han sido observadas antes de la eclosión, aunque aún no esta claro si estas estructuras son incrementos diarios, o meramente artefactos visuales.

Centro secundarios de crecimiento (CSC)

En algunas especies es posible apreciar centros secundarios de crecimiento análogos al primordium (Fig. 3; *Foto 4; círculos blancos*), del cual emanan nuevas estructuras concéntricas. Estos SCSs son más comunes en el otolito más grande (sagita). Varias hipótesis han sido planteadas para explicar el origen de estos SCSs, entre las cuales se pueden citar: (i) cambio de hábitat (Sogard 1991), cambios ontogenéticos en la dieta (Marks & Conover 1993) y/o cambios fisiológicos asociados a la metamorfosis (Hare & Cowen 1994).

Estructuras discontinuas (ED)

Las ED son elementos sobresalientes, irregulares que ocurren a través de los incrementos primarios. Estas ED pueden interrumpir la sucesión de los IP en forma cíclica u acíclica. Las ED pueden ser distinguidas bajo magnificaciones alta o bajas y generalmente requieren que el otolito sea previamente preparado. Las EDs son típicas de todas las especies y probablemente son productos del estrés ambiental al que los individuos están sujetos. Algunas EDs están relacionadas a eventos tales como asentamiento y/o metamorfosis y aparecen como drásticos cambios en el grosor del incremento (Fig. 3; *Foto 5; ma= marca de asentamiento*; *pa= Incrementos primarios post-asentamiento*).

Preparación de otolitos de peces juveniles

Para observar la micro-estructura de los otolitos peces juveniles es necesario obtener una lámina de alrededor de 50 µm de grosor en el plano sagital, frontal o transversal. Este proceso normalmente tiene que ser llevado a cabo manualmente usando lijas de distinta graduación. El procedimiento básico consiste en embeber el otolito en resina epóxica, pulirlo hasta revelar el primordio y los MP, y posteriormente montar la sección en un portaobjeto, para finalmente observarla a través de un microscopio óptico. Mayores detalles de estos procedimientos han sido descrito en Secor et al. (1992) y Plaza et al. (2005; Fig. 2).

MICRO-ESTRUCTURA DE LOS OTOLITOS EN CLUPEIDOS

El análisis de los micro-incrementos de otolitos, tanto en larvas como juveniles menores de 1 año de vida, ha sido llevada a cabo en un gran número de especies de peces, incluyendo clupeidos. En la mayoría de los casos en éstos últimos, los micro-incrementos primarios han presentado una elevada resolución y periodicidad diaria (Tabla 1). Estas características han permitido el uso de los micro-incrementos diarios validar annulli en ciertas especies. Por ejemplo, Miranda (1994) demostró a través de los micro-incrementos dairiso que la zona hialina correspondió efectivamente a un annulus en la anchoveta sud-africana (*Engraulis capensis*). Para el caso de la anchoveta *E. ringens*, en el sur del Perú, un procedimiento similar fue aplicado para validar el primer annulus (Barría *et al.* 1999).

Tabla 1. Estudios de validación de la periodicidad diaria en peces engráulidos y clupeidos (pendiente de la regresión Incrementos Primarios (IP) vs Edad no difiere significativamente de 1; b=1). Cod= Condiciones en que fue llevado a cabo el estudio; Lab= Laboratorio.

Especie (L=Larva; J=juvenil)	Cond.	Duración	Criterio de Validación	Fuente
Anchoa Mitchilli (L)	Lab	0-18 d	PI vs Edad; b=1	Fives et al. 1986
Clupea harengus (L)	Lab	0-120 d	PI vs Edad; b=1	Geffen 1982
Clupe payáis (L)	Lab	Metamorfosis	PI vs Edad; b=1	McGurk 1984
Opisthonema oglinum (J)	Lab	26-350 d	PI vs Edad; b=1	Lessa et al. 2008
*Engraulis encrasicolus * (L)*	Lab	0-35 d	PI vs Edad; b=1	Aldanondo et al. 2008
Engraulis encrasicolus (J)	Lab	82±1.2 mm LT	PI vs Edad; b=1	Cermeno et al. 2003
Engraulis mordaz (L)	Lab	Indefinido	PI vs Edad; b=1	Brothers et al. (1976)
Sardinops melanostictus (L)	Lab	5-30 d	PI vs Edad; b=1	Hayashi et al (1989)

MICRO-ESTRUCTURA DE OTOLITOS DE LA ANCHOVETA Engraulis ringens

Análisis de micro-incrementos diarios en Anchoveta *E. ringens* fueron reportados recientemente por el proyecto FIP 2004-38 "Validación de la edad de la Anchoveta en el norte de Chile".

Los principales hallazgos en relación a la micro-estructura de otolitos de esta especie se resumen a continuación:

(i) Elevada resolución de los micro-incrementos diarios en la fase larval.

(ii) Elevada resolución de los micro-incrementos entre annulli

Estos hallazgos demuestras que sería factible validar la formación del primer annulus, analizando el micro-incremento diarios de juveniles. Para verificar si la resolución puede también extenderse a la etapa juvenil temprana, el grupo de trabajo de la presente propuesta, efectuó un estudio piloto en juveniles de anchoveta del norte, entre 12 y 15 centímetros de longitud total, utilizando el método SGEM (Plaza et al. 2005). Los resultados preliminares confirmaron que efectivamente los micro-incrementos primarios son factible de reconocer en esta especie (Fig. 4abc). En general se aprecia, un marcado incremento en el grosor de los micro-incrementos entre los 50 y 120 días de vida. El carácter estacional de este rasgo podrá ser revelado en el marco del desarrollo del proyecto. En individuos de 12 cm LT, en los que aún no se aprecia la zona hialina, hay una disminución marcada en el grosor hacia el borde del otolito, pero aún son claramente visibles bajo microscopia óptica a aumentos de 40X (Fig. 4b). En juveniles de 15 cm LT, en los que se aprecia deposito de la zona hialina en el borde del otolito, los micro-incrementos aparecen claramente visibles al final de la región opaca previa, incluso en otolitos embebidos en resina epóxica (Fig. 4c). La región hialina, sin embargo, pierde resolución y requiere preparación por SGEM. .

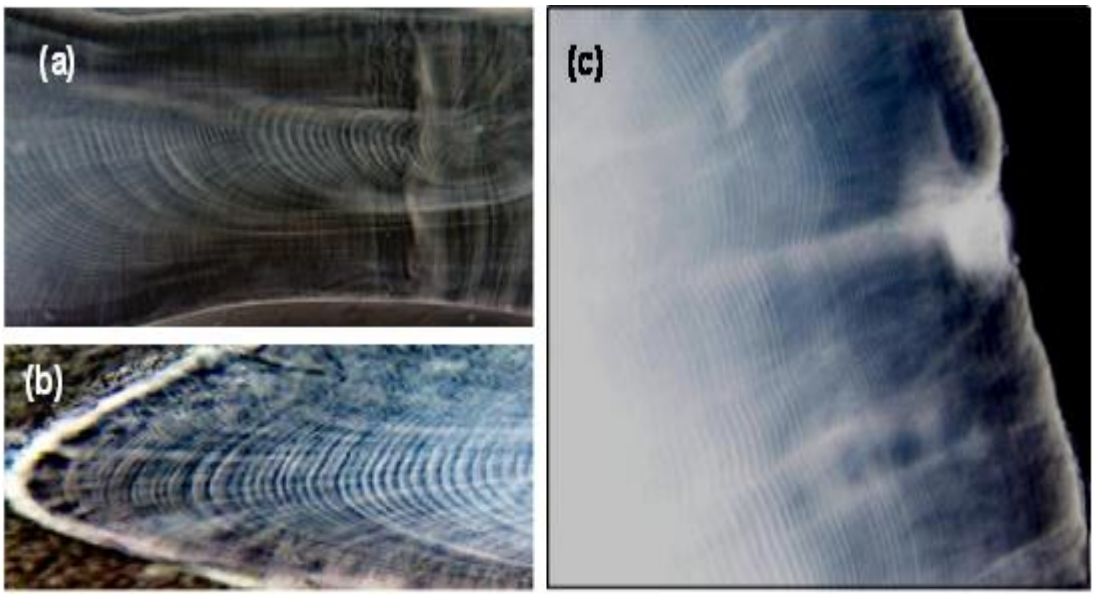


Figura 4. Imágenes invertidas de Image-pro, ilustrando los micro-incrementos diarios de la Anchoveta *E. ringens* preparados por SGEM. (a) Sección frontal a 40 X de un juvenil de 12 cm LT; (b) Sección frontal a 40 X del borde un juvenil de 13 cm LT; (c) Otolitos embebido en resina en posición sagital pero aun no preparado para observación microscópica (20X).

MICRO-ESTRUCTURA DE LOS OTOLITOS COMO HERRAMIENTA PARA IDENTIFICAR COHORTES ESTACIONALES Y/O ORIGEN ESPACIAL

La micro-estructura de los otolitos no sólo registra edad y crecimiento, sino también patrones de movimientos, y/o interacción de hábitat (*e.g.*, patrones de asentamiento) que son registrados a diferentes escalas temporales (Víctor 1982; Sponaugle y Cowen 1994; Hamer & Jenkins 1996; Wilson & McCormick 1997; Raventós & Macpherson 2001). Este potencial también se puede extender a identificación de unidades discretas que estarían asociadas a la fidelidad de los individuos por zonas de desove y/o crianza características, y mucha de esta información vinculada al origen es registrada en la micro-estructura de los otolitos. De hecho, varios estudios han considerado la micro-estructura con propósitos de identificación de stock y/o identificación de áreas de crianza (Stenevik *et al.* 2006; Husebo *et al.* 2005). El principio de esta aproximación es simple, dado que las condiciones ambientales que condicionan los principales modificadores del crecimiento en los estadios tempranos de peces (*i.e.*, temperatura y productividad; Houde 1997) varía entre dos o más áreas estudiadas, las tasas de crecimiento de los juveniles recolectados pueden presentar diferencias significativas. Adicionalmente, ya que el grosor de los micro-incrementos primarios puede

ser considerado un Proxy de las tasas de crecimiento, es razonable inferir que las dimensiones del núcleo de los otolitos (la zona opaca de mayor crecimiento, depositada durante los periodos larval y juvenil tempranos), podrían también capturar los cambios en las tasas de crecimiento, ya sea en una escala espacial o temporal a través del año (Plaza et al. 2006).

A escala temporal el análisis de la micro-estructura de los otolitos también puede presentar una gran utilidad. Por ejemplo, varias especies con desove parcial y con épocas de desove prolongadas, presentan dos periodos de desove, como es el caso particular de la especie objetivo de la presente propuesta. En estos casos, la micro-estructura de los otolitos ha sido utilizada para distinguir a cual de los "peak" de desove pertenece un determinado juvenil. Como ilustración, por ejemplo, en la Fig. 5, se muestran micro-estructuras de otolitos de un ejemplar desovado en otoño e invierno, para el clupeido *Etrumeus teres*, donde el grosor de los micro-incrementos fueron significativamente distintos entre ambas cohortes estacionales. Hallazgos similares han sido reportados para *Clupea harengus* en el mar del norte (Husebo et al. (2005).

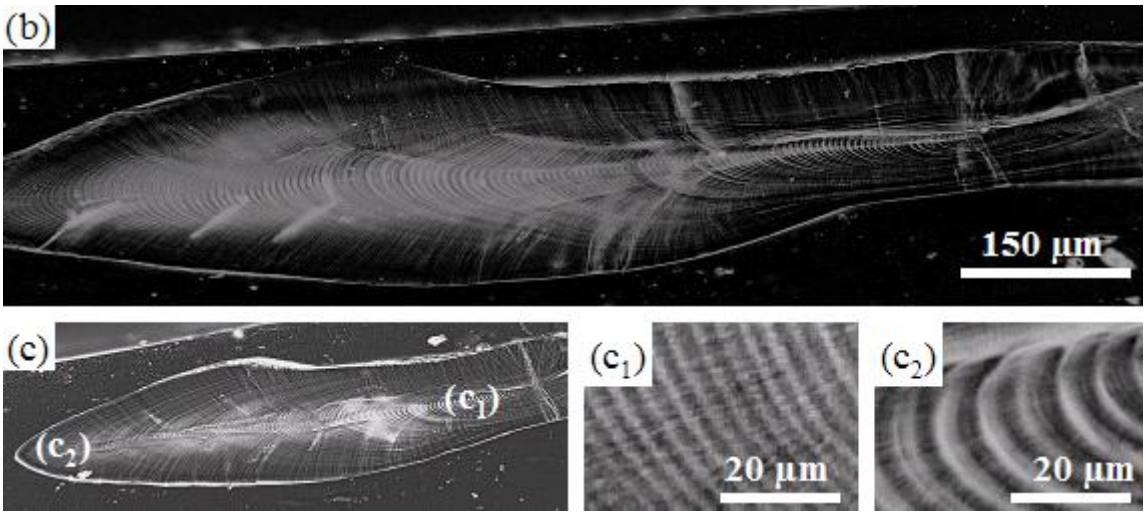


Figura 5. Fotografías de microscopia de luz de secciones frontales de otolitos ilustrando las diferencias en grosor de los micro-incrementos de un juvenil del clupeido *E. teres*, desovado en otoño (b) e invierno (c). c1, c2 representan amplificaciones de la región de núcleo y del borde del otolito (Fuente: Plaza et al. 2005).

REFERENCIAS

Brothers, E.B., Mathews, C.P., Lasker, R., 1976. Daily growth increments in otoliths from larval and adult fishes. Fish. Bull. 74, 1–8.

Campana ES, Jones CM (1992) Analysis of otolith microstructure data, p 73-100. In D.K. Stevenson and SE Campana (ed) Otolith microstructure examination and analysis. Can. Spec. Publ. Fich. Aquat. Sci. 117.

Cermeno P, Uriarte A, Murgia DAM, Morales-Nin B (2003). Validation of daily increment formation in otoliths of juvenile and adult European anchovy. J. Fish Biol. 62: 679–691

Fives J., S. M. Warlen and D. E. Hoss 1986. Aging and growth of larval bay anchovy, Anchoa mitchilli ,from the Newport River estuary, North Carolina. Volume 9, Number 4, 362-367.

Geffen AJ (1982) Otolith ring deposition in relation to growth rate in herring (Clupea harengus) and turbot (Scophthalmus maximus) larvae. Mar. Biol. 71: 317-326 9.

Hayashi, A., Yamashita, Y., Kawaguchi, K. & Ishii, T. 1989. Rearing method and daily otolith ring of Japanese sardine larvae Nippon Suisan Gakkaishi 55, 997–1000.

Hammer PA, Jenkins GP (1996). Larval supply and short-term recruitment of a temperate zone demersal fish, the King George whiting, Sillaginoides punctata Cuvier and Valenciennes, to an embayment in south-eastern Australia. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 208: 197-214.

Houde ED (1997) Patterns and consequences of selective processes in teleost early life histories. In Chambers RC and Tripprl EA (eds) Early life history and recruitment in fish population. Chapman & Hall, Fish and Fisheries series 21: 173-196.

Husebo A, Slotte A, Mosegaard H (2005.Mixing of populations or year class twinning in Norwegian spring spawning herring? Marine & Freshwater Research. 56: 763-772.

Lagardere, F (1989). Influence of feeding conditions and temperature on the growth rate and otolith increment deposition of llarval Dover sole (Solea solea (L). Cons. Int. Expl. Mer. 191: 390-399.

Lessa R, Duarte-neto N, Morize E, Maciel R (2008). Otolith microstructure analysis with OTC validation confirms age overestimation in Atlantic thread herring Opisthonema oglinum from north-eastern Brazil. J. Fish Biol. 73: 1690–1700

Mann S, Parker SB, Ross MD, Skarnulis AJ, Williams RJP (1983). The ultrastrcuture of the calcium carbonate balance organs of the inner ears. An ultra-high resolution electron microscopy study. Proceeding of the Research Society of London 218: 187-217.

Marks RE, Conover DO (1993). Ontogenetic shift in the diet of young-of-the-year bluefish Pomatomus saltatrix during the oceanic phase on the early life history. Fish. Bull. 30: 225-243.

Plaza G, Honda H, Sakaji H, Nashida K (2005). Preparing fish sagittae for examination of daily growth increments of young-of-the-year fishes: A modification of the embed method. J. Fish Biol. 66: 592-597

Plaza G, Katayama S, Omori M (2001). Otolith micro-structure of the black rockfish, Sebastes inermis. Mar. Biol. 139: 797-805.

Reventós N, Macpherson E (2001). Planktonic larval duration and settlement marks on the otoliths of Mediterranean littoral fishes. Mar. Biol. 138: 1115-1120.

Secor DH, Dean JM, Laban EH (1992). Otolith removal and preparation for microstructural analysis. In Otolith microstructure examination and analysis (Stevenson D.K. & Campana S.E. eds). pp. 19-57. Canadian Special Publication of Fisheries and Aquatic Science 117.

Sogard SM (1991). Interpretation of otolith microstructure in juvenile winter flounder (Pseudopleuronectes americanus): ontogenetic development, daily increments validation, and somatic growth relationships. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 48: 1862-1871.

Sponaugle S, Cowen RK (1994). Larval duration and recruitment patterns of two Caribbean gobies (Gobidae): contrasting early life histories in demersal spawners. Mar. Biol. 120: 133-143.

Stenevik EK, Fossum P, Johannessen A, Folkvord A (1996). Identification of Norwegian spring spawning herring (Clupea harengus L.) larvae from spawning grounds off western Norway applying otolith microstructure analysis Sarsia. 80: 285-292.

Víctor BC (1982). Daily otolith increment and recruitment in two coral reef wrasses, Thalassoma bisfaciatum and Helichoeres bivittatus. Mar. Biol. 71: 203-208.

Wilson DT, McCormick MI (1997). Spatial and temporal settlement marks in otoliths of tropical reef fishes. Mar. Ecol. Prog. Ser. 153: 259-271.

A N E X O II

Taller metodológico de otolitos de anchoa:
Instituto Tecnológico Pesquero Y Alimentario (Azti)
e Instituto de Fomento Pesquero (IFOP)

TALLER METODOLÓGICO DE OTOLITOS DE ANCHOA

INSTITUTO TECNOLOGICO PESQUERO Y ALIMENTARIO (AZTI)
INSTITUTO DE FOMENTO PESQUERO (IFOP)

FIP N° 2009-17

Revisión de la asignación por grupo de edad en la anchoveta (*Engraulis ringens*) de la zona norte

Pasaia, España,
Agosto 2010

PARTICIPANTES

Instituto Tecnológico Pesquero y Alimentario, AZTI, Tecnalia (País Vasco, España)

Andres Uriarte
Unai Cotano
Iñaki Rico

Instituto de Fomento Pesquero, IFOP (Valparaíso, Chile)

Francisco Cerna (IFOP)
Guido Plaza (Facultad de Recursos Naturales, PUCV)

ANTECEDENTES

Las poblaciones o stocks de *engraulidos* son recursos pelágicos pequeños sujetos a regimenes de explotación pesquera en todo el mundo, a saber: *Engraulis mordax* (Pacifico norte EEUU), *Engraulis anchoita* (Atlántico sur Argentina), *Engraulis australis* (Costas Australia), *Engraulis japonicus* (Costas de Japón), *Engraulis ringens* (Pacifico sur, Chile y Perú) y *Engraulis encrasicolus* (Mar cantábrico España, Francia, Portugal). Son especies de crecimiento rápido en que las abundancias de los stocks se sustentan en las primeras 1 a 3 edades, dado que su longevidad no superaría los cinco años de vida. Aspectos como la velocidad del crecimiento en juveniles y estructura de edad y crecimiento de los adultos son antecedentes claves para el manejo de estos recursos pesqueros. En el caso de anchoveta del norte, *Engraulis ringens* en forma preliminar se ha estimado que crece a una tasa diaria promedio de 1,2 mm d-1 en los dos primeros meses de vida, donde alcanza aproximadamente los 8 cm de longitud total. Esta tasa de crecimiento es mayor que las tasas reportadas hasta la fecha en otros engraulidos, particularmente cuando se compara con *Engraulis encrasicolus*, especie para la cual se reportan tasas de crecimiento entre 0,56 - 0,77 mm d-1 en juveniles de 5 a 53 mm de longitud estándar y edades entre 5 y 90 días. En la etapa juvenil tardía (8-12 cm TL), la anchoveta disminuyó su tasa de crecimiento a 0,6 mm d-1, dando inició a la formación de la primera zona hialina que corresponde aproximadamente a los 71 días de vida. No obstante, se observó que la especie fue capaz de alcanzar los 12 cm longitud total en aproximadamente 4 meses de vida (Cerna et al, 2010).

El en marco del Proyecto FIP 2009-17 “Revisión de la asignación por grupo de edad en la Anchoveta (*Engraulis ringens*) de la zona Norte”, se realizó este taller metodológico AZTI-IFOP cuyo propósito fue analizar y discutir el conocimiento alcanzado en los estudios de edad de *Engraulis ringens* y *Engraulis encrasicolus*, intercambiando experiencias en las metodologías de análisis de micro y macro estructura del otolito de estas especies, como también los criterios de estimación de la edad. La idea central es potenciar el trabajo que ambos grupos de investigación realizan en sus respectivas instituciones.

Los resultados de este taller conjunto serán publicados en el informe técnico Pre-Final del Proyecto FIP mencionado.

METODOLOGIA

La metodología de trabajo correspondió a la presentación de los trabajos realizados en edad diaria y anual de anchoveta de Chile y de Europa por los respectivos institutos AZTI e IFOP. Una vez que los equipos de trabajo se pusieron al tanto del estado del arte en materia de investigación de estas dos especies, se procedió a realizar:

- Ejercicios de calibración de la estimación de la edad diaria de *E. encrasicolus* y *E. ringens*. Los resultados de estos ejercicios permitió hacer estimaciones de precisión de lectura diaria en ambas especies.
- Discusión de los resultados alcanzados en los ejercicios de calibración.
- Un training de preparación de otolitos para análisis de microestructura con el método SEGEM (Plaza et al., 2005).
- Preparación y lectura de microestructura de otolitos de peces de 1+ años de edad de *E. encrasicolus* y *E. ringens* utilizando el método SEGEM.
- Ejercicios de calibración de la estimación de la edad anual de *E. encrasicolus* y *E. ringens*. Los resultados de estos ejercicios permitió hacer estimaciones de precisión de lectura anual en ambas especies.
- Discusión de los resultados alcanzados en los ejercicios de calibración, muestra a muestra. Esto permitió discutir cada estimación en ambas especies consensuando en algunos casos los resultados de lectura iniciales, principalmente para *E. ringens*.
- Discusión de los criterios de edad cronológica y biológica utilizados en *E. ringens*.

El detalle del trabajo realizado se encuentra contenido en la agenda que puede ser consultada en el Anexo I de este informe.

RESULTADOS

Exposiciones de los trabajos realizados por cada institución.

El detalle de las presentaciones realizadas por cada institución, como una puesta al día en el conocimiento del estado del arte de las investigaciones en edad de las dos especies de Engráulidos realizadas hasta la fecha, están adjuntadas en el Anexo de este informe.

Presentación de resultados parciales (micro y macro-estructura otolitos) a la fecha obtenidos con *E. ringens*. (breve 1 hora)

Francisco Cerna expuso la presentación "REVISIÓN DE LA ASIGNACIÓN POR GRUPO DE EDAD EN LA ANCHOVETA (*Engraulis ringens*) DE LA ZONA NORTE
FIP 2009-17"
En ella se detalla la formación de borde hialino en invierno (julio-agosto) y uno secundario en Verano (enero-febrero). Conforme a Aguayo (1976) la anchoveta deja 2 anillos por año de vida. De esta manera trabajan con unas claves de interpretación del número de anillos detectados que sirven para asignar la edad (en años) de cada ejemplar, conforme a una fecha de cumpleaños convenir. Hay tablas desarrolladas para una fecha de cumpleaños del 1 de enero y otra para fecha cumpleaños del 1 de julio.

Andrés Uriarte presentó el método de lectura de Otolitos seguido para la anchoa del golfo de Vizcaya: "DESCRIPCION Y VALIDACION DE LA METODOLOGIA DE DETERMINACION DE EDADES EN LA ANCHOA DEL GOLFO DE VIZCAYA MEDIANTE EL EXAMEN DE SUS OTOLITOS"

Edades macro, descripción del método: La lectura es una interpretación del otolitos en función del número de bandas completas anuales presentes y el tipo de borde esperable a la fecha de captura. Si ambos criterios coinciden perfecto y sino puede requerir re-interpretación del número de bandas anuales presentes. No se confeccionó una tabla de reglas por trimestres al considerar que los diversos anillos falsos presentes y su variable incidencia no permitía una regla objetiva, sino que requería interpretación del otolito con cierta subjetividad en función del número de bandas completas anuales presentes (reconocibles) en el interior del otolito. La Lectura de los otolitos se efectúa de manera conjunta a la vez (sea por semestres o anuales, o del conjunto de una campaña).

La presentación muestra el sistema de validación seguido como el seguimiento de cohortes fuertes a su paso por la pesquería, cuando fueron seguidas de varios fallos sucesivos del reclutamiento. Así se estableció el patrón de crecimiento anual entre primaveras. A continuación se estudió el patrón de seguimiento del borde a lo largo del año, por clases de edad.

G. Plaza expuso la presentación "ANÁLISIS DE LA MICROS-ESTRUCTURA DE LOS OTOLITOS EN JUVENILES DE LA ANCHOVETA *Engraulis ringens* DE LA ZONA NORTE DE CHILE", basada

en resultados preliminares del proyecto FIP 2009-17. Los principales hallazgos se discuten en el análisis de calibración de edad diaria.

Unai Cotano expuso los principales resultados del trabajo "YOUNG OF THE YEAR EUROPEAN ANCHOVY IN THE BAY OF BISCAY" como parte de la tesis de PhD. Los principales hallazgos relacionados con el análisis comparativo entre ambas especies son entregados en la siguiente sección del informe referido a análisis de calibración de la edad diaria.

ANÁLISIS DE CALIBRACIÓN DE EDAD DIARIA

Resultados del taller asociado al Análisis de la Micro-estructura de los otolitos

La resolución de los micro-incrementos de juveniles de ambas especies en secciones sagitales apareció bastante similar, con zonas de crecimiento durante gran parte de los primeros dos meses de vida, y donde los micro-incrementos primarios fueron fácilmente distinguibles de las discontinuidades, anillos sub-diarios y/u otras interrupciones del crecimiento (Figura 1).

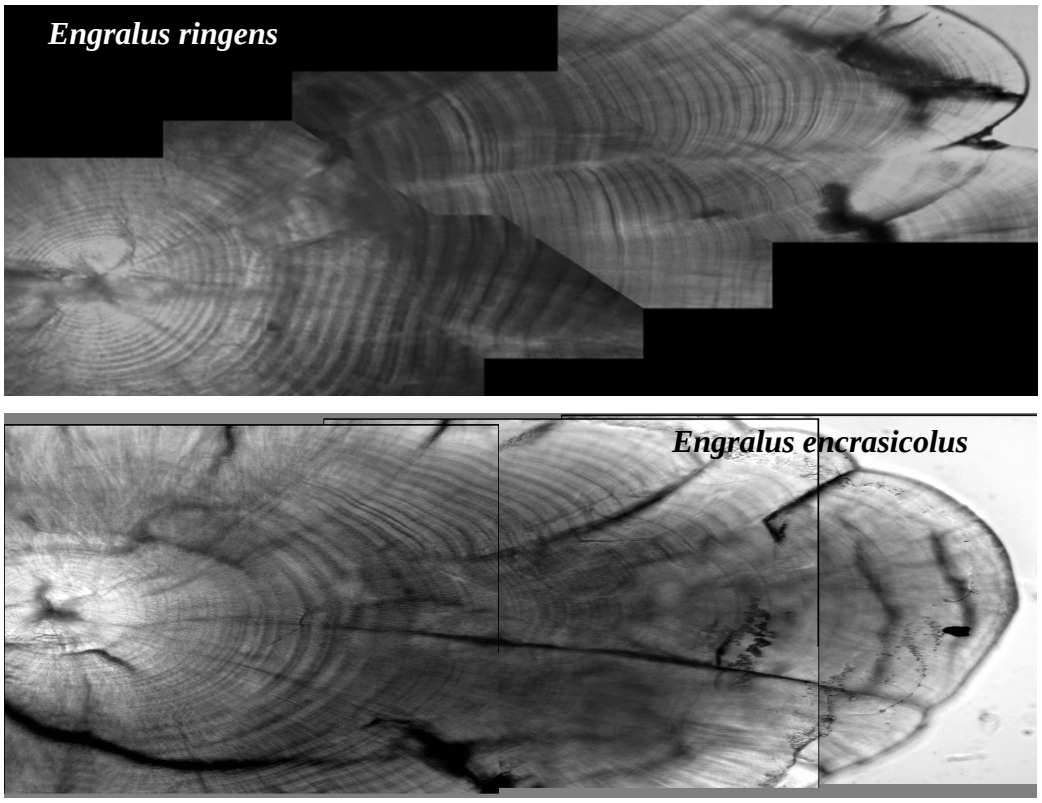


Figura 1. Ilustración de dos secciones de otolitos de juveniles de *Engraulis ringes y . Engraulis encrasicolus,* analizadas dentro del marco del Taller Técnico IFOP-AZTI 2010.

Con el fin de comprobar el nivel de precisión de las lecturas en la determinación de la edad diaria se efectuó un ejercicio de comparación de lectura en ejemplares de ambas especies. Para este propósito tres lectores independientes contaron el número de micro-incrementos desde el primordio hasta el borde del otolito en imágenes en posición sagital, utilizando el método de interpretación de micro-incrementos GBR descritos para *Engraulis encrasicolus* por Cermeño et al. (2008).

No se encontraron diferencias significativas en la edad media ni para ambas especies (ANOVA, p>0,05), ni entre lectores (P>0,05), aunque se apreció una mayor variabilidad en la asignación de la edad en ejemplares de *Engraulis encrasicolus* (mayores coeficientes de variación; Tabla 1 y Figura 2).

Tabla 1.
Resumen de estadísticas de lecturas de micro-incrementos diarios efectuados por tres lectores independientes en 4 fotografías de otolitos de *E. encrasicolus* y 5 fotografías de *E. ringens*, dentro del marco del taller técnico IFOP AZTI 2010; DE: desviación estándar; CV: coeficiente de variación.

Especie	Lector	Media	DE	CV
E encrasicolus	PUCV	63,3	10,8	17,1
	AZTI	62,3	12,3	19,8
	IFOP	59,3	20,3	34,2
E ringens	PUCV	57,6	5,1	8,8
	AZTI	60,2	6,4	10,6
	IFOP	63,0	2,3	3,7

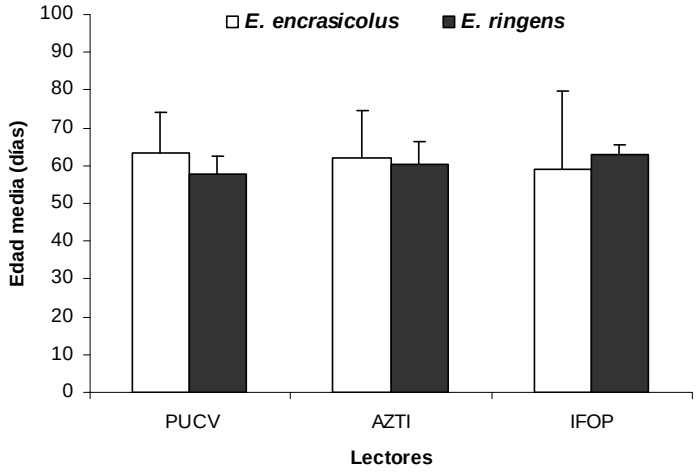


Figura 2. Edad media de cuatro juveniles de *E. encrasicolus* y 5 juveniles de de *E. ringens*, determinada a través de cuatro lectores independientes, utilizando el método GBR

Consideraciones finales derivadas de la discusión del taller

- Las dos especies poseen un patrón de depositación de micro-incrementos diarios fácil de identificar, lo que permite una elevada reproducibilidad en las lecturas, aunque se debe tener precaución de utilizar sólo secciones de alta calidad.

- El patrón de crecimiento de los otolitos apareció muy similar en ambas especies, con un aumento progresivo en el grosor de los micro-incrementos en la fase larval temprana seguido de una disminución en la etapa juvenil temprana.

- La preparación de los otolitos para la examinación de su micro-estructura en juveniles de ambas especies debe llevarse a cabo en el plano sagital, debido a que ofrece una mayor superficie para seguir la concentricidad de los micro-incrementos, para diferenciarlos de discontinuidades, anillos sub-diarios, anillos falsos e interrupciones del crecimiento.

- La interpretación de los micro-incrementos en otros planos, *i.e.*, oblicuo, transversal y/o frontal, es mas compleja, debido a que las discontinuidades, anillos sub-diarios, anillos falsos e interrupciones del crecimiento se ven magnificadas. En caso de utilizar este tipo de secciones se recomienda leer en la región adyacente al eje de mayor crecimiento (Figura 3)

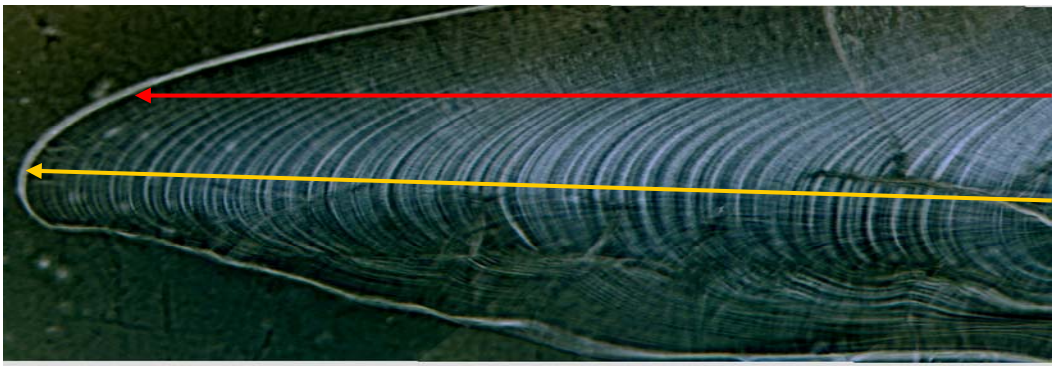


Figura 3. Ilustración de una sección frontal de un juvenil de 11 cm LT de *E. ringens*, donde se aprecia mayor dificultad en las lectura en el eje de máximo crecimiento (flecha amarilla) que el área inmediatamente adyacente (flecha roja)

Consideraciones finales relacionadas con los patrones de edad y crecimiento durante el primer año de vida en ambas especies en función de las presentaciones efectuadas por Guido Plaza y Unai Cotano.

G. Plaza expuso los resultados preliminares del proyecto FIP 2009-17. Los principales hallazgos fueron los siguientes:
Se encontró que los ejemplares nacidos en primavera mostraron tasas de crecimiento del otolito (grosor de los micro-incrementos) mayores durante la fase larval (0-30 días) que aquellos ejemplares de mayor edad nacidos en invierno y viceversa en la etapa juvenil temprana (30-60 días), debido presumiblemente al efecto estacional sobre el crecimiento que generó un efecto compensatorio.

Los hallazgos prelimares evidenciaron que la anchoveta del norte de Chile *Engraulis ringens* crece a una tasa diaria promedio $(LT-LE)\cdot ET^{-1}$ (LT: longitud tota; LE: longitud a la eclosión; ET: edad total en días) de 1,2 mm d-, donde alcanzó aproximadamente los 8 cm de longitud total (etapa larval y juvenil temprana). Al respecto, U. Cotano expresó que dicho resultado es similar a lo encontrado en *E. encrasicolus*.

En la etapa juvenil tardía (8-12 cm TL), la tasa de crecimiento poblacional, obtenida a través de un ajuste lineal talla-edad diaria fue variable (0,3-0,97 mmd-1). La discusión en este aspecto sugirió que dicha variabilidad puede ser efecto de que el rango de longitud de los ejemplares bajo (8-11 cm). Los participantes recomendaron incrementar el rango de longitud, analizando la micro-estructura de juveniles menores a 8 cm. U. Cotano enfatiza el hecho de que en *E. encrasicolus* la relación Talla-edad para juveniles entre 4 y 14 cm longitud estándar y entre 30 y 11 días aproximadamente es exponencial.

La primera zona hialina en juveniles < 8 cm de *E. ringens* colectados en noviembre y diciembre se inició aproximadamente a los 71 días de vida. Se debe confirmar si el hallazgo está restringido sólo a los ejemplares analizados hasta la fecha (nacidos en invierno) o si es un rasgo distintivo de la especie, presumiblemente vinculado a la metamorfosis y/u otro efecto ontogenético.

Unai Cotano expuso los principales resultados del trabajo "Young of the year European anchovy in the Bay of Biscay" as part of PhD Thesis. Los principales hallazgos relacionados con el análisis comparativo entre ambas especies fueron los siguientes:

La anchoa europea alcanza una longitud media de 16,8 cm de longitud estándar al final de su primera estación de crecimiento, donde alcanza una tasa de crecimiento máxima de 1, 85 mmd^{-1} a los 73 días después de la eclosión. Estas estimaciones fueron obtenidas ajustando un modelo logístico, incluyendo individuos entre 3,1 y 14, 7 cm LE y entre 1 y 108 días después de la eclosión (Aldanonodo *et al.* 2010).

En el caso particular *de E. ringens*, hasta la fecha no se cuenta con estimación de edad diaria en la etapa larval, como para efectuar un enfoque comparativo. U. Cotano señaló que no se puede retro-calcular las longitudes larvales utilizando los otolitos de juveniles, debido a que la relación tamaño del otolito-longitud de la anchoa europea es lineal durante la fase juvenil, pero no lineal en la etapa larval. Presumiblemente este hallazgo puede ser expandido a *E. ringens*, porque es un patrón bastante común en clupeidos.

A pesar de no contar con estimaciones de crecimiento para la etapa larval, las siguientes evidencias argumentan a favor de que *E. ringens*, parece tener también un elevado crecimiento durante su primer año de vida, similar a *E. encrasicolus*, debido a que las tasas de crecimiento de los otolitos de juveniles siguen un patrón de crecimiento similar en ambas especies, con un aumento sostenido durante los primeros 30-40 días (20-25µm) y reducción constante hacia el segundo mes de vida.

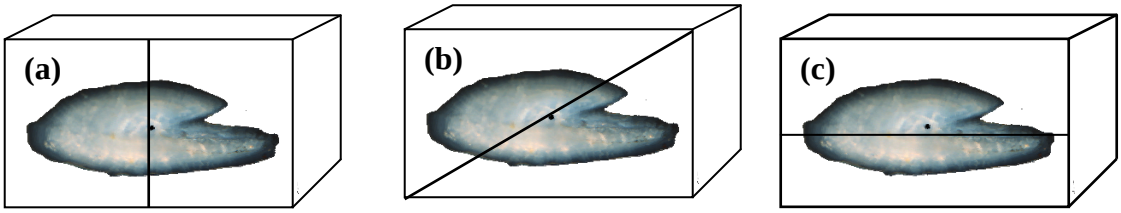
Análisis de la micro-estructura de ejemplares adultos de *E. encrasilocus* y *E. ringens*

Se efectuó un estudio piloto de análisis de la micro-estructura de otolitos de ejemplares mayores de un año, en 2 ejemplares *de E. ringens* y 8 ejemplares *E. encrasicolus*, con el fin de determinar el procedimiento metodológico adecuado para la preparación de otolitos de adultos que permitan revelar los micro-incrementos primarios. Para este propósito los otolitos fueron embebidos en resina, utilizando el método SGEM.

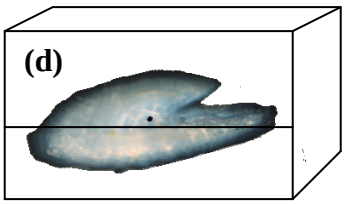
En una primera evaluación los otolitos fueron embebidos en posición sagital con una pequeña porción de resina epóxica sobre un portaobjeto. Para reducir al máximo el exceso de resina sobre la superficie del mismo, se aplicó calor en la parte inferior del porta.

Una vez que la resina se endureció, los otolitos fueron observados directamente en un microscopio bajo luz trasmitida. Micro-incrementos primarios muy delgados pudieron ser distinguidos en los bordes hialinos de los otolitos sin pulir incluso a 20X de magnificación. Este hallazgo demostró la potencialidad de los micro-incrementos para determinar la edad en días de estos ejemplares adultos, debido a que los micro-incrementos diarios no aparecen fusionados.

Posteriormente los otolitos fueron pulidos utilizando un pulido serial, es decir dando vueltas varias veces la sección por ambos lados a medida que se acerca al primordio. Este procedimiento se utilizó debido a que es posible ver el primordíum sólo en secciones finas de menos de 1 mm de grosor. Se utilizó pulido en sección transversal (a), oblicua (b) y frontal (c) (ver ilustraciones).



La mayor resolución y facilidad de pulido se obtuvo en posición frontal, pero cuando el otolito se levanta de la parte anterior dejando el rostro unos milímetros arriba del plano frontal (d).



Se lograron obtener secciones satisfactorias para *E. ringens*, donde se pudieron visualizar micro-incrementos en secciones frontales, aunque el proceso resultó altamente laborioso. En esta especie fue posible también visualizar los anillos del borde, cuando los otolitos fueron desgastados en posición sagital (Figura 4).

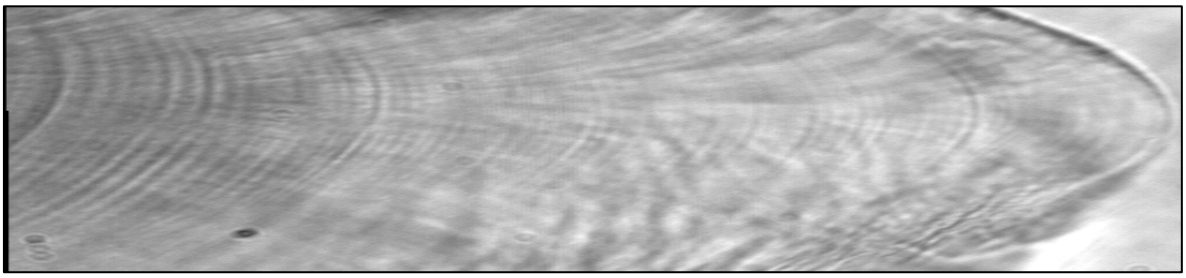


Figura 4. Ilustración de la región del borde una sección frontal de un adulto de *E. ringens*, donde se distinguen los micro-incrementos primarios a 20X de aumento. En la especie *E. encrasicolus* se obtuvo una sección frontal en la que se observó gran parte de la micro-estructura, aunque se perdió resolución hacia los bordes.

Se concluyó que a pesar de que el proceso es laborioso, existe potencial de revelar la micro-estructura de adultos de ambas especies, en un estudio que involucre un mayor número de muestras y donde se ensaye en forma combinada la examinación en los bordes sin pulir, pulido parcial en plano sagital y pulido frontal. Todo el pulido debiese estar acompañado de un proceso de toma de fotografías secuenciales que ayuden a la reconstrucción de toda la micro-estructura. Para desarrollar este estudio, AZTI proveerá de las muestras de otolitos de adultos de *E. encrasilocus*, que serán analizadas en Chile.

ANÁLISIS DE CALIBRACIÓN DE EDAD ANUAL

Revisión de imágenes de lecturas de macroincrementos de anchoveta realizadas en IFOP, para la anchoveta de la zona norte de Chile.

El ejercicio consistió en la lectura de 21 otolitos de la costa norte chilena por 3 lectores (I. Rico, A. Uriarte, F. Cerna) de manera individual. A continuación los otolitos fueron discutidos conjuntamente mediante proyección en pantalla y para todos ellos se alcanzó una interpretación de consenso, que fue juzgada como la más probable de corresponder con la edad verdadera. Las bases de interpretación fue que el cumpleaños fuera de a 1 de julio (invierno), en coincidencia con la deposición del anillo invernal, mostrado en la presentación de IFOP. A continuación se presentan los resultados de las lecturas individuales de los 21 otolitos de la costa norte chilena, y su consistencia respecto a la edad consensuada a posteriori.

Tabla 2.
Lecturas de edad anual de lectores de AZTI e IFOP para la anchoveta zona norte de Chile.

Codigo Muestra	Muestra Año	Muestra no	Número Pez	Longitud Pez	Sexo	Mes Captura	Andres Lector 1	Iñaki Lector 2	Francisco Lector 3	Edad Acordada	Porcentaje Acuerdo	Precision CV
Dic09-03W	2009		1	13,0		12	1	1	1	1	100%	0%
Dic09-05W	2009		2	15,0		12	1	2	3	2	33%	50%
Dic09-06W	2009		3	14,5		12	1	1	2	1	67%	43%
Dic09-08W	2009		4	7,5		12	0	0	0	0	100%	0%
Dic09-18W	2009		5	10,5		12	0	0	0	0	100%	0%
Dic09-20W	2009		6	16,5		12	1	1	3	1	67%	69%
Arica04	2010		7	9,5		1	0	0	0	0	100%	0%
Arica09	2010		9			1	0	0	0	0	100%	0%
Arica10	2010		8	13,5		1	1	1	2	1	67%	43%
Arica34	2010		10	15,0		1	0	0	2	0	67%	173%
Arica35	2010		11	15,0		1	2	2	3	2	67%	25%
IQQ04	2010		12	14,0		1	1	1	1	1	100%	0%
IQQ05	2010		13	14,0		1	1	1	2	1	67%	43%
ANTFE01	2010		14	14,0		1	0	0	1	0	67%	173%
ANTFE17	2010		15	16,0		1	3	3	2	3	67%	22%
ANTFE50	2010		16	16,5		1	3	3	3	3	100%	0%
ARC08	2010		21	14,0		2	0	1	1	1	67%	87%
ARC13	2010		18	14,5		2	1	1	1	1	100%	0%
ARC15	2010		17	10,5		2	0	0	0	0	100%	0%
IQQ03	2010		19	12,0		2	0	0	0	0	100%	0%
IQQ04	2010		20	15,0		2	1	1	2	1	67%	43%
				Total de Lecturas			21	21	21		81,0%	36,8%
				Total de otolitos no leidos			0	0	0			

Tabla 3.
Análisis de precisión de la edad anual IFOP-AZTI para la anchoveta zona norte de Chile.

Composición de la Edad				
Edad	Andres Lector 1	Iñaki Lector 2	Francisco Lector 3	Acuerdo
0	9	8	6	6
1	9	9	5	10
2	1	2	6	2
3	2	2	4	3
Total (0-3)	21	21	21	21

Longitud promedio por edad				
Edad	Andres Lector 1	Iñaki Lector 2	Francisco Lector 3	Todos
0	10,3	9,9	8,3	9,7
1	14,4	14,3	13,9	14,3
2	15,0	15,0	14,7	14,8
3	16,3	16,3	15,8	16,0
Total (0-3)	12,9	12,9	12,9	12,9

Acuerdos Inter-lectores			
	Andres Lector 1	Iñaki Lector 2	Francisco Lector 3
Lector 1		–	*
Lector 2	95,2%		*
Lector 3	47,6%	52,4%	

En el Anexo; se detallan fotos e interpretaciones acordadas (o contrapuestas) de buena parte de los otolitos de este ejercicio de intercalibración, para las anchovetas chilenas de la zona norte.

<u>Las principales dificultades fueron:</u>

- La identificación del primer anillo: en varios casos, los lectores de AZTI identificaban el primer anillo en una zona interpretada como un anillo falso pre-anual por los lectores chilenos, mientras que el anillo invernal verdadero dado por los lectores chilenos era interpretado como anillo falso de puesta post-anual por los lectores de AZTI. Además AZTI admite estructuras múltiples del primer anillo como anillos triples o dobles relativamente contiguos, que corresponden a detenciones repetidas del crecimiento durante el período invernal y de comienzo de primavera (Figura 1, Anexo).

- La interpretación de bordes hialinos es problemática. AZTI reconoce que dentro de un borde opaco en formación puede contener bordes parcialmente hialinos correspondientes a formaciones de checks o anillos falsos durante la etapa de crecimiento anual. Como el primer criterio de AZTI es el número de bandas anuales de crecimiento completo presentes esto no causa excesivo problema, pues la edad se da en un contexto interpretativo del otolito y de su borde en formación. Sin embargo para los lectores chilenos al basar la datación en el número de anillos hialinos la incorporación de bordes hialinos (correspondientes a anillos falsos) es relevante en la determinación de la edad de acuerdo al criterio de dos anillos anuales. Además si el número de anillos por año fuera variable, tal y como se sospecha para la anchoa del golfo de Vizcaya, o si bordes finamente hialinos no acabaran de marcar un anillo a posteriori, se plantearían inconsistencias en la determinación de la edad por este método de conteo de anillos (Figura 4 Anexo)

- Por otra parte se ha observado ejemplos (Figura 2, Anexo) en que se aceptaba la existencia de anillos muy mal formados o casi inapreciables para poder contar el número de anillos necesarios que permitiera asignar la edad que se consideraba correcta para ese otolito. Esto se deriva de la variabilidad natural en la incidencia de formación de anillos falsos entre unos ejemplares y otros, lo que genera problemas al sistema de asignación de edad basado en el conteo de anillos.

- Se hizo evidente en algunos casos que la tabla de asignación de grupo de edad en base al conteo de anillos no daba la edad correcta. Por ejemplo en la tabla de decisión basada en cumpleaños a primero de julio, se vio que la cohorte de 0 años de edad desaparecía de clave talla edad (y por supuesto de las capturas) en el trimestre anterior a cumplir el año, mezclándose seguramente en el grupo de edad 1. Ello implica revisar las bases de dicha tabla al menos para este grupo de edad.

- La indefinición de la formación del borde a lo largo del año en función de la edad hizo difícil la datación de los otolitos diciembre 05 y 20 (Figuras 1 y 2), puesto que de ser edad 2 mostrarían ya en diciembre (final de primavera) un buen crecimiento del borde opaco quedándole aún todo el verano para seguir creciendo, por lo que el crecimiento del tercer año de vida en el que se encuentra sería bien grande, en comparación con las anchoas del golfo de Vizcaya. Y por ejemplo los otolitos ANTFE10 17 y 50 de enero que fueron datados como edad 3, no mostraban un crecimiento muy grande de su tercer año de vida (Figura 3 y 5, Anexo).

- Los otolitos de edad 0 (generalmente sin anillos pronunciados –aunque puedan haber algunos checks) no deberían ser difíciles de identificar (Figura 6 Anexo).

Revisión de imágenes de lecturas de macroincrementos de anchoa realizadas en AZTI, para la anchoa del golfo de Vizcaya.

El ejercicio consistió en la lectura de 40 otolitos de golfo de Vizcaya por 3 lectores (I. Rico, A. Uriarte, F. Cerna) de manera individual. A continuación los otolitos fueron discutidos conjuntamente mediante proyección en pantalla y para todos ellos se alcanzó una interpretación de consenso que coincidió con la edad modal, y que fue juzgada como la más probable de corresponder con la edad verdadera.

Las bases de interpretación fue que el cumpleaños fuera a 1 de enero (invierno), en coincidencia con la deposición del anillo invernal.

A continuación se presentan los resultados de las lecturas individuales de los 40 otolitos del golfo de Vizcaya, y su consistencia respecto a la edad modal.

Tabla 4.
Lecturas de edad anual de lectores de AZTI e IFOP para la anchoveta de Vizcaya, País Vasco

Codigo Muestra	Año	Muestra no	Número Pez	Longitud Pez	Sexo	Mes Captura	Andres Lector 1	Iñaki Lector 2	Francisco Lector 3	Edad Acordada	Porcentaje Acuerdo	Precision CV
ANE-2303010-1	2010		1	13,8	1	3	1	1	2	1	67%	43%
ANE-2303010-1	2010		2	14,3	1	3	1	1	1	1	100%	0%
ANE-2303010-1	2010		3	15,7	1	3	2	2	2	2	100%	0%
ANE-2303010-1	2010		4	14,3	1	3	1	1	1	1	100%	0%
ANE-2303010-1	2010		5	14,4	2	3	1	1	1	1	100%	0%
ANE-2303010-1	2010		6	14,2	2	3	1	1	1	1	100%	0%
ANE-2303010-1	2010		7	13,4	2	3	1	1	1	1	100%	0%
ANE-2303010-1	2010		8	14,4	2	3	1	1	1	1	100%	0%
ANE-2303010-1	2010		9	15,3	2	3	2	2	2	2	100%	0%
ANE-2303010-1	2010		10	13,4	2	3	1	1	1	1	100%	0%
ANE-2303010-1	2010		11	13,2	1	3	1	1	2	1	67%	43%
ANE-2303010-1	2010		12	13,7	1	3	1	1	2	1	67%	43%
ANE-2303010-1	2010		13	14,1	2	3	1	1	2	1	67%	43%
ANE-2303010-1	2010		14	15,4	2	3	1	1	2	1	67%	43%
ANE-2303010-1	2010		15	13,6	1	3	1	1	2	1	67%	43%
ANE-2303010-1	2010		16	15,1	2	3	1	1	2	1	67%	43%
ANE-2303010-1	2010		17	14,4	1	3	1	1	1	1	100%	0%
ANE-2303010-1	2010		18	12,3	1	3	1	1	1	1	100%	0%
ANE-2303010-1	2010		19	15,2	2	3	1	1	1	1	100%	0%
ANE-2303010-1	2010		20	15,1	1	3	1	1	2	1	67%	43%
ANE-2303010-2	2010		1	18,6	2	3	3	3	1	3	67%	49%
ANE-2303010-2	2010		2	16,6	1	3	2	2	2	2	100%	0%
ANE-2303010-2	2010		3	15,8	1	3	2	2	2	2	100%	0%
ANE-2303010-2	2010		4	17,7	1	3	2	3	3	3	67%	22%
ANE-2303010-2	2010		5	18,7	1	3	3	4	3	3	67%	17%
ANE-2303010-2	2010		6	16,2	1	3	1	1	3	1	67%	69%
ANE-2303010-2	2010		7	16,6	2	3	2	2	2	2	100%	0%
ANE-2303010-2	2010		8	16,7	2	3	1	2	2	2	67%	35%
ANE-2303010-2	2010		9	16,7	2	3	1	1	1	1	100%	0%
ANE-2303010-2	2010		10	16,2	2	3	2	2	3	2	67%	25%
ANE-2303010-2	2010		11	15,2	1	3	1	1	1	1	100%	0%
ANE-2303010-2	2010		12	14,8	2	3	2	2	1	2	67%	35%
ANE-2303010-2	2010		13	15,3	1	3	1	1	1	1	100%	0%
ANE-2303010-2	2010		14	13,9	2	3	1	1	1	1	100%	0%
ANE-2303010-2	2010		15	16,3	2	3	1	1	1	1	100%	0%
ANE-2303010-2	2010		16	15,6	2	3	1	1	1	1	100%	0%
ANE-2303010-2	2010		17	15,7	1	3	1	1	1	1	100%	0%
ANE-2303010-2	2010		18	15,6	2	3	-	-	-			
ANE-2303010-2	2010		19	14,7	1	3	1	1	1	1	100%	0%
ANE-2303010-2	2010		20	16,0	1	3	1	1	1	1	100%	0%
				Total de Lecturas			39	39	39		87,2%	15,3%
				Total de otolitos no leidos			0	0	0			

Tabla 5.
Análisis de Precisión de la edad anual IFOP-AZTI para la anchoveta de Vizcaya, País Vasco.

Composición de la Edad				
Edad	Andres Lector 1	Iñaki Lector 2	Francisco Lector 3	Acuerdo
0	-	-	-	-
1	29	28	21	28
2	8	8	14	8
3	2	2	4	3
4		1		
Total (0-3)	39	39	39	117

Longitud promedio por edad				
Edad	Andres Lector 1	Iñaki Lector 2	Francisco Lector 3	Todos
0	-	-	-	-
1	14,7	14,6	14,9	14,7
2	16,1	16,0	15,1	15,6
3	18,7	18,2	17,2	17,8
4		18,7		18,7
Total (0-3)	15,2	15,2	15,2	15,2

Acuerdos Inter-lectores			
	Andres Lector 1	Iñaki Lector 2	Francisco Lector 3
Lector 1		–	*
Lector 2	92,3%		*
Lector 3	64,1%	66,7%	

En el Anexo; se detallan fotos e interpretaciones acordadas (o contrapuestas) de buena parte de los otolitos de este ejercicio de intercalibración para las anchoas del golfo de Vizcaya.

<u>Las principales dificultades fueron:</u>

- La asignación de edad mediante el conteo de bandas de crecimiento anual completas, seguido en AZTI, tiene en ocasiones el inconveniente de que dos, o incluso tres, interpretaciones de la edad del otolito parecen igualmente posibles (ejemplo de tales interpretaciones múltiples se exponen para un otolito de Chile en la Figura 2 de Anexo). En tales casos la decisión será siempre discutible por parcialmente subjetiva. Se suele adoptar en función de la intensidad de los anillos visibles, y/o la longitud del pez como indicador indirecto de la probabilidad de una cohorte o edad, o incluso de la edad modal de la muestra en que se encuentre. En tales casos criterios del tamaño de radio correspondiente a los

anillos presentes podrían ser de utilidad en interpretarlos. Además estos casos son lo que podrían abordarse mediante análisis de micro-incrementos diarios.

Resultado de la discusión de las estimaciones de edad anual

La revisión de los criterios de asignación de edad o grupo de edad en Chile requiere conocer el patrón esperable de crecimiento anual y la dinámica de formación del borde durante el año. Para ello, se discutió la conveniencia de revisar estas bases del conocimiento y se acordó la siguiente recomendación sobre cómo poder efectuar dicha revisión: Para establecer el patrón anual lo más apropiado será trabajar con otolitos muestreados a intervalos anuales, para ello habrá que escoger un mes en el que los bordes de los otolitos que se espere encontrar estén hialinos (en detención invernal) y hayan completado ciclos enteros de crecimiento anual, sin retomar el nuevo crecimiento del año. Conforme a la exposición realizada por Francisco Cerna, parece que los meses mas apropiados serían junio y julio pues parecen formarse detenciones invernales en el borde, que coinciden con su período de puesta. De esos meses, deberían de deducir los tipos otolitos I, II y III correspondientes a edades 1, 2 y 3 y caracterizar así el patrón de crecimiento anual del otolito. Para facilitar este trabajo conviene escoger años consecutivos en que tras un fuerte reclutamiento (de edad 1) se sucedieran varios fallos del reclutamiento, lo cual debería evidenciarse descensos del nivel de capturas y en incrementos de las tallas presentes en dichas capturas respecto a cada año anterior. Esto permitiría cómodamente seguir la cohorte de otolitos modal y correlativa con las edades 1, 2 y 3. Luego deberían de estudiar el crecimiento a lo largo del año condicionado a la edad del otolito (reconocible ya por las bandas de crecimiento anual completas presentes en su interior).

Esta metodología es coincidente al procedimiento aplicado a la anchoa del golfo de Vizcaya, descrita en el informe de Andrés Uriarte (AZTI) "*Descripción y validación de la metodología de determinación de la edad en la anchoa del golfo de Vizcaya mediante el examen de los otolitos y estudio de su crecimiento anual*" (Uriarte, 2002).

Tras discutir para la anchoveta chilena las épocas de puesta (con máximos de junio a diciembre), la formación de anillos en el borde (en julio y secundarios en enero) y la aparición de juveniles en las capturas (normalmente de septiembre a marzo, aunque ocasionalmente aparezcan también en julio), se pensó que sería conveniente tener como fecha de cumpleaños el 1° de julio para la lectura de anchoveta. Se podría establecer (o asegurar aunque hubiera que hacer una excepción) que los juveniles del mes de julio fueran considerados también como grupo de edad 0 (pues habrían nacido en la puesta de abril o mayo), y no subirlos a GE I, sino que se agruparían en la cohorte de ese mismo año biológico. Otra alternativa sería considerar como fecha de cumpleaños el 1° de junio y asumir que fueron desovados en Junio (aunque fuera difícil de creer). Con todo ello se persigue que todos los ejemplares salidos de una misma época de puesta (de abril a febrero) pertenezcan a la misma cohorte que va apareciendo usualmente de septiembre a marzo, aunque algunos aparezcan antes (como en julio o agosto). Con esta sugerencia se espera que los otolitos posean a lo largo de todo el año tantas bandas de crecimiento anual como años de vida tiene, más un borde en formación

del crecimiento anual que se complete hacia abril-mayo, justo antes de la siguiente fecha de cumpleaños, y momento en el que quedaría el siguiente anillo invernal formado.

Referencias

Aldanondo, N., Cotano, U. and Etxebeste, E. (2010) Growth of young–of–the–year anchovy (Engraulis encrasicolus L.) in the Bay of Biscay. Sci. Mar. (submitted).

Cermeño P, Uriarte A, Morales-nin B, Cotano M, Alvarez P. (2008). Setting up interpretation criteria for ageing juvenile European anchovy otoliths. Scientia Marina 72(4) 733-742.

Cerna F., G. Plaza, A. Lopez, C. Machuca, R. Serra, C. Gaspar y G. Moyano. 2010. Revisión de la asignación por grupo de edad en la anchoveta de la zona norte. Informe de Avance. FIP 2009-17. 52 p.

Plaza G, Honda H, Sakaji H, Nashida K. 2005. Preparing fish sagittae for examination of daily growth increments of young-of-the-year fishes: A modification of the embed method. J. Fish Biol. 66: 592-597.

Uriarte A. 2002. Descripción y validación de la metodología de determinación de la edad en la anchoa del golfo de Vizcaya mediante el examen de los otolitos y estudio de su crecimiento anual. Informe Interno AZTI, Tecnalia. Pasajes, Gipuzkoa, País Vasco.

ANEXO

Descripción otolitos de anchoveta de Chile de acuerdo al análisis efectuado y la discusión de la interpretación.

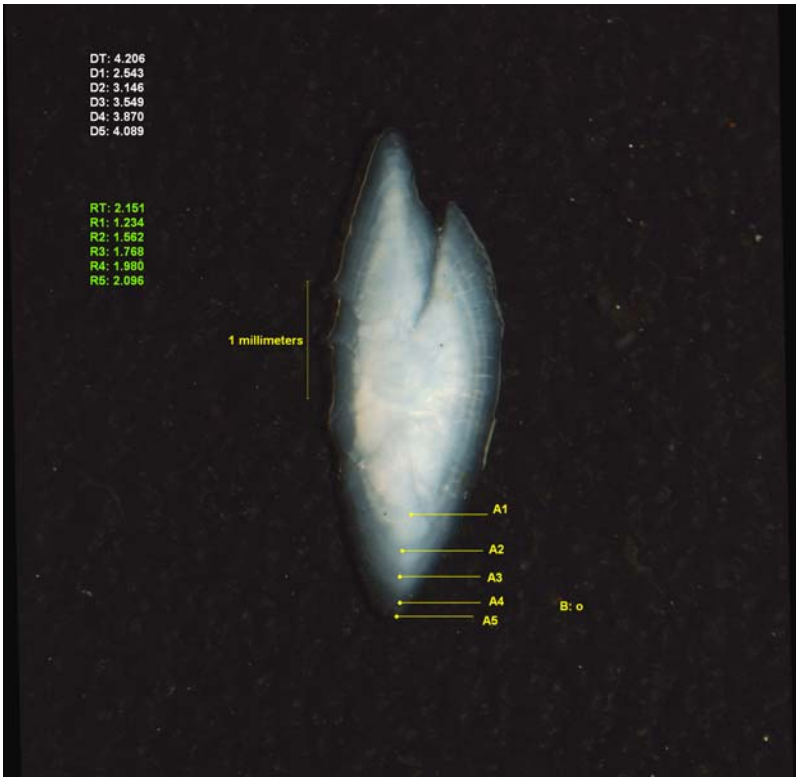


Figura 1: Otolito de anchoveta de Chile correspondiente a un ejemplar de 15 cm colectado el mes de Diciembre 2009, A) Lectura IFOP, 3 años (anillos mostrados en la imagen); B) AZTI, 2 años más crecimiento opaco, aun falta crecimiento anual de su tercer año de vida. (otolito: IQQDIC09_05WDE).
Note que el anillo 1 lo sitúa AZTI en el A2 de IFOP y el anillo 2 en el A4, si bien el A4 y A5 no queda claro si se funden en el antirrostrum. EL A3 sería para AZTI el anillo falso intermedio entre el 1 y el 2, y el anillo A1 sería un check anterior al verdadero anillo anual (en A2).

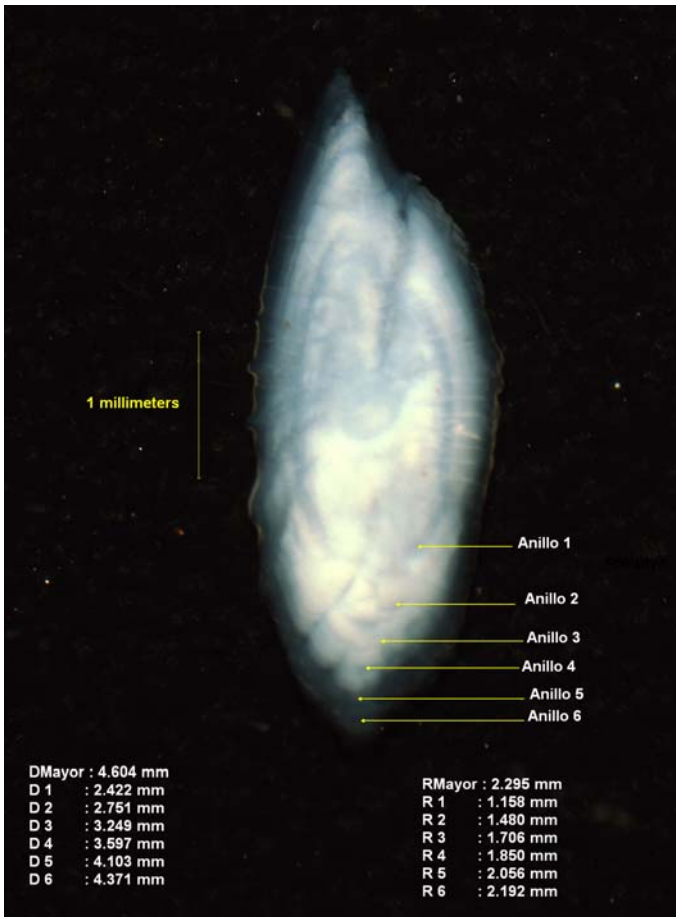


Figura 2: Otolito de anchoveta de Chile correspondiente a un ejemplar de 16,5 cm colectado el mes de Diciembre 2009, A) Lectura IFOP, 3 años (anillos mostrados en la imagen); B) AZTI inicial, 1 año más crecimiento opaco fuerte, aun falta crecimiento anual de su segundo año de vida. (otolito: IQQDIC09_20WDE). Lectura de consenso fue de grupo de edad 2 con el anillo invernal segundo en el Anillo 5 de la imagen seguido de un fuerte crecimiento hasta el borde.
Notese que los anillos 2, 3 y 4 nunca serían contados por AZTI como verdaderos.

El hecho de observar tan fuerte crecimiento del tercer año de vida ya para diciembre resulta no acomodado al patrón de crecimiento adoptado para la anchoa del golfo de Vizcaya. Observe que si el anillo A1 fuera falso entonces la interpretación de 1 año de edad sería favorecida por AZTI al no considerar verdaderos los A2, A3 ni A4, y creer que el crecimiento opaco del borde desde el A5 correspondería a lo crecido durante el segundo año de vida. Pero dado que parece verdadero, otra forma de reinterpretar la edad es considerando que existe el anillo 6 (poco visible en la foto) y que fuera verdadero quedando el otolito formado por tres anillos y bandas completas verdaderas (grupo de edad 3) más un borde bastante más pequeño y opaco del cuarto crecimiento anual en lo que va de año (invierno y primavera transcurridos).

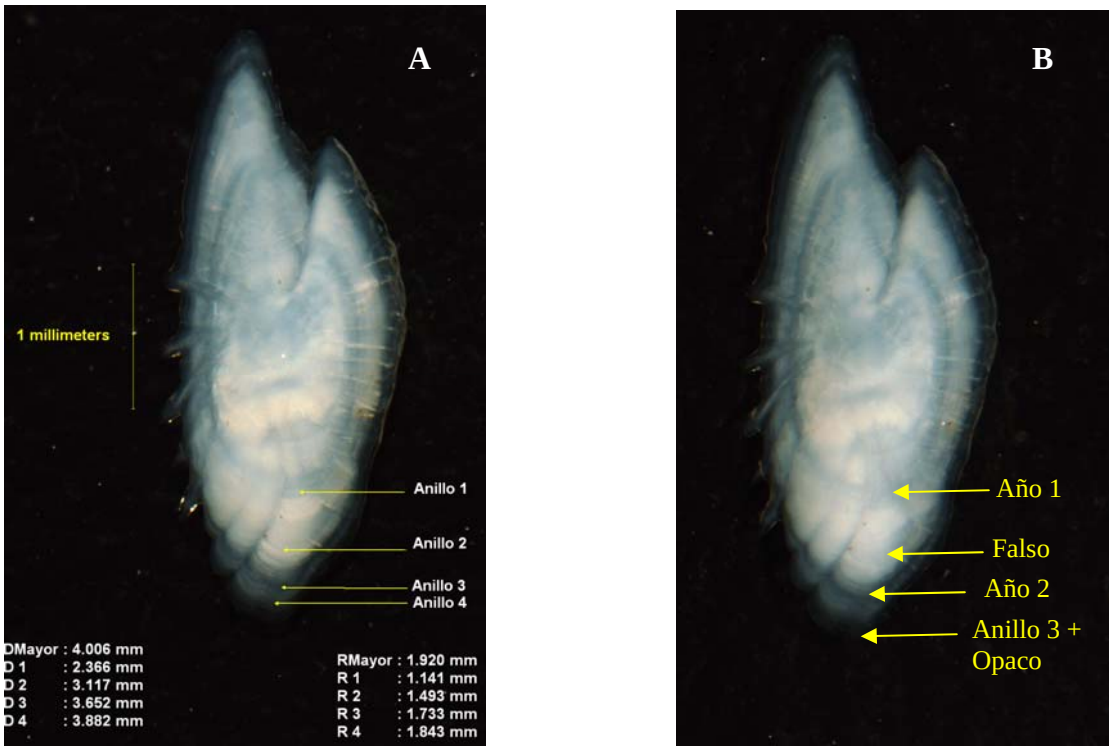


Figura 3. Otolito de anchoveta de Chile correspondiente a un ejemplar de 16 cm colectado el mes de enero 2010, A) Lectura IFOP, 2 años; B) Lectura AZTI, 3 años más crecimiento opaco, aun falta crecimiento del cuarto año por realizarse.

Nótese que el anillo 2 de AZTI (invernal) coincide con el anillo 3 de IFOP. Para AZTI si este ejemplar tuviera 2 años, el crecimiento existente entre su anillo invernal 2 y el borde sería ya muy grande (tanto como el crecimiento completo esperable anual para ejemplares en su tercer año de vida, y sin embargo le quedaría aún mucho tiempo para crecer durante ese mismo año, por lo que de continuar así acabaría con un crecimiento del tercer año enorme, que no encajaría con el patrón de crecimiento anual esperable). Por ello la interpretación más probable para AZTI es que existe ese anillo 3º invernal (coincidente con el anillo 4º marcado por IFOP) con lo que tendría 3 años de edad y un crecimiento muy pequeño hasta el borde interpretado como el crecimiento incipiente de su cuarto año de vida.

Observe la siguiente diferencia: e1 anillo de primer año para AZTI corresponde a un anillo falso para IFOP y el anillo verdadero de primer año para IFOP corresponde a un anillo falso de puesta para AZTI (Muestra ANTOFEN10_17).

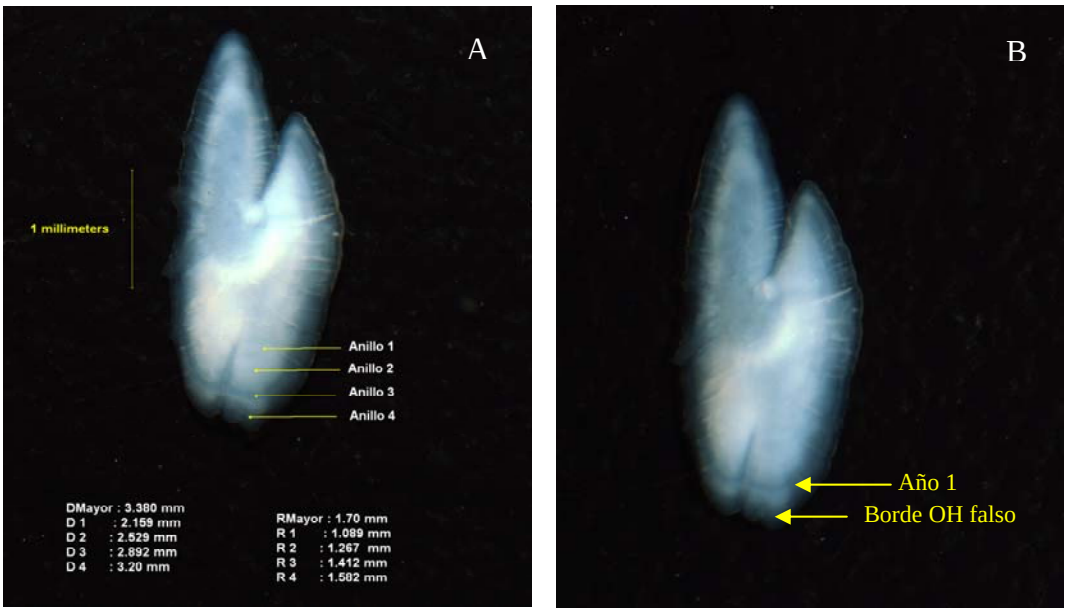


Figura 4. Otolito de anchoveta de Chile correspondiente a un ejemplar de 15 cm colectado el mes de enero 2010, A) Lectura IFOP, 2 años; B) Lectura de acuerdo IFOP-AZTI, 1 año más crecimiento opaco del borde, aún a falta de crecimiento adicional del segundo año (Muestra Enero 10_34). Observe la naturaleza exacta del borde mas extremo del otolito pudiera ser algo incierta (Opaca/Hialina?, no se ve bien), y no puede descartarse que fuera a dejar una anillo falso, pero es pronto para decirlo y predomina la visión de borde opaco.

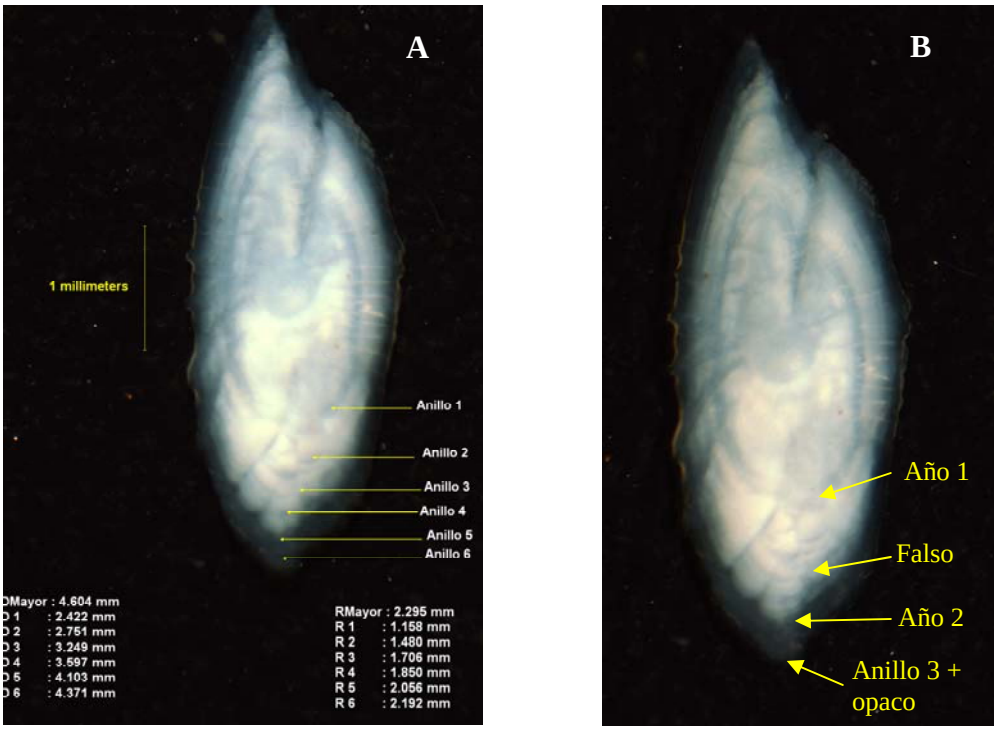


Figura 5. Otolito de anchoveta de Chile correspondiente a un ejemplar de 16 cm colectado el mes de enero 2010, A) Lectura IFOP, 3 años; B) Lectura AZTI, 3 años más crecimiento opaco, aun falta crecimiento. Similar a otolito de Figura 1, sin embargo en posición del anillo falso de puesta identificado por AZTI, IFOP considera 2 anillos (Muestra ANTOFEN10_50).

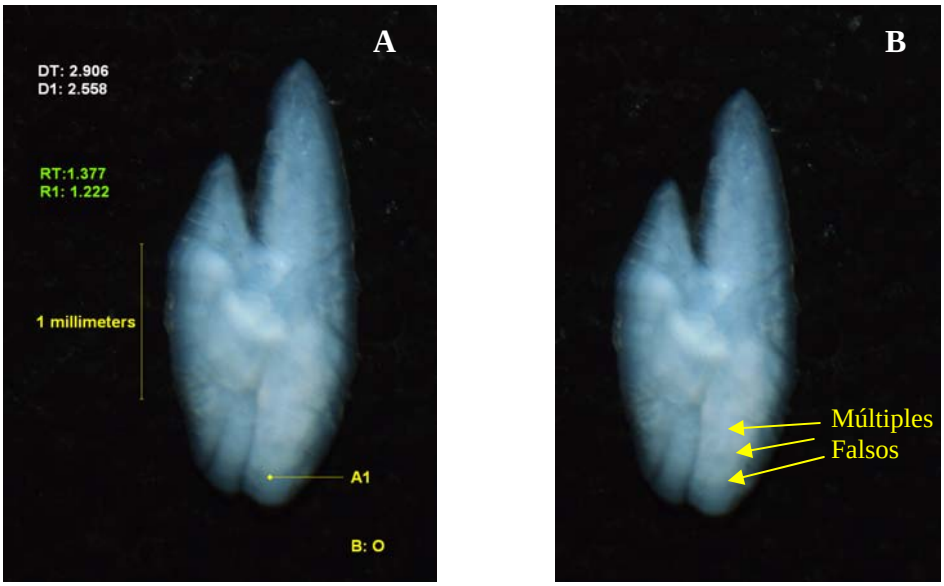


Figura 6. Otolito de anchoveta de Chile correspondiente a un ejemplar de 10,5 cm colectado el mes de diciembre 2009. A) Lectura IFOP, 1 anillo borde opaco (0 años); B) Lectura AZTI, 0 se observan anillos falsos (Muestra IQQDIC09_18WDE).

Figura 7. Otolito de anchoveta de Vizcaya correspondiente a un ejemplar de 13,8 cm colectado el mes de marzo 2010. A) Lectura IFOP 1 anillo y borde hialino (2 años). Lectura AZTI, 1 anillo y borde hialino pero falso aun falta crecimiento del segundo año, así que asignan grupo de edad 1.

Figura 8. Otolito de anchoveta de Vizcaya correspondiente a un ejemplar de 14,2 cm colectado el mes de marzo 2010. A) Lectura IFOP 1 anillo y borde opaco (0,5 o 1 año). Lectura AZTI, 1 anillo de un año formado por múltiples anillos y un poco de crecimiento más. Consenso: Grupo de edad de 1 año.

Figura 9. Otolito de anchoveta de Vizcaya correspondiente a un ejemplar de 13,7 cm colectado el mes de marzo 2010. A) Lectura IFOP 2 anillo y borde opaco pequeño (2 o 1 año). Lectura AZTI, falso 0,9; 1 anillo más borde opaco. Consenso: Grupo de edad de 1 año.

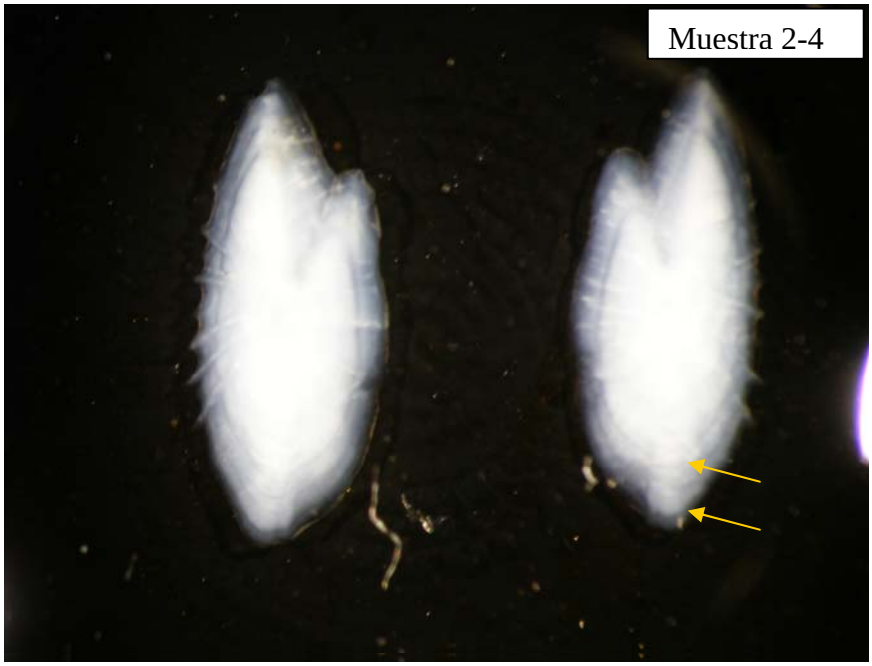


Figura 10. Otolito de anchoveta de Vizcaya correspondiente a un ejemplar de 17,7 cm colectado el mes de marzo 2010. A) Lectura IFOP 2 anillo y borde hialino (3 o 1,5 año). Lectura AZTI, 2 anillos verdaderos (invernales, señalados por las dos flechas) y crecimiento opaco hasta acabar en un borde hialino. Un lector de AZTI daba 3 años (considerando el borde como anillo hialino invernal verdadero (no habría recomenzado el crecimiento del cuarto año) y otro lector daba 2 años en que el segundo anillo marcado en la foto se consideraría como anillo falso (A18) y colocaría el verdadero segundo anillo invernal en el mismo borde.

A N E X O III

Taller comparación de resultados en determinación de edad diaria de anchoveta

Instituto de Fomento Pesquero (IFOP) e
Instituto del Mar del Perú (IMARPE).

TALLER COMPARACIÓN DE RESULTADOS EN DETERMINACIÓN DE EDAD DIARIA DE ANCHOVETA

ENTRE EL INSTITUTO DE FOMENTO PESQUERO (IFOP) Y EL INSTITUTO DEL MAR DEL PERÚ (IMARPE).

FIP 2009-17

"Revisión de la asignación por grupo de edad en la anchoveta (*Engraulis ringens*) de la zona norte"

Valparaíso, Chile, noviembre 2010

PARTICIPANTES:

INSTITUTO DE FOMENTO PESQUERO, IFOP.

- Francisco Cerna T. (IFOP)
- Guido Plaza P. (Facultad de Recursos Naturales, PUCV)
- Cecilia Machuca (IFOP)
- Amalia López A. (IFOP)
- Guillermo Moyano (Facultad de Recursos Naturales, PUCV)
- Vilma Ojeda C. (IFOP)

INSTITUTO DEL MAR DEL PERÚ, IMARPE.

- Carlos Goicoechea Vigo

ANTECEDENTES

Las poblaciones o stocks de *engraulidos* son recursos pelágicos pequeños sujetos a regimenes de explotación pesquera en todo el mundo, a saber: *Engraulis mordax* (Pacifico norte EEUU), *Engraulis anchoita* (Atlántico sur Argentina), *Engraulis australis* (Costas Australia), *Engraulis japonicus* (Costas de Japón), *Engraulis encrasicolus* (Mar cantábrico España, Francia, Portugal) y *Engraulis ringens* (Pacífico sur, Chile y Perú). Son especies de crecimiento rápido en que las abundancias de los stocks se sustentan en las primeras 1 a 3 edades, dado que su longevidad no superaría los cinco años de vida. Aspectos como la velocidad del crecimiento en juveniles y estructura de edad y crecimiento de los adultos son antecedentes claves para el manejo de estos recursos pesqueros. En el caso de *Engraulis ringens*, de la costa de Perú se encuentran dos unidades poblacionales, una en el norte- centro y otra en el sur. La anchoveta de la zona sur del Perú es un corresponde a un recurso compartido con la zona norte de Chile, constituyendo una unidad de stock que se distribuye entre 16°S y 24°S (Serra, 1983).

En forma preliminar se ha estimado, para la anchoveta del norte de Chile, que esta especie crece a una tasa diaria promedio de 1,2 mm d^{-1} en los dos primeros meses de vida, donde alcanza aproximadamente los 8 cm de longitud total. En la etapa juvenil tardía (8-12 cm TL), la anchoveta disminuyó su tasa de crecimiento a 0,6 mm d-1, dando inició a la formación de la primera zona hialina que corresponde aproximadamente a los 71 días de vida. No obstante, se observó que la especie fue capaz de alcanzar los 12 cm longitud total en aproximadamente 4 meses de vida (Cerna et al, 2010).

Esta tasa de crecimiento es mayor que las tasas reportadas hasta la fecha en otros engraulidos, como también particularmente cuando se compara con los resultados obtenidos por IMARPE para la unidad poblacional del norte-centro del Perú (Goicochea com. pers.).

El en marco del Proyecto FIP 2009-17 “Revisión de la asignación por grupo de edad en la Anchoveta (*Engraulis ringens*) de la zona Norte”, se realizó este Taller conjunto entre IFOP e IMARPE, cuyo propósito fue analizar y discutir el conocimiento alcanzado en los estudios de edad de *Engraulis ringens*, intercambiando experiencias en las metodologías de análisis de microestructura del otolito, es decir criterios de estimación de la edad diaria. La idea central es potenciar el trabajo que ambos grupos de investigación realizan en sus respectivas instituciones.

METODOLOGIA

La metodología de trabajo correspondió a la presentación de los trabajos realizados en edad diaria de anchoveta de Chile y Perú por los respectivos institutos IFOP e IMARPE. Una vez que los equipos de trabajo se pusieron al tanto del estado del arte en materia de investigación de esta especie, se procedió a realizar:

- Ejercicios de calibración de la estimación de la edad diaria de *E. ringens* del stock del norte de Chile y del stock de la zona norte-centro del Perú. Los resultados de estos ejercicios permitió hacer estimaciones de precisión de lectura diaria en ambas especies.

- Discusión de los resultados alcanzados en los ejercicios de calibración, revisando las muestras más representativas que permitieran ilustrar las diferencias en los criterios de estimación de edad diaria en juveniles de esta especie.

- Intercambio en las técnicas de preparación de otolitos de juveniles de esta especie para análisis de microestructura. Metodología de preparación sagital del otolito en IFOP-PUCV y IMARPE. Preparación de secciones longitudinales con el método SEGEM (Plaza et al., 2005).

El detalle del trabajo realizado se encuentra contenido en la agenda que puede ser consultada en el Anexo I de este informe.

RESULTADOS

EXPOSICIONES DE LOS TRABAJOS REALIZADOS POR CADA INSTITUCIÓN.

El detalle de las presentaciones realizadas por cada institución, como una puesta al día en el conocimiento del estado del arte de las investigaciones en edad de *Engraulis ringens* realizadas hasta la fecha.

Carlos Goicochea expuso la presentación "Resultados parciales de estimación de edad diaria en juveniles de *E. ringens* del centro-norte del Perú, y reseña de las actividades del Laboratorio Edad y Crecimiento de IMARPE"

En esta presentación se detallan los resultados del análisis de edad diaria en juveniles de anchoveta, presentando una estimación del crecimiento para ejemplares entre 2 y 7 cm del longitud total. En estos resultados se aprecia una menor tasa de crecimiento que la registrada para el stock norte de Chile. En el norte del Perú se alcanzaría los 6 cm de longitud total aproximadamente a los 100 días de vida.

También se muestra una análisis histórico del crecimiento de anchoveta de la misma zona, comparando el índice de performace o phi (ϕ) con las fluctuaciones de biomasa entre 1961-2009 en que se aprecia que el crecimiento podría tener un efecto denso-dependiente en su variación interanual.

Francisco Cerna expuso la presentación "Análisis de la micros-estructura de los otolitos en juveniles de la anchoveta *Engraulis ringens* de la zona norte de Chile", basada en resultados preliminares del proyecto FIP 2009-17. En esta presentación se indica que los peces del stock del norte de Chile presentan una tasa de crecimiento alta, que permite obtener edades de 120 días para ejemplares con una longitud total promedio de 12 cm. Los principales hallazgos se discuten en el análisis de calibración de edad diaria.

Guido Plaza expuso la presentación "Resultados del Taller Metodológico y de análisis de edad diaria y anual de *Engraulis ringens* y *Engraulis encrasicolus* realizado entre IFOP y AZTI Tecnalia.

En esta se muestra los análisis de inter-calibración de edad diaria de estas dos especies de engráulidos llevadas a cabos en un taller en que se concluyó la no existencia de diferencias en los procedimientos de estimación de edad diaria utilizados por ambas instituciones. En este trabajo se muestra también las similitudes en las tasas de crecimiento estimadas en *Engraulis ringens y Engraulis encrasicolus*, presentando esta última especie una tasa de crecimiento más elevada.

ANÁLISIS DE CALIBRACIÓN DE EDAD DIARIA

La resolución de los micro-incrementos de juveniles de *Engraulis ringens* de la zona norte de Chile, en secciones sagitales es buena lo cual facilita el análisis y posibilita un menor error en el resultado de la lectura. En estos otolitos los micro-incrementos primarios fueron fácilmente distinguibles de las discontinuidades o anillos sub-diarios y/u otras interrupciones del crecimiento. El patrón de crecimiento de los otolitos se caracteriza por un aumento progresivo en el grosor de los micro-incrementos en la fase larval temprana seguido de una disminución en la etapa juvenil temprana (Figura 1).

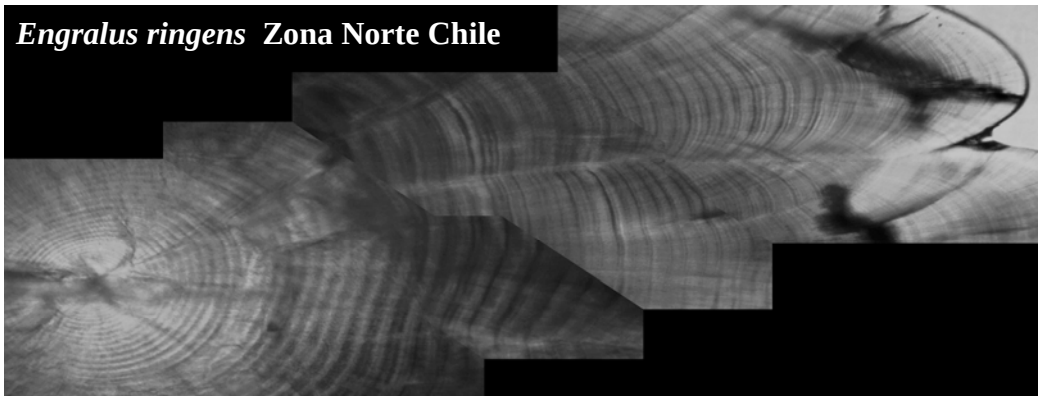


Figura 1. Ilustración de dos secciones de otolitos de juveniles de *Engraulis ringens* de la zona norte de Chile. Se aprecia claramente el patrón de bandas y anillos sub-diarios.

Con el fin de comprobar el nivel de precisión de las lecturas en la determinación de la edad diaria se efectuó un ejercicio de comparación de lectura en ejemplares de la zona norte de Chile y de la Zona Norte del Perú. Para este propósito cinco y seis lectores independientes, respectivamente, contaron el número de micro-incrementos desde el primordio hasta el borde del otolito en imágenes en posición sagital, utilizando el método de interpretación que habitualmente utilizan en su institución.

Para el caso del análisis de los otolitos del norte de Chile, no se encontraron diferencias significativas en la edad media entre lectores (P>0,05) (Tabla 1 y 2), aunque se apreció una variabilidad en la estimación por edad, comparado con el lector experto que se utiliza como referencia (Fig. 2).

Tabla 1.
Resumen de estadísticas de lecturas de micro-incrementos diarios efectuados por cinco lectores independientes en otolitos de *E. ringens*, dentro del marco del taller técnico IFOP IMARPE 2010; ds: desviación estándar; CV: coeficiente de variación, * lector de referencia.

Lector	Media	ds	CV
IFOP 1	89,8	20,7	23,1
IMARPE	96,5	15,2	15,8
PUCV-2	78,3	14,3	18,3
IFOP 2	82,6	18,3	22,1
PUCV-1*	82,3	15,5	18,9

Tabla 2.
Análisis de varianza de la estimación de edad diaria de otolitos de ejemplares juveniles de anchoveta (*E. ringens*) entre distintos lectores independientes. Otolitos corresponden a la zona norte de Chile.
gl: grados de libertad; F: F de Fisher.

Origen de las variaciones	Suma de cuadrado	gl	Promedio de los cu	F	Prob	Valor crítico F
Entre grupos	3401.100924	4	850.2752	2.884	0.0309	2.543
Dentro de los grupos	15923.13636	54	294.8729			
Total	19324.23729	58				

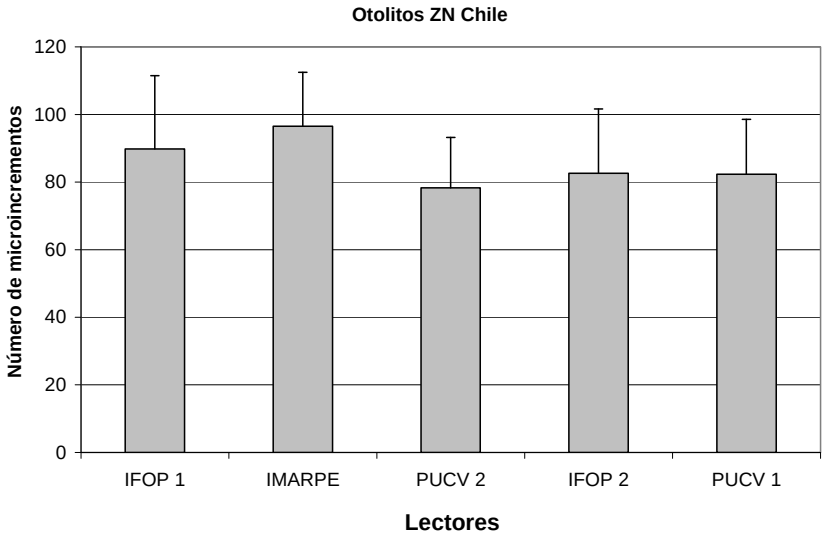


Figura 2. Edad media de de la lectura de otolitos de juveniles de *E. ringens*, determinada por cinco lectores independientes. Líneas sobre las barra indican desviación estándar.

Este nuevo ejercicio de intercalibración de la edad con un experto en análisis de microincrementos de otolitos de anchoveta perteneciente a un laboratorio externo (IMARPE), permite confirmar, al igual que con AZTI, que las lecturas de microincrementos primarios (edad diaria) realizadas por el Laboratorio de Esclerecronología de la Escuela de Ciencias del Mar de la P. Universidad Católica de Valparaíso tienen una alta precisión. Esto nos otorga confianza en los resultados del análisis de microestructura realizado en este estudio.

REFERENCIAS

Cerna F., G. Plaza, A. Lopez, C. Machuca, R. Serra, C. Gaspar y G. Moyano. 2010. Revisión de la asignación por grupo de edad en la anchoveta de la zona norte. Informe de Avance. FIP 2009-17. 52 p.

Plaza G, Honda H, Sakaji H, Nashida K. 2005. Preparing fish sagittae for examination of daily growth increments of young-of-the-year fishes: A modification of the embed method. J. Fish Biol. 66: 592-597.

Serra, J.R. 1983. Changes in the abundance of pelagic resources along the Chilean coast. En: G. Sharp & J. Csirke (eds.). Proceedings of the expert consultation to examine changes in abundance and species composition of neritic fish resources. FAO Fish. Rep., 291: 255-284.

A N E X O IV

Presentaciones

Taller interno IFOP de discusión de resultados y revisión de los criterios de asignación de grupos de edad de anchoveta propuestos y Taller oficial de Difusión de resultados del FIP 2009-17.

I N S T I T U T O D E F O M E N T O P E S Q U E R O

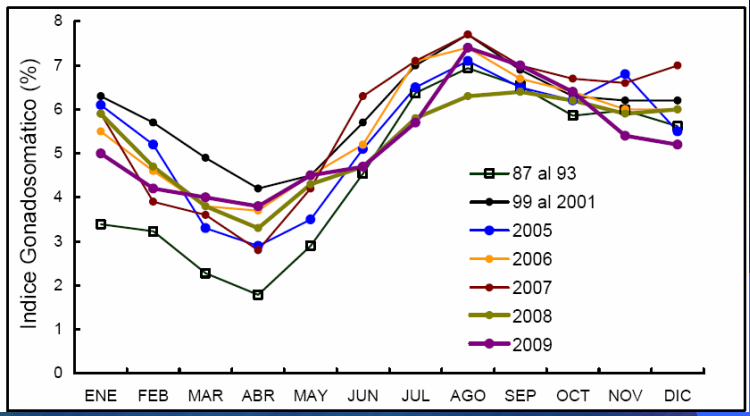
RESULTADOS
Taller Metodológico

RESULTADOS DE VALIDACIÓN Y ASIGNACIÓN GRUPO DE EDAD ANCHOVETA ZN CHILE

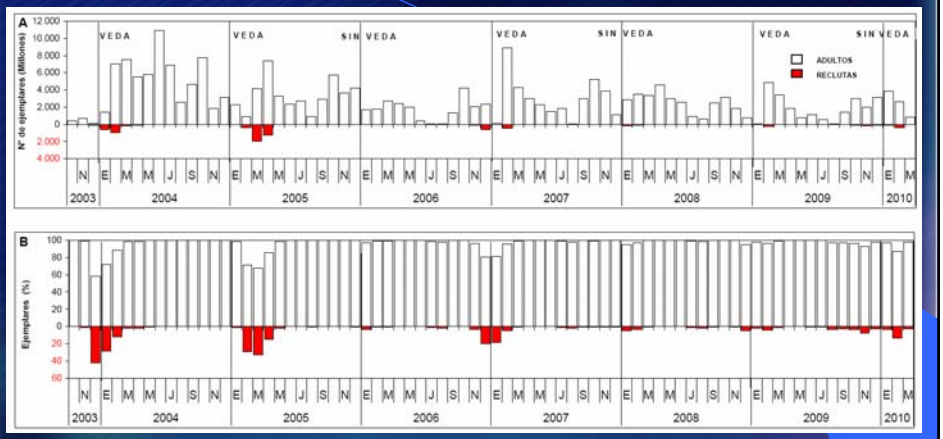
REVISIÓN DE LA ASIGNACIÓN POR GRUPO DE EDAD EN LA ANCHOVETA (Engraulis ringens) DE LA ZONA NORTE

FIP 2009-17

I N S T I T U T O D E F O M E N T O P E S Q U E R O



Evolución mensual del índice gonadosomático de la anchoveta en la Zona Arica-Antofagasta (Fuente: Böhm et al, 2010).



Número de anchovetas adultos y reclutas (en millones) y porcentaje de reclutas. Zona Arica - Antofagasta. Serie histórica 2003 a 2010 (Fuente: Böhm et al, 2010).

I N S T I T U T O D E F O M E N T O P E S Q U E R O

Abundancia anchoveta zona norte 2004

Tallas (mm)	Enero	Febrero	Marzo	Abril	Mayo	Junio	Julio	Agosto	Septiembre	Octubre	Noviembre	Diciembre
55	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
60	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
65	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	43.679
70	140.792	32.093	-	-	-	-	24.168	-	-	-	-	432.420
75	26.638	848.037	-	-	-	-	47.555	-	-	-	-	333.415
80	74.091	6.283.924	-	-	-	-	238.557	-	-	-	-	122.301
85	243.707	15.991.869	-	-	-	-	1.627.595	-	-	-	-	-
90	1.469.429	32.314.941	2.911.872	187.350	-	-	1.918.098	-	-	-	-	266.441
95	6.413.485	52.358.301	9.319.586	1.192.324	-	-	1.039.042	-	-	-	-	189.275
100	29.334.566	98.096.677	18.543.583	7.736.728	-	-	776.934	-	-	-	19.477	37.855
105	87.491.125	142.413.269	17.012.077	17.090.849	-	38.587	362.308	-	70.456	-	21.594	-
110	189.083.939	258.266.180	26.624.676	31.116.399	2.660.267	590.771	-	944.164	497.800	-	-	49.503
115	257.277.297	476.268.331	66.286.802	46.923.594	13.742.151	4.859.321	3.049.348	1.682.396	211.367	-	19.477	88.373
120	240.707.509	808.844.569	166.957.874	75.753.256	100.053.069	68.923.801	25.000.867	6.440.856	270.623	61.826	19.477	156.803
125	242.836.540	1.261.568.903	394.722.435	116.631.365	251.761.222	222.512.338	79.812.229	19.834.358	2.590.377	2.538.129	532.863	89.032
130	177.361.893	1.241.694.892	792.823.430	178.930.416	360.698.691	446.396.612	186.051.961	67.231.616	16.925.524	25.581.777	5.387.836	1.074.172
135	153.514.491	1.258.002.448	1.512.140.595	369.283.833	521.429.032	1.111.708.995	531.082.337	211.487.071	117.524.528	145.825.904	25.505.548	7.096.790
140	108.022.839	760.281.741	1.466.524.342	622.174.852	749.812.957	2.178.334.585	1.227.435.113	505.537.850	571.536.037	728.738.114	68.454.498	51.596.756
145	103.966.141	475.650.369	1.351.191.721	1.090.784.203	1.101.845.866	3.336.007.774	2.051.749.641	797.775.506	1.303.348.824	1.921.558.422	216.136.196	199.700.536
150	92.106.646	251.360.872	691.279.613	1.024.439.177	946.707.876	2.153.110.434	1.630.373.926	604.039.467	1.343.455.899	2.219.146.439	419.195.652	589.230.702
155	113.416.185	298.376.633	499.146.228	1.020.667.459	852.367.060	1.031.384.315	860.510.953	291.974.019	892.158.031	1.697.676.254	512.131.910	931.382.101
160	102.279.538	343.329.519	299.992.261	515.683.442	385.740.410	259.761.752	224.986.958	68.665.101	302.610.355	738.503.511	365.244.485	781.617.906
165	68.355.208	299.318.740	231.548.845	358.833.277	231.356.884	73.788.866	60.643.531	14.973.303	89.545.425	200.697.210	204.436.396	408.687.789
170	23.384.351	107.243.104	77.152.612	120.748.276	81.477.405	12.454.590	13.514.955	1.377.694	19.387.393	26.836.296	49.660.040	104.197.733
175	6.131.956	29.999.483	16.912.899	32.114.292	23.361.333	1.577.739	4.821.262	169.753	3.398.430	2.615.483	6.649.134	17.327.118
180	859.570	5.163.164	1.811.426	1.265.948	2.217.117	109.172	185.507	11.539	313.973	112.485	44.831	72.950
185	63.080	898.859	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
190	-	87.171	-	123.630	-	-	-	-	-	-	-	-
195	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
200	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Total	2.004.641.015	8.224.694.088	7.642.902.675	5.631.680.671	5.625.231.340	10.901.559.652	6.905.252.846	2.592.144.692	4.663.845.050	7.709.891.850	1.873.459.415	3.093.793.648
Total reclutas	571.555.070	1.082.873.621	140.698.596	104.247.244	16.402.417	5.488.678	9.083.604	2.626.560	779.630	-	60.548	1.563.261
% reclutas	28,51	13,17	1,84	1,85	0,29	0,05	0,13	0,10	0,02	-	0,00	0,05

EVIDENCIAS Y CONJETURAS

- Este extenso proceso reproductivo se traduce en un proceso de reclutamiento a la pesquería que ocurre a través de la mayor parte del año, tanto en la pesquería peruana como en la chilena.

- No obstante que desde diciembre a febrero se produce un ingreso importante de reclutas a la pesquería, se observan ingresos de reclutas durante casi todo el año, registrándose frecuentemente un máximo secundario de reclutas en los meses de invierno.

- En el reclutamiento de verano se registran ejemplares entre aproximadamente 5 y 12 cm LT, siendo difícil aceptar por ejemplo, que un ejemplar de 8 a 9 cm provenga del desove de agosto-septiembre, de acuerdo con la función de crecimiento aceptada (Barría et al. 1999) o comunicada por G. Claramunt (com.pers.)

EL PROBLEMA

- Los extensos períodos de desove y reclutamiento, constituyen una base fundada para pensar que el reclutamiento de verano contiene mezcla de clases anuales, lo que a su vez origina fuertes dudas sobre la validez de los criterios actualmente empleados para clasificar la anchoveta por grupo de edad

POSIBLES RESPUESTAS

- **Aparentemente podría existir una mezcla de ejemplares que provienen del desove de verano con los del invierno anterior, lo que explicaría la presencia de tallas grandes dentro del GE 0.**

- **Se esta subestimando la edad de esta especie al considerar la formación de 2 anillos hialinos por año.**

PROYECTO FIP N° 2009-17
REVISIÓN DE LA SIGNACIÓN POR GRUPO DE EDAD EN LA ANCHOVETA DE LA ZONA NORTE

OBJETIVO GENERAL

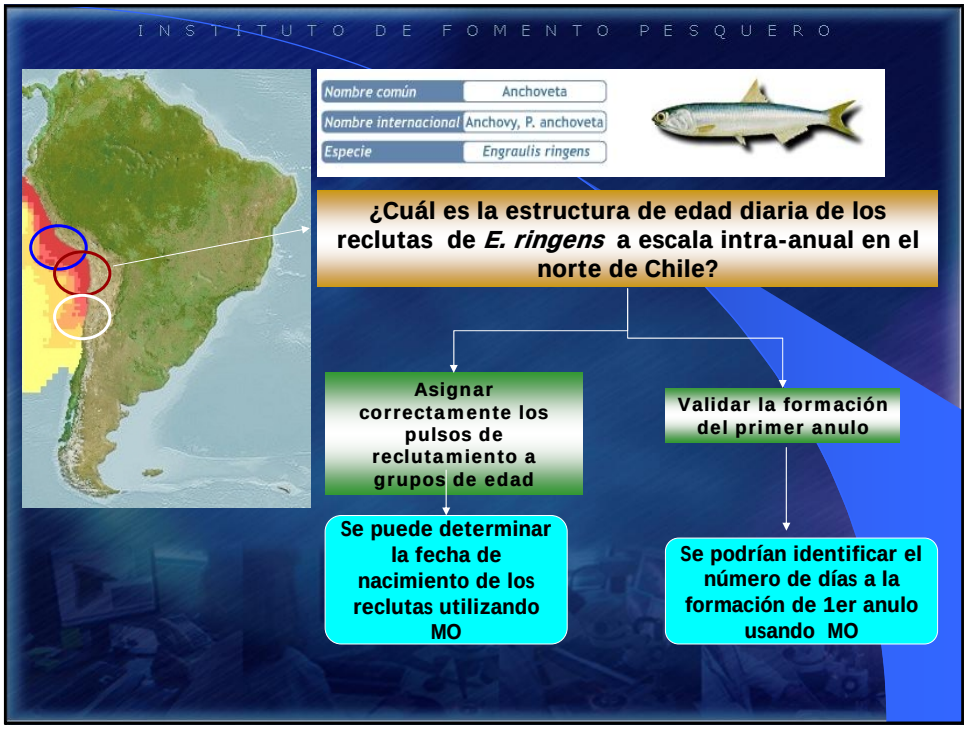
Revisar la determinación de edad de la anchoveta y definir criterios mejorados de asignación de edad y grupos de edad.

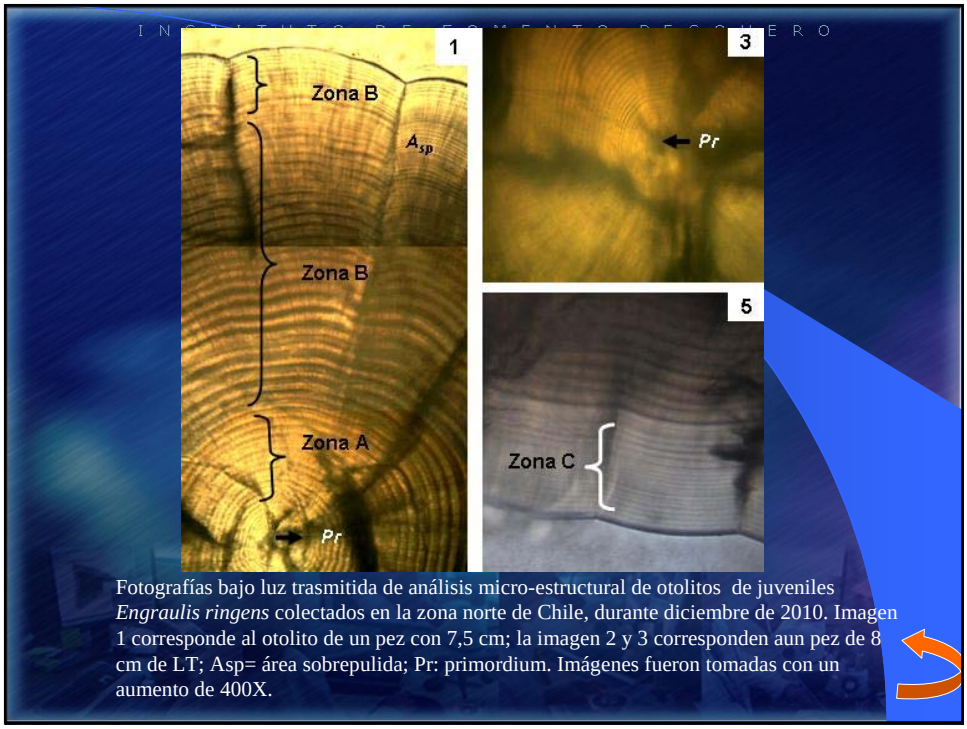
OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Determinar la fecha de nacimiento de los juveniles a través del año.
2. Verificar la correcta estimación de edad de los ejemplares de un 1 año.
3. Revisar los criterios utilizados para asignar edad y grupo de edad, proponiendo nuevos criterios de asignación en caso de ser necesario.
4. Contrastar estos criterios con los utilizados en otras pesquerías de pequeños pelágicos.

INSTITUTO DE FOMENTO PESQUERO

RESULTADOS PRELIMINARES FIP 2009-17

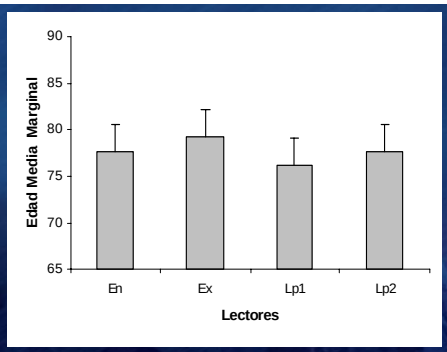




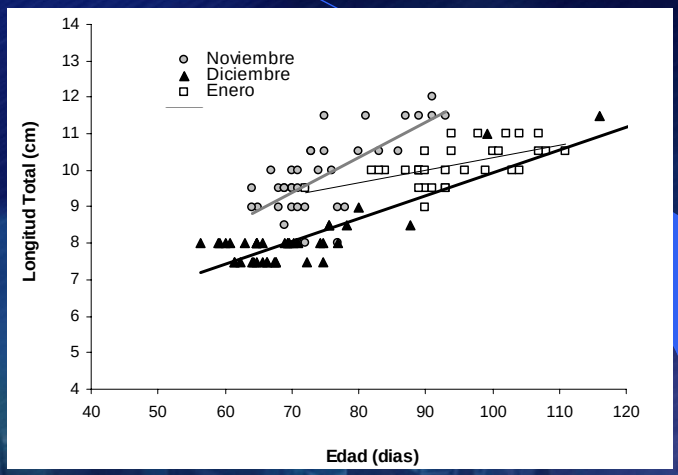
Fotografías bajo luz trasmitida de análisis micro-estructural de otolitos de juveniles *Engraulis ringens* colectados en la zona norte de Chile, durante diciembre de 2010. Imagen 1 corresponde al otolito de un pez con 7,5 cm; la imagen 2 y 3 corresponden aun pez de 8 cm de LT; Asp= área sobrepulida; Pr: primordium. Imágenes fueron tomadas con un aumento de 400X.

Tabla. 1. Análisis de varianza con dos factores fijos para evaluar la elegibilidad de micro-incrementos de otolitos en 30 juveniles de Anchoveta del Norte. Factor 1: lector con diferentes grados de expertice y factor 2: calidad de la preparación de los otolitos para análisis micro-estructural (alta, media y baja).

Fuente	SCE	df	CME	F	p	np
Model	13317,5	11	1210,68	5,02	0,0000	0,34
Intercepto	378207,7	1	378207,74	1568,52	0,0000	0,94
Lector	597,1	3	199,03	0,83	0,4826	0,02
Calidad	12288,4	2	6144,20	25,48	0,0000	0,32
Lector * Cal	878,6	6	146,43	0,61	0,7240	0,03
Error	26041,4	108	241,12			
Total	643711,0	120				
Corrected Total	45354,89	149				



I N S T I T U T O D E F O M E N T O P E S Q U E R O



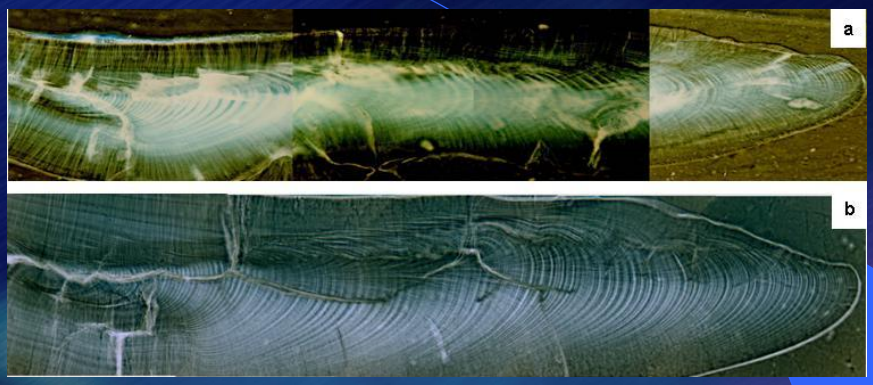


Figura 6. Fotografías bajo luz trasmitida de análisis micro-estructural de otolitos en posición longitudinal de 2 juveniles *Engraulis ringens* colectados en la zona norte de Chile, durante y diciembre 200; **a)** edad 126 días, LT= 12 cm ; Aumento: 10X) y noviembre de 2009 **b)** Edad 98 días, LT= 11 cm ; 40X).

I N S T I T U T O D E F O M E N T O P E S Q U E R O

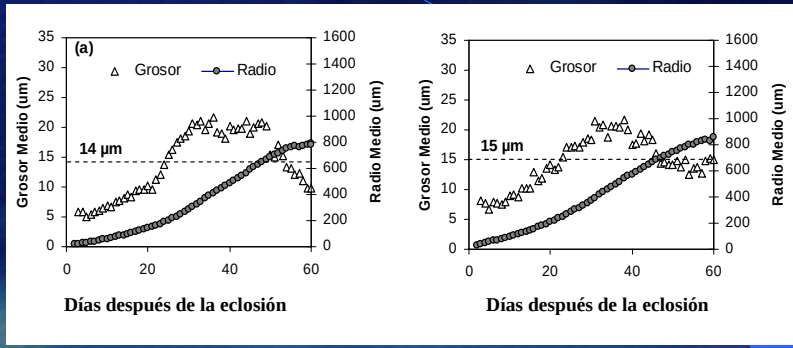


Figura 5. Tasa de crecimiento media (TCM) de juveniles con otolitos tipo Tipo A (1), colectados en diciembre 2009) y Tipo B (2), de juveniles *Engraulis ringens* colectados en noviembre 2009; (3) TCM para juveniles de 11-12 cm pulidos en posición longitudinal. Línea segmentada indica el grosor medio.

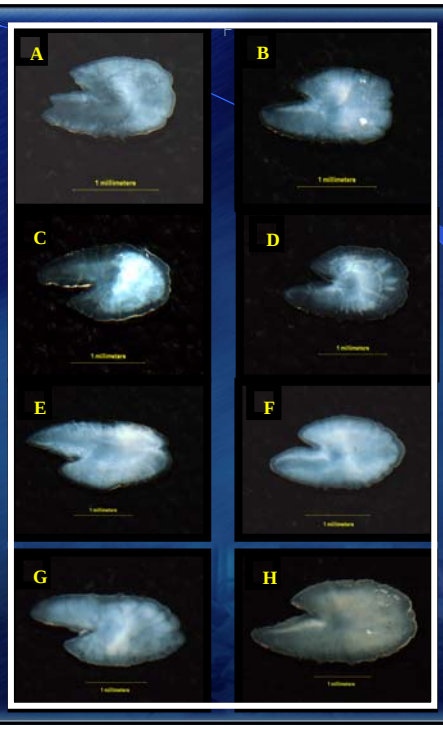
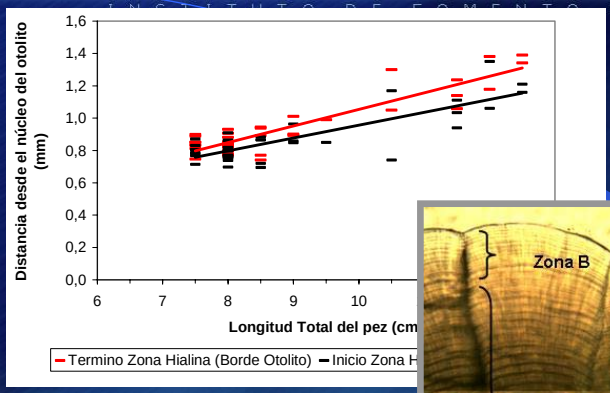
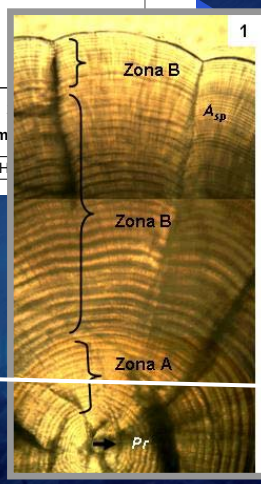
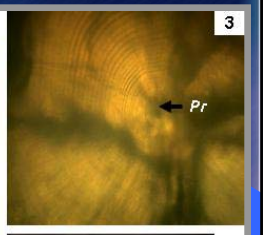


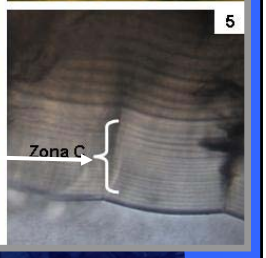
Figura 15. Imágenes de otolitos de anchovetas juveniles. A a D corresponden a otolitos de peces capturados en diciembre 2009, y E a H peces capturados en noviembre 2009.

A y B) peces de 7,5 cm LT y borde hialino pequeño; C y D) peces de 8,0 cm LT y borde hialino; E) 10 cm LT borde hialino; F) 10 cm LT se observa anillo hialino formado y borde opaco pequeño; G) 11,5 cm LT se observa anillo hialino formado y borde opaco; H) 12,5 cm LT un anillo formado cerca del borde opaco pequeño.









Conclusiones

1. Los hallazgos prelimares evidenciaron que la anchoveta del norte *Engraulis ringens* crece a una tasa diaria promedio de crecimiento (1,2 mm d^{-1}), mayor que las reportadas hasta la fecha en otros engráulidos en los primeros dos meses de vida, donde alcanzó aproximadamente los 8 cm de longitud total (Etapa larval y juvenil temprana).

2. En macroestructura de otolitos de anchoveta juvenil se comienza a desarrollar un primer anillo hialino bien definido y concéntrico, cuando el otolito alcanza un radio de 0,695 mm y en algunos peces aún está en formación cuando el otolito presenta un radio de 1,39 mm.

   De acuerdo a la edad estimada en días en el presente estudio, esta zona hialina tendría una periodicidad inferior a la anual, alcanzándose su formación aproximadamente a los 70 días

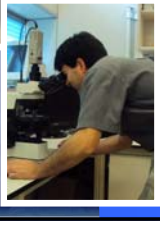
3. En la etapa juvenil tardía (8-12 cm TL), la especie disminuyó su tasa de crecimiento a 0,6 mm d^{-1}, periodo durante el cual se inició la formación de la primera zona hialina aproximadamente a los 71 días de vida.

   No obstante, se observó que la especie fue capaz de alcanzar los 12 cm longitud total en aproximadamente 4 meses de vida. Entonces los peces entre 8 a 12 cm LT provienen del desove de invierno (julio-Septiembre).

INSTITUTO DE FOMENTO PESQUERO

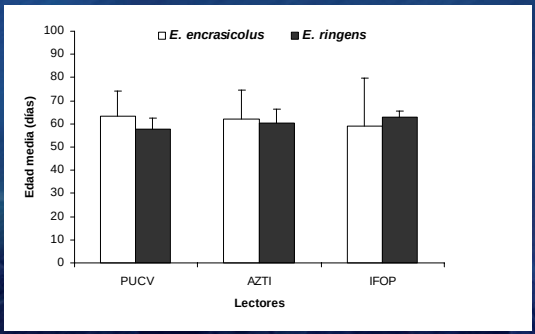
TALLER METODOLÓGICO DE OTOLITOS DE ANCHOA INSTITUTO TECNOLOGICO PESQUERO Y ALIMENTARIO (AZTI) INSTITUTO DE FOMENTO PESQUERO (IFOP)

- **Andrés Uriarte**
- **Guido Plaza**
- **Unai Cotano**
- **Iñaki Rico**
- **Francisco Cerna**

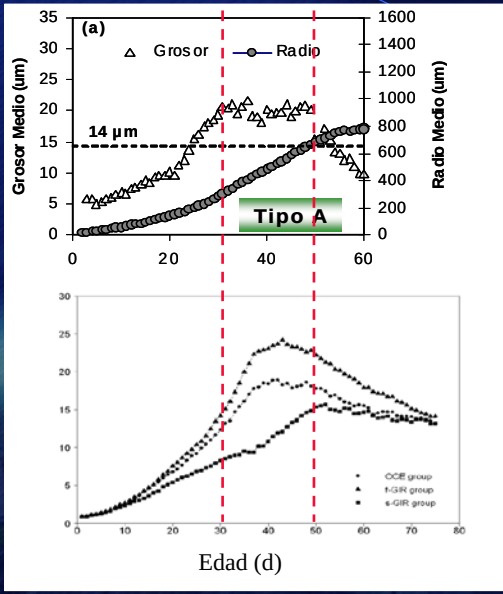


Ensayo de comparación de lecturas (GBR, Cermeño et al 2008)

Especie	Lector	Media	DE	CV
E encrasicolus	PUCV	63,3	10,8	17,1
	AZTI	62,3	12,3	19,8
	IFOP	59,3	20,3	34,2
E ringens	PUCV	57,6	5,1	8,8
	AZTI	60,2	6,4	10,6
	IFOP	63,0	2,3	3,7



Comparación en la tasa de crecimiento del otolito



E. Ringens

E. Encrasicolus

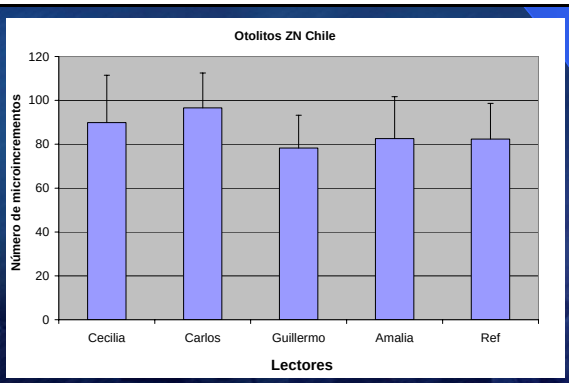
Aldanondo, N., Cotano, U. and Etxebeste, E. (2010) Growth of young-of-the-year anchovy (*Engraulis encrasicolus* L.) in the Bay of Biscay. *Sci. Mar*. (submitted).

TALLER IFOP- IMARPE

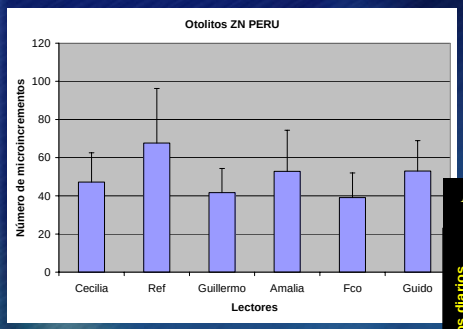
COMPARACIÓN DE RESULTADOS EN DETERMINACIÓN DE EDAD DIARIA DE ANCHOVETA

Análisis de varianza de lecturas de micro-incrementos diarios efectuados por cinco lectores independientes en otolitos de ***E. ringens***, dentro del marco del taller técnico IFOP IMARPE 2010; ds: desviación estándar; CV: coeficiente de variación, * lector de referencia. Peces con longitudes de 7,5 a 11 cm LT.

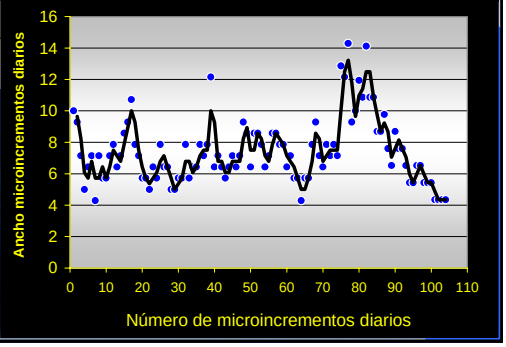
Origen de las variaciones	Suma de cuadrado	gl	Promedio de los cu	F	Prob	Valor crítico F
Entre grupos	3401.100924	4	850.2752	2.884	0.0309	2.543
Dentro de los grupos	15923.13636	54	294.8729			
Total	19324.23729	58				



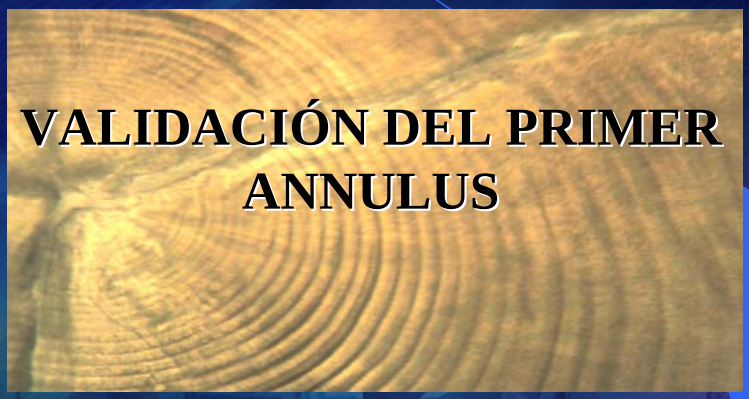
Comparación promedio microincrementos diarios de lecturas de otolitos de ***E. ringens*** del Norte del PERU, efectuados por cinco lectores independientes, dentro del marco del taller técnico IFOP IMARPE 2010. Línea sobre barra corresponde a la desviación estándar. Peces con longitudes de 7,5 a 11 cm LT.



Análisis de tasa de crecimiento (ancho microincrementos) de otolito de ZN PERU (Lector IMARPE)



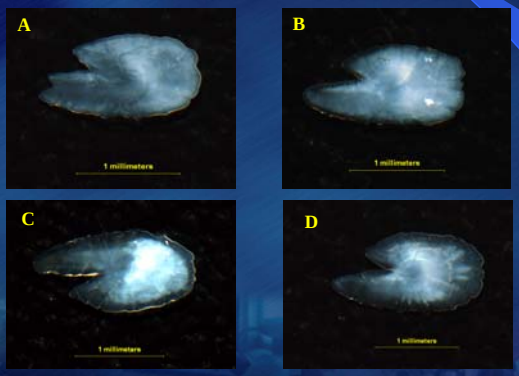
I N S T I T U T O D E F O M E N T O P E S Q U E R O



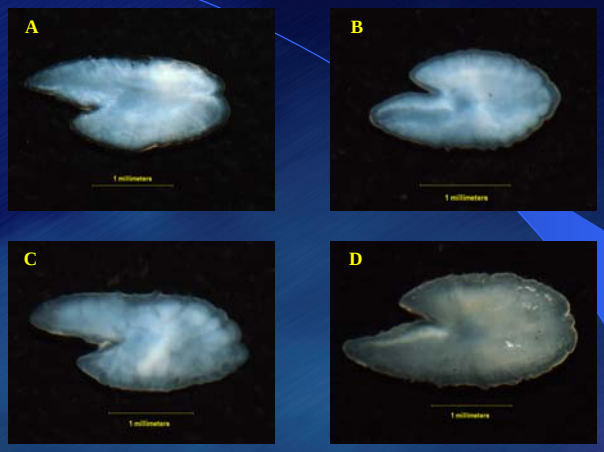
VALIDACIÓN DEL PRIMER ANNULUS

ANALISIS DE MACROESTRUCTURA DEL OTOLITO

Imágenes de otolitos de anchovetas juveniles. Corresponden a otolitos de peces capturados en Diciembre 2010. A)reclan1012 02L41WDE y B) reclan1012 06L41WDE peces de 7,5 cm LT y borde hialino pequeño; C) reclan1012 40L41WDE y D) peces de 8,0 cm LT y borde hialino.

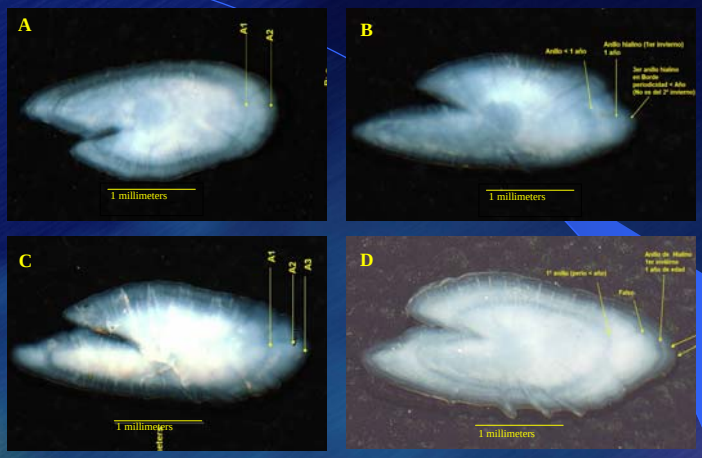


Imágenes de otolitos de anchovetas juveniles. Corresponden a otolitos de peces capturados en Diciembre 2009. A y B) peces de 7,5 cm LT y borde hialino pequeño; C y D) peces de 8,0 cm LT y borde hialino. El anillo presente en el borde corresponde a una disminución del crecimiento ocurrida antes del año de vida, desde los 2 a 4 meses de vida. Por lo cual corresponde a peces de edad cero.



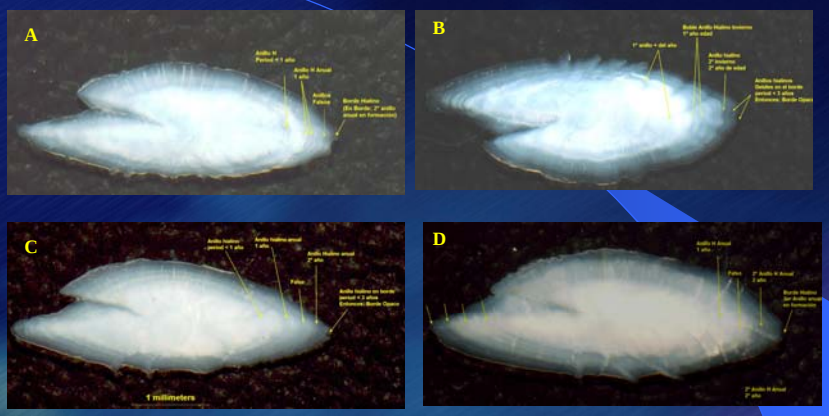
Imágenes de otolitos de anchovetas juveniles capturados en noviembre 2009. A) 10 cm LT borde hialino; B) 10 cm LT se observa anillo hialino formado y borde opaco pequeño; C) 11,5 cm LT se observa anillo hialino formado y borde opaco; D) 12,5 cm LT un anillo formado cerca del borde opaco pequeño, anillo hialino de una periodicidad menor al año. Peces de edad cero.

I N S T I T U T O D E F O M E N T O P E S Q U E R O



Imágenes de otolitos de anchovetas de 1 año de edad.

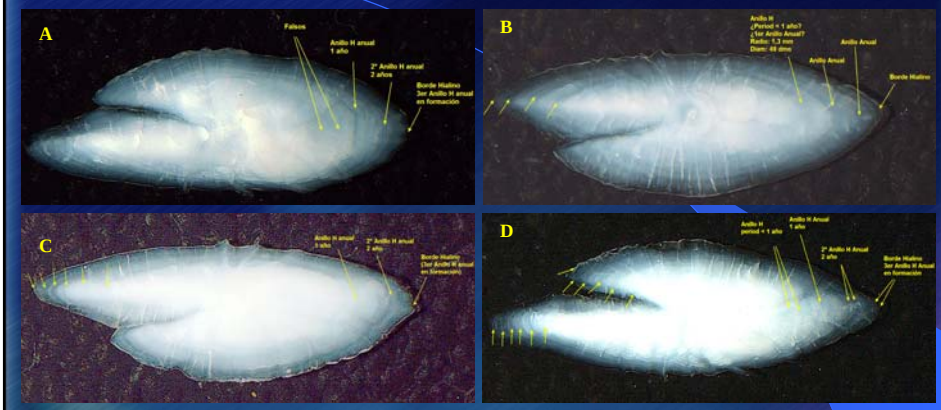
A) 13 cm LT; B) 13,5 cm LT; C) 13,5 cm LT; D) 14 cm LT-



Imágenes de otolitos de anchovetas de 2 años de edad.

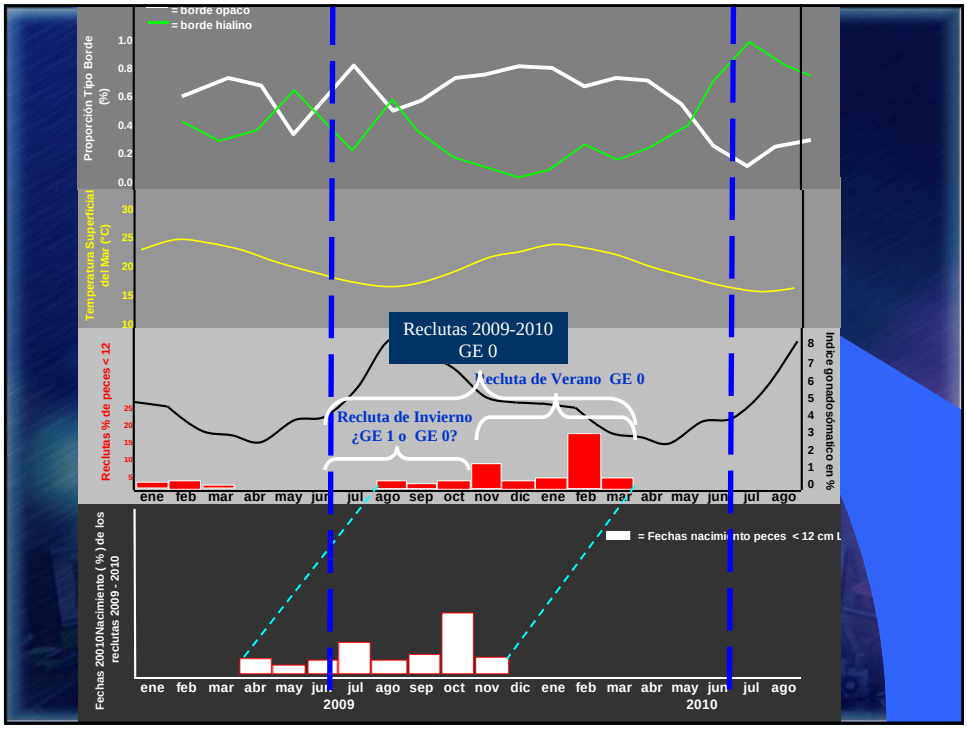
A) 14,5 cm LT; B) 15,5 cm LT; C) 15 cm LT; D) 15,5 cm LT-

I N S T I T U T O D E F O M E N T O P E S Q U E R O



Imágenes de otolitos de anchovetas de 3 años de edad.

A) 16,5 cm LT; B) 17 cm LT; C) 17,5 cm LT; D) 17 cm LT



I N S T I T U T O D E F O M E N T O P E S Q U E R O

Asignación de GE Biológico de Anchoveta (Gili et al.)

NA	Borde	GEB	NA	Borde	GEB	NA	Borde	GEB	NA	Borde	GEB
			0	o O	0	0 1	o O h H o	0	0 1	o O h H o O	0
0 1 2	o O h H o O h H o O	1	0 1 2	h H o O h H o O	1	1 2 3	O h H o O h H o	1	1 2 3	h H o O h H o O	1
2 3 4	o O h H o O h H o O	2	2 3 4	h H o O h H o O	2	3 4 5	O h H o O h H o	2	3 4 5	h H o O h H o O	2
4 5 6	o O h H o O h H o O	3	4 5 6	h H o O h H o O	3	5 6 7	O h H o O h H o	3	5 6 7	h H o O h H o O	3
6 7 8	o O h H o O h H o O	4	6 7 8	h H o O h H o O	4	7 8 9	O h H o O h H o	4	7 8 9	h H o O h H o O	4
8 9 10	o O h H o O h H o O	5	8 9 10	h H o O h H o O	5	9 10 11	O h H o O h H o	5	9 10 11	h H o O h H o O	5
Jul	Ago	Sept	Oct	Nov	Dic	Ene	Feb	Mar	Abr	May	Jun

DESOVE ZN

RECLUTAMIENTO ZN

Asignación de Grupo de Edad

El Grupo de Edad (GE) involucra a todos los peces nacidos el mismo año (Clase anual), considerando como fecha de nacimiento:

- El 1º de Enero: GE Cronológico o Calendario
- El 1º de Julio: GE Biológico

El Criterio de Asignación de GE debe considerar la siguiente información:

1. Numero de anillos de crecimiento en el otolito (de periodicidad conocida)
2. Tipo de borde del otolito (hialino o opaco)
3. Fecha de captura
4. Periodo de formación de la banda hialina o translucida
5. Época de desove

I N S T I T U T O D E F O M E N T O P E S Q U E R O

ASIGNACIÓN GEB de ACUERDO A LA EDAD

Junio → **Mayo**

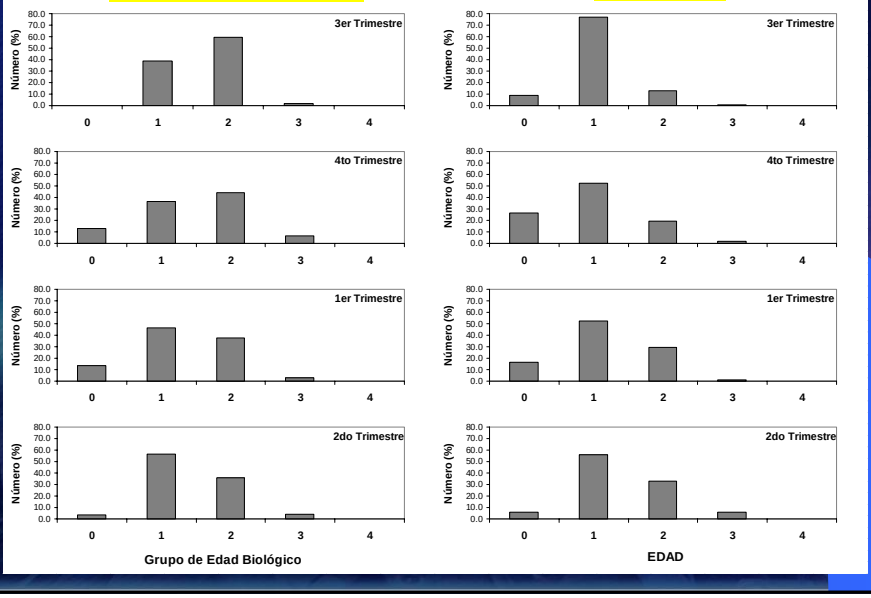
Julio → **Junio** (Con la excepción de incluir los reclutas de junio dentro del año)

Borde Opaco ⇒ **GEB = NUM. ANNULI**

Borde Hialino Anual ⇒ **GEB = NUM. ANNULI + 1** (Annulus del Borde)

CLAVES EDAD-TALLA 2009-2010

GEB = Criterio Anterior | **GEB = Edad**



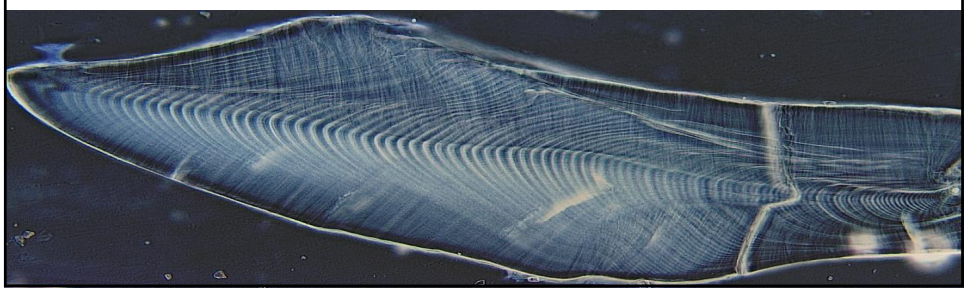
I N S T I T U T O D E F O M E N T O P E S Q U E R O

FIN

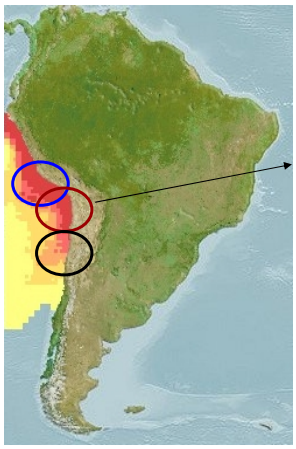
Taller Metodológico Interno

Instituto de Fomento Pesquero (IFOP)

Análisis de la Micros-estructura de los otolitos de juveniles y adultos de la Anchoveta *Engraulis ringens* de la Zona norte de Chile



PROBLEMA



Nombre común	Anchoveta
Nombre internacional	Anchovy, P. anchoveta
Especie	*Engraulis ringens*

¿Cuál es la estructura de edad diaria de los reclutas de *E. ringens* a escala intra-anual en el norte de Chile?

Asignar correctamente los pulsos de reclutamiento a grupos de edad → Se puede determinar la fecha de nacimiento de los reclutas utilizando **MO**

Validar la formación del primer anulo → Se podrían identificar el número de días a la formación de 1er anulo usando **MO**

OBJETIVOS

Objetivo General:

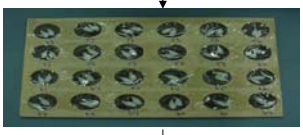
Analizar la Micros-estructura de los otolitos en juveniles de la Anchoveta *Engraulis ringens* de la Zona norte de Chile

Objetivos específicos:

- Caracterizar la micro-estructura de los otolitos *E. ringens* de la zona norte de Chile
- Determinar los patrones temporales de las distribuciones de frecuencia de fechas de nacimiento de los reclutas en un ciclo anual.
- Determinar la edad diaria a la formación del primer anulo

METODOLOGIA

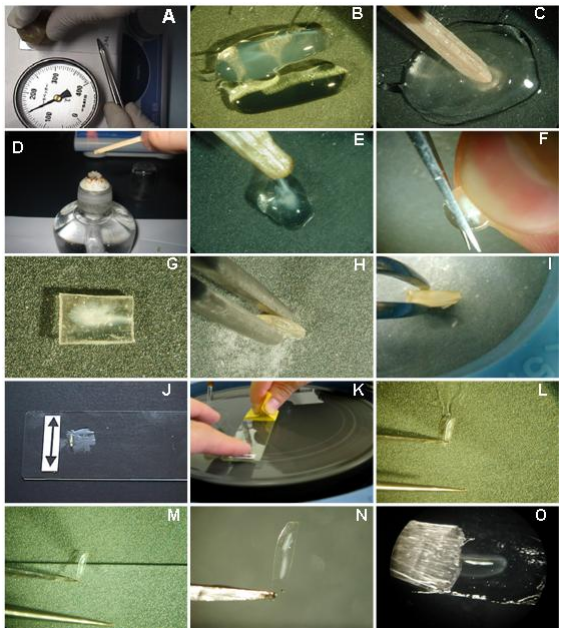
Extracción de otolitos



Procesados usando SGEM

350 otolitos de juveniles

Otolito Tipo A



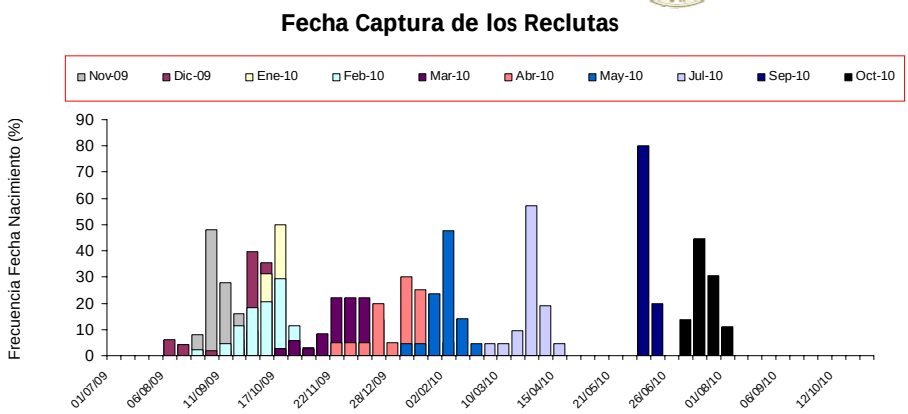
SGEM

↓

Slide Glass Embed Method

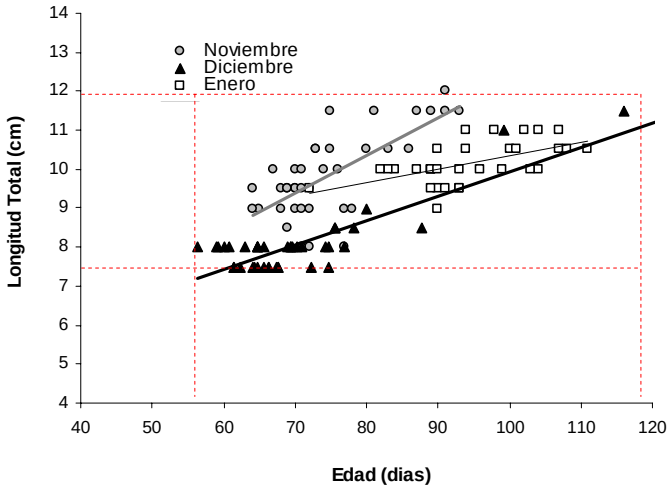
RESULTADOS

Fechas de Nacimiento

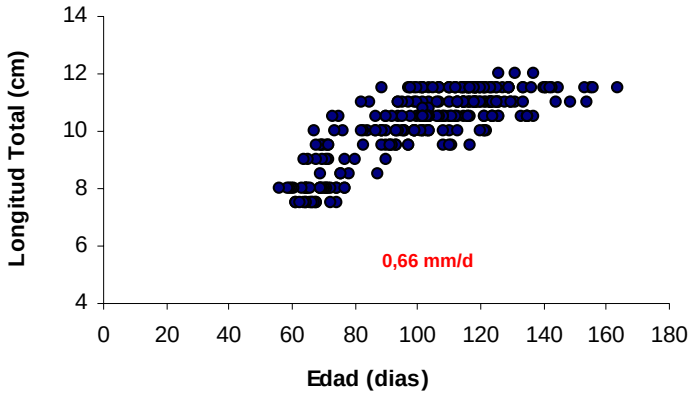


- En un periodo de 3-4 meses los juveniles de *E. ringens* reclutan a la pesquería

Tasas de crecimiento poblacional



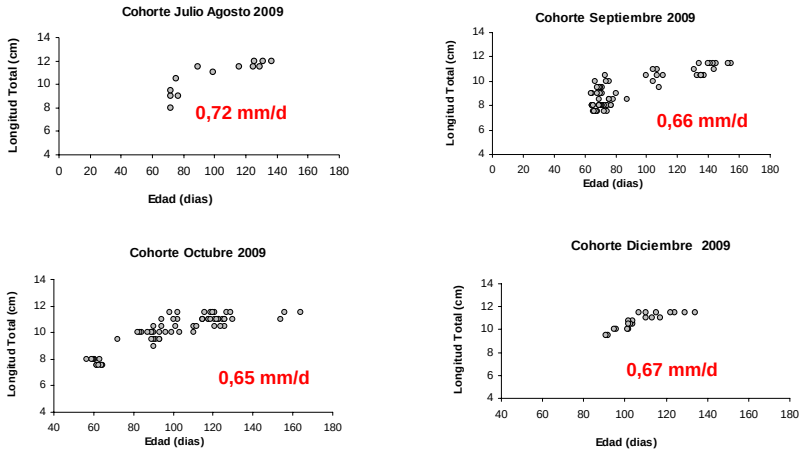
Tasas de crecimiento poblacional



- Crecimiento altamente variable a nivel poblacional

Mes	N	a ± SE	b ± SE	r^2
Nov	38	26,30 ± 1,23	0,97 ± 0,02	0,49
Dec	44	36,79 ± 2,48	0,63 ± 0,03	0,91
Jan	32	68,86 ± 8,57	0,35 ± 0,09	0,33
Total	114	45,21 ± 4,1	0,60 ± 0,05	0,57

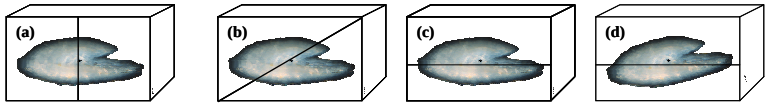
Tasas de crecimiento poblacional



- Crecimiento altamente variable a nivel poblacional, influenciado fundamentalmente por un proceso estacional

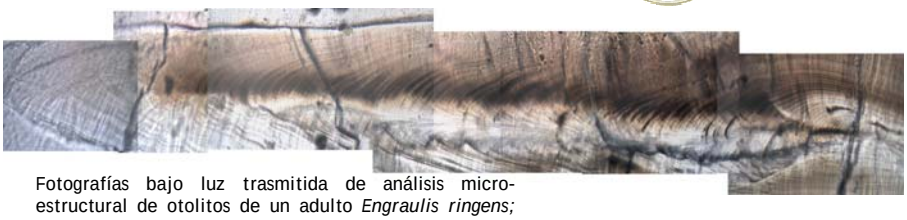
RESULTADOS VALIDACION DEL PRIMER ANULO

Conclusiones y Recomendaciones Generales



- Los micro-incrementos en el borde de los otolitos no aparecen fusionados.
- Se concluyó que a pesar de que el proceso es laborioso, existe potencial de revelar la micro-estructura de adultos de ambas especies, en un estudio que involucre un mayor número de muestras y donde se ensaye combinando reexaminación en los bordes sin pulir, pulido parcial en plano sagital, pulido transversal y pulido longitudinal.
- Todo el pulido debiese estar acompañado de un proceso de toma de fotografías secuenciales que ayuden a la reconstrucción de toda la micro-estructura.

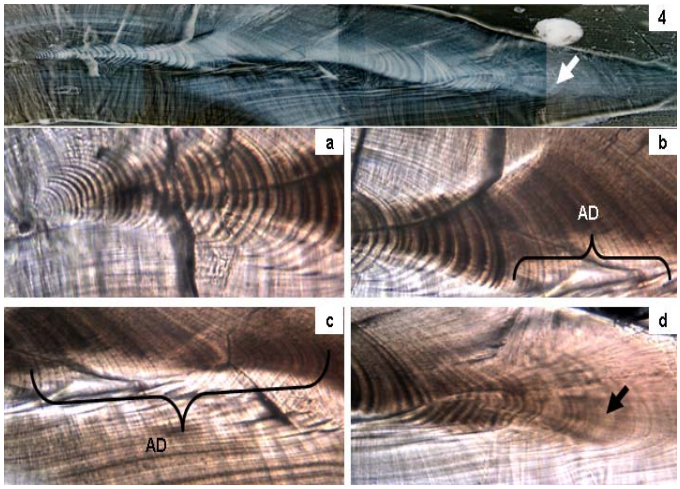
PULIDO LONGITUDINAL

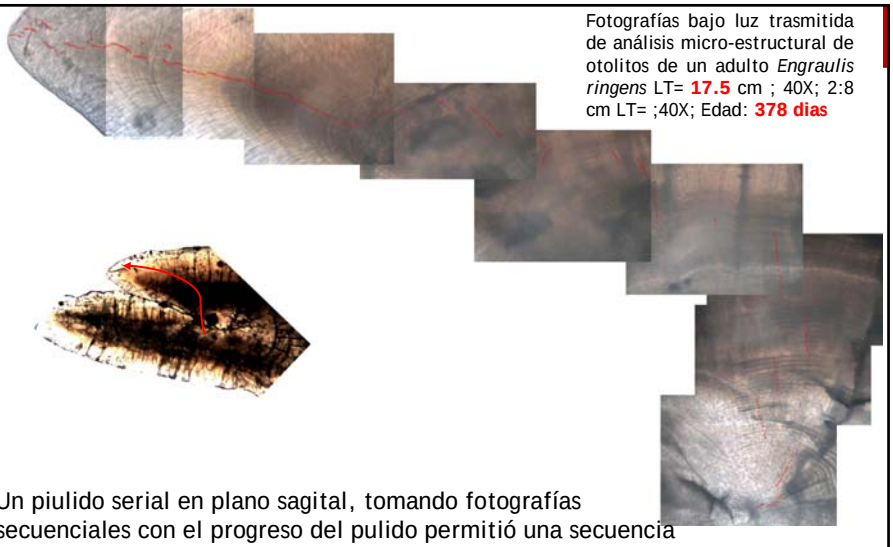


Fotografías bajo luz trasmitida de análisis micro-estructural de otolitos de un adulto *Engraulis ringens;* LT= **17** cm ; 40X.

- A pesar de observar una secuencia completa de incrementos desde el primordio hasta el borde de los otolitos, la interpretación de lo anillos primarios resultó difícil.

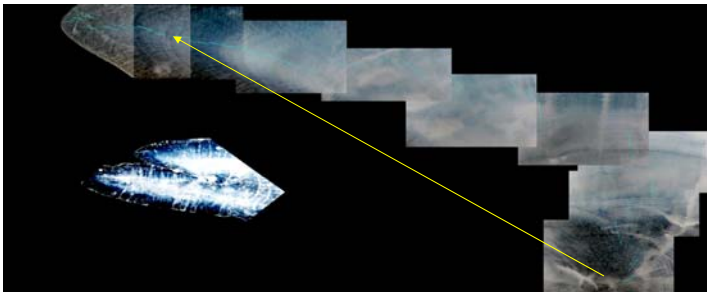
PULIDO TRANSVERSAL





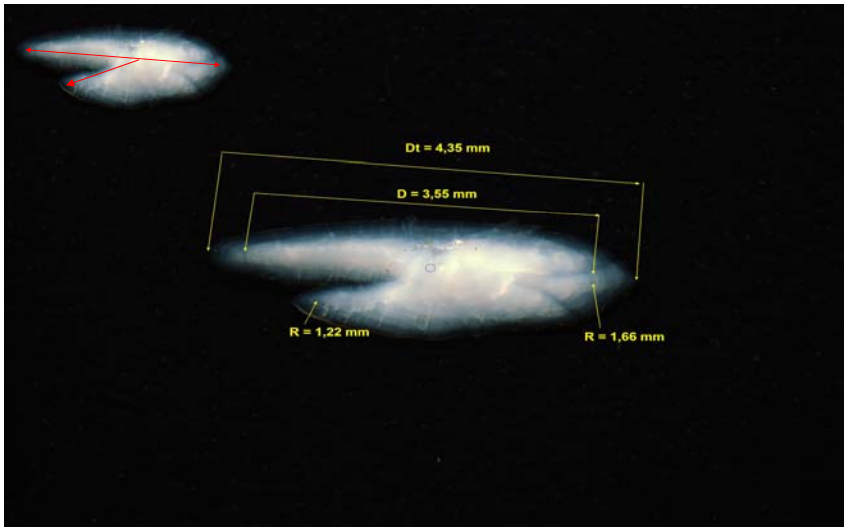
Fotografías bajo luz trasmitida de análisis micro-estructural de otolitos de un adulto *Engraulis ringens* LT= **17.5** cm ; 40X; 2:8 cm LT= ;40X; Edad: **378 dias**

- Un piulido serial en plano sagital, tomando fotografías secuenciales con el progreso del pulido permitió una secuencia completa de micro-incrementos .
- La identificación de los micro-incrementos primarios fue posible siguiendo una trayectoria curva desde el primordio hacia el antirostro.



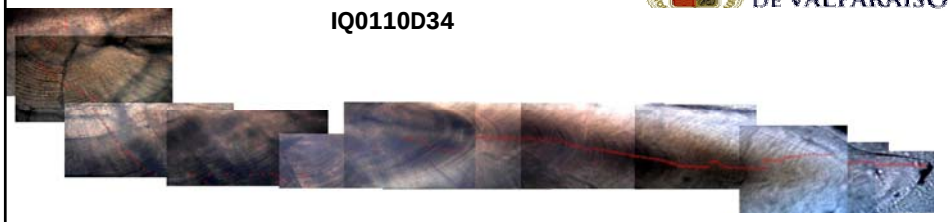
- Hay una disminución marcada del grosor hacia el borde hialino del otolito.
- Permanece la incertidumbre de si los anillos finos (1.5-2.6 micrones) son de periodicidad diaria.
- Los micro-incrementos primarios tienen una mayor probabilidad de periodicidad diaria al menos en la región opaca bajo luz trasmitida

Fotografías bajo luz inducida del par derechos del ejemplar de **17.5** cm de LT



PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATOLICA DE VALPARAISO

IQ0110D34

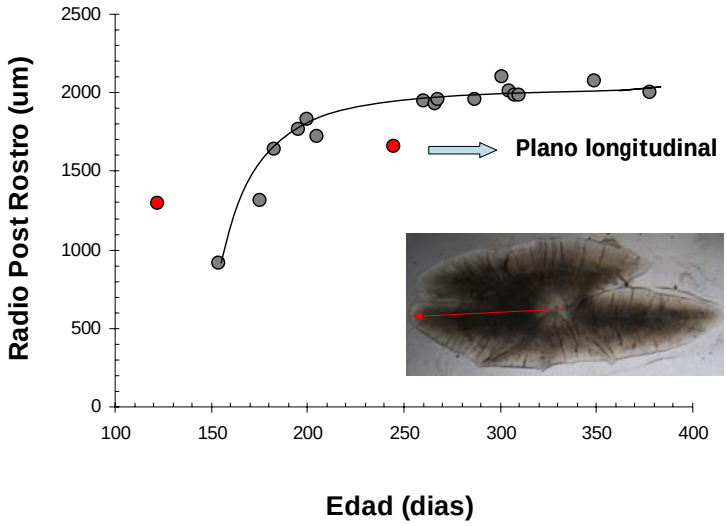


AR1209A1

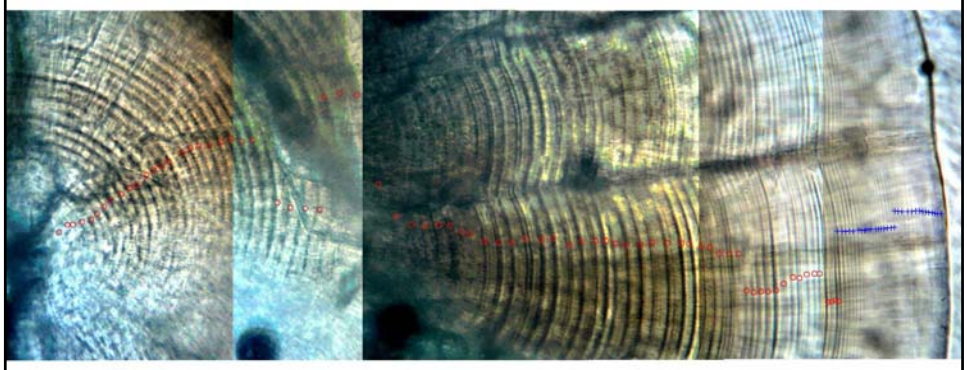
PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATOLICA DE VALPARAISO

AR1107A7

Fotografías bajo luz trasmitida de análisis micro-estructural de otolitos de un adulto *Engraulis ringens* LT= **16** cm ; 40X; 2:8 cm LT= ;40X; Edad: **175 dias**



AR010_C-2



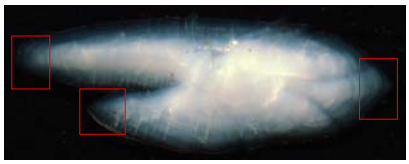
Fotografías bajo luz trasmitida de análisis micro-estructural de otolitos de un adulto *Engraulis ringens* LT= **15** cm ; 40X; 2:8 cm LT= ;40X; Edad: **122 dias**

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATOLICA DE VALPARAISO

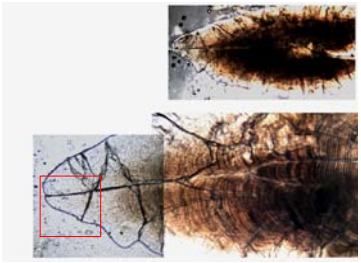
¿Micro-incrementos primarios y/o de periodicidad desconocida en la región hialina de otolitos adultos de *E. ringens*?

- En ausencia de validación hay que buscar evidencias de interpretación.
- Los anillos sub-diarios pueden ser efecto de artefactos visuales debido al sobrepulido y/o reflejar verdaderamente algún proceso de periodicidad circadiana y/o ambiental.

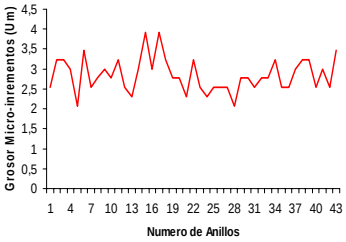
Observación de incrementos primarios de otolitos de adultos de *E. ringens* sin pulir

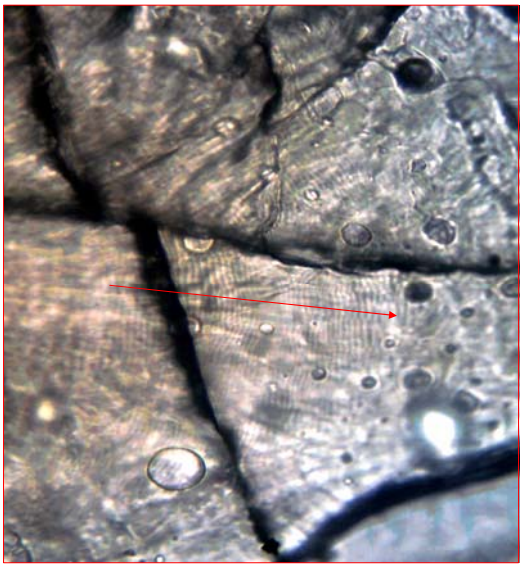


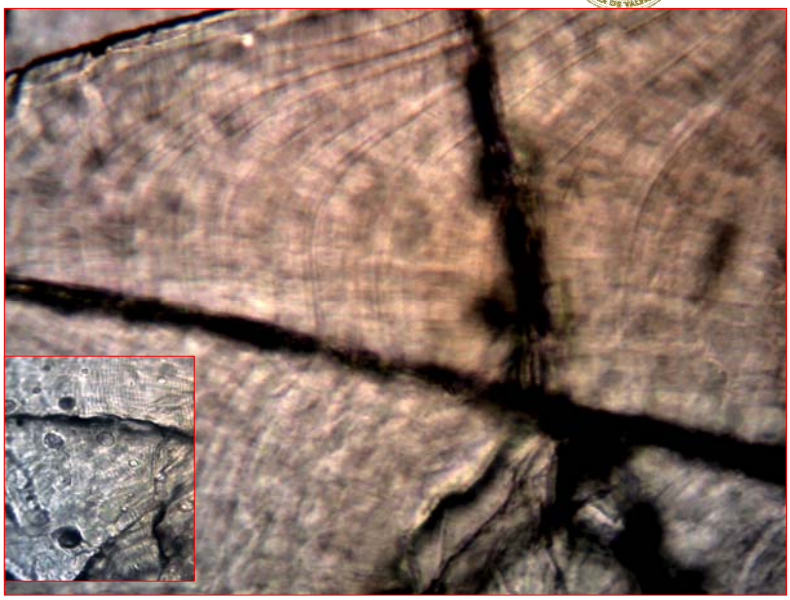
PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATOLICA DE VALPARAISO



ANT0610B25







HALLAZGOS PRINCIPALES

- La resolución de los micro-incrementos fue elevada, particularmente en individuos menores a 12 cm.
- Los hallazgos prelimares evidenciaron que la anchoveta del norte *Engraulis ringens* crece a una tasa diaria promedio de crecimiento (1,2 mm d-1) mayor que las reportadas hasta la fecha en otros engráulidos en los primeros dos meses de vida, donde alcanzó aproximadamente los 8 cm de longitud total (etapa larval y juvenil temprana).
- Integrando la historia de vida larval y juvenil tardía *Engraulis ringens* crece a tasas promedio de entre 0.6-0.7 mm/d.

- En la etapa juvenil tardía (8-12 cm TL), la tasa de crecimiento poblacional fue variable (0.3-0.97 mmd^{-1}).

- La primera zona hialina en juveniles < 8 cm colectados en noviembre y diciembre se inició aproximadamente a los 71 días de vida.

- La distribución de frecuencia de los nacimientos analizados por facha de captura durante un ciclo anual demuestra que la mayoría de los ejemplares recluta a la pesquería a los 3-4 meses de vida.

FIP 2009-17 "Revisión de la asignación por grupo de edad en la anchoveta de la zona norte"

TALLER INTERNO – DISCUSIÓN DE RESULTADOS

ASISTENCIA

Valparaíso, Martes 18 de enero del 2011
Auditórium – IFOP Valparaíso

Nombre	Institución	Firma
1.- Zaida Young	IFOP	
2.- Cecilia Machuca R.	IFOP	
3.- H. Gabriela Böhm St.	IFOP	
4.- Patricio Barría M	IFOP	
5.- Anzelica Lopez A.	IFOP	
6.- Rodolfo Serra B.	IFOP	
7.- Velma Ojeda C.	IFOP	
8.- Lizandro Muñoz R.	IFOP	
9.- Elson Leal F.	IFOP	
10.- Francisco Cerda	IFOP	
11.- Guillermo Plaza P.	ECM - PUCV	
12.-		
13.-		
14.-		
15.-		

TALLER OFICIAL DE DIFUSIÓN DE RESULTADOS DEL FIP 2009-17.

Este taller se realizó en el Auditórium “Marco Espejo Vidal” del Instituto de Fomento Pesquero el 13 de abril del 2011.

Principales Observaciones emanadas de la discusión de Resultados.

La mayoría de las intervenciones estuvieron enfocadas en esclarecer los procedimientos metodológicos que dieron como resultado el elevado crecimiento que se muestra para juveniles y adultos de anchoveta no reportado antes.

Se hace mención a la posibilidad de que esto sea una situación particular que pudiera estar gavillada por las condiciones ambientales del año en que se realizó el estudio, por lo cual se sugiere la necesidad de realizar un estudio que permita comparar años con distintas condiciones ambientales, como años NINO y NIÑA.

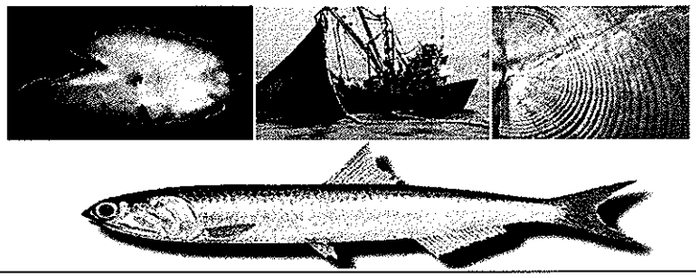
Se indica la necesidad de estar absolutamente seguro que la anchoveta presenta el patrón de crecimiento mostrado, ya que el impacto en la evaluación de stock del recurso sería significativo.

En este mismo contexto se indica la necesidad de realizar experimentos de validación de los anillos que se indican como diarios en este estudio, tanto para peces juveniles como también adultos, sobre todo en estos últimos donde puede existir fusión de anillos diarios.

Representantes de la Subsecretaría de Pesca, informan que durante la próxima semana se someterá a concurso público un Proyecto de SUBPESCA que tiene como propósito la validación de la anchoveta de la zona norte. La decisión de someter a concurso este Proyecto fue motivada por conocimiento que ya se tenía de los resultados alcanzados por el FIP 2009-17. Este nuevo proyecto sería como un estudio de continuidad para zanjar las dudas que surgieron, muchas de ellas planteadas en este taller.

Se adjunta Programa del Taller y listado de participantes.

TALLER DE PRESENTACIÓN DE RESULTADOS



F I P

INSTITUTO DE FOMENTO PESQUERO

Proyecto FIP 2009-17

"Revisión de la asignación por grupo de edad en la anchoveta de la Zona Norte"

Valparaíso, miércoles 13 de abril de 2011

Auditórium *"Marcos Espejo Vidal"* – IFOP

(Alte. Manuel Blanco Encalada 839, Subterráneo, Valparaíso)

P R O G R A M A

09:45 a 10:00	Recepción de participantes (Jefe de proyecto)	Sr. Francisco Cerna T. - IFOP
10:00 a 10:15	Bienvenida y Presentación del Proyecto FIP 2009-17	Sr. Francisco Cerna T. - IFOP
10:15 a 11:00	Microestructura del otolito, validación del primer *annulus* y estimación de fechas de nacimiento (Objetivos 1 y 2)	Sr. Guido Plaza P.- ECM-PUCV
11:00 a 11:15	*C a f é*	
11:15 a 12:00	Macroestructura del otolito, revisión de los criterios utilizados para asignar grupo de edad y comparación de éstos con los empleados en otras pesquerías (Objetivos 3 y 4),	Sr. Francisco Cerna T. - IFOP
12:00 a 12:30	Discusión de Resultados	
12:30	Cierre	

INSTITUTO DE FOMENTO PESQUERO

TALLER

Proyecto FIP 2009-17

"Revisión de la asignación por grupo de edad en la anchoveta de la Zona Norte"

Fecha: Miércoles 13 abril de 2011
Lugar: Auditórium IFOP "*Marcos Espejo Vidal*", Valparaíso

Nombre	Institución	Firma
1 Juan C. Saavedra Nuñez	IFOP	
2 Zaida Young	IFOP	
3 M. Gabriela Böhm	IFOP	
4 Cecilia Machuca R.	IFOP	
5 Amelia López A.	IFOP	
6 Vilma Ojeda C	IFOP	
7 MAUÑ ZAVARSO	FIP	
8 Eduardo Reyes F	Periodista	
9 Patricio Alvarez	SHOA/CONA	
10 Silvia Hernandez	SSP	
11 Victor Espejo	SSP	
12 Jose R. Catrin	Corpesca S.A	
13 Jose L. Blanco	Inpesmar	
14		
15		
16		
17		
18		
19		
20		

A N E X O V

Dedicación horaria del equipo de trabajo
FIP N° 2009-17

DEDICACIÓN HORARIA DEL EQUIPO DE TRABAJO
FIP N° 2009-17

DEDICACIÓN HORARIA DEL PERSONAL PROFESIONAL Y TÉCNICO (HH)

OBJETIVO GENERAL

IFOP PERSONAL	ACTIVIDAD							TOTAL
	Muestreo y Levantamiento de Información	Preparación y Análisis de la Micro-estructura	Verificación de la edad de individuos	Revisión de Criterios de Asignación de Edad	Comparación de los Criterios con Otros	Talleres	Informes	
F. Cerna		60	340	420	183	100	220	1323
V. Ojeda				120	44	70	30	264
C. Machuca			400	600	44	30		1074
R. Serra				50	50	30	43	173
A. Lopez			350	320	10			680
L. Muñoz			50	100				150
J. C. Saavedra							40	40
C. Gaspar	390							390
Total	390	60	1140	1610	331	230	333	4094

PUCV PERSONAL	ACTIVIDAD							TOTAL
	Muestreo y Levantamiento de Información en Terreno	Preparación y Análisis de la Micro-estructura de Otolito	Verificación de la edad de individuos de 1 año	Revisión de Criterios de Asignación de Edad	Comparación de los Criterios con Otros Pelágicos	Talleres	Informes	
G. Plaza		300		50	100	75	75	600
G. Moyano		1200						1200
Daisy Carreño		1200						1200
Total		2700		50	100	75	75	3000

IFOP y PUCV PERSONAL	ACTIVIDAD							TOTAL
	Muestreo y Levantamiento de Información en Terreno	Preparación y Análisis de la Micro-estructura de Otolito	Verificación de la edad de individuos de 1 año	Revisión de Criterios de Asignación de Edad	Comparación de los Criterios con Otros Pelágicos	Talleres	Informes	
Total	390	2760	1140	1660	431	305	408	7094

OBJETIVO 1

IFOP PERSONAL	ACTIVIDAD							TOTAL
	Muestreo y Levantamiento de Información en Terreno	Preparación y Análisis de la Micro-estructura de Otolito	Verificación de la edad de individuos de 1 año	Revisión de Criterios de Asignación de Edad	Comparación de los Criterios con Otros Pelágicos Pelágicos	Talleres	Informes	
F. Cerna		60				25	45	130
V. Ojeda								
C. Machuca								
R. Serra								
A. Lopez								
L. Muñoz								
J. C. Saavedra								
C. Gaspar	195							195
Total	195	60				25	45	325

PUCV PERSONAL	ACTIVIDAD							TOTAL
	Muestreo y Levantamiento de Información en Terreno	Preparación y Análisis de la Micro-estructura de Otolito	Verificación de la edad de individuos de 1 año	Revisión de Criterios de Asignación de Edad	Comparación de los Criterios con Otros Pelágicos Pelágicos	Talleres	Informes	
G. Plaza		150						150
G. Moyano		600						600
Daisy Carreño		600						600
Total		1350						1350

OBJETIVO 2

IFOP PERSONAL	ACTIVIDAD							TOTAL
	Muestreo y Levantamiento de Información en Terreno	Preparación y Análisis de la Micro-estructura de Otolito	Verificación de la edad de individuos de 1 año	Revisión de Criterios de Asignación de Edad	Comparación de los Criterios con Otros Pelágicos Pelágicos	Talleres	Informes	
F. Cerna			340			25	45	410
V. Ojeda				40		40		80
C. Machuca			400					400
R. Serra								
A. Lopez			350					350
L. Muñoz			50					50
J. C. Saavedra							20	20
C. Gaspar								
Total			1140	40		65	65	1310

PUCV PERSONAL	ACTIVIDAD							TOTAL
	Muestreo y Levantamiento de Información en Terreno	Preparación y Análisis de la Micro-estructura de Otolito	Verificación de la edad de individuos de 1 año	Revisión de Criterios de Asignación de Edad	Comparación de los Criterios con Otros Pelágicos	Talleres	Informes	
G. Plaza		150						150
G. Moyano		600						600
Daisy Carreño		600						600
Total		1350						1350

OBJETIVO 3

IFOP PERSONAL	ACTIVIDAD							TOTAL
	Muestreo y Levantamiento de Información en Terreno	Preparación y Análisis de la Micro-estructura de Otolito	Verificación de la edad de individuos de 1 año	Revisión de Criterios de Asignación de Edad	Comparación de los Criterios con Otros Pelágicos Pelágicos	Talleres	Informes	
F. Cerna				420		25	85	530
V. Ojeda				80		10	30	120
C. Machuca				600	30	30		660
R. Serra				50		30	43	123
A. Lopez				320				320
L. Muñoz				100				100
J. C. Saavedra							20	20
C. Gaspar	195							
Total	195			1570	30	95	178	1873

PUCV PERSONAL	ACTIVIDAD							TOTAL
	Muestreo y Levantamiento de Información en Terreno	Preparación y Análisis de la Micro-estructura de Otolito	Verificación de la edad de individuos de 1 año	Revisión de Criterios de Asignación de Edad	Comparación de los Criterios con Otros Pelágicos	Talleres	Informes	
G. Plaza				50	50	25	25	150
G. Moyano								
Daisy Carreño								
Total				50	50	25	25	150

OBJETIVO 4

IFOP PERSONAL	ACTIVIDAD							TOTAL
	Muestreo y Levantamiento de Información en Terreno	Preparación y Análisis de la Micro-estructura de Otolito	Verificación de la edad de individuos de 1 año	Revisión de Criterios de Asignación de Edad	Comparación de los Criterios con Otros Pelágicos	Talleres	Informes	
F. Cerna					183	25	45	253
V. Ojeda					44	20		64
C. Machuca								
R. Serra					50			50
A. Lopez								
L. Muñoz								
J. C. Saavedra					24			24
C. Gaspar								
Total					301	45	45	391

PUCV PERSONAL	ACTIVIDAD							TOTAL
	Muestreo y Levantamiento de Información en Terreno	Preparación y Análisis de la Micro-estructura de Otolito	Verificación de la edad de individuos de 1 año	Revisión de Criterios de Asignación de Edad	Comparación de los Criterios con Otros Pelágicos	Talleres	Informes	
G. Plaza					50	50	50	150
G. Moyano								
Daisy Carreño								
Total					50	50	50	150

A N E X O VI

Base de Datos FIP N° 2009-17 (CD)

BASE DATOS PROYECTO

FIP 2009-17

Revisión de la asignación por grupo de edad en la anchoveta de la zona norte

COD_PROYEC	ARCH	DESCRIPCIO
09-17	EDADJUNV.DBF	Contiene datos edad juveniles
09-17	EDADADUL.DBF	Contiene datos edad adultos
09-17	EDADCREC.DBF	Contiene datos edad empleados en el ajuste de curva de crecimiento

Nomenclatura de Campos de cada archivo

Archivo: "EDADJUNV.dbf"

CAMPO	SIGNIFICADO
DIA	día de captura
MES	mes de captura
AÑO	Año de captura
LANCE	Lance de pesca (cuando el muestreo fue a bordo)
PUERTO	Equivale a zona de pesca, cuyos límites se entregan en Informe
LATITUD	Latitud de la zona de pesca
LONGITUD	Longitud de la zona de pesca
ID_CARTON	Identificador del cartón que contiene los otolitos
N°_MUESTRA	Número de registro del otolito en el cartón que lo contiene
NOMBRE_BAR	Nombre de la embarcación donde fue tomada la muestra de peces
TALLA	Longitud total del pez en centímetros
SEXO	Sexo de cada pez: 1= machos; 2= hembras; 3=indeterminado 0=no observado.
MADUREZ	Estado de madurez la gónada del pez: 0=no observado;1=virginal; 2=inicio de madurez; 3=madurez avanzada.
TIPO_NUCLE	Núcleo opaco (O): Núcleo Hialino (H)
NÚMERO_ANI	Número de anillos macroscópicos
TIPO_BORDE	Anillo que se encuentra en el borde del otolito: H=hialino grande; h=hialino pequeño; O=opaco grande; o=opaco pequeño
EDAD	Edad anual (años de vida del pez)
CALIDAD	Calidad de la lectura anual MB= muy buena; B=buena; R=regular y M=mala
DT	Diámetro o longitud del otolito entero
D1, 2 …	Diámetro de cada anillo de crecimiento anual
RT	Distancia desde el núcleo al borde de la zona caudal del otolito
R1,2…	Distancia desde el núcleo a cada anillo anual
ETIQUETA_P	Código asignado al portaobjeto que contiene el otolito
EDAD_DÍAS	Número de anillos diarios estimados
RT_(UM)	Distancia desde el primordio al borde de la zona caudal del otolito pulido en micras
R1 (UM)	Distancia desde el primordio al anillo diario 1 (um)
R2(UM)	Distancia desde el primordio al anillo diario 2 (um)
R3(UM); R4…etc	Distancia desde el primordio a cada anillo diario (um)

Archivo: "EDADADUL.dbf"

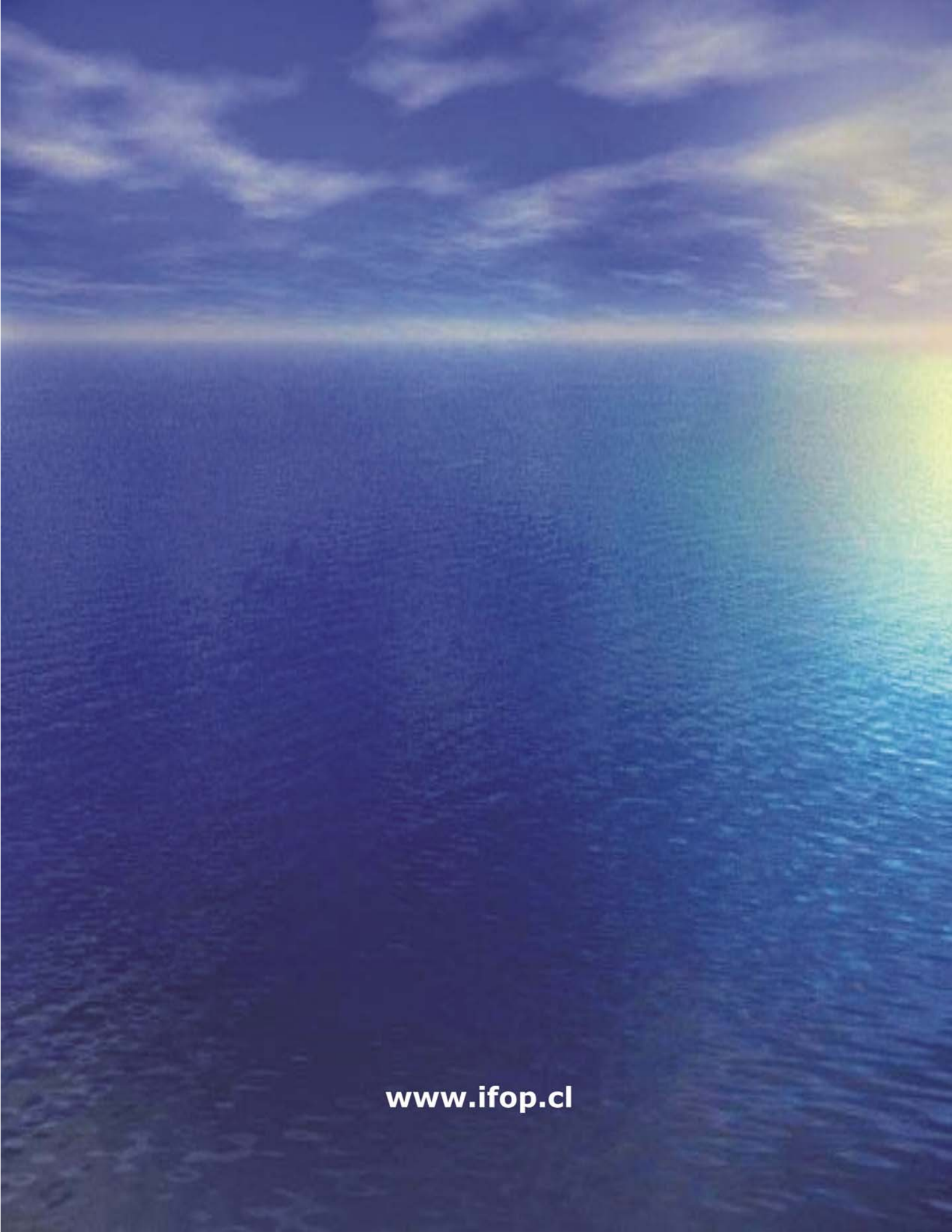
CAMPO	SIGNIFICADO
ETIQUETA_P	Código asignado al portaobjeto que contiene el otolito
POSICION	Tipo de preparación del otolitos para micro-estructura
EDAD_DIA	Estimación de edad diaria en número de microincrementos
LONG_TOTAL	Longitud total del pez (cm)
RM	Distancia mayor del otolito. Desde el rostro al cauda
RR	Distancia desde el núcleo hacia el rostro del otolito
RRCV	Distancia desde el núcleo hacia el anti-rostro del otolito
ERCV	Edad en número de micro-incrementos contabilizadas desde el primordio al anti-rostro del otolito
DIA	día de captura
MES	mes de captura
AÑO	Año de captura
FECHA_CAPT	Fecha de captura del pez
FECHA_DE_N	Fecha de nacimiento del pez
LANCE	Lance de pesca (cuando el muestreo fue a bordo)
PUERTO	Puerto de pesca. Equivalente a la zona de pesca, cuyos limites se indican en el Informe
LATITUD	Latitud de la zona de pesca
LONGITUD	Longitud de la zona de pesca
ID_CARTON	Identificador del cartón que contiene los otolitos
N°_MUESTRA	Número de registro del par de otolitos presentes en el cantón
BARCO	Nombre del barco
SEXO	Sexo de cada pez: 1= machos; 2= hembras; 3=indeterminado 0=no observado
MADUREZ	Estado de madurez la gónada del pez: 0=no observado;1=virginal; 2=inicio de madurez; 3=madurez avanzada; 4=hidratado;6=desovado
NºANILLOS	Número de anillos macroscópicos
BORDE	Anillo que se encuentra en el borde del otolito, lectura macroscópica: H=hialino grande; h=hialino pequeño; O=opaco grande; o=opaco pequeño
EDAD_AN	Edad macroscópica del pez (anual)
CALIDAD	Calidad de la lectura anual MB= muy buena; B=buena; R=regular y M=mala
DT	Diámetro máximo del otolito (desde rostro a cauda)
D1, D2 ....Dn	Diámetro de cada macroanillo

Archivo: "EDADCREC.dbf"

CAMPO	SIGNIFICADO
ZONA	Zona de pesca: 1=Arica; 3 = Iquique; 7= Antofagasta
DIA	día de captura
MES	mes de captura
AÑO_	Año de captura
LONG_TOTAL	Longitud total del pez
LEGIBILIDA	Calidad de la Lectura MB=muy bueno; B=bueno; R=regular; M=malo
Nº_ANILLOS	Número de anillos macroscópicos
BORDE	Anillo que se encuentra en el borde del otolito, lectura macroscópica: H=hialino grande; h=hialino pequeño; O=opaco grande; o=opaco pequeño
EDAD	Edad macroscópica del pez (anual)
G._E.C.	Grupo de edad cronológico (Fecha cumpleaños 1 enero)
G._E._B.	Grupo de edad biológico (Fecha cumpleaños 1 julio)
IM.	Incremento marginal. Ancho relativo del borde opaco en el otolito
ID _ CARTÓN	Identificador del cartón que contiene los otolitos
N°_REGISTR	Número de registro del par de otolitos presentes en el cantón
ESTADO_MAD	Estado de madurez la gónada del pez: 0=no observado;1=virginal; 2=inicio de madurez; 3=madurez avanzada; 4=hidratado;6=desovado
BARCO	Nombre del barco
SEXO	Sexo de cada pez: 1= machos; 2= hembras; 3=indeterminado 0=no observado
LATITUD	Latitud de la zona de pesca
LONGITUD	Longitud de la zona de pesca

IFOP
INFORME FINAL
FIP N° 2009-17
ANEXO VI
- BASE DE DATOS
Revisión de la asignación por grupo de edad en la anchoveta de la zona norte
Noviembre, 2011

INSTITUTO DE FOMENTO PESQUERO
Sección Ediciones y Producción
Almte. Manuel Blanco Encalada 839
Fono 56-32-2151500
Valparaíso, Chile
www.ifop.cl


www.ifop.cl