

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAÍSO
FACULTAD DE RECURSOS NATURALES
ESCUELA DE CIENCIAS DEL MAR

Caracterización del crecimiento de juveniles de anchoveta (*Engraulis ringens*) en condiciones de confinamiento en la zona Norte de Chile.

Proyecto para optar al título de Ingeniero Acuicultor
Por
Yacolén Roxana Cerpa Espinoza

Valparaíso
2014

Comité de Titulación:

Profesor Guía : Sr. Guido Plaza P.

Profesor : Sr. José Gallardo

Profesor : Sr. Eleuterio Yáñez

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

Valparaíso, 10 de marzo de 2014

ACTA DE REVISION DE PROYECTO DE TITULO

De : Guido Plaza P. - Profesor Guía
Para : Mariel Campalans B. - Jefe de Docencia
Asunto : Acta de Revisión de Proyecto de Título

Con fecha 10 de marzo de 2014, el Comité de Revisión se reunió para evaluar el proyecto de título de, de la alumna Yacolén Roxana Cerpa Espinoza de la carrera de Ingeniería en Acuicultura, denominado "**Caracterización del crecimiento de juveniles de anchoveta *Engraulis ringens* en condiciones de confinamiento en el norte de Chile**"

Resolución:

- ❖ La comisión ha destacado favorablemente la contribución que ha efectuado este trabajo para develar aspectos del crecimiento en condiciones de confinamiento de la anchoveta *Engraulis ringens*, un recurso de gran importancia comercial para Chile. Se destaca también la potencial contribución de los hallazgos para estudios futuros, que se orienten a desarrollar procedimientos de cultivo de peces pelágicos pequeños.
- ❖ El proyecto de título ha sido evaluado con nota 6.8 por la comisión, autorizándose la impresión y empaste de la copia final del documento, donde deberán incorporarse las correcciones efectuadas durante el procedimiento de revisión.

Eleuterio Yáñez R.
Comité de Tesis

José Gallardo M.
Comité de Tesis

Guido Plaza P.
Profesor Guía

AUTORIZACIÓN DE USO

Al presentar este Proyecto como último requisito para la obtención del título de Ingeniero Acuicultor, autorizo a la biblioteca de la Escuela de Ciencias del Mar de la Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, para que disponga libremente de ella. Autorizo además reproducciones parciales o totales de este Proyecto sólo con fines académicos.

Yacolén Roxana Cerpa Espinoza

DEDICATORIA

“Todo lo puedo en Cristo que me fortalece” Filipenses 4:13.

AGRADECIMIENTOS

Al Sr. Guido Plaza P., profesor guía de este Proyecto por su inmenso apoyo en la realización del presente proyecto de título, además por su confianza, paciencia y sus consejos en cada conversación tenida durante este proceso, y por sobre todo a su humildad y sencillez que hoy en día es difícil de encontrar en las personas.

A los profesores de la comisión evaluadora, profesores José Gallardo y Eleuterio Yáñez quienes tuvieron la paciencia de ser parte de la corrección de este proyecto.

Al Departamento de Servicio Social de la PUCV desde el Director David Letelier hasta los auxiliares. Sobre todo a sus secretarias Alejandra, Rosita Gloria, Sandra, la contadora Jobita y los asistentes sociales en particular a Mauricio Salazar quien me brindó todo su apoyo y ayuda durante mi período académico.

Al Laboratorio de ecología marina aplicada a sus miembros participantes Alejandra Hernández y mi gran amigo Omar.

Al Señor por haberme puesto en este lugar, por haberme dado las fuerzas, fortaleza, capacidades y coraje para acabar esta ardua etapa.

A mi mamá por darme todo su amor, las herramientas y las fuerzas para terminar este proceso y a mi papá que ya no se encuentra conmigo en este mundo, pero sé que se sentiría muy orgulloso de mí en este momento.

A mis hermanas Rayén, Millarai y Cindy Amapola por ser las mejores y por darme ánimo en cada caída que me tocó levantarme en este largo proceso.

A Alejandro Barrientos por haberme soportado con su infinita paciencia cada momento de estrés que me causó este proceso.

A mis amigas de infancia Cristina, Melanie, Daniela Azúa y en especial a mis consejeras académicas Beatriz y Melissa quienes con sus consejos me ayudaron que terminara esta tarea.

A mis compañeros y amigos de la Carrera quienes me acompañaron en cada momento de alegría y penuria. A los que me dejaron a mitad de camino pero los llevo en mi corazón Melinka Del Valle, Natalia Arancibia, Jano, Claudia Díaz, Arturo Leyton, Jeniffer Pereira, Angélica y Jean Guy. A los que me acompañaron durante los últimos momentos de esta etapa Begonia, Omar, Pily, Iván Quesada, Iván Cabello, Gonzalo Duarte, Ale Cañete, Amilcar y Orlando Recabarren. En especial a mí querido compañero, profesor o ayudante y amigo Javier Araneda quien con su paciencia me brindó su ayuda en cada una de las asignaturas impartidas hasta llegar al término de mi proceso de tesis.

Finalmente a todas aquellas personas que luchan por una educación gratuita y de calidad.

CONTENIDO

	Pág.
COMISIÓN DEL PROYECTO DE TITULO	i
	ii
ACTA DE REVISIÓN DE PROYECTO DE TITULO	iii
AUTORIZACIÓN DE USO	iv
DEDICATORIA	v
AGRADECIMIENTOS	vi
CONTENIDO	viii
INDICE DE TABLAS	ix
INDICE DE FIGURAS	xi
RESUMEN	xii
ABSTRACT	
1. INTRODUCCIÓN	1
	3
2. OBJETIVOS	3
2.1 Objetivo general	3
2.2 Objetivo específicos	4
3. ANTECEDENTES	4
3.1 De la especie	5
3.2 Del otolito	8
3.3 De la lectura de los otolios	12
3.4 Retro-calculo	

3.5 Modelos de crecimientos curvilíneos	14
3.6 Tasas de Crecimiento	15
3.7 Análisis estadístico	17
4. METODOLOGÍA	17
4.1 Producción de juveniles en cautiverio	17
4.2 Caracterización de la micro-estructura de otolitos	20
4.3 Determinación del crecimiento de juveniles de anchoveta	23
4.4 Determinación de la relación de edad y crecimiento por técnicas de retro-calculo	24
5. RESULTADOS	29
5.1 Caracterización de la micro-estructura de otolitos	29
5.2 Determinación del crecimiento de juveniles de anchoveta	31
5.3 Determinación de la relación de edad y crecimiento por técnicas de Retro-calculo	34
6. DISCUSIÓN	40
6.1 Caracterización de la micro-estructura de otolitos	40
6.2 Determinación de la relación de edad y crecimiento por técnica de Retro-calculo	41
7. CONCLUSION	43
8. REFERENCIAS	44

INDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Clasificación de los métodos de validación propuestos por Campana (2001)	11
Tabla 2. Validación de micros-incrementos diarios en otolitos de individuos de clupeiformes	12
Tabla 3. Parámetros del modelo de Gompertz ajustado a datos retro-calculados de longitud de juveniles <i>E. ringens</i> , mantenidos en condiciones de confinamiento en el norte de Chile	35
Tabla 4. Análisis multivariado de medidas repetidas en juveniles de <i>Engraulis ringens</i> , para evaluar diferencias significativas en las tasas de crecimiento retro-calculadas en la etapa de cultivo mesocosmo y después del mesocosmo	38
Tabla 5. Análisis multivariado de medidas repetidas en juveniles de <i>Engraulis ringens</i> , para evaluar diferencias significativas en el grosor de los micros-incrementos diarios en la etapa la etapa de cultivo mesocosmo y después del mesocosmo	39

INDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Ejemplar de <i>Engraulis ringens</i>	5
Figura 2. Ilustración de la ubicación de los otolitos en el oído interno del pez	6
Figura 3. (1 y 2) Ilustración bajo microscopio óptico de la microestructura de otolitos sagita de juveniles <i>Sardinops melanosctitus</i> ; (3) fotografía ilustrativa del primordio (p), marca de eclosión (me), marca de primera alimentación (pa) de un otolito sagita de la especie <i>Clupeido etremeus teres</i> ; (4) ilustración de la sección frontal de un juvenil de <i>Sebastes inermis</i> dónde se muestra los centros secundarios de crecimiento (csc); (5) imagen representativa de una sección sagital que muestra la marca de asentamiento (ma) y la marca de post asentamiento (pa) de un otolito de la especie <i>Sebastes inermis</i>	8
Figura 4. Fotografía ilustrativa del método SGEM.(A) imagen de la aplicación de la cera termoplástica; (B) ilustración resina de dos componentes en partes iguales; (C) figura ilustrativa de la mezcla de los componentes de la resina epóxica; (D y E) fotografía del montaje del otolio	10
Figura 5. Relación lineal entre el crecimiento del pez y del otolito, es el principio de la dependencia lineal, base para la utilización de la técnica de retro-cálculo	13
Figura 6. Ilustración del colector de huevos de anchovetas	17
Figura 7. Ilustración del estanque de cultivo en mesocosmo para larvas de <i>Engraulis ringenes</i>	18
Figura 8. Fotografía ilustrativa del cultivo semi-intensivo de juveniles de anchovetas	19
Figura 9. Microscopio óptico conectado al analizador de imágenes DIGIPRO 2	20
Figura 10. Reconstrucción de la imagen completa de un otolito de anchoveta a un magnificación de 40X	21
	22
Figura 11. Ilustración del conteo de anillos diarios desde el núcleo hasta el borde del otolito de <i>Engraulis ringens</i> , utilizando el programa Image-Pro Plus. Aumento 20x	22

Figura 12. Imagen de un otolito de anchoveta dónde: (a) largo total del otolito (LTO) y radio caudal (RC) y (b) la marca de eclosión (ME) y marca de la primera alimentación (MA). Aumentos 10X y 20X	29
Figura 13. Ilustración de un otolito de un juvenil de <i>Engraulis ringens</i> de 4,7 cm, que muestra las partes de la cara externa: rostro, antirostro, postrosto, excisura y borde anteroventral y anterodorsal. Aumento 10X	30
Figura 14. Fotografía de un otolito juvenil de anchoveta, donde se observa visiblemente en A) primordio (PR) y en B) marca de eclosión (ME) y marca de primera alimentación (MPA). Aumento 20x	31
Figura 15. Fotografía de la micro-estructura de un otolito de <i>Engraulis ringens</i> a una magnificación de 20x. (a) ilustración de las tres zonas características y (b) ilustración de la presencia de anillos subdiarios (ASD).	32
Figura 16. Relación longitud total (mm) y edad total en días de los juveniles de anchoveta del norte	32
Figura 17. Relación entre el peso total (g) y la edad en días de los juveniles de <i>Engraulis ringens</i>	33
Figura 18. Tasa de crecimiento absoluta (mmd^{-1}) de juveniles de <i>Engraulis ringens</i> mantenidos en confinamiento	34
Figura 19. Relación entre longitud total (cm) y peso total (g) de juveniles de anchoveta	35
Figura 20. Relación entre longitud del pez (mm) y longitud del otolito (μm) de los juveniles de <i>Engraulis ringens</i>	36
Figura 21. Longitud promedio retro-calculada (-) y longitud ajustada al modelo de Gompertz (-) para juveniles de anchoveta	37
Figura 22. Longitud retro-calculada (mm) (-), tasa de crecimiento instantánea (mmd^{-1}) (-) y la tasa de crecimiento absoluta al punto de inflexión (TCA_{pi}) de juveniles de anchovetas ajustados al modelo de crecimiento de Gompertz	38
Figura 23. Tasas de crecimiento retro-calculadas medias en la etapa de mesocosmo y pos-mesocosmo, considerados desde el día dos después de la eclosión hasta los 75 días de vida	39
Figura 24. Grosos medios de los micros-incrementos diario en la etapa de mesocosmo y pos-mesocosmo a los 75 días de vida	39

RESUMEN

El presente estudio entrega información del crecimiento de juveniles de anchoveta en condiciones de confinamiento donde los individuos fueron mantenidos en dos sistemas de cultivo, uno consistió en un cultivo enriquecido con nutrientes (mesocosmo) y el otro en un sistema de dieta con alimento formulado. El traspaso de un medio a otro se realizó el día 51 pos-eclosión. El crecimiento se determinó mediante el análisis de la microestructura de otolito, específicamente con la lectura de los micro-incrementos diarios. Posterior a ello se utilizó la técnica de retro-cálculo para determinar longitudes previas a cada edad, usando el método del Intercepto Biológico. Las longitudes retro-calculadas se ajustaron significativamente a un modelo de Laird-Gompertz para rangos de entre 2,8 y 53,5mm de LT y edades de entre 2 y 96 días de vida. El ajuste entregó los siguientes parámetros $L_{\infty}=57,7\text{mm}$; $X_0=30,7\text{mm}$; $G=0,038\text{mmd}^{-1}$. Con el ajuste de las longitudes retro-calculadas fue posible determinar las tasas de crecimiento, las que fluctuaron entre $0,17\text{mmd}^{-1}$ y $0,81\text{mmd}^{-1}$ alcanzando la máxima tasa de crecimiento absoluta al punto de inflexión a los 31 días de edad, con un valor de $0,81\text{mmd}^{-1}$. Se compararon las tasas de crecimiento retro-calculadas promedios entre los sistemas de cultivos mesocosmo y post-mesocosmo a través de un análisis de la varianza de medidas repetidas, el mismo procedimiento se siguió con los grosores medios de los micro-incrementos. En ambos se comprobó que existieron diferencias significativas ($p<0,05$) entre el sistema de cultivo mesocosmo y post-mesocosmo. Mediante este análisis de los micro-incrementos del otolito se demostró que utilizando la técnica de retro-calculo, se pueden llegar a estimaciones precisas del crecimiento, lo cual ayuda a contribuir en estudios posteriores de confinamiento de *Engraulis ringens* y otras especies.

Palabras claves: Otolito, anchoveta, sistema de cultivo, retro-cálculo, modelo de Gompertz

ABSTRACT

This study provides information on growth of juvenile anchovy kept under experimental conditions, where individuals were maintained in two culture systems, one consisted of a like-natural enriched culture with nutrients (mesocosm) and the other in a system where juveniles received an artificial diet. The transfer from one medium to another was performed on day 51 after hatching. Growth was determined by otolith microstructure analysis, reading specifically daily micro-increments. Subsequently back-calculation procedures were used to determine previous length-at-age, using the, Biological Intercept Method. Back- calculated lengths significantly fit to a Laird- Gompertz model for ranges between 2.8 and 53.5 mm TL and age between 2 and 96 days. Parameters derived from the model were $L_{\infty} = 57.7$ mm , $X_0 = 30.7$ mm , $G = 0.038$ mmd⁻¹. Individual growth rates were obtained from back-calculated length, which ranged from 0.17 mmd⁻¹ and 0.81 mmd⁻¹ reaching maximum absolute growth rate to the inflection point at 31 days of age, with a value 0.81 mmd⁻¹. Differences between the mean back-calculated growth rates between mesocosm and post-mesocosm were analyzed through repeated measures ANOVA. The same r, procedure was followed for increment with profiles. For both analysis RM ANOVA showed significant differences ($p < 0.05$) in mean growth rates between meso and post-mesocosm. Finally, this study demonstrated that accurate estimates of growth rates could be obtained using otolith micro-structure analysis for this species, which helps contribute to further studies of confinement *Engraulis ringens* and other species.

Keywords: Otolith, anchovy, Cropping system, backcalculation, Gompertz model

1. INTRODUCCIÓN

Las anchovetas son pequeños peces que pertenecen a la familia Engraulidae, que abarca cerca de 145 especies en 17 géneros, distribuidos prácticamente en todos los océanos. Un caso particular corresponde a la anchoveta (*Engraulis ringens*), que se captura en las costas de Perú y Chile, cuya captura global representa una fracción importante de la pesca total mundial de anchoveta (Cubillos *et al.*, 2002; Yamamoto, 2007; Borga *et al.*, 2008; Martín *et al.*, 2008; Gutiérrez *et al.*, 2012). En la zona norte de Chile (I y II Regiones) existe desde fines de la década del 50 una pesquería pelágica industrial orientada a la captura y proceso anchoveta donde esta especie se caracteriza por ser un recurso costero, presentar un rápido crecimiento, ciclo de vida corto y elevada tasa de mortalidad natural, siendo su distribución espacial, biomasa y reclutamiento fuertemente influenciados por factores ambientales (Serra, 1983; Cubillos, 1991). Esta pesquería, aporta un 21,7% del desembarque de pelágicos total del país (Subpesca, 2012), por lo demás es la principal especie utilizada en la elaboración de harina y aceite de pescado. Es importante subrayar que la harina de pescado es el principal insumo en la fabricación del alimento acuícola (FAO, 2012).

Conjuntamente con el desarrollo de la pesquería de ejemplares adultos de anchovetas, también se ha venido desarrollando en las últimas décadas una importante actividad extractiva de post-larvas de esta especie y de otros peces pelágicos pequeños, particularmente asociado al sector pesquero artesanal (Yoo *et al.*, 2002; Yasue *et al.*, 2010). Esta actividad ha estado restringida a países asiáticos y del mar mediterráneo donde las post-larvas son consideradas una exquisitez, por sus propiedades organolépticas, por sus atributos nutricionales, así como también por sus elevados contenidos de calcio. Este escenario ha generado un conflicto de manejo, debido a las posturas divergentes entre los comités científico-técnicos y los pescadores. Por una parte los pescadores sostienen que la pesquería opera sobre estadios larvales que inevitablemente debiesen perecer en condiciones naturales, debido a que la mortalidad natural en estos estados es muy elevada. En contraposición, algunos estudios sugieren que la pesquería vulnera la fracción de post-larvas que tendrían las mayores probabilidades de sobrevivir, debido a la existencia de áreas de crianza en zonas costeras, que es donde principalmente opera la pesquería (Uotani *et al.*, 1994; Yasue *et al.*, 2005; Plaza *et al.*, 2008).

La gran presión sobre la anchoveta silvestre, tanto en sus estadios tempranos como en fase adulta, podrían en parte ser soslayada si este recurso pudiese ser cultivado masivamente en condiciones de confinamiento. Estudios orientados a procesos de validación de edad han demostrado que la anchoveta logra aclimatarse a condiciones de cultivo y por consiguiente ser un recurso potencial para ser producido masivamente (Cermeño, 2003; Espinoza, 2005 y 2009; Aldanondo *et al.*, 2008; Catcoparco, 2010; Namiki *et al.*, 2010). No obstante, aún se requiere avanzar en muchos aspectos relacionados con el proceso de sobrevivencia de condiciones experimentales. Adicionalmente, es importante destacar que las últimas décadas ha existido también un desarrollo creciente de cultivos semi-intensivos de tónidos, las que requieren principalmente alimento vivo para su desarrollo. En este contexto, avanzar en el desarrollo de cultivo masivo de peces pelágicos

pequeños es un gran desafío para la acuicultura integrada de peces marinos (Troell *et al.*, 2009; Chopin *et al.*, 2012, 2013; Yakoyama *et al.*, 2013). Para este propósito es crucial avanzar en investigación básica en aspectos biológicos, tales como la caracterización de los patrones de crecimiento.

Un método confiable para obtener la estimación de edad y crecimiento en larvas y juveniles de peces, es la lectura de conteo de incrementos diarios de otolitos (Campana & Nelson 1985; Palomera *et al.*, 1988; Morales-Nin, 1989). De la información proporcionada por los incrementos de crecimientos diarios de otolitos es posible también obtener registros de las dimensiones corporales en edades o etapas previas a la historia de vida, la determinación del tamaño y la tasa de crecimiento de un pez para cada día de su vida, los cuales se obtienen a través de un procedimiento de retro-cálculo (Campana & Jones, 1992; Araya *et al.*, 2002). En este contexto la presente tesis pretende hacer una contribución, caracterizando el crecimiento de juveniles de anchoveta (*Engraulis ringens*) en condiciones de cultivo a partir de la lectura e interpretación de los anillos diarios del otolito *sagitta* utilizando la técnica de retro-cálculo para determinar el crecimiento de la especie.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo General

Caracterizar el crecimiento de juveniles de anchoveta (*Engraulis ringens*) bajo condiciones de confinamiento en la zona norte de Chile.

2.2 Objetivos Específicos

- ❖ Describir y analizar la micro-estructura de otolitos de juveniles de anchoveta del norte de Chile en condiciones de confinamiento.
- ❖ Determinar el crecimiento de juveniles de anchoveta del norte de Chile en condiciones de confinamiento, utilizando la información de edad y longitud a la fecha de sacrificio.
- ❖ Determinar la relación de edad y crecimiento en condiciones de confinamiento, utilizando técnicas de retro-cálculo de otolitos sagitales.

3. ANTECEDENTES

3.1 De la especie

La anchoveta (*Engraulis ringens*) es una especie pelágica y teleóstea, caracterizada por un cuerpo alargado poco comprimido, cabeza alargada, con un labio superior prolongado en el hocico, ojos grandes de color azul, oscuro verdoso en la parte dorsal y plateado en el vientre (Fig. 1). Posee un crecimiento rápido, ciclo de vida corta de tres a cuatro años de longevidad. La anchoveta es de aguas moderadamente frías, habitando zonas donde el rango de temperatura oscila entre 16-23°C en verano y 14-18° C en invierno, soporta salinidades de 34,5-35,1 ppm (Aliaga *et al.*, 2001).

Esta especie se alimenta principalmente de plancton (fitoplancton y zooplancton), aunque en ocasiones puede consumir preferentemente copépodos y eufasidos, particularmente bajo condiciones ambientales como el fenómeno de El Niño (Espinoza & Bertran, 2008). Este recurso tiene hábitos gregarios, formando grandes y extensos cardúmenes los que se desplazan en aguas superficiales de hasta 50 m de profundidad en el día y ascendiendo durante la noche (Serra. *et al.*, 1979).

Con respecto a la actividad reproductiva posee dos periodos, uno de mayor intensidad en invierno y primavera (julio-septiembre) y otro menos intenso en verano (febrero-marzo) (FAO, 1988).

Engraulis ringens, presenta la siguiente clasificación taxonómica:

- ✓ Clase: Actinopterygii
- ✓ Orden: Clupeiformes
- ✓ Familia: Engraulidae
- ✓ Nombre Científico: *Engraulis ringens*, (Jenyns, 1842)
- ✓ Nombre común: anchoveta

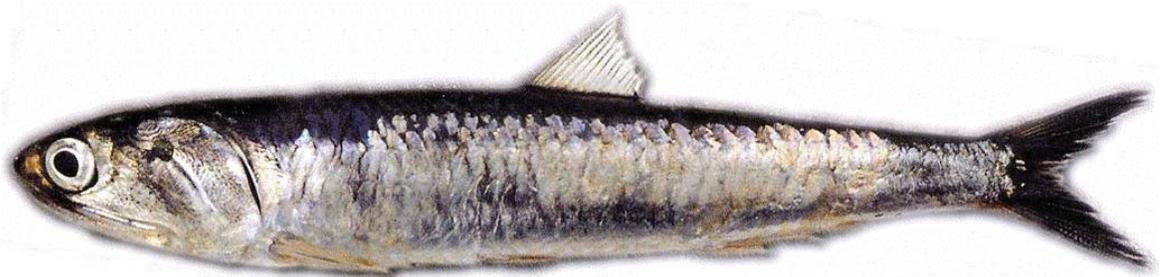


Figura 1. Ejemplar de *Engraulis ringens*.

La anchoveta se distribuye desde el Pacífico sur del norte del Perú Punta Aguja (6°00' L.S), hasta el sur de Chile, X región (44°00' L.S). Por ser una especie nerítica no alcanza profundidades mayores a 50 m de profundidad. Estudios biológicos han

determinado tres unidades poblacionales situadas en el norte-centro del Perú, sur del Perú y norte de Chile y centro-sur de Chile (Serra. *et al.*, 1979).

La anchoveta se caracteriza por poseer un tamaño pequeño de 20 cm de longitud total y una vida corta de 4 años, donde la primera madurez sexual se alcanza al primer año de vida a un tamaño de 12 cm aproximadamente. Es una especie ovípara con fecundación externa y desove fraccionado, casi todo el año, con un período de mayor intensidad en invierno (agosto-septiembre) y otro en el verano (febrero-marzo). Es sensible a cambios en las condiciones ambientales (salinidad, temperatura, etc) durante el desove y reclutamiento, cuyo efecto se ve reflejado en el stock dada su corta vida.

3.2 Del otolito

Los otolitos se encuentran insertos en el oído interno del pez, donde se reconocen tres partes: *la sagitta (saculus)*, *el lapillus (utrículus)* y *el asteriscus (lagen)*. De estas tres estructuras la más utilizada para la determinación de edad es el *sagitta* (FAO, 1982).

Los otolitos están compuestos por carbonato de calcio cristalizado en forma de aragonita y de una proteína fibrosa llamada otolina que es del tipo del colágeno (Campana & Neilson, 1985). El otolito crece por aposición de materiales sobre su superficie; esta aposición cíclica es función de los ritmos internos del metabolismo del calcio y la síntesis aminoacídica, de lo cual resulta la formación de incremento de crecimientos diarios formados por una unidad continua y discontinua (Morales-Nin, 1992). El grosor de los incrementos y la densidad de los micro-cristales dependen de la fase de crecimiento; es así como en periodos de crecimiento activo los incrementos son más gruesos con unidades discontinuas bien definidas y en periodos de crecimiento lento los incrementos son más finos y los micro-cristales más compactos y continuos (Morales-Nin, 1992).

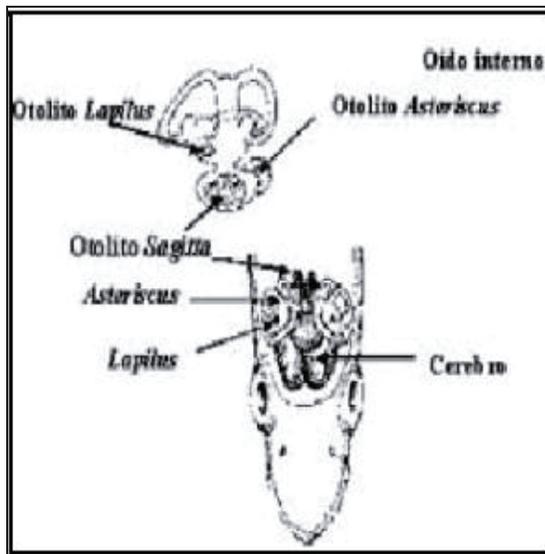


Figura 2: Ilustración de la ubicación de los otolitos en el oído interno del pez (Tombari, 2004).

Estructura de los otolitos

Micro-incrementos primarios

Los micro-incrementos primarios de los otolitos están formados por una capa de carbonato de calcio y una capa en proteína, denominadas zona L y D, respectivamente. El grosor de los micro-incrementos primarios fluctúa desde menos $1\mu\text{m}$ hasta $15\mu\text{m}$ o más. También se pueden identificar incrementos subdiarios, los que ocurren en períodos de crecimiento rápido. Estas estructuras son menos uniformes y regulares que los micro-incrementos primarios y pueden ser fácilmente diferenciados por un lector experimentado (Campana & Jones, 1992).

Primordium

El primordium es la zona que representa el inicio del crecimiento del otolito, el cual puede ser circular, elongado o múltiple, dependiendo de la especie. En los estados tempranos de crecimiento del otolito si varios primordium están presentes ellos se fusionan generalmente para formar un área primordial mayor del otolito.

Primer anillo primario

Los otolitos se forman durante la última etapa de formación del huevo. El comienzo de la formación del primer incremento primario varía de una especie a otra, pero en la mayoría de las especies estudiadas, el primer incremento aparece bien definido. En algunas especies la formación del primer incremento coincide con la eclosión (Lagardere, 1989) y en otros con la primera alimentación endógena durante la absorción del saco vitelino, marcando el inicio de la alimentación exógena (Gefen, 1882).

Centro secundario de crecimiento (CSC)

En algunas especies se aprecian centros secundarios de crecimiento (CSC) parecidos al primordio en donde se originan nuevas estructuras concéntricas y son apreciados comúnmente en otolito *sagita* (Fig. 3; foto 4). Se han planteado variadas hipótesis para saber el origen de los CSC, entre los cuales se citan: cambio de hábitat (Sagard, 1991), cambios ontogénicos en la dieta (Marks & Conover, 1993) y cambios fisiológicos asociados a la metamorfosis (Hare & Cower, 1994).

Estructuras discontinuas (ED)

Las estructuras discontinuas (ED) son elementos sobresalientes, irregulares que ocurren a través de los incrementos primarios, interrumpiendo la sucesión de los incrementos primarios en forma cíclica u a cíclica. Pueden ser distinguidas bajo magnificaciones altas o bajas y requieren que los otolitos sean previamente preparados. Estas estructuras son comunes en muchas especies, por lo que tal vez son producto del estrés ambiental al que ellas están sujetas. Otras están relacionadas a eventos tales como asentamientos y/o metamorfosis y aparecen como drásticos cambios en el grosor del incremento (Fig. 3; foto 5).

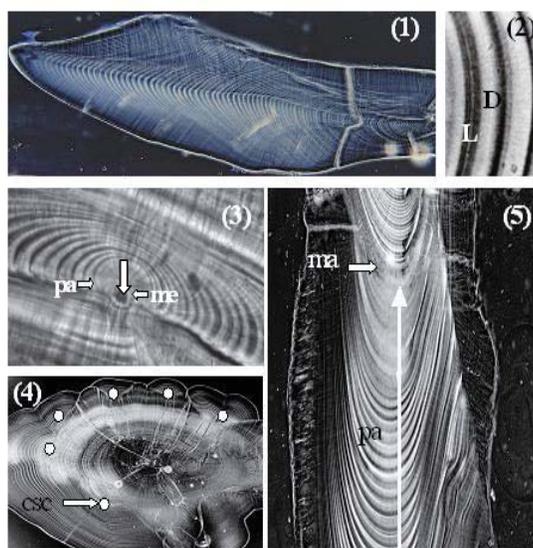


Figura 3. (1 y 2) Ilustración bajo microscopio óptico de la microestructura de otolitos sagita de juveniles *Sardinops melanoscirtus* (Plaza *et al.*, datos no publicados); (3) fotografía ilustrativa del primordio (p), marca de eclosión (me), marca de primera alimentación (pa) de un otolito sagita de la especie *Clupeido etremeus teres* (Plaza *et al.*, 2005); (4) ilustración de la sección frontal de un juvenil de *Sebastes inermis* dónde se muestra los centros secundarios de crecimiento (csc) (Plaza *et al.*, 2001); (5) imagen representativa de una sección sagital que muestra la marca de asentamiento (ma) y la marca de post asentamiento (pa) de un otolito de la especie *Sebastes inermis* (Plaza *et al.*, 2001).

3.3 De la lectura de los otolitos

La técnica de incremento diario como medio de estimación de la edad diaria en peces fue desarrollada a comienzo de los 70, donde en el año 1971 se observaron por primera vez 360 incrementos concéntricos finos dentro del *annulus* de otolitos de peces de aguas templadas y en peces tropicales adultos (Pannella, 1974), lo que demostró que la formación de estos anillos diarios ocurre en estos peces. Por otra parte, Brother (1976) mostró que estos incrementos pueden ser identificados en larvas y juveniles, por ello los otolitos se han utilizados de manera confiable para determinar la edad en los primeros estadios de vida.

Las investigaciones en el uso de anillos diarios en *Engraulis ringens* para la determinación de edad y crecimiento en peces pequeños pelágicos fue estudiada por Morales-Nin (1989) quien validó los *annulis* relacionando la edad en días versus la edad en años. Por otra parte, la edad también ha sido validada en la anchoveta tropical donde Hoedt (1992) valida el primer *annulus* utilizando el método de conteo medio de micro-incrementos de una cohorte de juveniles muestreados en un período de 80 días. Cabe mencionar que con este método se diferenciaron anillos falsos de los *annulis*. Otro estudio llevado a cabo en anchoveta europea (*Engraulis encrassicolus*) por Cermeño (2003) validó la formación de micro-incrementos diarios en otolitos de la especie adulta y juvenil

manteniéndolas en cautiverio. Barria (1999) analizó la variabilidad de crecimiento de la anchoveta centro-sur de Chile, analizando los anillos diarios de crecimiento con el fin de validar la formación de anillos anuales en la anchoveta, con lo que evidenció que no todos los anillos traslucidos identificados eran *annulis*.

Preparación de otolitos

Una vez extraído el otolito parte su preparación. El método SGEM es el más utilizado, el cual consiste básicamente en la integración de una serie de etapas en las cuales se puede preparar un otolito juvenil para su posterior lectura. En términos generales el método SGEM se puede resumir como sigue:

a) Calentamiento de un portaobjeto a una temperatura de 90-150°C y posterior adhesión de una pequeña porción de cera termoplástica (Fig. 4; foto 5A)

.b) Mezcla de la resina epóxica de dos componentes (ayuda a solubilizar la cera).

Una vez mezclada la resina se debe colocar una pequeña porción en la parte trasera de un palo de fósforo y acercarlo a un mechero para eliminar todo tipo de burbujas presentes en la mezcla (Fig. 4; foto 5B, 5C y 5D).

c) Montaje del otolito en el porta objeto y posterior aplicación de una pequeña gota de resina epóxica que cubra todo el otolito. Terminado el proceso se debe dejar fijar la resina al porta objeto durante unas horas a temperatura ambiente (Fig. 4; foto 5E).

d) Pulido de la presentación del otolito utilizando papel de lija de 300 µm o por medios mecánicos de ruedas de pulidos. El pulido debe realizarse más de una vez teniendo precaución de no romper la muestra y hasta lograr que la sección del pulido se torne suave.

e) Posterior al pulido la muestra debe ser limpiada en agua y secada para cubrirla con una capa de esmalte de uña natural. Esta capa ayuda aumentar las propiedades ópticas de los micros-incrementos diarios de los otolitos.

f) Terminado el procedimiento del método SGEM las muestras de los otolitos están listos para ser observadas y leídas bajo el microscopio óptico.

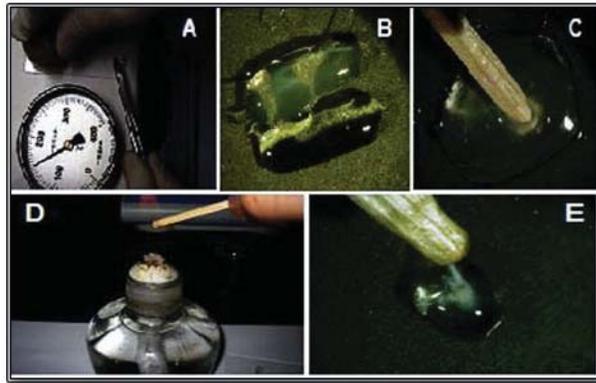


Figura 4. Fotografía ilustrativa del método SGEM. (A) imagen de la aplicación de la cera termoplástica; (B) ilustración resina de dos componentes en partes iguales; (C) figura ilustrativa de la mezcla de los componentes de la resina epóxica; (D y E) fotografía del montaje del otolito (Fuente: Plaza *et al.*, 2005).

Validación de la periodicidad de formación de los micro-incrementos

Teóricamente la validación debe de ser efectuada para cada población de una especie, ya que pueden existir diferencias importantes entre las poblaciones. La validación es una etapa obligatoria para todo estudio de esclerocronología y en particular en especies para las cuales ningún estudio de edad ha sido realizado anteriormente (Campana, 2001). Se debe destacar que muchos de los errores en las estimaciones de edad se deben a la ausencia de procedimientos adecuados de validación (Panfili *et al.*, 2001; Maldonado, 2004).

Se han descrito varios métodos de validación en la literatura, como es el caso del marcaje de otolitos, en el cual se utilizan compuestos fluorescentes (tetraciclina, oxitetraciclina y alizarina complexona). Estos compuestos se incorporan a la matriz de carbonato, marcando los incrementos de los otolitos, permitiendo comparar el número de incrementos con los días transcurridos después del marcaje (Namikiet *et al.*, 2001). También se destacan los métodos que utilizan edades conocidas de peces cultivados en laboratorio (Neilson & Geen, 1982). Por otra parte Campana (2001) clasifica los métodos de validación, algunos de los cuales se resumen en la Tabla 1.

Tabla 1. Clasificación de los métodos de validación propuestos por Campana (2001)

VALIDACIÓN EDAD					
Método	Anual / Diaria	Rango de edad aplicable	Precisión	Tamaño de la muestra requerido	Tiempo requerido
La liberación de los peces de edad conocida y notable en la naturaleza	A / D	Todo	± 0 años	> 1	> 1-10 años
Radio carbono o bomba	A	Todo	± 1-3 años	20-30	< 1 año
De marcado y recaptura de peces silvestres químicamente etiquetados	A / D	Todo	± 1 años	> 1	> 1-10 años
Fechas de radio química	A	5 + años	± 25-50%	10-50	< 1 año
La progresión de los modos de longitud discreta como muestra en las estructuras de la edad	A / D	0-5 años	± 0 años	> 100	1 año

También es importante destacar que varios autores han validado la periodicidad diaria de micro-incrementos de larvas y juveniles de anchoveta, como es caso para la anchoveta del mediterráneo (Cermeño *et al.*, 2003), la anchoveta japonesa (Namiki *et al.*, 2010) y otros clupeiformes las cuales se detallan en la tabla 2.

Tabla 2. Validación de micros-incrementos diarios en otolitos de individuos de clupeiformes. (Castellano & Vasconcellos, 1995).

Especie	Etapa	1º incremento	Método de validación	Fuente
<i>Brevoortia tyrannus</i>	Juvenil	-	Marcador químico	Simoneaux and Warlen, 1987
<i>Clupea harengus</i>	Larva	-	Sincronización en la formación de los incrementos	Geffen, 1987
<i>Clupea harengus</i>	Larva	Final de la etapa vitelina	Edad conocida	Mokness y Wesapestad, 1989
<i>Engraulis mordax</i>	Larva	Final de la etapa vitelina	Edad conocida	Brothers et al., 1976
<i>Engraulis japonicus</i>	Larva	Final de la etapa vitelina	Edad conocida	Hayashi et al., 1989
<i>erklotichthys astelnaui</i>	Larva	Momento de eclosión	Marcador químico	Thorrold, 1988
<i>Sardinella sim</i>	Juvenil	-	Seguimiento de la cohorte	Gjosaeter et al., 1984
<i>Sardinops Melanosticus</i>	Larva	-	Edad conocida	Hayashi et al., 1989
<i>Stolephorus purpureus</i>	Larva	Final de la etapa vitelina	Edad conocida	Struhsaker y Uchiyama, 1976

3.4 Retro-cálculo

El retro-cálculo es una técnica utilizada para estimar la longitud del pez a una edad determinada, utilizando información del radio de los otolitos como predictor. Este procedimiento se basa en un principio de proporcionalidad entre la longitud del pez y la longitud del otolito, lo que permite determinar la longitud a edades pretéritas, a escala anual en el caso de peces adultos y a escala diaria en el caso de larvas y juveniles (Campana & Jones, 1992).

El retro-cálculo es una herramienta de gran utilidad, ya que se pueden monitorear las tasas de crecimiento promedio de varias clases de edad en la población, identificando años o estaciones de crecimiento lento o rápido. Además, la información puede ser utilizada para establecer correlaciones con factores ambientales y así entregar los datos básicos para construir modelos de crecimiento predictivos (Araya, 2002).

Se pueden distinguir dos aproximaciones del retro-cálculo, los métodos proporcionales y el método de regresión. Ambos métodos requieren la estimación de los parámetros de la ecuación que relaciona la longitud del pez y el tamaño del otolito al momento de la captura (Araya, 2002). El método de regresión usa la ecuación para estimar las longitudes pretéritas medias a cada edad directamente desde las marcas periódicas, sin preocuparse de la variación en el tamaño del otolito entre los peces. Mientras que los métodos proporcionales incorporan la información de cada pez lo que da cuenta de la variación individual (Campana, 1990; Araya, 2002).

Uno de los métodos de retro-cálculo proporcionales más utilizados es el denominado **Intercepto Biológico**. Este método asume la proporcionalidad entre el pez y el crecimiento de los otolitos de cada individuo. Existen casos en que la intersección biológica se puede determinar por mediciones simples de peces y tamaño de otolito de larvas recién nacidas (momento de la eclosión) en laboratorio (Campana, 1990).

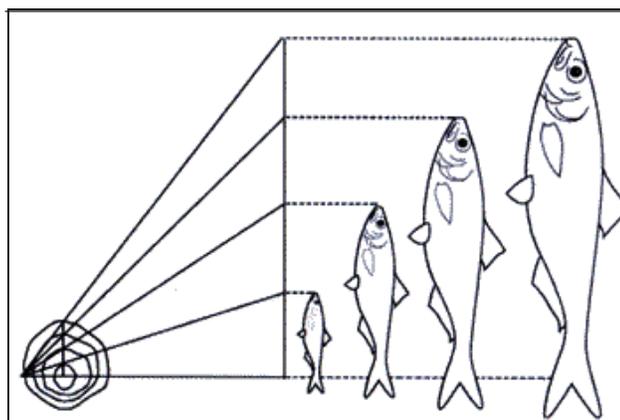


Figura 5. Relación lineal entre el crecimiento del pez y del otolito, es el principio de la dependencia lineal, base para la utilización de la técnica de retro-cálculo (Chugunova, 1963).

3.5 Modelos de crecimiento curvilíneos

Los modelos de crecimiento pueden variar en complejidad desde una regresión lineal simple a sofisticadas estimaciones de máxima verosimilitud entre el tamaño del pez y la edad. En la mayoría de los casos el desarrollo del modelo es para permitir la predicción de un tamaño medio esperado o la tasa de crecimiento en alguna edad y / o para facilitar las comparaciones del crecimiento estimado con otras estimaciones publicadas (Campana & Jones, 1992). Hasta la fecha los modelos de crecimiento más utilizados son los de tipos curvilíneos.

Los modelos de crecimiento curvilíneos tienden a ser adecuados para la descripción del crecimiento de los peces jóvenes, en particular el de las larvas. Hay un gran número de opciones posibles, aunque ninguno se puede utilizar para adaptarse a todas las etapas del

ciclo vital en todas las especies (Ricker, 1979). La principal ventaja de esta clase de modelo es el de flexibilidad, una característica que se requiere para hacer frente a las curvas de crecimiento en forma de S que son características de la mayoría de los peces jóvenes (Campana & Jones 1992). La selección de un modelo de crecimiento curvilíneo apropiado se basa generalmente en la bondad de ajuste (Ricker, 1979).

El modelo de Gompertz o Laird-Gompertz (Gompertz, 1825; Laird *et al.*, 1965). Se ha convertido en el modelo de crecimiento de peces pequeños más utilizado, particularmente en larvas y /o juveniles, además se adapta bien a las descripciones de crecimiento sigmoideal (Campana & Jones, 1992). Por otra parte el ajuste de la curva es similar al modelo de crecimiento logístico. Sin embargo, el modelo de crecimiento logístico difiere del de Gompertz en que las regiones por encima y por debajo del punto de inflexión son simétricas, mientras que las de la curva de Gompertz no lo son. El efecto de esta diferencia es difícil de ver excepto cuando los datos se extienden mucho más allá del punto de inflexión en cada lado (Campana & Jones, 1992).

Al diferencia del modelo de Gompertz, el modelo de crecimiento de Von Bertalanffy ha sido utilizado para describir el crecimiento de los peces adultos (Ricker, 1979), pero también ha sido testigo de la aplicación a la fase del ciclo vital temprano (Ralston, 1976; Wild & Foreman 1980; Laroche *et al.*, 1982). Este modelo se basa en una talla estándar y puede ser utilizado para la mayoría de los datos de crecimiento que carecen de un punto de inflexión, siendo no adecuado para un patrón de crecimiento sigmoideal (Campana & Jones, 1992).

3.6 Tasas de crecimiento

En principio los cálculos de la tasa de crecimiento se basan en las trayectorias de los crecimientos de ejemplares, en dónde se pueden encontrar variadas medidas. En primer lugar la tasa absoluta de crecimiento se define como el cambio en la longitud del pez (o el peso) por intervalo de tiempo y la tasa de crecimiento instantánea, corresponde a la tasa de crecimiento cuando el intervalo de tiempo se reduce a cero (Ricker, 1979). Es importante tener en cuenta que la tasa de crecimiento absoluto variará con el intervalo de tiempo que se selecciona si el crecimiento no es lineal. Por esta razón la tasa de crecimiento instantánea absoluta o la tangente de la pendiente de la longitud a la curva a la edad deseada, a veces puede ser una medida más significativa de la tasa de crecimiento absoluta (Campana & Jones, 1992).

Los cálculos de la tasa de crecimiento pueden estar basados en ecuaciones derivadas de cualquiera de las curvas empíricas o algunos de los modelos de crecimiento generalmente aceptados. Una ventaja de los modelos de crecimiento más utilizados comúnmente (por ejemplo, regresión lineal, Gompertz, logística y modelos de von Bertalanffy) es que las estimaciones de los parámetros asociados son de fácil interpretación (Campana & Jones, 1992).

3.7 Análisis estadístico

Es importante destacar que la información derivada de la medición de micro-incrementos no es independiente, debido a que a corresponden a mediciones repetidas de un mismo ejemplar. Este tipo de datos son de estructura de tipo longitudinal. Cuando lo otolitos permiten mediciones confiables de los micro-incrementos es factible obtener estimaciones de tasas de crecimiento retro-calculadas para cada ejemplar, que pueden complementar las estimaciones de tasas de crecimiento derivadas de los modelos. Sin embargo, debido a la usencia de independencia este tipo de información debe ser analizada utilizando herramientas estadísticas particulares, como es el caso del Análisis de Varianza de Medidas Repetidas (RM-ANDEVA).

El diseño de medidas repetidas implica el registro de la variable dependiente bajo diversas condiciones. En un contexto manipulativo, estas condiciones pueden ser diferentes tratamientos experimentales u ocasiones de medidas antes, durante o después de la intervención. En un contexto no manipulativo, las medidas se registran en distintos intervalos temporales. Cuando el factor tiempo es una variable de interés, el diseño se concibe como longitudinal (Mena, 2004).

El diseño de medidas repetidas multimuestra (diseño AB con medidas repetidas en B) introduce además un factor inter-sujeto, de agrupamiento, de forma que la variable dependiente se registra en todos los sujetos bajo todas las condiciones del factor de medidas repetidas, pero solo bajo un nivel del factor inter-sujeto. Cuando el diseño no es longitudinal suele ser más fácil conseguir que el diseño sea balanceado, incluyendo el mismo número de sujetos por grupo, que en los longitudinales, ya que en estos se produce con más frecuencias perdidas de sujetos a lo largo de los distintos puntos temporales (Mena, 2004).

El análisis de varianza (ANOVA) mixto univariado es el más usado en el análisis de los diseños de medidas repetidas, asumiendo que el factor intra-sujeto es fijo y los sujetos aleatorios. Este requiere satisfacer los supuestos de normalidad, independencia y esfericidad. El primero requiere que las observaciones de cada unidad de análisis sean extraídas de una población con distribución normal multivariada, el segundo supone la independencia entre las observaciones correspondientes a los distintos sujetos y el tercero implica la igualdad de varianzas de las diferencias entre los tratamientos, es decir, la matriz de covarianzas debe tener igual varianza de diferencia entre todos los pares de puntuaciones (Huynh y Feldt, 1970; Rouanet y Lepine, 1970).

El estadístico Lambda wilks (λ) expresa la proporción de la variabilidad total no debida a las diferencias entre los grupos y permite contrastar la hipótesis nula de que las medidas multivariantes de los grupos (los centros) son iguales). Si el p-valor asociado al estadístico es inferior al nivel de significación (normalmente 0,05) rechazamos la hipótesis de igualdad entre grupos, pudiendo concluir que la información aportada por las respectivas variables es estadísticamente significativa.

4. METODOLOGÍA

4.1 Producción de juveniles en cautiverio

Los juveniles de anchovetas utilizados en el presente estudio se obtuvieron a partir del desove espontaneo de adultos que ocurrió debido al estrés post-captura, cuando ellos fueron trasferidos a estanques de confinamiento en un centro de cultivo experimental del Departamento de Ciencias del Mar de la Universidad Arturo Prat. Estos ejemplares adultos habían sido capturados previamente a bordo de embarcaciones pesqueras entre el 31 de julio y el 1 de agosto del 2011.

El desove ocurrió durante la primera noche de llegada de las anchovetas, producto del stress post captura. Los huevos flotantes y fertilizados quedaron retenidos en colectores, los que consistieron en un contenedor de 80 litros provisto en su interior de un colector de malla de plancton de 300 micras (Fig. 6). Al día siguiente las ovas colectadas adosadas a los estanques fueron retiradas y trasladadas para su incubación.



Figura 6. Ilustración del colector de huevos de anchovetas.

Incubación y Cultivo Larval (Sistema semi-intensivo o mesocosmo)

Para la incubación se acondicionó un estanque rectangular de concreto con capacidad de 60 t, donde se introdujo agua prefiltrada a través de una malla nylon de 1mm de abertura (Fig.7). Durante una semana se llenó el estanque hasta su volumen final, agregándole fertilizantes agrícolas, consistentes en 3 ppm de nitrato y 0,5 ppm de fosfato, con el objeto incrementar la productividad primaria. A partir de la séptima semana varias especies de copépodos hicieron su aparición en el agua.



Figura 7. Ilustración del estanque de cultivo en mesocosmo para larvas de *Engraulis ringenes*.

Un total de 25.618 ovas fueron incubadas en un estanque de 70 l de volumen de agua, durante un período de 55 hrs a una temperatura de 14,5 °C y a una oxigenación de 7,2 ppm, obteniendo al final del proceso una tasa de eclosión de un 80%, equivalentes a 16.771 larvas eclosionadas.

Un total de 16.771 larvas fueron sembradas en el estanque acondicionado, el cual mantuvo alrededor de 15 l / min, para compensar la evaporación. La aireación se adicionó mediante cuatro piedras difusoras, las que se colocaron en líneas centrales y equidistantes para mantener el plancton en suspensión. Al día 24 post-eclosión se adicionó un concentrado de algas “origo-Green” y “origo-Culture” de “skretting”. Este concentrado de microalgas fue adicionado a razón de 100 g al día.

Al día 52 de la eclosión el 24 septiembre 2011, 258 juveniles (41,7± mm de longitud total; 0.31± g de peso) fueron transferidos a un estanque de cultivo. A partir del día 75 los juveniles fueron alimentados con pellet fraccionado similar al desarrollado para adultos, pero en un tercio de la frecuencia y cantidad. Una muestra de 10 juveniles fueron sacrificados a intervalos de 5 días. A cada ejemplar sacrificado se le registraron el peso y la longitud total. Posteriormente se le extrajeron los otolitos sagitales, los cuales fueron almacenados limpios y secos en micro-tubos de polietileno de 1,4 ml debidamente rotulados.



Figura 8. Fotografía ilustrativa del cultivo semi-intensivo de juveniles de anchovetas.

Plaza et al. (2012) confirmaron para los otolitos sagita de los juveniles de anchoveta del norte que los anillos de crecimiento se forman diariamente, por lo que no fue necesario su validación en el presente estudio. Un aspecto importante de destacar es que en otolitos de engraulidos es bien característica la presencia de anillos dobles, particularmente durante la metamorfosis. En el presente trabajo se utilizó el criterio IMR (dobles anillos contados independientemente) descrito por Cermeño *et al.*, (2006, 2008) para la determinación de la edad diaria, debido a que este criterio fue validado por Plaza *et al.*, (2012) en cautiverio para *E. ringens*. Otra particularidad que logró validar la periodicidad diaria en los otolitos fue la aparición de marcas naturales de transición (traslado del mesocosmo al sistema artificial) las que demostraron que los micro-incrementos posteriores a este periodo fueron formados a una periodicidad diaria por la especie.

4.2 Caracterización de la microestructura de otolitos

Para la caracterización de la microestructura del otolito se utilizaron 37 muestras del otolito *sagitta*. Los otolitos fueron colocados en portaobjetos y cubiertos por una resina epóxica de dos componentes (Araldite 2011 A y B) la que se dejó actuar a temperatura ambiente para lograr su solidificación. Cada otolito fue pulido manualmente en posición sagital, utilizando lijas de entre 800 y 2000 de graduación, siguiendo los procedimientos descritos por el método SGEM (Plaza *et al.*, 2005).

Para facilitar el conteo de los anillos de crecimiento, el largo total de cada otolito y sus radios, se utilizó el analizador de imágenes DIGIPRO 2, compuesto por un programa para análisis de imágenes y un microscopio óptico digital (Fig. 9). Cada imagen fue analizada a magnificaciones de 4X, 10X, 20X y 40X. En casos de otolitos de mayores

tamaños, fue necesario combinar varias imágenes, para obtener una ilustración completa. La combinación de imágenes se llevó a cabo utilizando las propiedades de imágenes del programa Microsoft Excel, que permitió mantener las dimensiones originales de la muestra (Fig. 10). La imagen de re-construcción fue transformada a formato JPG para su análisis posterior.



Figura 9. Microscopio óptico conectado al analizador de imágenes DIGIPRO 2.

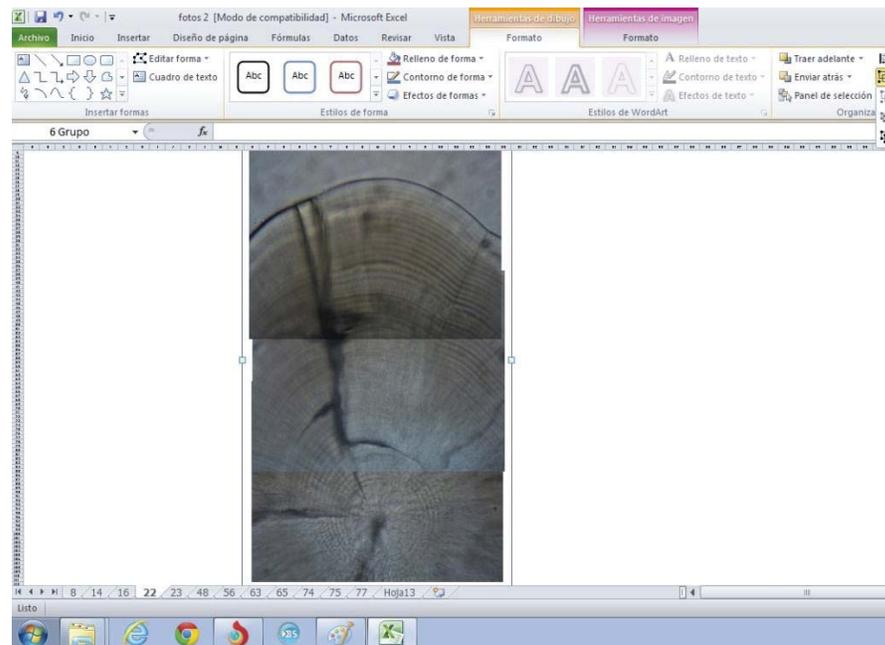


Figura 10. Ilustración del proceso de combinación de imágenes de un otolito de anchoveta a una magnificación de 40X.

Para la lectura de los micro-incrementos diarios se utilizó el analizador Image-Pro Plus. Este programa computacional permitió obtener la lectura y medición de los anillos de crecimientos del otolito. Para ello se siguió un eje en línea recta desde el primordio hasta el extremo del otolito, a través del área que presento mayor resolución de los micro-incrementos, utilizando la herramienta Caliper (Fig. 11). En forma paralela también se registró el largo total (máxima distancia antero-posterior) y el radio caudal del otolito. Los radios a la marca de eclosión y de primera alimentación se registraron desde el núcleo al primer anillo de crecimiento (Fig. 12), salvo algunos casos en que el primer anillo primario coincidió con la marca de eclosión y en otras con la primera alimentación (Lagadere, 1989; Geffen, 1982).

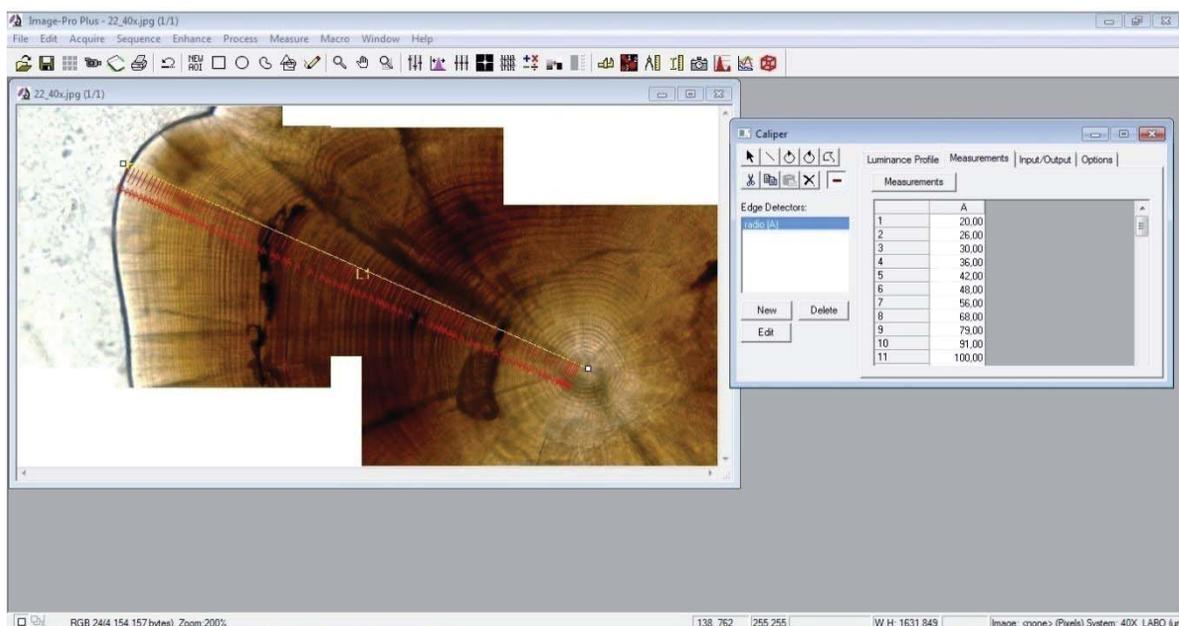


Figura 11. Ilustración del conteo de anillos diarios desde el núcleo hasta el borde del otolito de *Engraulis ringens*, utilizando el programa Image-Pro Plus. Aumento 20x.

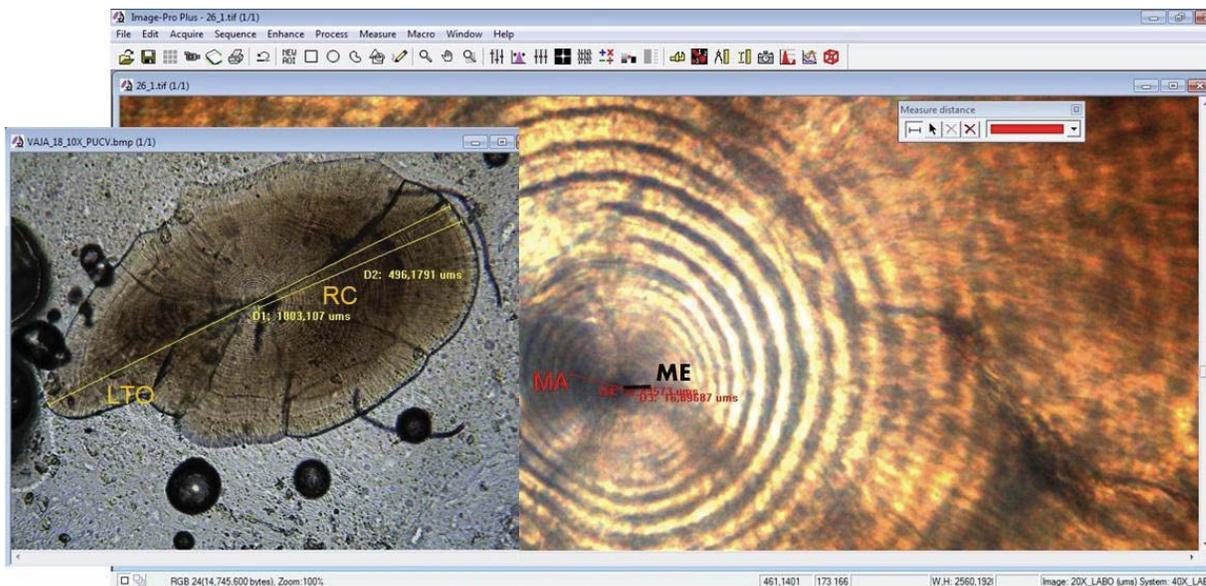


Figura 12. Imagen de un otolito de anchoveta dónde: (a) largo total del otolito (LTO) y radio caudal (RC) y (b) marca de eclosión (ME) y marca de la primera alimentación (MA). Aumentos 10X y 20X

4.3 Determinación del crecimiento de juveniles de anchoveta

La determinación del crecimiento de anchovetas se realizó mediante la relación edad-talla, edad-peso y talla-peso, dónde la talla (longitud total de los peces) y el peso se obtuvieron al momento de sacrificio de los peces. A partir de los juveniles de edad conocida se estimaron las edades observadas, las que se obtuvieron de la resta entre la fecha de sacrificio y la fecha de nacimiento (día de eclosión).

Estas relaciones fueron descritas por un modelo de regresión lineal simple, comúnmente aplicado a modelos de crecimiento (Campana & Jones, 1992), cuando el rango de longitud es restringido a sólo un estado de desarrollo (juvenil).

$$Y = a + b X$$

dónde:

- Y = Variables dependientes (peso y longitud)
- X = Variables independientes (edad y longitud)
- a = Intercepto de la recta
- b = Pendiente de la recta (tasa de crecimiento)

La tasa de crecimiento absoluta global se estimó relacionando el número de días transcurridos desde la eclosión y la longitud total de juveniles a la fecha de sacrificio. El tamaño al momento de la eclosión fue definido como 2,5 mm para la zona norte de Chile (Llanos-Rivera & Castro, 2006).

$$TCG = \frac{(L_T - L_{ECLO})}{DT} * 10$$

dónde:

TCG = Tasa de crecimiento global

L_T = Longitud total de los peces

D_T = Edad en días

L_{eclo} = Longitud al momento de la eclosión

4.4 Determinación de la relación edad y crecimiento por técnicas de retro-cálculo

Análisis retrospectivo

Campana (1990) propone que el método más usado para retro-calcular longitudes previas de estadios tempranos de la vida de los peces es el Método del Intercepto Biológico el cual fue utilizado en el presente trabajo. La ecuación de retro-cálculo usada fue:

$$L_T = L_c + (R_i - R_c) (L_c - L_{T2d}) (R_c - R_{2d})^{-1}$$

dónde:

L_T = Intercepto biológico, longitud de la primera alimentación

R_{2d} = Radio del otolito del primer anillo diario

L_c = Tamaño del pez al momento de la captura

R_c = Radio del otolito al momento de la captura

Cabe destacar que se utilizó como intercepto biológico el valor reportado por Llanos-Rivera & Castro (2006), los que determinaron un L_T de anchoveta frente a Antofagasta 2,5 mm a una temperatura de 15°C. Es importante destacar que para efectuar el retro-cálculo debe existir una relación lineal entre el tamaño del otolito y el tamaño del pez.

Este supuesto fue verificado a través de la evaluación de la significancia de ajuste a un modelo de tipo lineal.

Relación talla-edad

A través del modelo de Laird-Gompertz se estimaron los parámetros de crecimiento de los juveniles de anchovetas, usando los datos provenientes de la longitud retro-calculada y la edad en días obtenidos del análisis retrospectivo de la fracción de la etapa larval-juvenil temprana.

La representación del modelo de Laird-Gompertz esta dada por:

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

dónde:

L_t = Longitud promedio a la edad

L_∞ = Longitud asintótica

G = La tasa instantánea de crecimiento

X_0 = Es el punto de inflexión de la curva.

Tasa de crecimiento

Con los parámetros dados por el ajuste del modelo de Gompertz se determinaron las tasas de crecimiento instantánea a cualquier edad y la tasa de crecimiento absoluta al punto de inflexión (punto de mayor crecimiento).

$$TICD = a L_X (\ln L_\infty - \ln L_X)$$

$$TCA_{pi} = a L_{X0} (\ln L_\infty - \ln L_{X0})$$

dónde:

TICD = Tasa de crecimiento instantánea para cada edad

TCA_{pi} = Tasa de crecimiento absoluta al punto de inflexión

a = Tasa instantánea de crecimiento

L_X = Longitud total de cada individuo

L_{X0} = Longitud al punto de inflexión

L_{∞} = Longitud asintótica

También se estimaron las tasas de crecimiento retro-calculadas diarias, que varían significativamente entre las del mesocosmo y las del post-mesocosmo. Estas fueron definidas por la siguiente fórmula:

$$TCD = LT_{(n+1)} - LT_{(n)}$$

dónde:

TCD = Tasa de crecimiento diaria

LT_n = Longitud a la edad n

Análisis estadístico comparativo

Comparación de tasas de crecimiento retro-calculadas

Para establecer diferencias significativas entre las tasas de crecimiento retro-calculadas en la etapa de mesocosmo y post-mesocosmo se realizó un análisis de varianza de medidas repetidas (ANDEVA-RM), aplicando el programa estadístico SPSS, para el cual se utilizó un estadístico de prueba Lambda Wilks. El análisis correspondió a un diseño balanceado que consideró las medidas repetidas de las tasas de crecimiento para los 10 primeros días del sistema del mesocosmo y los 10 primeros días después del post-mesocosmo, presentando como factores inter-sujeto al sistema de cultivo (etapa de mesocosmo y post-mesocosmo) e intra-sujeto a las tasas de crecimiento retro-calculadas.

El estadístico de prueba para evaluación de la hipótesis nula correspondió Lambda Wilks (λ). Wilks (1932), basándose en el principio de razón de verosimilitud generalizada, según el cual la varianza generalizada de un espacio multivariante puede ser calculada mediante el determinante de la matriz de dispersión, planteó el estadístico definido como:

$$\lambda = \frac{\text{Suma de cuadrados intragrupos}}{\text{Suma de cuadrados totales}} = \frac{|S|}{|T|}$$

dónde:

λ = Estadístico Lambda Wilks

S = Matriz de varianzas-covarianzas combinada, calculada a partir de las matrices de varianzas-covarianzas de cada grupo

T = Matriz de varianzas-covarianzas total, calculada sobre todos los casos como si perteneciesen a un único grupo

Hipótesis:

H0: No existen diferencias significativas entre las tasas de crecimiento retro-calculadas del mesocosmo y post-mesocosmo ($\mu_1 = \mu_2$).

H1: Existen diferencias significativas entre las tasas de crecimiento retro-calculadas del mesocosmo y post-mesocosmo ($\mu_1 \neq \mu_2$).

Se rechaza H0 si: $p \leq \alpha$

dónde:

α = Nivel de significancia ($p \leq 0,05$)

p = Probabilidad de ocurrencia

Comparación del grosor de los micros-incrementos

Los grosores de los micro-incrementos diarios se obtuvieron a partir del cálculo de las diferencias de los radios de los micros-incrementos diarios, aplicando la siguiente fórmula:

$$GRM = R_{d(n+1)} - R_{d(n)}$$

dónde:

GRM = Grosor medio del micros-incremento

R_d = Radio del micro-incremento a la edad n

Para saber si existen diferencias significativas entre los grosores en la etapa del mesocosmo y post-mesocosmo, al igual que con las tasas de crecimiento retro-calculadas, se realizó un análisis de la varianza de medidas repetida (ANDEVA-RM). Para el diseño se utilizó un período de repetición de los 10 primeros días para la etapa del sistema del

mesocosmo y pos-mesocomo; tomando al grosor del micro-incremento como factor intra-sujeto y al sistema (mesocosmo y pos-mesocosmo) como factor inter-sujeto. La hipótesis formulada fue la siguiente:

H₀: No existen diferencias significativas entre los grosores del mesocosmo y pos-mesocosmo.

H₁: Existen diferencias significativas entre los grosores del mesocosmo y post-mesocosmo.

$$\mu_1 = \mu_2$$

$$\mu_1 \neq \mu_2$$

Se rechaza H₀ si: Valor $p < \alpha$

dónde:

μ_1 = Grosor del micro-incremento en la etapa de mesocosmo

μ_2 = Grosor del micro-incremento en la etapa de pos-mesocosmo

p = Probabilidad de ocurrencia

α = Nivel de significancia (0,05)

5. RESULTADOS

5.1 Caracterización de la microestructura de los otolitos

En la estructura de otolitos de juveniles de *Engraulis ringens* fue posible observar su cara externa, que correspondió a una estructura elíptica que se va afinando hacia el borde anteroventral que con la cara anterior conforman el rostro. La cara anterior al llegar al borde anterodorsal confluye con la cara anterior dando lugar al antirostro. Entre el rostro y antirostro se forma una curvatura llamada excisura. Al juntarse el borde ventral con el borde dorsal forman una curva que corresponde al postrostro (Fig. 13).

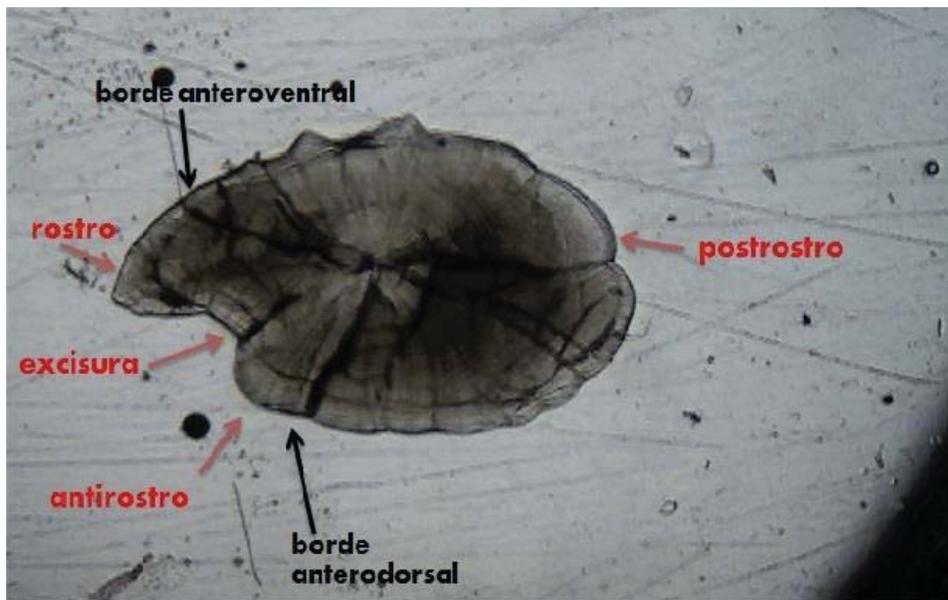


Figura 13. Ilustración de un otolito de un juvenil de *Engraulis ringens* de 4,7 cm, que muestra las partes de la cara externa: rostro, antirostro, postrostro, excisura y borde anteroventral y anterodorsal. Aumento 10X.

La micro-estructura mostró también los siguientes rasgos distintivos: (i) un primordio único, fijo y de forma circular en la parte central del otolito (Fig.14, foto a), (ii) un primer anillo diario o marca de eclosión se presentó en forma clara y bien definida, (iii) presencia de micro-incrementos primarios desde el primordio hasta el borde del otolito y (iv) en algunos casos se pudo apreciar una marca de primera alimentación claramente visible (Fig. 14, foto b).

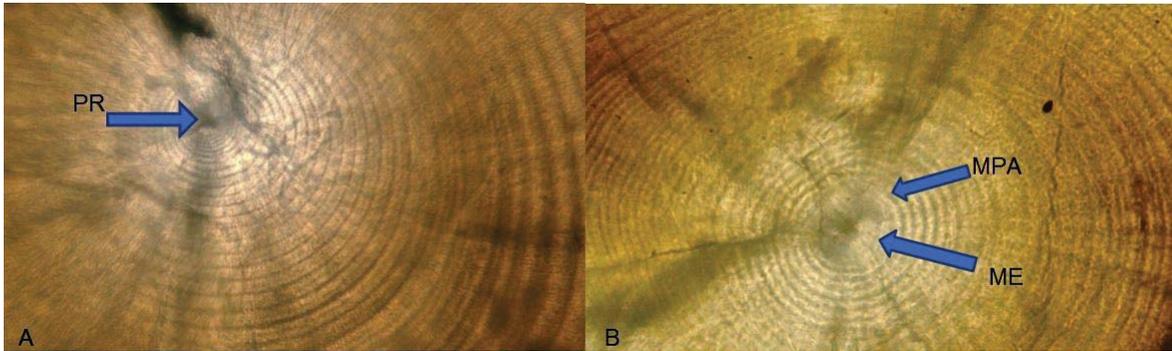


Figura 14. Fotografía de un otolito juvenil de anchoveta, donde se observa visiblemente en **A)** primordio (PR) y en **B)** marca de eclosión (ME) y marca de primera alimentación (MPA). Aumento 20x.

Los micros-incrementos primarios presentaron tres zonas características: una zona A que presentó micros-incrementos bien definidos; una zona B donde no se logró visualizar en forma clara los incrementos por presencia de anillos dobles y subdiarios, por perturbaciones provocadas por el pulido o en algunos casos sobre pulido de la estructura, (cabe destacar que los anillos subdiarios y perturbaciones no fueron contadas); y la zona C que estuvo caracterizada por la transición desde el mesocosmo al sistema de confinamiento, en el cual se pudieron observar micros-incrementos bien homogéneos tanto en grosor como en resolución.

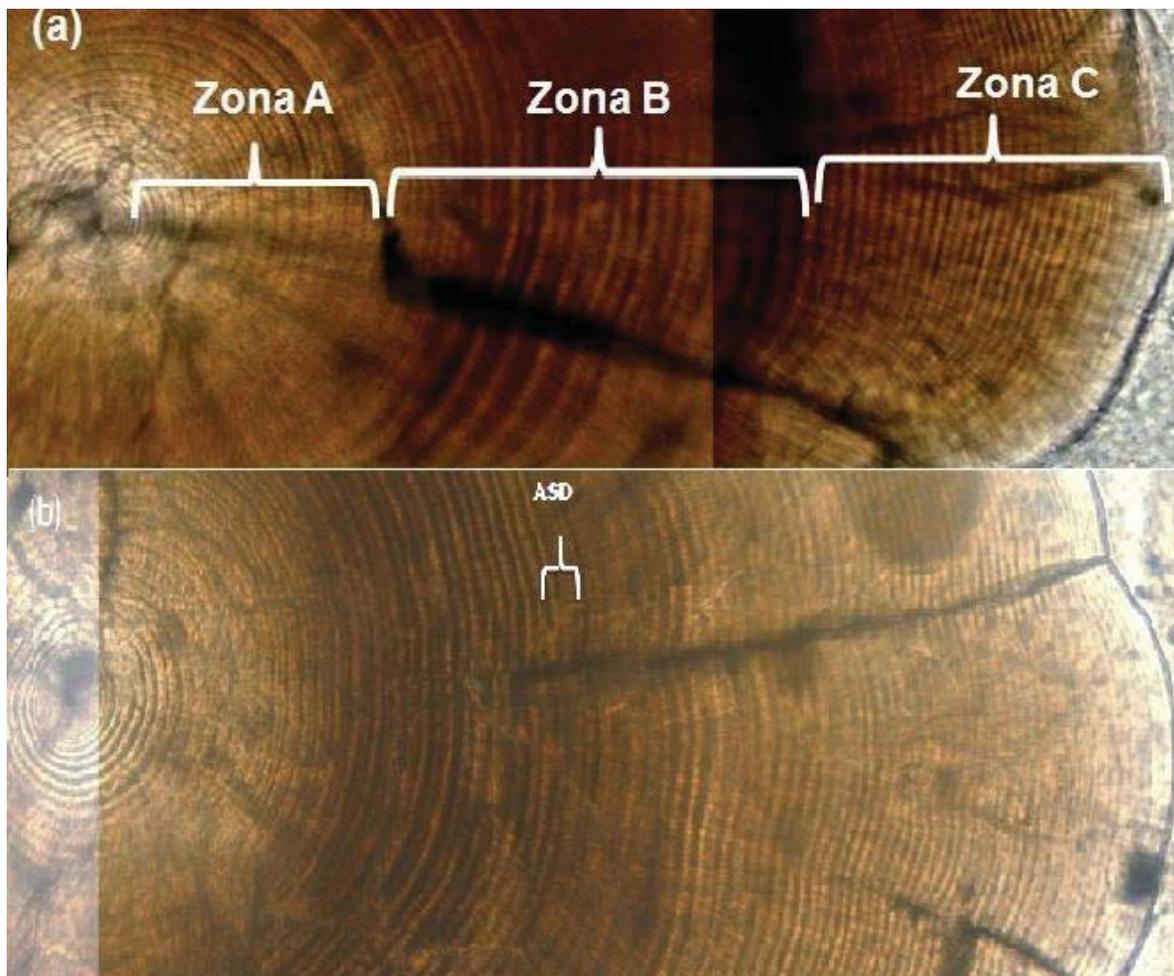


Figura 15. Fotografía de la micro-estructura de un otolito de *Engraulis ringens* a una magnificación de 20x. **(a)** ilustración de las tres zonas características y **(b)** ilustración de la presencia de anillos subdiarios (ASD).

5.2 Determinación del crecimiento de juveniles de anchoveta

La figura 16 muestra la relación edad-longitud de ejemplares juveniles de anchovetas sacrificados desde el 4 de octubre al 27 de noviembre del 2011. Existe una relación lineal significativa ($F= 50,3$ y $P<0,05$) entre la edad (días) y la longitud total (mm), donde la edad explicó un 59% de la variabilidad en la longitud ($r^2= 0.59$) para el rango de edad (65-96 días y longitud (36-57 mm) de juveniles sacrificados (Fig. 14).

La figura 17 muestra la relación edad-peso de los juveniles de anchoveta, con un comportamiento lineal significativo ($F = 45,6$ y $P<0,05$) y pendiente positiva, donde la edad explicó el 57% de la variabilidad en el peso de los juveniles. El peso máximo se logró a los 100 días de edad, con un valor de 0,71 g y un peso mínimo de 0,19 g a los 67 días. No obstante, el peso promedio fue de 0,44 g y la desviación estándar de 0,14.

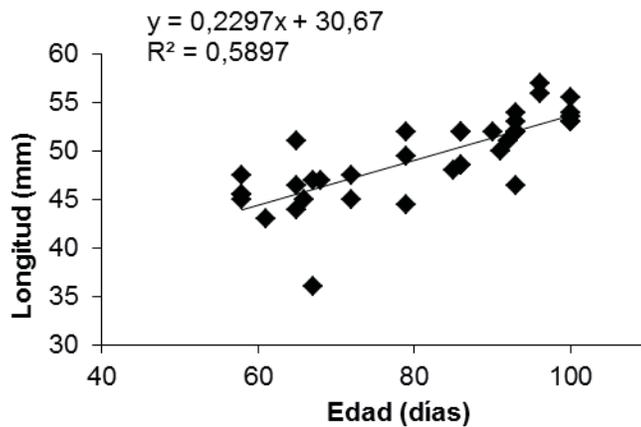


Figura 16. Relación longitud total (mm) y edad total en días de los juveniles de anchoveta del norte.

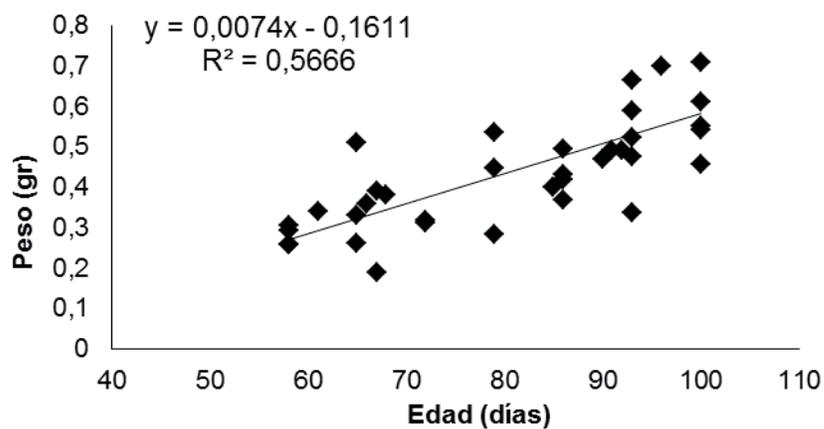


Figura 17. Relación entre el peso total (g) y la edad en días de los juveniles de *Engraulis ringens*.

La figura 18 muestra la tasa de crecimiento absoluta que fluctuaron entre $0,16 \text{ mmd}^{-1}$ a $0,38 \text{ mmd}^{-1}$ ($0,29 \pm 0,039$), presentando la menor tasa a los 70 días de edad y la mayor a los 68 días de edad.

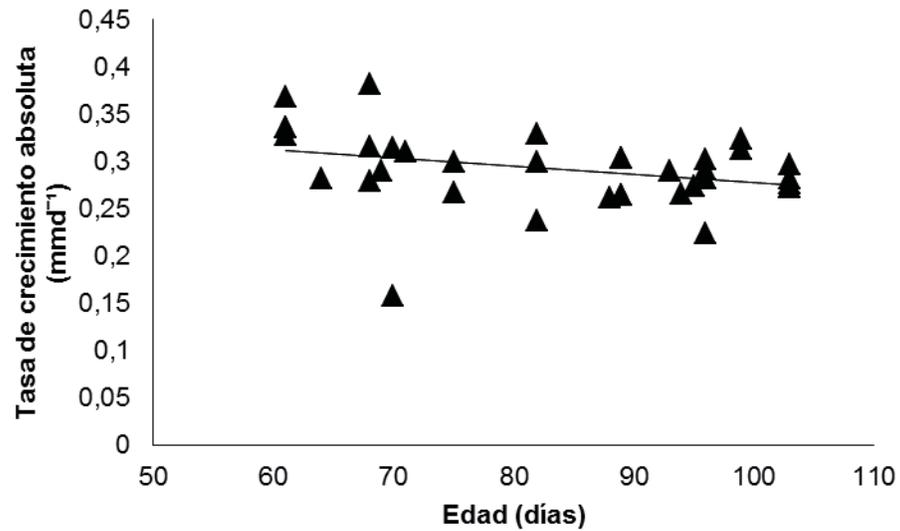


Figura 18. Tasa de crecimiento absoluta (mmd^{-1}) de juveniles de *Engraulis ringens* mantenidos en confinamiento.

Con respecto a la relación talla-peso (Fig. 19), los datos presentan una correlación cercana a 1. También se puede evidenciar que existió una relación directa entre la longitud y el peso de estos juveniles de anchoveta. Por ende, a medida que van creciendo en longitud va aumentando también su peso, con valores que fluctúan entre 3,6 a 5,7 cm de longitud total y 0,19 a 0,81 gramos de peso.

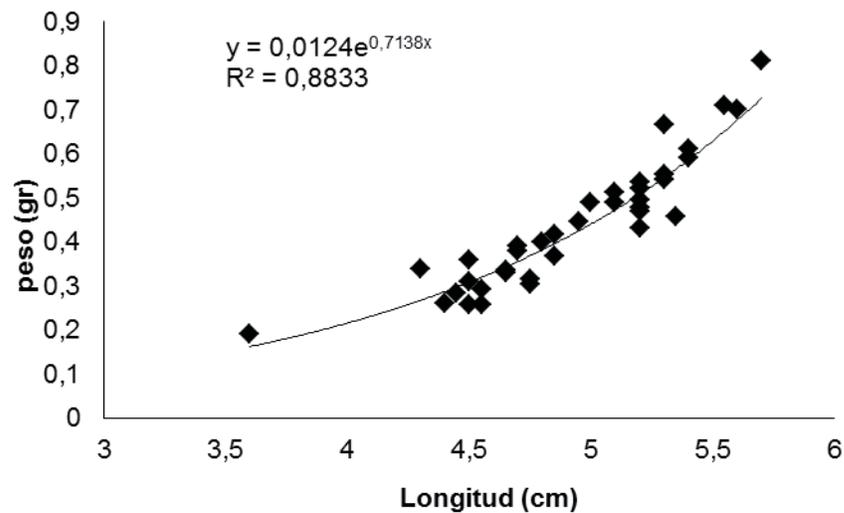


Figura 19. Relación entre longitud total (cm) y peso total (gr) de juveniles de anchoveta.

5.3 Determinación de la relación de edad y crecimiento por retro-cálculo

La figura 20 muestra que existe una relación lineal entre la longitud de los otolitos y la longitud de los peces, con una pendiente positiva. La longitud del otolito explicó el 75% de la variabilidad en la longitud de los peces ($R^2 = 0,75$). A su vez, este resultado justificó el uso del método para retro-calcular la longitud de los peces mediante la utilización del método de intercepto biológico.

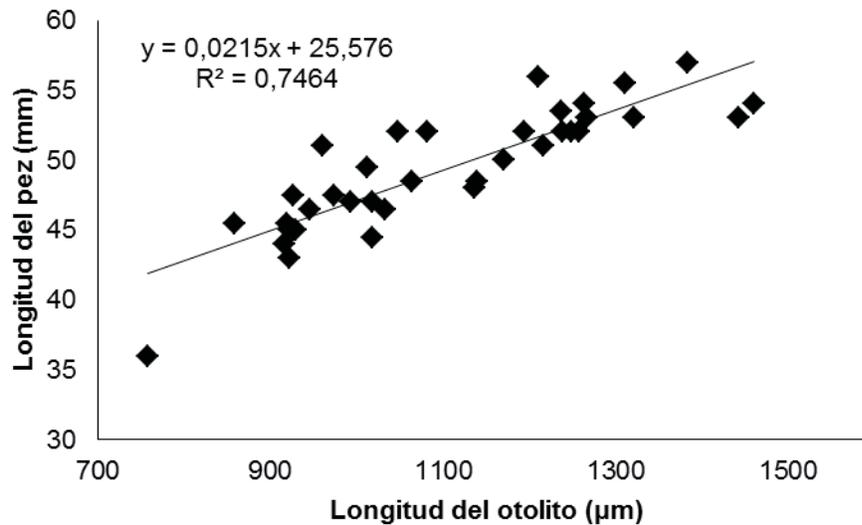


Figura 20. Relación entre longitud del pez (mm) y longitud del otolito (μm) de los juveniles de *Engraulis ringens*.

Análisis retrospectivo del crecimiento

Utilizando el método de intercepto biológico se retro-calcularon las longitudes de los juveniles de anchoveta, obteniéndose la relación talla-edad de la especie (Fig. 21). Las longitudes promedio retro-calculadas fluctuaron entre 2,8 y 53,5 mm de LT, para un rango de edad de 2 y 96 días, con una desviación estándar que varió desde 1,17 a 4,04. El ajuste del modelo Gompertz a las longitudes promedio retro-calculadas fue significativo ($p < 0,01$; Tabla 3). El punto de inflexión se alcanzó a los 31 días de edad, presentando una longitud de 17,42 mm y una longitud infinita pasado los 55 días de edad.

Tabla 3. Parámetros del modelo de Gompertz ajustado a datos retro-calculados de longitud de juveniles *E. ringens*, mantenidos en condiciones de confinamiento en el norte de Chile. La probabilidad de todos los parámetros fue $<0,001$.

Parameter	Estimate	ASE	Parameter/ASE	Wald 95% Confidence Interval	
				Lower	Upper
A	57,746	0,544	106,221	56,681	58,812
G	0,038	0,001	47,269	0,036	0,039
B	30,695	0,358	85,768	29,994	31,397

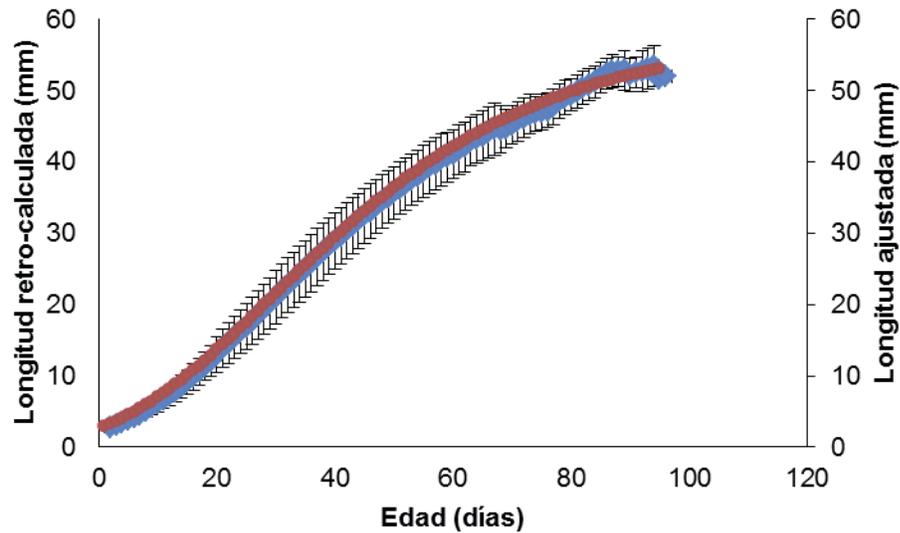


Figura 21. Longitud promedio retro-calculada (-) y longitud ajustada al modelo de Gompertz (-) para juveniles de anchoveta.

Tasa de crecimiento

La figura 22 muestra la curva de la tasa de crecimiento instantánea retro-calculada para cada edad, a partir del segundo día pos-eclosión hasta el nonagésimo sexto día (96). Las tasas variaron entre $0,17 \text{ mmd}^{-1}$ a $0,81 \text{ mmd}^{-1}$ ($0,53 \pm 0,21$). Se observa la tasa de crecimiento al punto de inflexión (TCA_{pi}), punto máximo de crecimiento de la curva, la cual toma un valor de $0,81 \text{ mmd}^{-1}$ a la edad de 31 días. Pasada la TCA_{pi} la curva empieza a decrecer, alcanzando valores desde $0,80 \text{ mmd}^{-1}$ a $0,17 \text{ mmd}^{-1}$ entre los 32 a 96 días de edad.

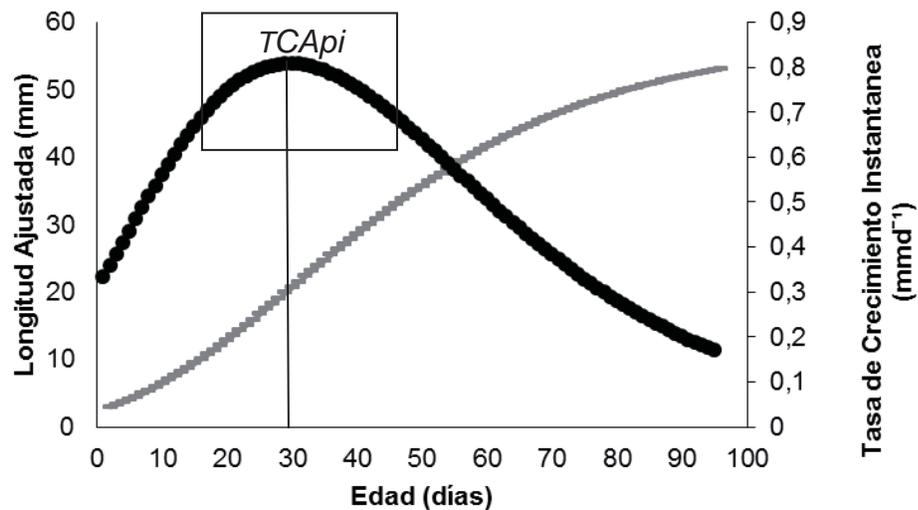


Figura 22. Longitud retro-calculada (mm) (-), tasa de crecimiento instantánea (mmd^{-1}) (-) y la tasa de crecimiento absoluta al punto de inflexión (TCA_{pi}) de juveniles de anchovetas ajustados al modelo de crecimiento de Gompertz.

Análisis estadístico comparativo

Comparación de las tasas de crecimiento retro-calculadas

La figura 23 muestra las tasas de crecimiento retro-calculadas medias en etapas de cultivo en el mesocosmo y post-mesocosmo, las cuales están separadas al día 51 de edad por una línea vertical que indica el día de traspaso de un sistema a otro. Se puede evidenciar que las tasas de crecimiento durante el mesocosmo presentaron una forma parabólica, aumentando gradualmente entre 0,30 a 0,85 mmd^{-1} en los 20 primeros días de vida, para luego decrecer en forma constante entre el rango de 0,78 a 0,57 mmd^{-1} a los 35 a 51 días de edad respectivamente. A su vez se consideran las tasas de crecimiento post-mesocosmo desde la edad de 52 a 75 días, con valores entre 0,62 a 0,46 mmd^{-1} .

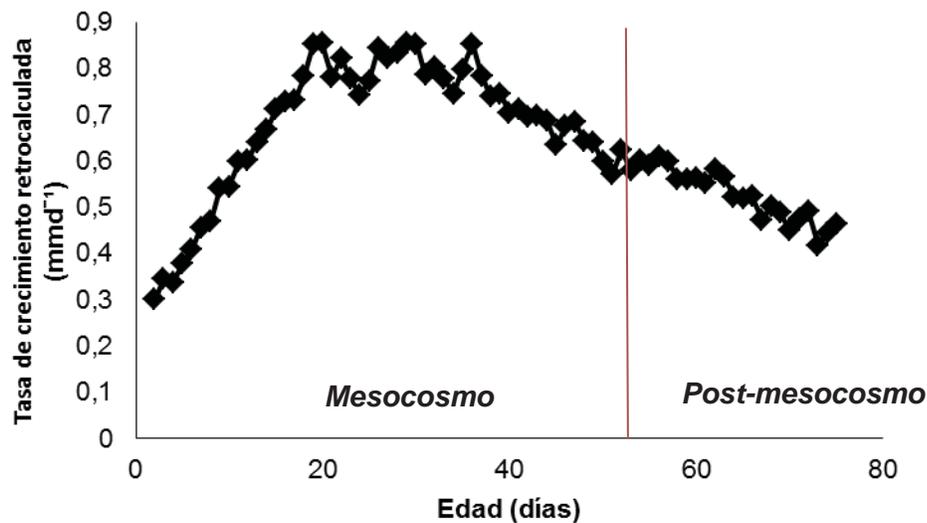


Figura 23. Tasas de crecimiento retro-calculadas medias en la etapa de mesocosmo y post-mesocosmo, considerados desde el día dos después de la eclosión hasta los 75 días de vida.

Para evaluar si el crecimiento individual varió entre los sistemas se llevó a cabo un análisis estadístico ANDEVA-RM, comprando los últimos 10 días de los juveniles en el mesocosmo con los primeros 10 días en que ellos recibieron alimentación artificial balanceada. Se demostró a un 95% de confianza, que existen diferencias significativas en las tasas de crecimiento en los distintos sistemas (mesocosmo y después del mesocosmo, $P < 0,05$), por lo que se rechazó la hipótesis nula que propone que las tasas de crecimientos medias fueron iguales entre sistemas (Tabla 4).

Tabla 4. Análisis multivariado de medidas repetidas en juveniles de *Engraulis ringens*, para evaluar diferencias significativas en las tasas de crecimiento retro-calculadas en la etapa de cultivo mesocosmo y post- mesocosmo.

Efecto		Valor	F	Gl de la hipótesis	Gl del error	Sig.
TC	Lambda de Wilks	,545	5,464 ^a	9,000	59,000	,000
TC* Sistema	Lambda de Wilks	,443	8,232 ^a	9,000	59,000	,000

Comparación del grosor de los micros-incrementos

Los cambios en el grosor de los micros-incrementos siguieron una tendencia similar a lo reportado para las tasas de crecimiento (Fig. 24).

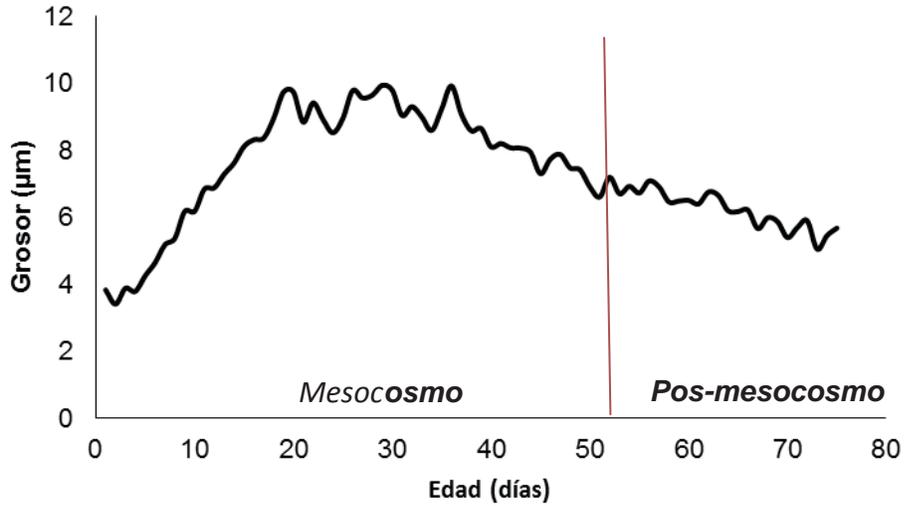


Figura 24. Grosos medios de los micros-incrementos diarios en la etapa de mesocosmo y pos-mesocosmo a los 75 días de vida.

En la tabla 5 se observan los resultados del análisis de la varianza de medidas repetidas para los grosores de los micros-incrementos diarios en los sistemas mesocosmo y pos-mesocosmo; con un nivel de significación $P < 0,05$ se observaron diferencias significativas en los grosores medios entre ambos sistemas.

Tabla 5. Análisis multivariado de medidas repetidas en juveniles de *Engraulis ringens*, para evaluar diferencias significativas en el grosor de los micros-incrementos diarios en la etapa de cultivo mesocosmo y después del mesocosmo.

Efecto		Valor	F	Gl de la hipótesis	Gl del error	Sig.
Grosor	Lambda de Wilks	,548	5,410 ^a	9,000	59,000	,000
Grosor* Sistema	Lambda de Wilks	,460	7,685 ^a	9,000	59,000	,000

6. DISCUSIÓN

6.1 Caracterización de la microestructura de otolitos

En el presente estudio fue posible observar los micros-incrementos de los otolitos sagita de juveniles de anchoveta a lo largo de todo su eje de crecimiento lo que coincidió con otros autores que han trabajado con especies del género *Engraulidos* (Morales-Nin, 1989; Waldron, 1994; Cermeño *et al.*, 2003, 2006).

La forma de la microestructura de los otolitos sagitales es similar a la descrita por otros autores (Gómez, 2013), tanto en las partes de la cara externa como en su parte interna. En estas se identificaron micro-incrementos diarios de crecimiento que se visualizan como anillos concéntricos claros llamados unidades continuas y oscuras unidades discontinuas, (Morales-Nin, 1992), los que se encuentran alrededor del núcleo o primordio y avanzan hasta la periferia del otolito. También se logró ver la marca de eclosión, que coincidió con la formación del primer incremento (Lagardere, 1989), y la marca de primera alimentación que en algunos casos se presentó como primer anillo diario (Geffen, 1982).

La particularidad de los otolitos de anchovetas es que presentan claramente tres zonas características (Fig. 15) y marcas naturales que representan el término y comienzo de cada zona (como fue el caso del traspaso desde el sistema del mesocosmo al sistema de cultivo con alimento artificial). La primera zona se presentó desde la marca de eclosión hasta los 25 días de vida aproximadamente. La segunda zona se encontró entre los 25 a 55 días de edad y estuvo marcada fuertemente por la aparición de anillos dobles, subdiarios y/o perturbaciones que hicieron más compleja la observación y lectura de los incrementos. Pannella (1980) se refiere a la formación de anillos subdiarios causados por periodicidades variables dados por la ingesta de alimento, variaciones del medio o estrés. No obstante, los primeros casos de anillos subdiarios reportados en especies engraulidos se observaron en larvas de *Engraulis japonicus* y en la pre-metamorfosis de *Engraulis encrasicolus* (Cermeño *et al.*, 2008). Debido a estas dificultades presentadas en esta zona se procedió a leer los micros-incrementos diarios utilizando el criterio de lectura de interpretación IMR, el cual cuenta cada incremento en forma independiente (Cermeño *et al.*, 2008).

La formación de estos anillos dobles corresponden a crecimientos acelerados que sufre la especie durante el proceso de la metamorfosis, en donde *Engraulis ecrasicolus* presentó la mayor formación de bandas o anillos de crecimiento dobles (Cermeño *et al.*, 2006). Otros autores también han descrito la presencia de estos anillos dobles o subdiarios durante la etapa de metamorfosis, como es el caso de Palomera (1989) que describió la presencia de micros-incrementos subdiarios para larvas de anchovetas. Zhang & Runham (1992) encontraron estructuras similares durante los períodos de rápido crecimiento en varias especies y Morales-Nin & Aldebert (1997) y Tomás & Panfili (2000) se refieren a micros-incrementos subdiarios en la etapa de metamorfosis y cambios en el hábitat.

La tercera zona se observó durante los 55-96 días de edad y se caracterizó por la transición de un sistema de mesocosmo a uno semi-intensivo, donde los anillos diarios se distinguieron de forma más homogénea debido a que los juveniles se empezaron a alimentar de forma constante con alimento formulado. Conjuntamente se percibieron grosores más delgados, donde en algunos casos dificultó un poco la lectura. Esto pudo haber ocurrido por el desgaste de la forma en el proceso de pulido, como también pudo deberse a las condiciones estresantes de un cultivo de confinamiento en el que se mantuvieron los juveniles de anchoveta (cambios de agua diarios, falta de nutrientes y alimentación). En este sentido, algunos autores han reportado que algunos factores como el nivel de alimentación, periodicidad de alimentación, tamaño del estanque de cría y la temperatura pueden influir en la periodicidad y grosor de los incrementos (Geffen, 1982; Alhossaine & Pitcher, 1988).

6.2 Determinación de la relación edad y crecimiento por retro-cálculo

Al utilizar la técnica de retro-cálculo se debe tener presente una proporcionalidad entre el crecimiento del pez y el crecimiento del otolito. Se demostró a través de la relación lineal entre el tamaño corporal de los peces y el tamaño de los otolitos esta proporcionalidad, lo que concuerda con Hernández & Castro (2000) para *Engraulis ringens*. En base a esta relación se procedió a determinar las longitudes retro-calculadas de los juveniles de anchoveta mediante el método de intercepto biológico.

Las longitudes retro-calculadas presentadas por los juveniles de *Engraulis ringens* siguieron una tendencia curvilínea desde el segundo día después de la eclosión hasta los 96 días donde presento una longitud de 52 mm. Esto concuerda con lo reportado por Butler (1989) para larvas y juveniles de *Engraulis mordax* que alcanzan los 53mm a los 100 días aproximadamente.

Cermeño *et al.*, (2008) mencionan que la longitud estándar de las larvas de *Engraulis encrasicolus* está dentro del rango de 4,7 a 20,2 mm para individuos de 2 y 26 días de edad. No obstante, Hernández & Castro (2000) determinaron para *Engraulis ringens* longitudes estándar de 5,68 y 20,74 mm entre 3 y 35 días y Plaza *et al.*, (2008) quien señaló para *Sardinops melanopticus* rangos de longitudes de 4 a 30 mm presentadas dentro de los 40 días de edad, lo cual concuerda con los hallazgos obtenidos en el presente estudio donde alcanzan estas longitudes retro-calculadas, dentro los primeros 43 días de edad.

La relación talla-edad se determinó a partir del ajuste de las longitudes retro-calculadas y para ello se utilizó el modelo de Gompertz, el cual describe adecuadamente el crecimiento en los primeros años de vida de los peces (Ricker, 1975). Por otra parte, Cermeño *et al.*, (2008), Henandez & Castro (2000), Plaza *et al.*, (2005, 2008) también hacen alusión a la aplicación de este modelo para describir curvas de crecimiento en engraulidos y clupeiformes. Este modelo se ajustó de buena forma a la curva de

crecimiento, presentando longitudes que variaron entre los 2,9 mm y los 53,1 mm dentro de un periodo de 2 a 96 días de vida, alcanzando la etapa de metamorfosis entre los 25 a 55 días de edad; este hallazgo concuerda con lo establecido por Cermeño *et al.*, (2008) quienes sostienen que la etapa de metamorfosis para la anchoveta europea ocurre entre los 25 y 65 días de edad.

Las tasas de crecimiento se obtuvieron a través del ajuste de las longitudes retrocalculadas. Así se estimaron las tasas de crecimiento absolutas derivadas del modelo Gompertz, las que oscilaron entre $0,17 \text{ mmd}^{-1}$ y $0,81 \text{ mmd}^{-1}$ durante el periodo de 2 a 96 días de vida. Cabe destacar que el máximo crecimiento registrado para la especie se alcanzó a la edad de 31 días, con una tasa de crecimiento de $0,81 \text{ mmd}^{-1}$ (TC_{Api}). Se debe subrayar que en este estudio se alcanzaron tasas de crecimiento similares a otras especies de engraulidos, donde se han reportado tasas de $0,9 \text{ mm/día}^{-1}$ para larvas de anchoveta del mediterráneo de 8 mm de longitud (García & Palomera, 1996), $0,56$ y $0,73 \text{ mmd}^{-1}$ para *Engraulis encrasicolus* (Cermeño *et al.*, 2008), $0,36 \text{ mmd}^{-1}$ para *Engraulis mordax* (Butler, 1989) y $0,4$ y $0,57 \text{ mmd}^{-1}$ para larvas de *Engraulis ringens* (Hernández & Castro, 2000), cuyos valores se registran dentro de los 10 primeros días de vida en el presente estudio.

De los estudios de Blaxter & Hunter (1982), Cermeño *et al.*, (2008) y Hunters (1976), más los resultados obtenidos en este estudio, se pudo inferir que: (i) *Engraulis ringens* destina una fracción significativa de su energía a crecer aceleradamente en las primeras etapas de su vida, (ii) la especie disminuye su crecimiento al entrar a la etapa de metamorfosis y (iii) las variables disponibilidad de alimento y temperatura afectan las tasas de crecimiento (Shepherd & Cushing, 1980; Jenkins, 1987; Miller *et al.*, 1988; Houde, 1989; Houde & Zastrow, 1993).

Finalmente, es importante subrayar que en el presente estudio se evidenció un crecimiento acelerado de esta especie durante la etapa larval y juvenil temprana, en condiciones de confinamiento, que simulan las condiciones de productividad del ambiente natural. Este hallazgo, sumado a la capacidad de desovar en condiciones de stress post-captura, otorga un gran potencial para el cultivo masivo de esta especie para fines productivos. Por consiguiente, es altamente aconsejable continuar desarrollando una investigación básica y aplicada de esta especie en condiciones experimentales.

7. CONCLUSION

Los otolitos sagitales de juveniles de *E. ringens* presentaron micro-incrementos distintivos a través de toda su estructura, desde el núcleo o primordio hasta el borde del otolito.

La micro-estructura de los otolitos sagitales estuvo caracterizada por la presencia de tres zonas, distinguidas por la resolución y grosores de los micro-incrementos, así como también por marcas naturales que se presentaron al término de la transición de un sistema enriquecido con nutrientes (mesocosmo) a un sistema con dietas a partir de alimento formulado.

La relación talla-edad fue descrita mediante un análisis retrospectivo, ajustando significativamente un modelo Laird- Gompertz cuyos parámetros fueron $L_{\infty}=57,7$ mm; $X_0=30,7$ mm; $G=0,038$ mmd⁻¹.

Las tasas de crecimiento fueron mayores durante la fase larval, donde el máximo crecimiento se alcanzó a los 31 días de edad con un valor de 0,81mmd⁻¹. Estas se hicieron menores en la etapa de metamorfosis y fueron disminuyendo hasta los últimos días de vida.

Se demostró estadísticamente que existieron diferencias significativas entre las tasas de crecimiento retro-calculadas del sistema de cultivo mesocosmo y post-mesocosmo, como también en los grosores medios de los micros-incrementos diarios mantenidos en los dos sistemas de cultivo.

Del presente estudio se demostró que del análisis de la microestructura de otolitos, utilizando la técnica de retro-calculo, se pueden obtener estimaciones precisas de crecimiento durante la etapa larval-juvenil temprana.

8. REFERENCIAS

- Araya, M. 2002.** Análisis retrospectivo del crecimiento en peces y sus problemas asociados (Gayana). Artículos Scielo, versión on line issn 0717-6538, Chile.
- Aldonado, N., U. Cotano & E. Etxebeste. 2008.** Validation of daily increments deposition in the otoliths of European anchovy larvae (*Engraulis encrasicolus*) reared under different temperature conditions. *Fish Res.*, 93: 257-264.
- Alhossaini, M. & T. Pitcher. 1988.** The relation between daily rings, body growth and environmental factors in plaice, *Pleuronectes platessa* L., juvenile otoliths. *J. Fish. Biol.* 33: 409-418.
- Aliaga, B., D. Gomez & S. Neira. 2001.** Análisis bio-económico de la pesquería de sardine (*Sardinops sargax*) y anchoveta (*Engraulis ringens*) de la zona norte de Chile. *Invest. Mar., Valparaíso*, 29 (2): 15-23.
- Barria, P., M. Bohm, G. Aranís, A. Gili, R. Donoso & 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.
- Blaxter, J.H.S. & J.R. Hunter 1982.** The biology of the clupeoid fishes. In *Advances in Marine Biology* (Blaxter, J. H. S., Rusell, F. S. & Yonge, M., eds), pp. 1–223. New York, Academic Press.
- Borja, A., A. Fontan, J. Saenz & V. Valencia (2008).** Climate, oceanography, and recruitment: the case of the Bay of Biscay anchovy (*Engraulis encrasicolus*). *Fish Ocean.*, 17: 477-493.
- Brothers, E.B., C.P. Mathews & R. Lasker. 1976.** Daily growth increments in otoliths from larvae and adult fishes. *Fish. Bull., U.S.* 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, S.E. 1984.** Interactive effects of age and environmental modifiers on the production of daily growth increments in otoliths of plainfin midshipman, *Porichthysnotatus*. *Fish Bull.*, 82: 165–177.
- Campana, S.E. & J.D. Neilson. 1985.** Microstructure of fish otoliths. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 42: 1014-1032.
- Campana, S.E. 1990.** How reliable are growth back-calculation based on otoliths. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 47: 2219-2227

- Campana, S.E. & C.M. Jones. 1992.** Analysis of otolith microstructure Data. P. 73-100. In D.K. Stevenson and S.E. Campana (eds.). Otolith microstructure examination and analysis. Can. Spec. Publ. Fish.Aquat. Sci., 73-100.
- Campana, S.E. 2001.** Accuracy, precision and quality control in age determination, including review of the use and abuse of age validation methods. J. Fish. Biol., 59: 197-242.
- Catcoparco, C., E. Dupre & C. Espinoza. 2010.** Crio-preservación de espermatozoide de anchoveta peruana (*Engraulis ringens*). Rev. Biol. Ocean., 45 (1): 121-126.
- Cermeño, P., A. Uriarte, A.M. De Murguía & B. Morales-Nin. 2003.** Validation of daily increment formation in otoliths of juvenile and adult European anchovy. J. Fish Biol., 62: 679–691.
- Cermeño, P., B. Morales-Nin & A. Uriarte. 2006.** Juvenile European anchovy otolith microstructure. Sci. Mar. 70: 553-557.
- Cermeño, P., A. Uriarte, B. Morales-nin, M. Cotano & P. Alvarez. 2008.** Setting up interpretation criteria for ageing juvenile european anchovy otoliths. Sci. Mar., 72: 733-742.
- Chopin, T., J.A. Cooper & G. Reid. 2012.** Open-water integrated multi-trophic aquaculture: environmental biomitigation and economic diversification of fed aquaculture by extractive aquaculture. Aqua Res., 4: 209-220.
- Chopin, T., B. MacDonald & S. Robinson. 2013.** The Canadian integrated multi-trophic aquaculture network (CIMTAN) a network for a new era of ecosystem responsible aquaculture. Fish. Sci., 38: 297-308.
- Ciechowski, J., R. Sánchez, G. Alespeiti, R. Gili & H. Regidor. 1986.** Estudio sobre el crecimiento en peso y factor de condición en larvas de anchoíta *Engraulis anchoíta* Hubbs & Marini. Variaciones regionales, estacionales y anuales. Rev. Invest. Des. Pesq., INIDEP, Mar del Plata., 5: 183-193.
- Cubillos, L. & D. Arcos. 2002.** Is the jack mackerel population affected by ENSO's variability? In: Extended abstracts of the El Niño Symposium & Workshop. Investigaciones Marinas, Valparaíso., 30: 185.
- Espinoza, P. & A. Bertrand. 2008.** Revisiting peruvian anchovy (*Engraulis ringens*) trophodynamic provides a new visión of the humbolt current system. Progress in Oceanography., 79: 215-227.

Espinoza, C., V. Vera, A. Perea, B. Buitron, P. Rojas & O.S. Kjesbu. 2009. Efecto de la ración alimenticia sobre la maduración gonadal y acumulación de anchoveta peruana (*Engraulis ringens*, Jenyns 1842) en cautiverio. Lat. Am. J. Aquat Res., 37(2): 181-190.

Espinoza, C., A. Perea, B. Buitron, P. Cisneros, C. Catcoparco, A. Alberro & D. Vizziano. 2010. Inducción del desove y espermiación de anchoveta peruana *Engraulis ringens* (Jenyns 1842) en cautiverio mediante la inyección de un análogo GnRH. Lat. Am. J. Aquat Res., 38 (2): 234-241.

FAO 1982. Lectura de edades en otolitos de peces teleósteos. Informe técnico 30: 41pp.

FAO 1988. Peces clupeidos del mundo (Suborden clupeidei). Fish. Synop FAO., 7 (2): 305-579.

FAO 2012. Estado mundial de la pesca y la acuicultura 2012. Roma., 231pp.

García, A., D. Cortés & I. Palomera. 1996. Anchovy earle life history and its relation to its surrounding environment in the western mediterranean basin. Proceedings of I Congreso Iberico de Plancton, Coimbra (Portugal). Sci. Mar., 60: 155-166.

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.

Gómez, M. 2013. Tesis para optar al título de Ingeniería Pesquera. “Caracterización de los parámetros de edad y crecimiento de la zona norte de Chile asociados a eventos El Niño y La Niña”. Tesis, Esc. de Ciencias del Mar, UCV, 63 pp.

Gutiérrez, M., R. Castillo, M. Segura, S. Peraltilla & M. Flores. 2012. Trends in spatio-temporal distribution of Peruvian anchovy and other smallpelagic fish biomass from 1966-2009. Lat. Am. J. Aquat. Res., 40: 633-648.

Hare, J.A. & R.K. Cowen. 1994. Ontogeny and otolith microstructure of blue fish *Pomatomus saltatrix* (Pisces: Pomatomidae). Mar. Biol., 118: 541-550.

Hembel, G. & J.H.S. Blaxter. 1963. On the condition of herrin glarvae. Rapp. Proc. Verb. Reune. Cons. Perm. Int. Explor. Mer., 154: 35-40.

Hernaman, V., P.L. Munday & M.L. Schlappy. 2000. Validation of otolith growth-increment periodicity in tropical gobies. Mar. Biol., 137: 715-726.

Hernández, E. & L. Castro. 2000. Larval growth of the anchoveta *Engrauli sringens* during the winter spawning season off central Chile. Fish. Bull. U.S., 98: 704–710.

- Hoedt, F.E. 1992.** Age and growth of a large tropical anchovy, *Thryssa hamiltoni*(Gray): a comparison of ageing techniques. Aust. J. Mar. Freshwater Res., 43 (5): 953-971.
- Hunter, J.R. 1976.** Culture and growth of Northern Anchovy *Engraulis mordax*, larvae. Fish. Bull., 74: 81-88.
- Houde, E.D. & C.E Zastrow. 1993.** Ecosystem and taxon-specific dynamic and energetics properties of fish larvae assemblages. Bull. Mar. Sci., 53: 290–335.
- Lagardere, F. 1989.** Influence of feeding conditions and temperature on the growth rate and otolith-increment deposition of larval Dover sole (*Solea solea* (L.)). Rapp P-v Reun Cons Int Explor. Mer., 191: 390-399.
- Jenkins, G. P. 1987.** Age and growth of co-occurring larva of two flounder species, *Rhombosolea tapirina* and *Ammotretis rostratus*. Mar. Biol., 95: 157–166.
- Joh, M., T. Takatsu, M. Nakaya, T. Higashitani & T. Takahashi. 2005.** Otolith microstructure and daily increment validation of marbled sole (*Pseudo pleuronectes yokohamae*). Mar. Biol., 147: 59-69.
- Marks, R.E. & D.O. Conover. 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: 225-24.
- Martín, P., N. Bahamon, E. Sabatés, F. Maynou, P. Sánchez, M. Demestre. 2008.** European anchovy (*Engraulis encrasicolus*) landings and environmental conditions on the Catalan Coast (NW Mediterranean) during 2000–2005. Hydro Biol., 612: 185–199.
- Miller, T.J., L.B. Crowder, J.A. Rice & E.A. Marschall. 1988.** Larval size and recruitment mechanisms in fishes: toward a conceptual framework. Can. J. Fish. Aquat. Sci., 45: 1657–1670.
- Maldonado, L. 2004.** Tesis para optar al título Magister Scientiarum, mención Ecología acuática. Biología de la reproducción y crecimiento de *Colossoma macropomum* en la Amazonia Boliviana. Tesis, UMSA, La Paz, Bolivia., 83pp.
- Morales-Nin, B. 1989.** Age and growth of the southern stock of Peruvian anchovy based otolith microstructures and length frequency analysis. In: D. Pauly, J. Mendo & I. Tsukayama (eds.). The Peruvian upwelling ecosystem: dynamics and interactions. ICLARM Conference Proceedings 18, 438 p. Institutodel Mar del Peru (IMARPE), Callao. Peru; Deutsche Gesellschaft für Technische Zusammenarbeit (GTZ) GmbH, Eschborn, Federal Republic of Germany; and International Center for Living Aquatic Resources Management (ICLARM), Manila, Philippines., 179-188 pp.

Morales-Nin, B. 1992. Determination of growth in bony fishes from otolith microstructure. FAO. Doc. Téc. Pesca 322: 1-58.

Morales-Nin, B. & Y. Aldebert. 1997. Growth of juvenile *Merluccius merluccius* in the Gulf of Lion (NW Mediterranean) based on otolith microstructure and length-frequency analysis. Fish. Res., 30: 77-85.

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

Palomera, I., B. Morales-Nin & J. Lleonart. 1988. Larval growth of anchovy (*Engraulis encrasicolus* L. 1758) in the northeastern Med. Mar. Biol., 99: 283-291.

Palomera, I. 1989. Primeras fases de desarrollo de la ancho (*Engraulis encrasicolus* L. 1758) en la costa catalane. Ph. D. Thesis, Univ. Barcelona, España.

Panfili, J., H. Puntual, H. Troadec & P.J. Wright. 2002. Manual of fish sclerochronology. Brest, France, Ifremer-IRD coedition, 464 pp.

Parkinson, K.L., D.J. Booth & J.E. Lee. 2012. Validation of otolith daily increment formation for two temperate syngnathid fishes: the pipefishes *Stigmato poraargus* and *Stigmato poranigra*. J. Fish Biol., 80: 698-704.

Plaza, G., H. Honda, H. Sakaji & K. Nashida. 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., H. Honda, H. Sakaji & K. Nashida. 2005. Patterns of growth in the early life history of the round herring *Etrumeus teres*. J. Fish Biol. 68: 1421-1435.

Plaza, G. & 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. J. Fish Biol. 73: 1531-15553.

Plaza, G., M. Ishida & D. Aoyama. 2008. Temporal patterns of growth in larval cohorts of the Japanese sardine *Sardinops melanostictus* in a coastal nursery area. J. Fish Biol., 73: 1284-1300.

Plaza, G., F. Cerna & J. Legua. 2012. Validación de formación de anillos primarios y maroanillos de crecimiento de otolitos de anchoveta de la zona norte. Informe Final, ID 4728-31 LP 11, 149 pp.

Sánchez, R.P. 1986. Estudios sobre las variaciones espacio-temporales en los patrones de distribución de embriones y larvas de la anchoíta (*Engraulis anchoíta*), en la relación con la estimación de su intensidad reproductiva. Rev. Invest. Des. Pesq., INIDEP, Mar del plata., N°5: 183-193.

Serra, R., M. Aguayo, O. Rojas, J. Cañón & F. Inostrosa. 1979. Anchoveta *Engraulis ringens* (Jenys) Teleostomi Clupeiformes Engraulidae. In: «Estado actual de las principales pesquerías nacionales. Bases para un desarrollo pesquero: I Peces». CORFO-IFOP (AP-79/18), 52 pp.

Shepherd, J.G. & D.H Cushing. 1980. A mechanism for density dependent survival of larval fish as the basis of a stock-recruitment relationship. Journal du Conseil Permanent International pour l'Exploration de la Mer., 39: 160–167.

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

Tomás, J. & J. Panfili. 2000. Otolith microstructure examination and growth patterns of *Vinciguerria nimbaria* (Photichthyidae) in the tropical Atlantic Ocean. Fish. Res., 46: 131-145.

Troell, M., A. Joyce, & T. Chopin. 2009. Ecological engineering in aquaculture. Potencial for integrated multitrophic aquaculture (IMTA) in marine systems. Aqua., 297: 1-9.

Utoani, I., T. Iwakawa & K. Kawaguchi. 1994. Experimental study on the formation mechanisms of shirasu (postlarval Japanese anchovy) fishing ground with special reference to turbidity. Nip. Suisan. Gakkai., 60: 73-78.

Utsumi, R. & A. Moriyama. 2005. Optimum managemet policy and evaluation of the prohibition of fishing for shirasu (Anchovy larvae) fisheries using Y/R. Nip. Suisan. Gakkai., 71: 91-796.

Yamada, H., M. Chimura, K. Asami, T. Sato, M. Kobayashi & A. Nanami. 2009. Otolith development and daily increment formation in laboratory-reared larval and juvenile black-spot tuskfish *Choerodons choenleinii*. Fish.Sci., 75:5-11.

Yasue, N., R. Doiuchi & Y. Yoshimoto. 2010. Diet of late larval Japanese anchovy *Engraulis japonicus* in the Kii Channel, Japan. Fish Sci., 76: 63-73.

Yokoyama, H. 2013. Growth and food source of the sea cucumber *Apostichopus japonicus* cultured below fish cages-potential for integrated multi-trophic aquaculture. Aquac., 372: 28-38.

Yoo, J.T. & H. Nakata. 2002. Implication of onshore- offshore shifts the Kuroshio axis for plankton biomass in the shirasu fishing grounds off Japanese Pacific coast. *Fish Sci.*, 68: 447- 448.

Zhang, Z. & N. W. Rumhan. 1992. Otolith microstructure pattern in *Oreochromis niloticus* (L). *J. Fish.*40: 325-332.

Zweifel, J. & R. Lasker. 1976. Prehatch and posthatch growth of fishes. A general model. *Fish Bull.*, U.S. 74 (3): 609-621.