

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

Determinación de la estructura del stock de merluza de tres aletas
(*Micromesistius australis*) mediante análisis morfométrico de otolitos

Proyecto para optar al título de Ingeniero Pesquero
por
Javier Andrés Leguá Delgado

Valparaíso
2012

COMISIÓN DEL PROYECTO DE TÍTULO:

Profesor Guía : Dr. Guido Plaza Pasten

Profesor : M. Sc. Patricio Arana Espina

Profesor : Dr. Eleuterio Yáñez Rodríguez

INFORME SOBRE EL PROYECTO

AUTORIZACIÓN DE USO

Al presentar este proyecto como último requisito para la obtención del título de Ingeniero Pesquero, 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.

Javier Andrés Leguá Delgado

DEDICATORIA

*A mis padres y hermano
fundamentales
en mi disciplina
profesional,
y a Mical por
su apoyo
incondicional...*

AGRADECIMIENTOS

Quiero expresar gratitud a todos quienes apoyaron la realización de este proyecto:

A mi padre y madre quienes me enseñaron la disciplina y el esfuerzo que se debe realizar para alcanzar metas. Mención especial para mi padre, que por circunstancias de la vida no pudo estar físicamente, pero espiritualmente siempre estuvo ahí.

Mis agradecimientos a los miembros del comité de tesis por sus valiosos comentarios y sugerencias, Al Dr. Guido Plaza por confiar en mí para ser partícipe de su equipo de trabajo, por sus concejos técnicos, apoyo moral y su gran disposición a escuchar. A mis compañeros del laboratorio de Ecología Marina aplicada.

A Jaime, Carolina y mí ahijado Matías quienes me enseñan constantemente su capacidad de organización y dedicación familiar.

A Mical por su riqueza espiritual, por su mirada distinta de ver la vida y fundamentalmente por su amor sin límites.

A Iskra por el apoyo a mejorar escritura y redacción del presente proyecto.

A don Juan y tía Iskra por darme la oportunidad de conocer su familia, y hacerme partícipe de ella; a la vez por sus consejos de vida.

Al Dr. Alexander Arkhipkin, Investigador del Departamento de Pesquerías de islas Falkland por su colaboración en la entrega de las muestras para la realización del estudio. Y al Instituto de Fomento Pesquero (IFOP), por facilitar el apoyo técnico en la obtención de imágenes.

Y en general a todos mis compañeros y amigos de generación con los cuales compartí mi estancia en la Escuela de Ciencias del Mar.

Este proyecto de título se enmarca dentro del proyecto Fondecyt N°1100895 denominado “Stock structure of the southern blue whiting *Micromesistius australis*: contrasting moire topography, volume speckle field, shape analysis, and micro-structure of otoliths”. El autor agradece el financiamiento para llevar a cabo este análisis en su contexto particular.

CONTENIDO

	Pág.
COMISIÓN DEL PROYECTO DE TÍTULO	i
INFORME SOBRE EL PROYECTO	ii
AUTORIZACIÓN DE USO	iii
DEDICATORIA	iv
AGRADECIMIENTOS	v
CONTENIDO	vi
INDICE DE TABLAS	viii
INDICE DE FIGURAS	ix
RESUMEN	xi
ABSTRACT	xii
1. INTRODUCCIÓN	1
2. OBJETIVOS	3
2.1 Objetivo general	3
2.2 Objetivos específicos	3
3. ANTECEDENTES GENERALES	4
3.1 Antecedentes del recurso	4
3.1.1 Ciclo de vida	4
3.2 Distribución geográfica	5
3.2.1 Distribución a nivel mundial	5
3.2.2 Distribución a nivel nacional	5
3.2.3 Patrón migratorio de merluza de tres aletas	5
3.3 De la pesquería	7
3.3.1 Desembarques y cuotas de captura de Chile	7
3.3.2 Desembarques en Argentina	9
3.3.3 Capturas en islas Falkland	10
3.4 El concepto de stock	11
3.4.1 Punto de vista pesquero	11
3.4.2 Punto de vista global	12
3.5 Técnicas y trabajos realizados en la identificación de stock de peces chilenos	13
3.6 Morfometría de otolitos como herramienta en la identificación de stock	16
3.7 Análisis elíptico de Fourier como método para capturar contornos en otolitos	18
4. METODOLOGÍA	19
4.1 Fuente y naturaleza de la información	19
4.2 Área y período de estudio	19
4.3 Obtención de imágenes y caracterización morfológica	19
4.4 Caracterización morfológica básica del otolito sagita	21

4.4.1	Parámetros de tamaño	21
4.4.2	Índices de forma	21
4.4.3	Obtención descriptores básicos de forma en Image pro plus 6.0	22
4.5	Coeficientes elípticos de Fourier	23
4.5.1	Obtención de coeficientes elípticos de Fourier en Shape 1.3	25
4.6	Análisis estadístico	29
4.6.1	Prueba de bondad de ajuste de Kolmogorov-Smirnov	29
4.6.2	Prueba de homogeneidad de varianza de Levene	29
4.6.3	Análisis de covarianza (ANCOVA)	30
4.6.4	Análisis discriminante (AD)	31
4.6.5	Análisis multivariado de la varianza (MANOVA)	34
5.	RESULTADOS	36
5.1	Caracterización morfológica mediante digitalización de imágenes	36
5.2	Análisis de varianza de variables básicas e índices morfométricos, caracterización morfométrica básica del otolito sagita para ambas áreas de estudio	37
5.3	Análisis estadístico multivariante	39
5.3.1	Prueba de bondad de ajuste de Kolmogorov-Smirnov	39
5.3.2	Prueba de homogeneidad de varianza de Levene	41
5.3.3	Análisis de covarianza (ANCOVA)	42
5.3.4	Análisis discriminante (AD)	42
5.3.5	Análisis multivariado de la varianza (MANOVA)	44
6.	DISCUSIÓN	46
7.	CONCLUSIONES	50
8.	REFERENCIAS	51
	ANEXOS	59
Anexo 1.	Análisis de varianza univariante (ANOVA)	59
Anexo 2.	Tendencias morfométricas básicas del otolito sagita de merluza de tres aletas para ambas áreas de estudio por talla (cm), área: (1) Atlántico, (2) Pacífico; sexo (1) macho, (2) hembra	60
Anexo 3.	Análisis de covariación (ANCOVA) de las variables de tamaño	63

INDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Antecedentes biológicos	4
Tabla 2. Trabajos chilenos realizados en identificación de stock	15
Tabla 3. Trabajos publicados de morfometría de otolitos y métodos aplicados	17
Tabla 4. Descriptores de forma	22
Tabla 5. Análisis de varianza de las variables básicas de tamaño e índices morfométricos	38
Tabla 6. Prueba de normalidad para las variables morfométricas	39
Tabla 7. Prueba de homogeneidad de las variables morfométricas	41
Tabla 8. Coeficientes de la función de clasificación	43
Tabla 9. Resultados de la clasificación	43
Tabla 10. Contrastes multivariados con modelo de efectos principales del área, sexo y su interacción	45

INDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Área de distribución, zonas de reproducción y localización de las principales concentraciones de merluza de tres aletas en el Atlántico sudoccidental y en el Pacífico sudoriental.	6
Figura 2. Patrón de migración de merluza de tres aletas en los océanos Pacífico y Atlántico.	7
Figura 3. Evolución histórica del desembarque y cuota global anual de merluza de tres aletas.	8
Figura 4 Estacionalidad desembarques de merluza de tres aletas, período 2000-2010.	8
Figura 5. Evolución histórica del desembarque de merluza de tres aletas registrado por la flota argentina en el Atlántico.	10
Figura 7. Esquema representando cómo la diferenciación poblacional ocurre a lo largo de un proceso continuo, desde un estado inicial (o final secundario) de población homogénea o panmixia (D) hasta un estado de aislamiento entre distintas unidades poblacionales (A) tras pasar por los estados intermedios (B) y (C).	13
Figura 8. Diagrama de las técnicas de identificación de stock.	14
Figura 9. (1) Otolito hembra derecho, 50 cm LT.; (2) Otolito hembra izquierdo, 50 cm LT.; (3) Otolito macho derecho, 53 cm LT.; (4) Otolito macho izquierdo, 53 cm LT. Océano Atlántico, Aumento 5x.	20
Figura 10. (1) Otolito macho derecho, 42 cm LT.; (2) Otolito macho izquierdo, 42 cm LT.; (3) Otolito hembra derecho, 50 cm LT.; (4) Otolito hembra izquierdo, 50 cm LT. Océano Pacífico, Aumento 5x.	20
Figura 11. Procesamiento de imágenes en Image pro plus 6.0. (1) otolito normal; (2) otolito filtrado (filtro “LoPass”) convertido a “gray scale 8”; (3) otolito con aplicación de mascara. Otolito macho izquierdo del océano Pacífico, 56 cm LT.; aumento 5x.	23
Figura 12. Obtención de los coeficientes elípticos normalizados de Fourier. (1) Otolito normal, (2) otolito binarizado y convertido a escala de 24 bits para ser procesado en SHAPE 1.3, (3) ventana ejecutable Shape 1.3 para extraer el chain-code, (4) normalización del otolito y extracción de los coeficientes normalizados de Fourier.	27
Figura 13. Diagrama metodológico análisis de forma.	28

Figura 14. (a) Otolito hembra izquierdo, 52 cm LT, Océano Pacífico. (b) Otolito hembra izquierdo, 52 cm LT, Océano Atlántico, Aumento 5X.

36

RESUMEN

La merluza de tres aletas (*Micromesistius australis* Norman, 1937) es un importante recurso demersal asociado al talud y plataforma continental del sur austral de Chile, Argentina e islas Falkland. Investigadores chilenos postulan que cardúmenes de peces adultos procedentes de aguas atlánticas ingresan por el extremo sur de Chile hacia mediados de año, desplazándose al norte (47°S-51°S) para desovar en agosto. Posteriormente éstos retornan a aguas atlánticas, posiblemente para alimentarse. El patrón migratorio plantea la necesidad de dilucidar la presencia de una o más unidades de stock asociadas al cono sur de América. En el presente estudio se utiliza la “morfometría de otolitos” para determinar la estructura del stock, basada en aplicaciones de parámetros básicos de tamaño (área, perímetro, tamaño de otolito) e índices de forma (circularidad, rectangularidad, factor de forma, redondez y elipticidad) y descriptores elípticos de Fourier normalizados (NEFDs). Se analizaron dos zonas geográficas: océanos “Pacífico” y “Atlántico”. Las muestras fueron colectadas en primavera e invierno del 2010 durante el período reproductivo en el sur de Chile (36°S-57°S) y alrededor de la zona económica exclusiva de islas Falkland (50°S-52°S). El análisis se llevo a cabo tomando en consideración el efecto de tamaño, sexo y edad. Se realizó un análisis discriminante canónico tipo inclusión por pasos y se diseñó una función de clasificación, con una asignación del 80% y 77% para Falkland y la zona sur austral respectivamente. Se realizó un análisis multivariado de la varianza (MANOVA) que muestra que los valores medios de NEFDs, SDs y SIs no variaron significativamente entre sexos dentro de las áreas ($p > 0,05$), pero variaron significativamente entre ambas zonas ($p < 0,05$). Los resultados destacan que el análisis de la forma de otolitos puede ser una herramienta utilizada para evaluar niveles potenciales de mezcla en áreas de alimentación donde ambas unidades de stock concurren.

Palabra claves: Unidad de stock, morfometría de otolitos, descriptores básicos de tamaño, índices de forma, descriptores de Fourier normalizados, análisis discriminante, MANOVA.

ABSTRACT

The southern blue whiting (*Micromesistius australis* Norman, 1937) is an important demersal resource associated with the slope and continental shelf of southern Chile, Argentina and Falkland Islands. Recent studies have reported schools of adult fish from Atlantic waters migrating along the southern Chilean coast in mid-winter, moving northwards (47°S-51°S) to spawn in August, and then returning to Atlantic waters, presumably to feed. The migratory pattern suggests the need to determine the presence of one or more stock units associated with the South American coast. In the present study "otolith morphometrics" is used to determine the stock structure of *M. australis* based on applications of basic size descriptors (SDs) (area, perimeter, otolith size) shape indices (SI) (circularity, squareness, form factor, roundness, ellipticity) and normalized Elliptical Fourier Descriptors (NEFDs). Two geographical areas were analyzed: "Pacific" and "Atlantic" oceans. Samples were collected in winter and spring of 2010 during the reproductive period in the economic zone in southern Chile (36°S-57°S) and around the Falkland Islands economic zone (50°S-52°S). Analyses were conducted to include the effect of size, sex and age. A stepwise canonical discriminant analysis showed that fish were significantly discriminated with SDs, SI and EFDs. In this analysis, 80% and 77% of the fish were correctly classified as belonging to the Pacific and Atlantic stocks respectively. A multivariate analysis of variance showed that the mean values of the NEFDs, SDs, and SIs did not vary significantly between sexes within areas ($p > 0,05$) but varied significantly between the Pacific and Atlantic oceans ($p < 0,05$). The results highlighted that otolith shape analysis can be a useful tool to evaluate the potential level of mixing in feeding areas where both the Pacific and Atlantic units stocks are expected to co-occur.

Keywords: Unit stock, Otolith morphometry, basic size descriptors, shape indices, normalised elliptical descriptors, discriminant analysis, MANOVA.

1. INTRODUCCIÓN

Un requisito primario en el ordenamiento pesquero es la identificación de unidades de stock, es decir la fracción explotable de una población (Laurec & Le Guen, 1981) que corresponde a un conjunto de individuos regidos por los mismos parámetros biológicos y demográficos, sobre los que ejerce su acción la pesquería. Sin embargo, existe más de una definición del término stock; como la propuesta por Ihssen *et al.* (1981) ellos definen que un stock: “es un grupo intraespecífico de individuos que se aparean en forma aleatoria y mantienen una integridad espacial o temporal”.

Para comprender el concepto stock, es necesario evaluar un recurso y su comportamiento migratorio a través de técnicas cuyos resultados hayan sido exitosos en identificación de stock en otras poblaciones de peces. Las técnicas de identificación de stock se pueden dividir en dos grandes grupos: genotípicas y fenotípicas. Dentro de la segunda se encuentra la morfometría de otolitos, que cuantifica geométricamente el borde de la estructura para determinar variaciones de forma, tanto dentro como entre grupos (Cadrin *et al.*, 2005). La morfometría de otolitos se encuentra dentro de la rama de la morfometría geométrica, definida como la fusión entre la geometría y la biología, comprendiendo el estudio de la forma en un espacio bi ó tridimensional (Bookstein, 1982), permitiendo investigar en profundidad los cambios morfológicos. Un método que captura contornos en curvas cerradas, es el análisis elíptico de Fourier (Kuhl & Giardina, 1982) el cual descompone ortogonalmente una curva en una suma de elipses armónicamente relacionadas, se combinan para ajustar de manera precisa a casi cualquier curva. El contorno presenta una secuencia de las coordenadas (x, y) de los puntos que la componen, cada coordenada se computa por medio de la serie de Fourier.

La morfometría ha sido ampliamente aplicada en estructura de stock de varias poblaciones de peces teleósteos, debido a que se ha reportado en muchos casos que la variación geográfica de la forma del otolitos, ha estado asociada a diferencias de estructura de stocks (Campana & Casselman, 1993; Begg & Brown, 2000; Tuset *et al.*, 2003); por ello, se optó por el análisis morfométrico de otolitos para explicar la presencia de una o más unidades stock en la pesquería de merluza de tres aletas (*Micromesistius australis* Norman, 1937). Antecedentes bibliográficos indican que esta especie presentaría dos poblaciones, que corresponderían a poblaciones genéticamente diferentes (Ryan *et al.*, 2002): una alrededor de Nueva Zelanda en el Pacífico sudoccidental y otra en el Pacífico suroriental y Atlántico suroccidental. Esta última, asociada a la plataforma y talud continental de la región sur austral de Chile, islas Falkland, Argentina, Shetland del Sur y Georgias del Sur.

Estudios recientes realizados en el Pacífico sur-oriental y Atlántico suroccidental señalan existencia de unidades de stock diferenciadas. Niklitschek *et al.* (2009) realizaron para esta especie un estudio de identificación de unidades poblacionales, con la aplicación de una serie de técnicas holísticas (fenotípicas y genotípicas). Sus conclusiones hacen referencia que el análisis genético no mostró evidencia de segregación poblacional evolutiva entre peces

capturados en la zona de islas Falkland (aguas argentinas) y aquellos capturados en distintas zonas del océano Pacífico (aguas chilenas). En contraste con los resultados de técnicas moleculares, todos los indicadores de segregación ecológica (composición de tallas, edad de primera madurez, morfometría de otolitos, composición parasitaria, composición de microelementos e isótopos estables en otolitos) sustentaron la hipótesis de dos poblaciones separadas.

Arkhipkin *et al.* (2009) tuvieron como objetivo, determinar si los peces adultos que se reproducen en cualquiera de las dos áreas de desove (Argentina y Chile) representan diferentes subunidades poblacionales y además, investigaron la homogeneidad en el origen de las subunidades desovantes y realizaron microquímica de márgenes a los otolitos. Los resultados revelan la estructura poblacional de *Micromesistius australis* y su estrecha relación con los sitios de desove, también demostraron que el 90% de los casos muestreados tienen una asignación correcta, señalando que la población reproductora de Chile, está constituida de aproximadamente cuatro quintas partes de peces nativos, además de una quinta parte de peces migrantes y vice-versa. Por tanto, al parecer la estructura de stock de esta especie es caracterizada por un alto grado de “fidelidad a los sitios de desove” con ciertos niveles de mezcla en el mar de Scotia, que puede variar a través de los años.

El presente estudio pretende a través de otolitos sagitales de merluza de tres aletas (*Micromesistius australis*), identificar mediante la técnica de análisis elíptico de Fourier, si existen dos stock separadas de esta especie en el Pacífico sur-oriental; una que se encontraría en aguas de la zona sur-austral de Chile (36°S y 57°S), contrastada con el stock que se encontraría en el océano Atlántico, más específicamente en el interior de la zona económica exclusiva (ZEE) de las islas Falkland (50°S y 52°S). Debido a que existen hipótesis que se tratarían de poblaciones separadas que tienen en común patrones migratorios complejos. Según Lillo & Paillamán (1995); Lillo *et al.* (1999) se ha postulado el siguiente patrón migratorio: “grandes cardúmenes de peces adultos procedentes de aguas atlánticas ingresan por el extremo sur de Chile hacia mediados de año, desplazándose hacia el norte para desovar en agosto (47°S y 51°S); posterior al desove cardúmenes retornan hacia el extremo sur en dirección a aguas atlánticas, posiblemente para alimentarse”. Esta hipótesis de patrón migratorio plantea la necesidad de dilucidar la presencia de una o más unidades de stock asociadas al cono sur de América.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo general

- Determinar la estructura del stock de merluza de tres aletas (*Micromesistius australis*) en el cono sur de América mediante análisis morfométrico de otolitos.

2.2 Objetivos específicos

- Caracterizar los otolitos sagitales morfológicamente.
- Determinar de la imagen digitalizada de los otolitos la morfometría del contorno.
- Determinar la potencia discriminatoria de la morfometría de otolitos sagitales en la identificación de unidades de stock de esta especie.

3. ANTECEDENTES GENERALES

3.1 Antecedentes del recurso

En la Tabla 1 se muestran las principales características que permiten identificar a la especie merluza de tres aletas *Micromesistius australis* Norman, 1937.

Tabla 1. Antecedentes biológicos.

Clase	Actinopterygios (peces con aletas radiadas)
Orden	Gadiformes
Familia	Gadidae
Nombre común	Merluza de tres aletas
Nombre científico	<i>Micromesistius australis</i> Norman, 1937
Hábitat	Bentopelágico 50-900 m
Alimentación	Crustáceos planctónicos
Longitud máxima (cm)	67 cm
Longitud promedio (cm)	51 cm
Longevidad (años)	23 - 30 años
Edad de reclutamiento (y/o talla)	3 años
Edad de primera madurez (y/o talla)	3-4 años (38 – 44 cm)

3.1.1 Ciclo de vida

Es una especie relativamente longeva, con un crecimiento relativamente rápido hasta alcanzar la talla de primera madurez, que representa alrededor del 60% de la longitud teórica máxima, con un crecimiento diferencial respecto del sexo, siendo las hembras las que alcanzan mayores tallas. Los estimados de mortalidad natural para esta especie corresponden de 0,20 a 0,33 basado en las estimaciones de Ojeda *et al.* (1998). La merluza de tres aletas es un desovante parcial, cuya época de puesta abarca desde fines de julio hasta principios de noviembre, y alcanza el máximo entre los meses de agosto y octubre al sur de las islas Falkland. En tanto la época de reproducción en el Pacífico sudoriental, aunque más acotada, es similar a la descrita para el Atlántico (Avilés & Aguayo, 1979; Lillo, 1999). En este caso, el efectivo reproductor se concentra principalmente durante agosto en una estrecha franja asociada al inicio del talud desde el sur del golfo de Penas (47°S - 51°S).

3.2 Distribución geográfica

3.2.1 Distribución a nivel mundial

La especie se distribuye en ambos lados del extremo austral de Sudamérica y en el mar de Scotia, alrededor de las islas Georgias del Sur, Shetland y Orcadas del Sur. También está presente en áreas de plataforma al sur de Nueva Zelanda, hasta las islas Campbell y Auckland aunque aparentemente estos dos núcleos de distribución permanecerían aislados. Shpack (1978) mencionó la existencia de la especie en un área intermedia del Pacífico sur, el mar de Bellingshausen.

3.2.2 Distribución a nivel nacional

En el océano Pacífico suroriental, Avilés & Aguayo (1979) sitúan su distribución entre las latitudes 42°26'S a 57°00'S, y Lillo *et al.* (1993, 2007) informan que su presencia está asociada a la plataforma y talud continental en un rango de profundidad de 130 a 800 m.

3.2.3 Patrón migratorio de merluza de tres aletas

Analizada la información pesquera y biológica de las capturas dirigidas a merluza de tres aletas se ha postulado el siguiente patrón migratorio (Lillo & Paillamán, 1995; Lillo *et al.*, 1999): grandes cardúmenes de peces adultos procedentes de aguas atlánticas ingresan por el extremo sur de Chile hacia mediados de año, desplazándose hacia el norte para desovar en el mes de agosto, entre las latitudes (47°S - 51°S) posterior al desove los cardúmenes retornan hacia el extremo sur en dirección a aguas atlánticas, posiblemente para alimentarse (Fig. 1).

Estudios realizados sobre esta especie en las aguas del océano Atlántico dicen relación con patrones migratorios complejos y no completamente dilucidados. Sin embargo, Madirolas *et al.* (1997) sugieren que existiría una migración de grandes cardúmenes que atraviesan la zona oeste del banco de Burdwood por el sur a inicios de invierno, con dirección a la costa de islas Falkland con fines de desove entre invierno y primavera, donde los cardúmenes se mueven hacia fuera e interior del área para desovar. Posteriormente se sugiere para cerrar el patrón migratorio y en forma dudosa, una dispersión de los adultos en dirección sur en verano. Adicionalmente y complementando esta información, Perrota (1982) señala que a partir de los 55°S y en la época estival, las merluzas de tres aletas de la población que se encuentra en Patagonia migran hasta el mar de Scotia, la isla Georgia del Sur y las islas Shetland del Sur, siendo una migración de carácter trófico.

En junio-julio se observa un ascenso latitudinal caracterizado por la fuerte concentración de cardúmenes en el extremo sur del continente americano, dirigidos hacia el norte y siguiendo el borde del talud continental. En agosto y septiembre se produce la puesta en las dos áreas de reproducción, ubicadas al sur de Falkland (O. Atlántico) y en el sector externo del golfo de Penas (O. Pacífico). Posteriormente, existiría un retorno hacia el sur produciéndose una dispersión estival con fines de alimentación en el mar de Scotia (Fig. 2).

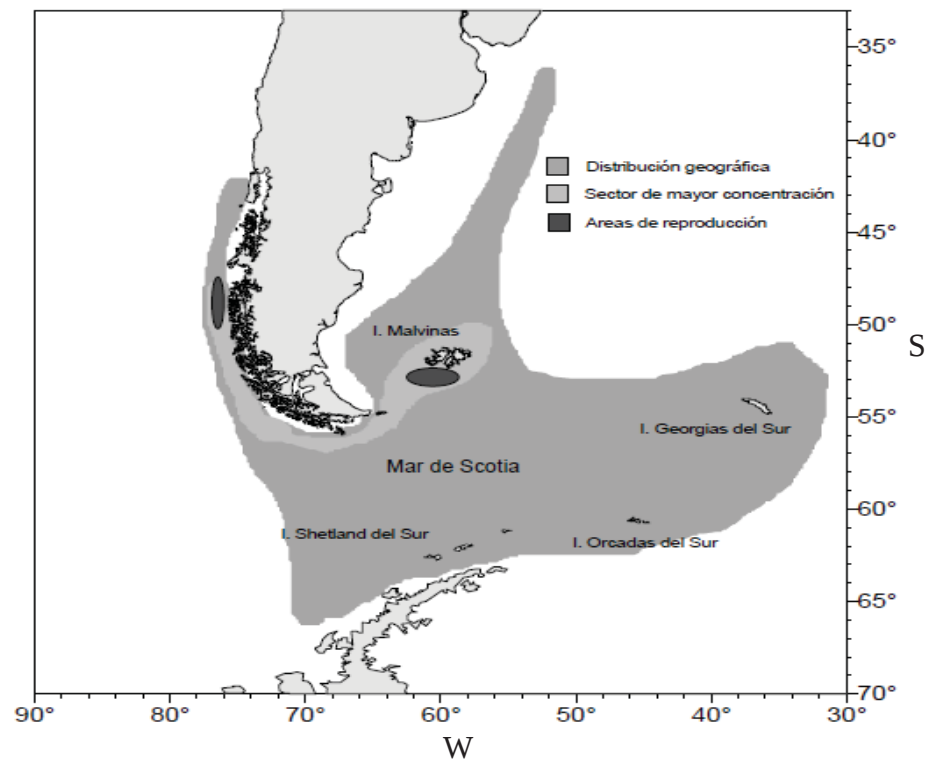


Figura 1. Área de distribución, zonas de reproducción y localización de las principales concentraciones de merluza de tres aletas en el Atlántico sudoccidental y en el Pacífico sudoriental (Fuente: Paya *et al.*, 2002).

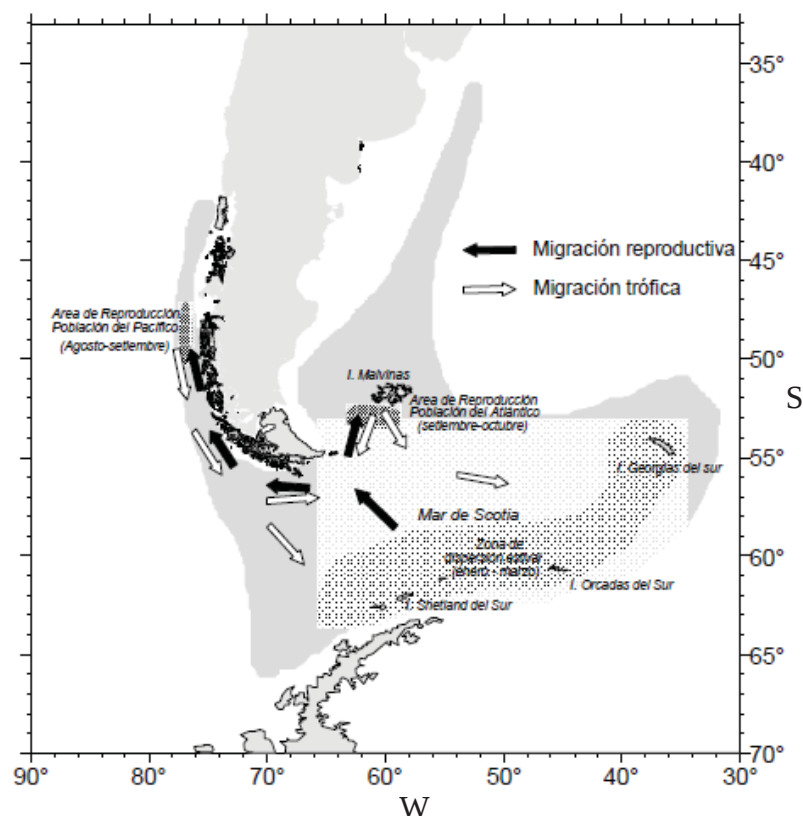


Figura 2. Patrón de migración de merluza de tres aletas en los océanos Pacífico y Atlántico (Fuente: Paya *et al.*, 2002).

3.3 De la pesquería

3.3.1 Desembarques y cuotas de captura de Chile

La explotación del recurso merluza de tres aletas comienza a mediados de la década del 70, básicamente formando parte de la fauna acompañante de la merluza del sur y del congrio dorado en la recién iniciada pesquería demersal austral. Durante el período 1981-1992 y en calidad de fauna acompañante, sus desembarques fluctuaron entre 2000 y 5000 ton. En 1993, con el inicio de proyectos de pesca de investigación orientados al desarrollo de su pesquería, se obtuvo un desembarque del orden de 27.000 ton. Posteriormente, con la continuación de las actividades de pesca de investigación y hasta 1998, los desembarques fluctuaron entre 20.000 y 29.000 ton/año. A partir de 1999, año en que se establece por primera vez la cuota global anual de captura de merluza de tres aletas, las cifras de desembarque en aguas de jurisdicción nacional, en promedio, han sido de 24.000 ton/año, ajustándose a los límites que se han establecido mediante las cuotas (Fig. 3). Las cuotas globales anuales de merluza de tres aletas han variado entre 25.000 y 28.000 ton; sin embargo, durante el último año (2011), la cifra establecida se ha ajustado al límite inferior de este rango (25.000 ton). Se debe destacar que a

partir del año 2001, las cuotas de captura establecidas no han sido consumidas en su totalidad (Fig. 3), registrándose en el 2010 un desembarque de 23.000 ton.

Un aspecto a destacar de la pesquería de merluza de tres aletas en Chile es que presenta una clara estacionalidad en los desembarques (Fig. 4), concentrándose la actividad durante el segundo semestre de cada año. Este patrón obedece a que las operaciones de pesca se centran en el período de concentración reproductiva del recurso.

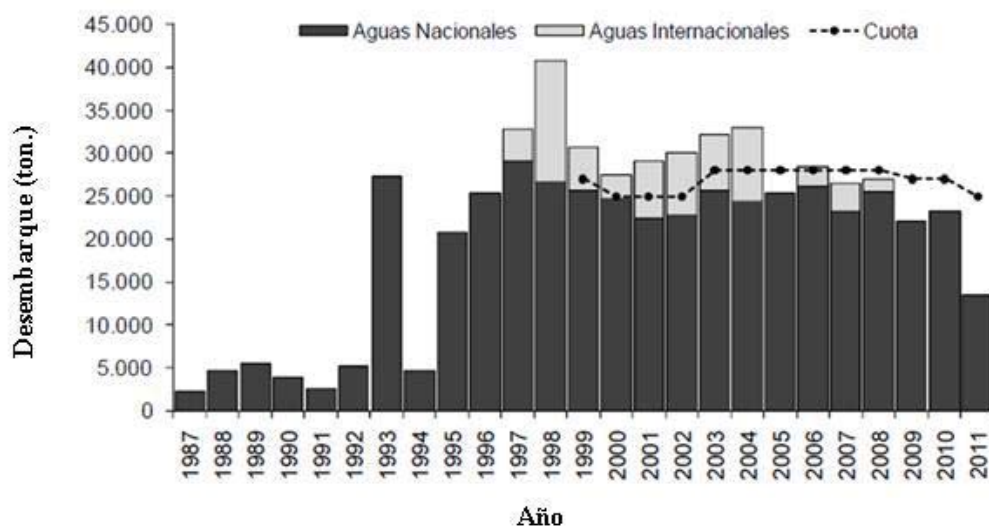


Figura 3. Evolución histórica del desembarque y cuota global anual de merluza de tres aletas. Fuente: Servicio Nacional de Pesca, 2011 cifras preliminares al 23 de noviembre de 2011 <http://www.sernapesca.cl/>.

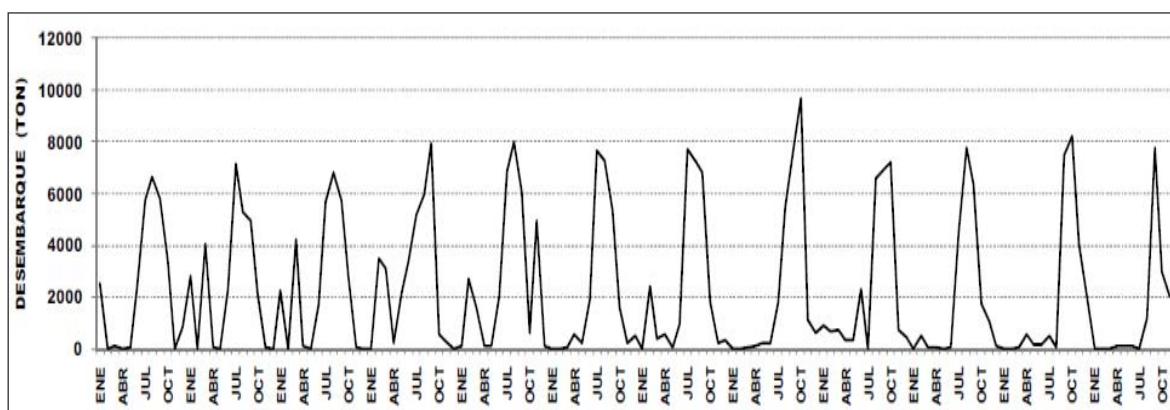


Figura 4 Estacionalidad desembarques de merluza de tres aletas, período 2000-2010. Fuente: Servicio Nacional de Pesca, 2011.

3.3.2 Desembarques en Argentina

La merluza de tres aletas (*Micromesistius australis*) constituye el recurso íctico de mayor importancia económica actual en la plataforma y talud argentinos al sur de los 45°S. La explotación del recurso no revistió importancia hasta finales de la década del '70, destacándose un rápido crecimiento inicial de las capturas hasta llegar a un máximo de 258.000 ton en el año 1983. Tal incremento fue provocado por la actividad creciente de flotas extranjeras que operaron principalmente en el área de Malvinas. La flota bajo licencia argentina comenzó su actividad extractiva en 1989, con el ingreso de un pequeño número de embarcaciones destinadas a la fabricación de surimi de alta calidad (Wöhler & Marí, 1999).

El manejo de la pesquería de Merluza de tres aletas por parte de la administración pesquera Argentina se realiza, desde 1993, estableciendo una cuota anual global de captura máxima, que surge a partir de las recomendaciones del INIDEP (Instituto Nacional de Investigación y Desarrollo Pesquero) basadas en la abundancia y potencial pesquero del efectivo. La merluza de tres aletas es un recurso pesquero de relevancia para la flota Argentina, ocupando el tercer lugar en importancia dentro de los peces óseos por el volumen de su captura. Es también objeto de explotación por embarcaciones de distintas banderas que operan alrededor de las islas Falkland. El destino principal de la captura de merluza de tres aletas es la obtención de materia prima para la elaboración de pasta de pescado o surimi (Wöhler & Marí, 1999).

La abundancia de merluza de tres aletas en el Atlántico Sudoccidental se evalúa por medio de análisis secuenciales de la población, el primero de los cuales fue realizado por Csirke (1987). Los resultados de los sucesivos análisis de este tipo han indicado una tendencia decreciente del efectivo (Cordo, 1997; Agnew *et al.*, 1999; SAFC, 1999; Wöhler & Hansen, 2004; Giussi & Wöhler, 2008).

La evolución histórica del desembarque de la merluza de tres aletas (Fig. 5) registra una tendencia decreciente, la cual concuerda con la tendencia de la zona sur austral de Chile la cual registra una baja considerable muy por debajo de la cuota global de captura asignada.

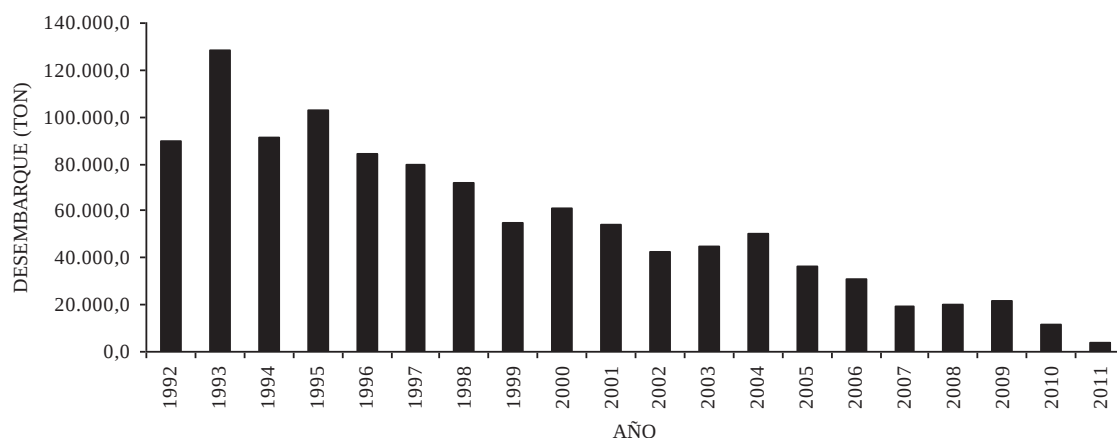


Figura 5. Evolución histórica del desembarque de merluza de tres aletas registrado por la flota argentina en el Atlántico. Fuente: Subsecretaría de Pesca y Acuicultura- Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca, Argentina. <http://www.minagri.gob.ar/site/index.php>.

3.3.3 Capturas en islas Falkland

La merluza de tres aletas ha sido una de las principales especies dirigidas por la flota comercial en islas Falkland desde 1992, tanto en el otoño y la primavera austral. En el 2005-2006, los buques de surimi operaron sólo en el verano austral, entre octubre y marzo. Desde 2007, los buques de surimi han comenzado a operar a principios de octubre y continúan hasta principios de diciembre. Durante este período, los buques pescan agregaciones post-desove del recurso, que se alimentan en aguas de las islas Falkland antes que el recurso disperse hacia el sur. Tradicionalmente este recurso ha sido uno de los más importantes en la pesquería de islas Falkland, con capturas anuales de aproximadamente 25.000 ton capturada por buques de arrastre de fondo principalmente factorías (Fig. 6).

La tendencia a la baja en las capturas observadas desde 2007 continuó en el 2009, con sólo 10.543 ton capturadas (Fig. 6). Con el fin de detener este peligroso descenso en el stock, la prohibición de pesca fue impuesta en 2010 sobre la zona de desove del recurso a 11 cuadrículas en la parte suroccidental de la zona de manejo y conservación interina de las islas Falkland (FICZ) para la duración del período de desove (septiembre hasta la primera quincena de octubre). Obviamente, esta prohibición de la pesca disminuyó aún más la captura total anual de merluza de tres aletas, que el 2010 alcanzó su nivel más bajo en la historia de la pesquería con solo 6.414 ton. Un arrastrero especializado en surimi operó en la FICZ durante los primeros 23 días del mes de enero y obtuvo buenas capturas en la zona sur (captura diaria máxima de 206 ton). La nave pescaba las agregaciones en la parte noreste de la FICZ con CPUE diarias que oscilan entre los 30 y 65 ton. Este buque volvió a la mitad de octubre, pero tuvo escasas capturas que oscilaron desde 0,2 a 80 ton por día (media de 26,4 ton), en su mayoría en la región sur. Sin embargo, el 31 de octubre capturó 192 ton al este de las islas

Falkland. En noviembre aumentó la captura a un promedio de 80 ton por día, con una captura diaria máxima de 267 ton realizada al comienzo del mes. Las capturas disminuyeron casi a la mitad en diciembre, y el buque salió de la pesquería antes de fines de diciembre, con una captura total mensual aproximadamente 1.000 ton.

Debido a la baja abundancia de merluza de tres aletas en el Atlántico Sudoccidental, el Departamento de Pesquerías de las islas Falkland (FIFD) indicó la prohibición de la pesca en las zonas de desove. Ésta prohibición se realiza desde el 1 de agosto al 15 de octubre para arrastre pelágico, y desde el 1 de septiembre al 15 de octubre para arrastre de fondo, permitiendo así que los peces desoven sin perturbaciones. Se espera que esta medida de conservación recupere el stock a nivel comercial. Sin embargo, esta especie es también compartida con Argentina, donde los límites de captura se mantienen en niveles altos.

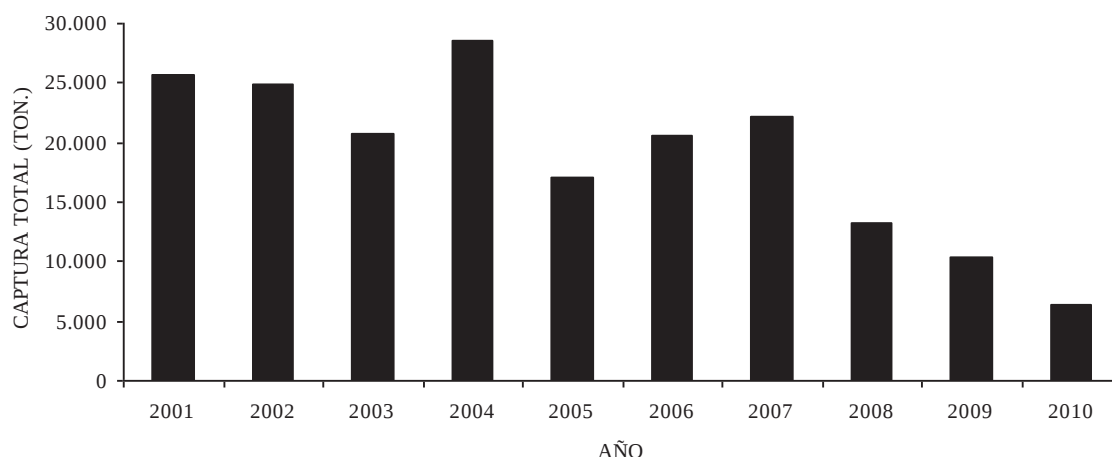


Figura 6. Evolución de captura total de la flota internacional que operó en merluza de tres aletas en islas Falkland. Fuente: Falkland Islands Government, 2011. <http://fis.com/falklandfish/>.

3.4 El concepto de stock

3.4.1 Punto de vista pesquero

Un stock es un subconjunto de una *especie*, considerada generalmente como la unidad taxonómica básica. Por stock se entenderá a un subconjunto de una determinada especie que posee los mismos parámetros de crecimiento y mortalidad que habita en un área geográfica particular. Los stocks son grupos de animales bien delimitados, que se mezclan poco con los grupos adyacentes (Sparre & Venema, 1997).

Para Cushing (1968), un stock de peces es aquel que tiene una única área de desove, a la cual los adultos regresan año tras año. Para efectos de evaluación, se puede considerar por stock un grupo de animales a los cuales se les puede establecer los límites geográficos y, por tanto, también la pesquería (las flotas de pesca) que conforman. Tal vez no exista una definición del término stock que sea aceptable por todos los que se interesan por las agrupaciones intraespecíficas. La definición más adecuada en el contexto de evaluaciones de poblaciones de peces fue la que propuso Gulland (1983), quien estableció que, para efectos de ordenación pesquera, la definición de una **unidad de stock** es una cuestión operativa, es decir, que un grupo de organismos puede ser considerado como stock si se puede prescindir de las posibles diferencias dentro del grupo así como los intercambios con otros grupos pueden ser ignorados, sin que con ellos resulten invalidas las conclusiones a que se llegue.

Casi todos los organismos marinos explotados realizan migraciones hacia sus áreas de desove. Una clave básica para comprender la estructura del stock es conocer sus rutas migración, lo que se puede conseguir a través de experimentos de marcado, pero también con datos e información proporcionados por las pesquerías comerciales. Las poblaciones de peces no respetan los límites geográficos humanos, lo que significa que solo se pueden hacer evaluaciones adecuadas si se prescinde de tales límites mediante la cooperación interestatal o internacional (Sparre & Venema, 1997).

3.4.2 Punto de vista global

En general, se han distinguido conceptos de stock que varían en gran medida dependiendo del grado de integridad que se quiera considerar, por ejemplo: stock genético, stock fenotípico, stock contingente y stock de recolección (Gauldie, 1988; Carvalho & Hauser, 1994; Secor, 1999; Hare, 2005). El stock genético está formado por miembros de una especie que se aparean aleatoriamente y cuya integridad genética persiste si permanecen aislados como grupo, al menos durante el apareamiento, tanto espacial como temporalmente. Los stocks fenotípicos se definen como grupos intraespecíficos que difieren en la expresión de ciertos caracteres debido a efectos medio ambientales o genéticos. El stock contingente en cierta forma combina las acepciones anteriores definiéndose como un grupo de individuos que mantienen una integridad espacial y temporal siguiendo un patrón distintivo de migración, que no es compartido por individuos de otras poblaciones o stocks. Finalmente, el stock de recolección se define como un recurso de organismos acuáticos (peces, mariscos y mamíferos marinos) localmente accesibles en los cuales la presión pesquera sobre un recurso no tiene efecto en la abundancia del recurso contiguo.

El nivel de diferenciación alcanzado entre los distintos stock surge a través de un proceso que es continuo en el tiempo (Fig. 7); en algunas ocasiones los stock aislados (caso A) pueden re-asociarse después del aislamiento por ejemplo, tras la eliminación de una barrera física que hubiese representado un impedimento para la migración. Así se formarían stock con

limites disjuntos genéticamente pero sin barreras al flujo genético o para que se dé una aparente diferenciación morfológica (Grant *et al.*, 1999). En ausencia de otras fuerzas evolutivas el flujo genético llevará como consecuencia la homogeneidad genética (p panmixia). Sin embargo, la existencia de la deriva genética también puede causar la diferenciación genética de subpoblaciones aisladas. Es decir, desde un punto de vista genético la diferenciación entre stocks será la consecuencia del balance entre los efectos homogeneizadores del flujo génico y los efectos diferenciadores de la deriva genética (Allendorf & Luikart, 2007).

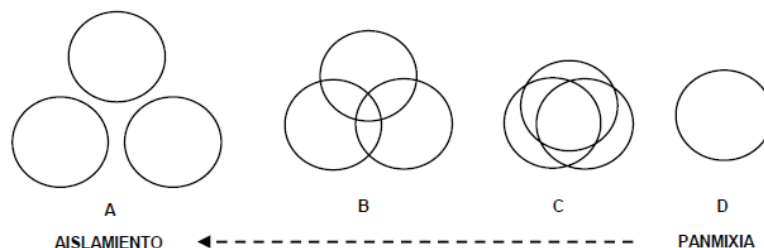


Figura 7. Esquema representando cómo la diferenciación poblacional ocurre a lo largo de un proceso continuo, desde un estado inicial (o final secundario) de población homogénea o panmixia (D) hasta un estado de aislamiento entre distintas unidades poblacionales (A) tras pasar por los estados intermedios (B) y (C) (Fuente: Waples, 2005; ICES, 2006).

3.5 Técnicas y trabajos realizados en la identificación de stock de peces en Chile

Las técnicas utilizadas en la actualidad para la identificación de stock se pueden desglosar en dos grandes grupos: análisis genotípico y fenotípico, para un mejor entendimiento de cada uno de los grupos se presenta un diagrama (Fig. 8) de cada técnica con sus respectivos métodos:

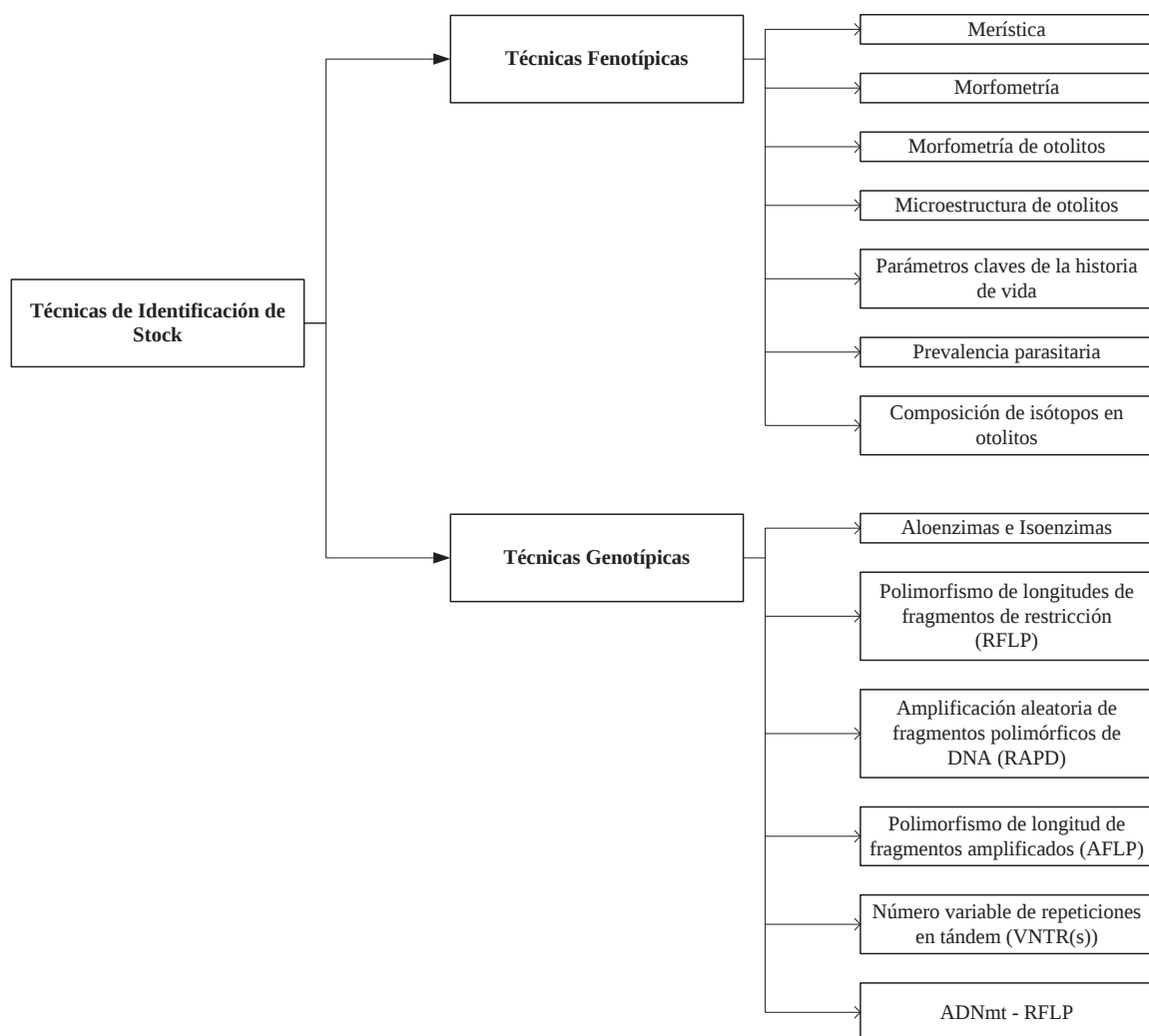


Figura 8. Diagrama de las técnicas de identificación de stock (modificado de Niklitschek *et al.*, 2009).

En la Tabla 2 se resumen trabajos chilenos realizados en identificación de stock y las técnicas utilizadas. Prevalece la técnica genotípica con el método de Aloenzimas.

Tabla 2. Trabajos chilenos realizados en identificación de stock.

Referencia	Especie estudiada	Método de análisis de stock	Áreas comparadas	Conclusiones
Galleguillos <i>et al.</i> , 1996	<i>Strangomera bentincki</i> ; <i>Engraulis ringens</i>	Aloenzimas Parámetros de la historia de vida, morfometría de otolitos, morfometría corporal, prevalencia parasitaria	Entre la Región de Valparaíso y Región de la Araucanía	Resultados no concluyentes
Ferrada <i>et al.</i> , 2002	<i>Engraulis ringens</i>	PCR-RFLP (ITS y CaM)	Talcahuano y área de Iquique	Stock único
Oyarzún <i>et al.</i> , 2003	<i>Dissostichus eleginoides</i>	Aloenzimas	Lebu, Valdivia, Quellón y Puerto. Williams	Stock único
Galleguillos <i>et al.</i> , 2008	<i>Dissostichus eleginoides</i>	Microsatélites del ADN nuclear y secuenciación del ADNm (Dloop y ND2)	Costa sudamericana, desde Perú pasando por Cabo de Hornos hasta Islas Malvinas y Georgias del Sur	Stock único entre Perú e Islas Malvinas; islas Georgias del Sur son otro stock
Galleguillos <i>et al.</i> , 1997	<i>Strangomera bentincki</i>	Aloenzimas	San Antonio, Talcahuano y Puerto Montt	Stock único
Espinosa <i>et al.</i> , 2002	<i>Brama australis</i>	Aloenzimas	Valparaíso y Lebu	Stock único
Uchida <i>et al.</i> , 2003	<i>Cancer setosus</i>	Aloenzimas AFLP	Costa de Chile	Resultados no concluyentes
Galleguillos <i>et al.</i> , 2000	<i>Merluccius gayi gayi</i>	Aloenzimas	Coquimbo, Puerto Montt, San Antonio.	Stock único
Galleguillos <i>et al.</i> , 1998	<i>Macruronus magellanicus</i>	Aloenzimas, PCR-RFLP segmento Dloop ADNm, prevalencia parasitaria	Zona centro sur y sur-austral	Stock único
Pardo-Gandarillas <i>et al.</i> , 2004	<i>Gobiesox marmoratus</i>	Prevalencia parasitaria	Tres localidades de la zona centro sur (separadas al menos por 400 km)	Resultados no concluyentes
Niklitschek <i>et al.</i> , 2009	<i>Hoplostethus atlanticus</i>	Microsatélites, segmento mitocondrial Dloop	Montes submarinos aledaños al Archipiélago Juan Fernández (32° y 33°S)	Resultados no concluyentes
Valdivia <i>et al.</i> , 2007	<i>Engraulis ringens</i>	Prevalencia parasitaria	Zona norte y centro	Stock diferentes en cada zona

(Fuente: Niklitschek *et al.*, 2009)

3.6 Morfometría de otolitos como herramienta en la identificación de stock

En los últimos años, los otolitos se han convertido en una herramienta útil para la determinación de las especies ícticas, debido a que estas estructuras presentan una alta especificidad morfológica (Martínez *et al.*, 2007). La morfometría ha sido ampliamente usada en estructura de stock de varias poblaciones de peces teleósteos, debido a que se ha reportado que en muchos casos la variación geográfica en la forma de los otolitos ha estado asociada a diferencias de estructura de stocks (Bird *et al.*, 1986; Campana & Casselman, 1993; Begg & Brown, 2000; Tuset *et al.*, 2003).

El uso de caracteres fenotípicos en la caracterización de unidades de stock se basa en la identificación de “grupos de individuos pertenecientes a una especie, que mantienen caracteres comunes, ambientalmente dependientes” (Cadrin & Friedland, 1999), dentro de estos caracteres se encuentran parámetros vitales a nivel poblacional como: fecundidad, talla de primera madurez, tasa media de crecimiento individual y tasa de mortalidad natural, así como también características anatómicas morfométricas y merísticas (Begg *et al.*, 2001). La identificación de diferencias merísticas y/o morfométricas fue por años la base de las técnicas tradicionales de identificación de stock (Begg & Waldman, 1999). Sin embargo, la excesiva variabilidad en las respuestas fenotípicas evaluadas, llevo a sugerir la existencia de estructuras poblacionales que terminaron por ser consideradas artefactos de la respectiva técnica de identificación. En la búsqueda de indicadores fenotípicos más estables, se ha propuesto el análisis morfométrico de otolitos, que corresponden a estructuras internas menos sensibles a la variabilidad aleatoria propia de la expresión génica de otros caracteres y a las presiones ambientales de corto plazo (Begg *et al.*, 2001).

Los métodos basados en otolitos son más confiables que los que utilizan características morfométricas externas, debido a que los otolitos no se ven afectados por las condiciones fisiológicas a corto plazo que experimenta el pez, en cambio su aspecto y forma externa varia geográficamente (Campana & Casselman, 1993; Ponton, 2006). En la Tabla 3, se presentan algunos de los trabajos publicados por diferentes autores y las metodologías aplicadas a la forma de otolitos.

Tabla 3. Trabajos publicados de morfometría de otolitos y métodos aplicados.

Autor	Título	Método **
Bird <i>et al.</i> , 1986	Comparisons of herring otoliths using Fourier-series shape-analysis.	DF
Castonguay <i>et al.</i> , 1991	Usefulness of Fourier analysis of otolith shape for Atlantic mackerel (<i>Scomber scombrus</i>) stock discrimination.	FS
Campana & Casselman, 1993	Stock discrimination using otolith shape analysis.	AF/SD
Friedland <i>et al.</i> , 1994	Use of otolith morphology in stock discriminations of Atlantic salmon (<i>Salmo salar</i>).	*
Begg <i>et al.</i> , 2001	The use of internal otolith morphometrics for identification of haddock (<i>Melanogrammus aeglefinus</i>) stocks on Georges Bank.	SD
De Vries <i>et al.</i> , 2002	Using otolith shape analysis to distinguish eastern Gulf of Mexico and Atlantic Ocean stocks of king mackerel.	AEF/SI
Tracey <i>et al.</i> , 2006	Application of elliptical Fourier analysis of otolith form as a tool for stock identification.	AEF
Turan <i>et al.</i> , 2006	Morphometric and meristic variation between stocks of Bluefish (<i>Pomatomus saltatrix</i>) in the Black, Marmara, Aegean and northeastern Mediterranean Seas.	Mor, Mer
Turan, 2006	The use of otolith shape and chemistry to determine stock structure of Mediterranean horse mackerel <i>Trachurus mediterraneus</i> (Steindachner).	DF/Qca.
Tuset <i>et al.</i> , 2006	Sagittal otolith shape used in the identification of fishes of the genus <i>Serranus</i> .	SD
Stransky <i>et al.</i> , 2008	Separation of Norwegian coastal cod and Northeast Arctic cod by outer otolith shape analysis.	DF, AEF
Burke <i>et al.</i> , 2008	Shape analysis of otolith annuli in Atlantic herring (<i>Clupea harengus</i>); a new method for tracking fish populations.	SI, AEF
Stransky <i>et al.</i> , 2008	Otolith shape analysis as a tool for stock separation of horse mackerel (<i>Trachurus trachurus</i>) in the Northeast Atlantic and Mediterranean.	AEF, FFT
Farias <i>et al.</i> , 2009	Otolith shape analysis as a tool for stock discrimination of the black scabbardfish, <i>Aphanopus carbo</i> Lowe, 1839 (Pisces: Trichiuridae), in Portuguese waters.	DF

** DF: Descriptores de Fourier; FS: Serie de Fourier; AF: Análisis de Fourier; SD: Descriptores de la Forma; AEF/SI: Análisis Elíptico de Fourier/ índices de Forma.; AEF: Análisis Elíptico de Fourier; Mor: Morfometría; Mer: Merística; SI/Qca.: índices de la Forma y Análisis Químico; FFT: Transformada rápida de Fourier; DF/Qca.: Descriptores de Fourier/ Análisis Químico.

3.7 Análisis elíptico de Fourier como método para capturar contornos en otolitos

El método de Fourier para análisis de contornos fue el primero utilizado para capturar geoméricamente la variación de forma en los organismos (Monteiro & dos Reis, 1999). La manera de describir el contorno utilizada por este método, es ajustar una función (más específicamente, un polinomio) a un conjunto de n puntos distribuidos a lo largo de un contorno. Posteriormente, utilizando un criterio de cuadrados mínimos, se ajusta una línea a este conjunto de puntos (Rohlf, 1990; Monteiro & dos Reis, 1999). Para ello se parte de imágenes previamente digitalizadas. Cuanto mayor es el número de parámetros utilizados, con mayor exactitud es capturado el contorno. Las funciones ajustadas a los contornos son denominadas armónicas (Rohlf, 1990; Monteiro & dos Reis, 1999) estas son curvas que van siendo sumadas en orden decreciente para describir el contorno, por lo que las primeras armónicas describen en forma general el contorno, mientras que las ultimas representan básicamente la variación de pequeña escala (Rohlf, 1990; Ubukata, 2003). Los coeficientes polinomiales, que son los valores de forma obtenidos, pueden luego ser utilizados en distintos análisis univariados o multivariados para compararlos con distintas variables externas. La dimensionalidad del conjunto de datos obtenidos depende del número de parámetros utilizados para describir el contorno. Por ello, para interpretar los resultados o utilizar los coeficientes para otros análisis, es conveniente reducir estas dimensiones eliminando información redundante.

Si bien existen distintas variaciones de este método, tanto para contornos cerrados o abiertos, el más aplicado de ellos es el análisis de Fourier Elíptico (Khul & Giardina, 1982) En éste, el contorno es descrito por un conjunto de coordenadas cartesianas (x , y) y expresado como funciones paramétricas en distancia acumulativa en cuerda entre puntos igualmente espaciados a lo largo del contorno (Rohlf *et al.*, 1984, 1990a; Monteiro & dos Reis, 1999; Iwata & Ukai, 2002). Las distancias entre puntos son luego estandarizadas de tal manera que oscilan entre 0 y 2π en base a los parámetros obtenidos para la primera de las armónicas (Ubukata, 2003). Las primeras armónicas captan la variación general y asimismo son más sensibles a los errores de medición o escala, por lo que los datos son estandarizados para minimizar ese efecto.

4. METODOLOGÍA

4.1 Fuente y naturaleza de la información

En el estudio se analizan dos zonas geográficas correspondientes a los “océanos Pacífico y Atlántico”. Las muestras de otolitos de merluza de tres aletas (*Micromesistius australis*) del océano Pacífico (36°S y 57°S), provienen de muestreos realizados entre junio y agosto de 2010 por barcos comerciales y fueron facilitadas por el Instituto de Fomento Pesquero (IFOP); mientras que las muestras de otolitos sagitales del océano Atlántico, específicamente de la Zona Económica Exclusiva (ZEE) de las islas Falkland (50°S y 52°S) provienen de muestreos realizados en julio de 2010. Estos otolitos fueron facilitados por el Dr. Alexander I. Arkhipkin del departamento de pesquerías de las islas Falkland.

Se utilizó los otolito izquierdo de la especie, contando con un total de 239 muestras de las cuales 107 corresponden al Pacífico (47 machos y 60 hembras) y 132 para el Atlántico (86 machos y 46 hembras), en un rango de 50 a 60 cm de longitud total (LT) del pez para ambos sexos y océanos.

4.2 Área y período de estudio

El área comprende el océano Pacífico (36°S-57°S) y Zona Económica Exclusiva (ZEE) de las islas Falkland (50°S-52°S). Las muestras fueron colectadas en primavera e invierno de 2010, durante el período reproductivo en ambas zonas.

4.3 Obtención de imágenes y caracterización morfológica

Para el análisis morfométrico, cada otolito fue digitalizado por medio de un microscopio estereoscópico (Olympus modelo SZ-61), estandarizando la distancia desde el lente al porta objeto a 20 cm y con un aumento de las muestras de 5X (Ocular 10X, Objeto 1X, desmultiplicador 0,5X), luego se utiliza un software de digitalización y procesador de imágenes (Image pro plus 5.2).

Los otolitos fueron colocados en el microscopio estereoscópico en una placa petri con agua corriente y fondo negro para mejorar el contorno, en posición horizontal con el rostrum hacia la izquierda de la pantalla (Figs. 9 y 10).



Figura 9. (1) Otolito hembra derecho, 50 cm LT.; (2) Otolito hembra izquierdo, 50 cm LT.; (3) Otolito macho derecho, 53 cm LT.; (4) Otolito macho izquierdo, 53 cm LT. Océano Atlántico, Aumento 5x.

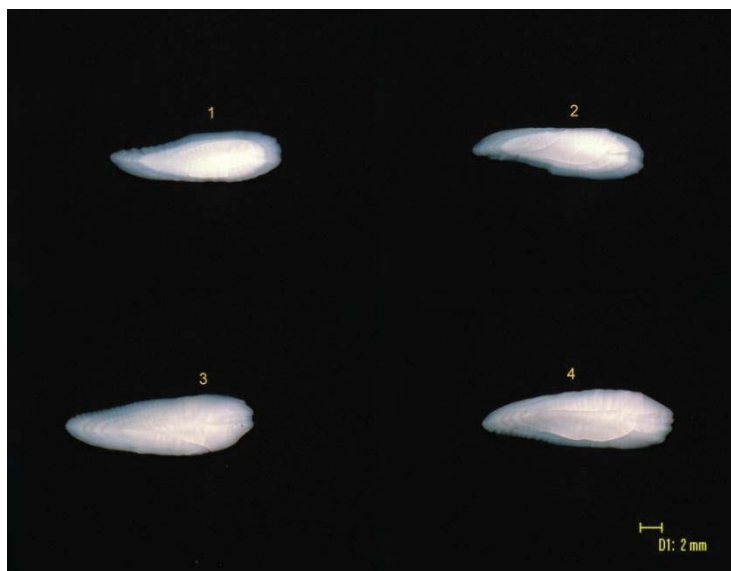


Figura 10. (1) Otolito macho derecho, 42 cm LT.; (2) Otolito macho izquierdo, 42 cm LT.; (3) Otolito hembra derecho, 50 cm LT.; (4) Otolito hembra izquierdo, 50 cm LT. Océano Pacífico, Aumento 5x.

4.4 Caracterización morfométrica básica del otolito sagita

4.4.1 Parámetros de tamaño

- Área (A): Extensión o superficie dentro de una figura (en dos dimensiones). Obtenido por Image pro plus 6.0, el acrónimo (A_o) se especificará para el área del otolito.
- Perímetro (P): Distancia alrededor de una figura bidimensional, obtenido por Image pro plus 6.0, el acrónimo (P_o) se especificará para el perímetro del otolito.
- Feret weight (F_w): Menor ancho de una figura, cuyo perímetro es encerrado en un rectángulo, obtenido por Image pro plus 6.0, obtenida para el otolito sagital.
- Feret length (F_l): Mayor largo de una figura, cuyo perímetro es encerrada en un rectángulo, obtenido por Image pro plus 6.0, obtenida para el otolito sagital.

4.4.2 Índices de forma

- Rectangularidad: Describe la variación de la longitud y el ancho con respecto al área, el valor 1 corresponde a un rectángulo perfecto (Tuset *et al.*, 2003).

$$\text{Rectangularidad} = \frac{A_o}{(F_l * F_w)}$$

- Circularidad y redondez: Ambos dan información de la similitud de las diversas características de un círculo perfecto, teniendo como valor mínimo 1 y 4π (12,57) respectivamente (Tuset *et al.*, 2003).

$$\text{Circularidad} = \frac{A_o}{A_{\text{círculo}}}$$

$$\text{Redondez} = \frac{(4 * A_o)}{(\pi * F_l^2)}$$

- Factor de forma: Es un medio para estimar la superficie irregular del área tomando valores de 1 cuando se trata de un círculo perfecto y menores a 1 cuando la superficie es irregular (Tuset *et al.*, 2003).

$$\text{Factor de forma} = \frac{(4\pi * A_o)}{P_o^2}$$

- Elipticidad: Indica si los cambios en los ejes son proporcionales.

$$\text{Elipticidad} = \frac{(F_l - F_w)}{(F_l + F_w)}$$

Tabla 4. Descriptores de forma.

Parámetros de tamaño	Índices de forma
Área (A)	Circularidad = A_o/A_c
Perímetro (P)	Rectangularidad = $A_o / (F_l * F_w)$
Feret weight (F_w)	Factor de forma = $(4\pi * A_o)/P^2$
Feret length (F_l)	Redondez = $(4A_o)/(\pi * F_l^2)$
	Elipticidad = $(F_l - F_w)/(F_l + F_w)$

(Fuente: Modificada de Tuset *et al.*, 2006)

4.4.3 Obtención descriptores básicos de forma en Image pro plus 6.0

Para la obtención de los descriptores básicos de la forma se adjuntaron las imágenes al programa Image pro plus 6.0 (Fig. 11) siguiendo el siguiente protocolo:

- Abrir el archivo de las imágenes (Open file) y cargar la imagen para el análisis.
- Luego convertir a escala de 8 bits la imagen (Menu→Edit→Convert to→Gray scale 8).
- Calibrar el programa con el aumento de la imagen (Measure→Calibration→Select Spatial).

- Binarizar la imagen para obtener su contorno (Menu→Measure→Count/Size) seleccionar la ventana (Count/Size→Manual→Select Range).
- Seleccionar el mejor filtro que se desee para que la imagen en blanco y negro obtenga el mejor contorno.(seleccionar Apply Mask→Close).
- Aparecerá el otolito en escala de blanco y negro, luego en la sub ventana de Count/Size seleccionar la opción (Automatic Dark Objects seguido de un click en Count).
- Aparecerá automáticamente el contorno del otolito encerrado por una Outline y en el medio un número de asignación.
- Solo resta seleccionar los descriptores básicos de la forma del otolito (Measure→Select measurements) y asignarlo al número de la forma del otolito.



Figura 11. Procesamiento de imágenes en Image pro plus 6.0. (1) otolito normal; (2) otolito filtrado (filtro “LoPass”) convertido a “gray scale 8”; (3) otolito con aplicación de mascara. Otolito macho izquierdo del océano Pacífico, 56 cm LT.; aumento 5x.

4.5 Coeficientes elípticos de Fourier

Para ajustar una función de Fourier a un contorno, cada coordenada (x, y) de un punto del contorno se expresa en función de su posición en dicho contorno. Dichas coordenadas se computan por medio de las series de Fourier que son series trigonométricas de formato general:

$$f(t) = A_0 + \sum_{n=1}^N a_n \cos nt + \sum_{n=1}^N b_n \sin nt$$

La denominación análisis elíptico de Fourier (EFA, en sus siglas en inglés) se refiere al primer término de la serie, el cual describe una elipse; los términos sucesivos dan cuenta de las

desviaciones de dicha elipse. A cada termino de la serie se lo llama armónico, y cuantos más armónicos posea dicha serie, mayor será el ajuste de la función a la forma bajo estudio.

Para apreciar la geometría de esta descripción, considérese por ejemplo el ajuste de pequeños segmentos lineales a un polígono complejo que concuerda con la curva (Fig. 12). Si un punto atraviesa dicho polígono a velocidad constante, luego la coordenada X define una función $X(t)$ en el tiempo t . Esta función es un valor único, continuo y periódico (dado que el punto da vueltas continuamente alrededor de la curva). De este modo, la curva tiene una expansión de Fourier en términos de senos y cosenos de frecuencias enteras con determinadas amplitudes. Dado que la integral de $X(t)$ es constante, Kuhl & Giardina (1982) propusieron una sustitución que permite calcular los coeficientes de las amplitudes de las series de Fourier para $X(t)$. Una descomposición similar se lleva a cabo con las proyecciones de $Y(t)$ en el eje Y del polígono (Ferson *et al.*, 1985). Las dos funciones paramétricas se definen en $X(t)$ e $Y(t)$ respectivamente como:

$$\begin{aligned} X(t) &= A_0 + \sum_{n=1}^N a_n \cos nt + \sum_{n=1}^N b_n \sin nt \\ Y(t) &= C_0 + \sum_{n=1}^N c_n \cos nt + \sum_{n=1}^N d_n \sin nt \end{aligned}$$

Donde los coeficientes de Fourier para el n -ésimo armónico en la proyección X son (Kuhl & Giardina, 1982):

$$\begin{aligned} a_n &= \frac{T}{2n^2\pi^2} \sum_{p=1}^k \frac{\Delta X_p}{\Delta t_p} \left[\cos \frac{2\pi n t_p}{T} - \cos \frac{2\pi n t_{p-1}}{T} \right] \\ b_n &= \frac{T}{2n^2\pi^2} \sum_{p=1}^k \frac{\Delta X_p}{\Delta t_p} \left[\sin \frac{2\pi n t_p}{T} - \sin \frac{2\pi n t_{p-1}}{T} \right] \end{aligned}$$

Donde, k es el número de pasos en la curva (resumidos en p), n es la frecuencia, X_p es el desplazamiento a lo largo del eje X entre los pasos $p-1$ y p , t_p es la longitud del segmento entre estos pasos, t_p es la longitud acumulada en dichos segmentos en el paso p , y $T (=tk)$ es la longitud total del contorno, aproximada por la línea que define al polígono. Los coeficientes de Fourier para la proyección Y son:

$$c_n = \frac{T}{2n^2\pi^2} \sum_{p=1}^k \frac{\Delta Y_p}{\Delta t_p} \left[\cos \frac{2\pi n t_p}{T} - \cos \frac{2\pi n t_{p-1}}{T} \right]$$

$$d_n = \frac{1}{n^2\pi} \sum_{p=1}^k \frac{\Delta Y_p}{\Delta t_p} \left[\sin \frac{2\pi n t_p}{T} - \sin \frac{2\pi n t_{p-1}}{T} \right]$$

Los descriptores elípticos de Fourier (EFDs) se obtuvieron en el programa Shape versión 1.3 (Iwata, 2006). El programa Shape (Fig. 8) creado por Iwata & Ukai (2002) es un paquete analizador de la forma de objetos basado en EFDs. El paquete ChainCoder extrae de la imagen digital del objeto el contorno y almacena la información relevante la que corresponde a la cadena de códigos (Chain-code). A continuación, el paquete Chc2Nef proporciona los coeficientes normalizados EFD (NEFDS) a través de una transformación de Fourier discreta de la cadena de contorno codificada. Para el análisis se utilizaron 11 armónicas por otolito, el número de armónicos necesarios para el análisis fue realizado por medio de una estimación visual de la reconstrucción y el método de normalización fue basado en la primera armónica. Para el análisis de datos multivariante, se extrajeron los coeficientes de la primera armónica (a_0 , b_0 , c_0 y d_0), y en total se trabajó con 40 coeficientes y 10 armónicas por otolito.

4.5.1 Obtención coeficientes elípticos de Fourier en Shape 1.3

- Abrir carpeta del programa Shape, ejecutable Chaincoder.exe
- Dirigirse en “Config” en el final de la ventana hacer clic en “proceed to processing”, se desplegará una ventana para seleccionar la imagen que desea procesar, se debe cargar imagen en formato *.bpm en 24 bits
- Presionar ok, cargar la imagen en el ejecutable , presionar “Load Image”
- Seleccionar el área que se desea analizar.(opcional)
- Marcar la escala de grises “Gray Scale” (R, G o B)
- Presionar “Make Histogram” para realizar el histograma de la figura que aparecerá al final de la ventana.
- Binarizar la imagen (opción de cambiar la escala de binarización)
- Mejorar la imagen binarizada (Ero Dil filter y Dil Ero Filter)

- Presionar "Labeling object" (se desplegará una nueva ventana con nombre del dato, el número de figuras analizadas de la imagen, datos de SX y SY, área y el chain code.
- Presionar Chain coding. En la ventana principal de Chaincoder, aparecerá en una ventana secundaria el chain code de cada figura.
- Grabar el archivo "save to file"
- Colocar un nombre asignado a la figura (ejemplo.chc), guardar.
- Cerrar la ventana del ejecutable Chaincoder.exe
- Se obtuvieron los códigos que serán procesados en el ejecutable CHC2NEF.exe
- Hacer doble clic en el ejecutable CHC2NEF.exe
- Se desplegará una ventana para abrir el archivo ejemplo.chc
- Se deberá guardar el archivo en formato *.nef, luego se da la opción de agregar el número máximo de armónicas de Fourier que se quieren normalizar, asignar método que se quiere normalizar, basado en la primera armónica o en el largo del radio, presiona ok para finalizar.
- Se desplegará una ventana nueva en donde aparecerá el contorno en la parte izquierda, abajo-izquierda aparecerá el chaincode y a la derecha de la pantalla aparecerá los descriptores elípticos de Fourier normalizados (son a, b, c y d), presionar Start para grabar la figura que se quiere normalizar, cerrar la ventana.
- Ahora abrir nuevamente la carpeta del programa Shape, abrir el ejecutable PrinComp.exe, llamar al archivo normalizado (ejemplo.nef) y se desplegará una ventana con la información del archivo normalizado (en donde: a1=b1=c1=1 y d1=0).
- Lo que se quiere es rescatar la información del archivo normalizado con los cuatro descriptores de la forma de la figura (ejemplo.nef), por lo tanto el análisis en el programa llega hasta aquí.
- Copiar en un archivo *.txt (ejemplo.txt)
- Abrir una hoja Excel (llamar al archivo ejemplo.txt)
- En la hoja Excel se desplegará una ventana con un asistente para importar texto, verificar si los datos son los correctos, presiona siguiente.
- El asistente le permite establecer los separadores contenidos en los datos, presionar siguiente se desplegará la pantalla que permite separar cada columna y establecer el

formato de los datos, presionar finalizar para terminar y aparecerán los datos en cada celda del archivo ejemplo.xls.

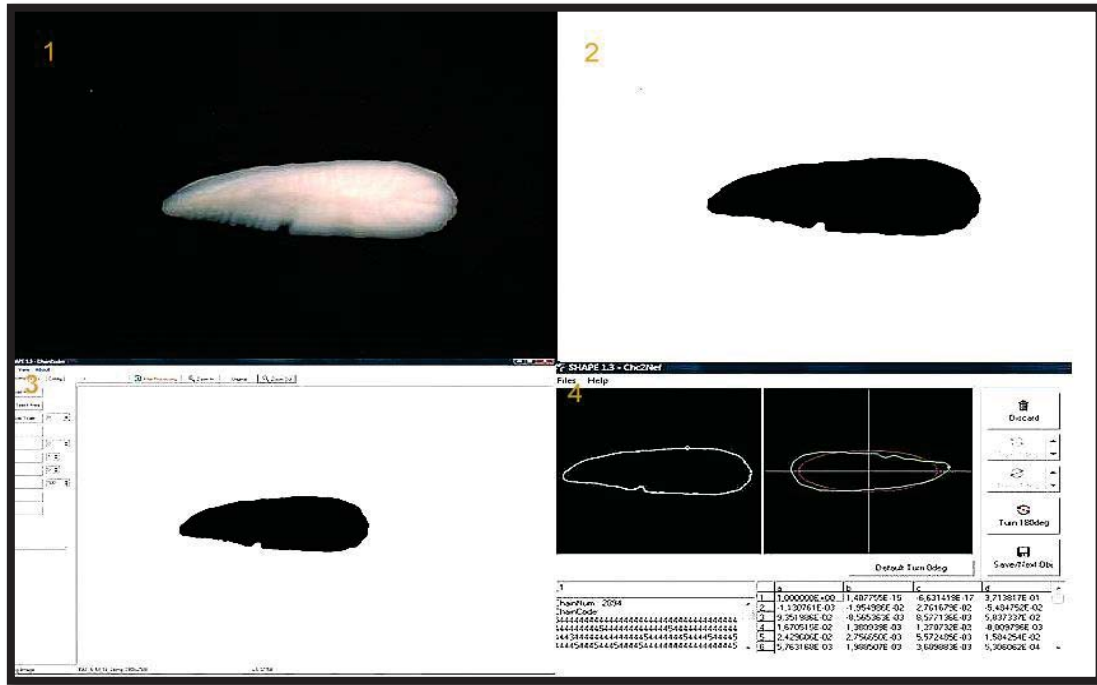


Figura 12. Obtención de los coeficientes elípticos normalizados de Fourier. (1) Otolito normal, (2) otolito binarizado y convertido a escala de 24 bits para ser procesado en SHAPE 1.3, (3) ventana ejecutable Shape 1.3 para extraer el chain-code, (4) normalización del otolito y extracción de los coeficientes normalizados de Fourier.

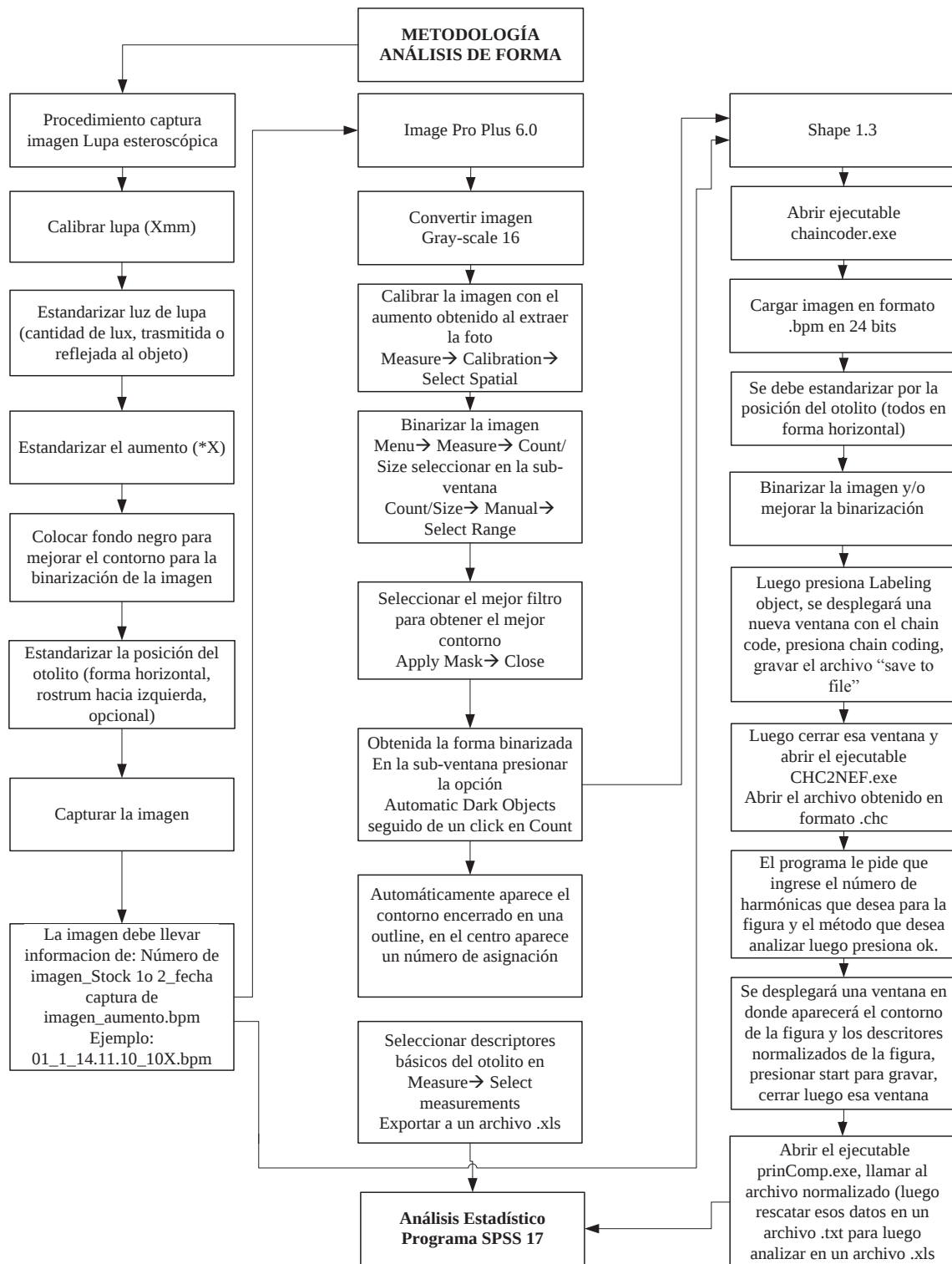


Figura 13. Diagrama metodológico análisis de forma.

4.6 Análisis estadístico

4.6.1 Prueba de bondad de ajuste de Kolmogorov-Smirnov

Esta se basa en una comparación entre las funciones de distribución acumulativas que se observan en la muestra ordenada y la distribución propuesta bajo la hipótesis nula. Si esta comparación revela una diferencia suficientemente grande entre las funciones de distribución muestral y la propuesta, entonces la hipótesis nula de que la distribución es $F_0(x)$ se rechaza (Canavos, 1988).

Hipótesis:

H_0 : La distribución observada se ajusta a la distribución teórica.

H_1 : La distribución observada no se ajusta a la distribución teórica.

La estadística de Kolmogorov-Smirnov se define como:

$$D_n = \max |S_n(x) - F_0(x)|$$

donde:

$S_n(x)$: es la función de distribución empírica.

$F_0(x)$: es la función de teórica.

4.6.2 Prueba de homogeneidad de varianza de Levene

El estadístico de Levene se define como:

$$W = \frac{(N - K) \sum_{i=1}^k n_i (\bar{Z}_i - \bar{Z}_{..})^2}{(k - 1) \sum_{i=1}^k \sum_{j=1}^{n_i} (Z_{ij} - \bar{Z}_i)^2}$$

donde Z_{ij} puede tener una de las siguientes tres definiciones:

$Z_{ij} = |X_{ij} - \bar{X}_i|$ donde $\bar{X}_i$ es la media del i-ésimo subgrupo.

$Z_{ij} = |X_{ij} - \tilde{X}_i|$ donde $\tilde{X}_i$ es la mediana del i-ésimo subgrupo.

$Z_{ij} = |X_{ij} - \overline{X'_i}|$ donde $\overline{X'_i}$ es la media recortada al 10% del i-ésimo subgrupo.
 $Z_{..}$: es la media global de Z_{ij} y $\bar{Z}_i$ es la media del i-ésimo subgrupo de los Z_{ij}
 W : es el resultado de la prueba.
 k : es el número de grupos diferentes a las que pertenecen las muestras.
 N : es el número total de muestras.
 N_i : es el número de muestras en el grupo i-ésimo.

La prueba de Levene rechaza la hipótesis de que las varianzas son iguales con un nivel de significancia α si $W > F_{\alpha, k-1, N-k}$ donde $F_{\alpha, k-1, N-k}$ es el valor crítico superior de la distribución F con $k - 1$ grados de libertad en el numerador y $N - k$ grados de libertad en el denominador a un nivel de significancia α (Correa *et al.*, 2006).

4.6.3 Análisis de covarianza (ANCOVA)

El análisis de covarianza (ANCOVA) es una técnica de control estadístico que permite eliminar de la variable dependiente del ANOVA el efecto atribuible a variables no incluidas en el diseño como factores y, por tanto, no sometidas a control experimental. En un análisis de covarianza, los efectos de interés siguen siendo los referidos a cada factor y a las interacciones entre factores; un nivel crítico menor que 0,05 delata la presencia de un efecto significativo.

El modelo aplicado es el siguiente (Rutherford, 2001):

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_j + \beta Z_{ij} + \varepsilon_{ij}$$

donde:

Y_{ij} : es la i -ésima observación bajo el j -ésimo nivel de tratamiento.
 μ : es una constante común en todas las observaciones de Y .
 α_j : es el efecto del nivel j -ésimo de tratamiento.
 βZ_{ij} : representa la influencia de la covariable en la variable dependiente.
 ε_{ij} : refleja un error aleatorio debido a una fuente no controlada.

Previo al análisis de covarianza, se realizó un análisis de asociación entre las variables, para verificar el efecto que podría poseer una variable de tamaño o de forma en las demás variables y así poder corregir ese efecto.

4.6.4 Análisis discriminante (AD)

Es una técnica multivariante de clasificación de individuos, en la que se presupone la existencia de dos o más grupos bien definidos *a priori*. Es una técnica estadística de la rama del análisis multivariante en la cual la variable dependiente es indicadora y no numérica. El modelo se construye basado en un set de observaciones para las cuales se conocen las clases. Se aplicó el análisis discriminante paso a paso (Stepwise Discriminant Analysis; Seber, 1984) para seleccionar las variables métricas que mejor discriminaban entre clases o grupos.

Se trabaja con la metodología propuesta por Carvajal *et al.* (2004), donde el análisis discriminante parte de una tabla de datos de n individuos a los que se les ha medido p variables cuantitativas independientes, que actúan como perfil de características de cada uno de ellos. Una variable cualitativa adicional, dependiente o clasificatoria, con dos ó más categorías, define el grupo al que cada individuo pertenece. Es pues una tabla $n \times (p+1)$ en que cada caso figura con un perfil y una asignación a grupo.

La función discriminante de Fisher D, que aparece en la ecuación (1), se obtiene como función lineal de k variables explicativas como:

$$D = u_1X_1 + u_2X_2 \dots + u_kX_k \quad (1)$$

Las puntuaciones discriminantes son los valores que se obtienen al dar valores a $X_1, X_2, \dots, X_k$ en la ecuación (1). El problema matemático consiste en obtener los coeficientes de ponderación u_j , que mejor permitan diferenciar los individuos de un grupo del otro. Si se considera que existe n observaciones como en la ecuación (2)

$$D_i = u_1X_{1i} + u_2X_{2i} \dots + u_kX_{ki} \quad i = 1, 2, \dots, n \quad (2)$$

D_i Es la puntuación discriminante correspondiente a la observación I-ésima. Expresando las variables explicatorias en desviación respecto a la media, la relación anterior se puede expresar en forma matricial como sigue en la siguiente ecuación (3):

$$\begin{bmatrix} D_1 \\ D_2 \\ \vdots \\ D_n \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} X_{11} & X_{21} & \dots & X_{k1} \\ X_{12} & X_{22} & \dots & X_{k2} \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ X_{1n} & X_{2n} & \dots & X_{kn} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} u_1 \\ u_2 \\ \vdots \\ u_k \end{bmatrix} \quad (3)$$

En notación compacta se puede escribir como en la ecuación matricial (4).

$$D = Xu \quad (4)$$

La variabilidad de la función discriminante (suma de cuadrados de las variables discriminantes respecto a su media) se expresa en la ecuación (5) como:

$$d'd = u'X'Xu \quad (5)$$

La matriz $X'X$ es una matriz simétrica expresada en desviaciones respecto a la media, por lo que puede considerarse como la matriz T de suma de cuadrados total de las variables explicativas de la matriz X . Según la teoría del análisis multivariante de la varianza, $X'X$ se puede descomponer en la suma de la matriz entre grupos F y la matriz intragrupos V (o residual), como se muestra en la ecuación (6).

$$X'X = T = F + V \quad (6)$$

Por lo tanto (5) puede expresarse como en (7)

$$d'd = u'X'Xu = u'Tu = u'Fu = u'Wu \quad (7)$$

Los ejes discriminantes vendrán dados por los vectores propios asociados a los valores propios de la matriz $W^{-1}F$ ordenados de mayor a menor. Las puntuaciones discriminantes se corresponden con los valores obtenidos al proyectar cada punto del espacio K -dimensional de las variables originales sobre el eje discriminante.

Los centros de gravedad o centroides (vector de medias) son los estadísticos básicos que resumen la información sobre los grupos. Los centroides de los grupos I y II se muestran en la ecuación (8)

$$\bar{X}_I = \begin{bmatrix} \bar{X}_{1,I} \\ \bar{X}_{2,I} \\ \vdots \\ \bar{X}_{k,I} \end{bmatrix} \quad \bar{X}_{II} = \begin{bmatrix} \bar{X}_{1,II} \\ \bar{X}_{2,II} \\ \vdots \\ \bar{X}_{k,II} \end{bmatrix} \quad (8)$$

Así, para los grupos I y II se obtienen los puntajes promedios de la función discriminante en cada grupo dados por la ecuación (9):

$$\begin{aligned}\bar{D}_I &= u_1\bar{X}_{1,I} + u_2\bar{X}_{2,I} \dots + u_k\bar{X}_{k,I} \\ \bar{D}_{II} &= u_1\bar{X}_{1,II} + u_2\bar{X}_{2,II} \dots + u_k\bar{X}_{k,II}\end{aligned}\tag{9}$$

El punto de corte discriminante se calcula mediante la ecuación (10):

$$C = \frac{\bar{D}_I + \bar{D}_{II}}{2}\tag{10}$$

El criterio para clasificar el individuo i es el siguiente:

Si $D_i < C$, se clasifica al individuo i en el grupo I
Si $D_i > C$, se clasifica al individuo i en el grupo II

En general, cuando se aplica el análisis discriminante se le resta el valor C a la función discriminante, como se expresa en la ecuación (11).

$$D - C = u_1X_1 + u_2X_2 + \dots u_kX_k - C\tag{11}$$

En este caso, se clasifica a un individuo en el grupo I si $D-C > 0$, y en grupo II de otra manera.

4.6.4.1 Selección de las variables discriminantes

Los criterios que se consideraron para la selección de las variables son el de Lambda Wilks (λ) y el estadístico F. Lambda de Wilks para un conjunto de P variables independientes ($p=17$), mide las desviaciones dentro de cada grupo respecto a las desviaciones totales sin distinguir los grupos y está dado por la ecuación:

$$\lambda = \frac{S.C. Intra. grupos}{S.C. Totales}$$

Donde el numerador es la suma de cuadros intra grupos, la cual mide el cuadrado de las desviaciones de cada uno de los datos con respecto a la media del grupo. En el denominador se encuentra la suma de cuadrados totales, la cual mide el cuadrado de las desviaciones de cada uno de los datos con respecto a la media de todos los datos. La suma de cuadrados totales es el resultado de la suma de cuadrados inter-grupos (entre grupos) y intra-grupos (dentro de los grupos); Si el valor de λ es próximo a 1, los grupos estarán mezclados y el conjunto de variables independientes no será adecuado para construir la función discriminante, dado que el

mayor porcentaje de variabilidad estaría siendo representado por la variabilidad dentro de los grupos.

El criterio Lambda de Wilks identifica las mejores variables discriminantes pero es el estadístico F el que determina que variables se deben tener en cuenta en el modelo. El criterio funciona de la siguiente manera, si el valor de F es mayor a 3,84 de la variable podrá ser tomada en cuenta, de lo contrario será eliminada. El estadístico F como función de Lambda de Wilks se calcula de acuerdo a la ecuación:

$$F = \left(\frac{n - g - p}{g - 1} \right) \left(\frac{1 - \lambda_{p+1}/\lambda_p}{\lambda_{p+1}/\lambda_p} \right)$$

donde:

n : es el número de otolitos, $n=239$.

g : es el número de grupos, $g=2$.

p : Es el número de variables independientes; $p=17$.

λ : Lambda de Wilks.

4.6.5 Análisis multivariado de la varianza (MANOVA)

El análisis de la varianza multivariante es una generalización del análisis de la varianza univariante para el caso de más de una variable dependiente. Se trata de contrastar la significación de uno o más factores (variables independientes) para el conjunto de variables independientes.

El modelo utilizado de dos factores fijos, dos niveles cada factor, es el siguiente (Canavos, 1988):

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

El vector respuesta Y_{ijk} contiene 16 variables dependientes morfométricas, siete de ellas (c2, c5, c6, c8, d3, d6, d7) son descriptores elípticos normalizados de Fourier (NEFD), ocho residuales de tamaño del otolito (Perímetro, área, relación de aspecto, diámetro máximo, medio y mínimo, ancho y feret máximo) y un índice de forma (circularidad). Los factores fijos α_i y β_j representan el área de muestreo con dos niveles (ZSA Chile y ZEE I. Malvinas) y el sexo de las muestras con dos niveles (Machos y Hembras) para ambas áreas respectivamente. El efecto de interacción viene dado por $(\alpha\beta)_{ij}$ que representa la interacción entre el área de

muestreo y el sexo de las muestras. El modelo planteado para el análisis quedaría de la siguiente manera:

$$MO_{ijk} = \mu + area_i + sexo_j + (area * Sexo)_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

MO_{ijk} otolitos.	: Vector respuesta que contiene las variables morfométricas de
μ	: Media global.
$area_i$	: Efecto principal causado por el área de las muestras (i=2).
$sexo_j$ (j=2)	: Efecto principal causado por el sexo de las muestras por área
$(area * Sexo)_{ij}$	: Efecto de interacción del área y sexo de las muestras (i*j=4)
ε_{ijk}	: k-ésimo error aleatorio de (área, sexo)

5. RESULTADOS

5.1 Caracterización morfológica mediante digitalización de imágenes

Para la caracterización morfométrica, cada otolito fue digitalizado por medio de un microscopio estereoscópico (Olympus modelo SZ-61), estandarizando la distancia desde el lente al porta objeto a 20 cm y con un aumento de las muestras de 5X (Ocular 10X, Objeto 1X, desmultiplicador 0,5X), luego se utiliza un software de digitalización y procesador de imágenes (Image pro plus 5.2) ajustando la velocidad de obturación en 200 milisegundos.

Estas imágenes fueron registradas en el departamento de edad y crecimiento del Instituto de Fomento Pesquero.

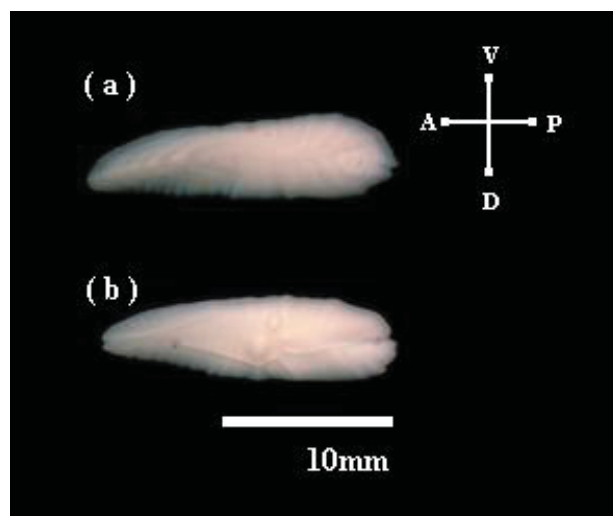


Figura 14. (a) Otolito hembra izquierdo, 52 cm LT, Océano Pacífico. (b) Otolito hembra izquierdo, 52 cm LT, Océano Atlántico, Aumento 5X.

El otolito del océano Pacífico (Fig. 14) es de forma elíptica agudizado hacia la cara anterior (rostrum), el cual presenta una punta roma. El borde dorsal es mínimamente lobulado haciéndose casi liso en peces adultos, el borde ventral es curvo hacia la cara anterior con pequeñas irregularidades (indentaciones suaves). En la cara externa se distinguen con mayor nitidez los anillos de crecimiento a partir del que rodea al núcleo del primer anillo anual formados por bandas hialinas y opacas. En la faz interna se presenta el *sulcus* acústico que se ubica en dirección antero posterior, tiene una pequeña angostura al centro (el cual se encuentra desviado hacia la cara posterior) observado con facilidad a la vista, cortes transversales realizados muestran que esa angostura correspondería al *Primordium*. Los otolitos de ambas áreas tienen en común una agudizada concavidad hacia el exterior en el eje antero-posterior.

El otolito de islas Falkland (Fig. 14) se le confiere las mismas características morfológicas que al otolito de océano Pacífico pero un análisis microscópico en lupa binocular da cuenta que no se distinguen con clara nitidez los anillos de crecimiento a diferencia del otolito del Pacífico. Para no especular se realizó una medición de la profundidad del otolito para descartar la hipótesis nula que los otolitos tienen igual profundidad, característica que les conferiría transparencia para visualizar los anillos de crecimiento sin alterar el otolito. Los resultados (Anexo 1) muestran que la comparación entre áreas (ANOVA, $p>0,05$) de la profundidad no es diferente. Por sexo (ANOVA, $p>0,05$) tampoco existe diferencia significativa.

5.2 Análisis de varianza de variables básicas e índices morfométricos, caracterización morfométrica básica del otolito sagita para ambas áreas de estudio

Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) para cada variable morfométrica básica (Tabla 5), la hipótesis analizada se fundamenta en que “no existe diferencia entre los caracteres morfométricos para ambas áreas estudiadas”, los resultados obtenidos dan cuenta que para la hipótesis no es posible rechazar (ANOVA, $p<0,05$) para seis variables, cuatro variables básicas (diámetro mínimo, diámetro medio, ancho y feret mínimo) y dos índices morfométricos (rectangularidad y elipticidad). Para las demás variables (área otolito, relación de aspecto, diámetro máximo, perímetro, longitud otolito, feret máximo, circularidad, factor de forma y redondez) la hipótesis de igualdad fue rechazada (ANOVA, $p<0,05$).

Se realizaron graficas de tipo comparativas (Anexo 2) seleccionando las medias del área, perímetro y los índices (circularidad, rectangularidad, elipticidad, factor de forma y redondez) para visualizar de una mejor manera las diferencias morfométricas, dando un resultado de tendencias que no son apreciables claramente, debido que el rango de talla es de 10 puntos.

Se toma la decisión de realizar un enfoque global para el desarrollo de este proyecto, ello implica que se desarrollará un modelo múltiple de discriminación con las variables básicas de forma, índices morfométricos y descriptores elípticos.

Tabla 5. Análisis de varianza de las variables básicas de tamaño e índices morfométricos.

ANOVA						
		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Area_oto	Inter-grupos	357,705	1	357,705	4,928	0,027
	Intra-grupos	17203,842	237	72,590		
	Total	17561,547	238			
Aspect	Inter-grupos	0,243	1	0,243	7,305	0,007
	Intra-grupos	7,878	237	0,033		
	Total	8,121	238			
Diameter (max)	Inter-grupos	17,276	1	17,276	13,434	0,000
	Intra-grupos	304,783	237	1,286		
	Total	322,059	238			
Diameter (min)	Inter-grupos	0,074	1	0,074	0,748	0,388
	Intra-grupos	23,310	237	0,098		
	Total	23,384	238			
Diameter (mean)	Inter-grupos	0,877	1	0,877	3,473	0,064
	Intra-grupos	59,862	237	0,253		
	Total	60,739	238			
Perimeter	Inter-grupos	60,543	1	60,543	8,867	0,003
	Intra-grupos	1618,218	237	6,828		
	Total	1678,761	238			
Size (length)	Inter-grupos	17,195	1	17,195	13,379	0,000
	Intra-grupos	304,602	237	1,285		
	Total	321,797	238			
Size (width)	Inter-grupos	0,326	1	0,326	3,067	0,081
	Intra-grupos	25,179	237	0,106		
	Total	25,505	238			
Feret (min)	Inter-grupos	0,024	1	0,024	0,027	0,869
	Intra-grupos	205,681	237	0,868		
	Total	205,704	238			
Feret (max)	Inter-grupos	19,954	1	19,954	14,632	0,000
	Intra-grupos	323,195	237	1,364		
	Total	343,149	238			
IC	Inter-grupos	0,003	1	0,003	13,789	0,000
	Intra-grupos	0,051	237	0,000		
	Total	0,054	238			
IR	Inter-grupos	0,001	1	0,001	1,154	0,284
	Intra-grupos	0,263	237	0,001		
	Total	0,264	238			
IE	Inter-grupos	0,006	1	0,006	2,695	0,102
	Intra-grupos	0,571	237	0,002		
	Total	0,578	238			
FF	Inter-grupos	0,004	1	0,004	6,884	0,009
	Intra-grupos	0,148	237	0,001		
	Total	0,153	238			
Redondez	Inter-grupos	0,003	1	0,003	14,741	0,000
	Intra-grupos	0,051	237	0,000		
	Total	0,054	238			

5.3 Análisis estadístico multivariante

5.3.1 Prueba de bondad de ajuste de Kolmogorov-Smirnov

Tabla 6. Prueba de normalidad para las variables morfométricas.

Kolmogorov-Smirnov					Kolmogorov-Smirnov				
Variable	Área	Estadístico	gl	Sig.	Variable	Área	Estadístico	gl	Sig.
a1	1	0,101	132	0,002	b6	1	0,105	132	0,001
	2	0,133	107	0,000		2	0,088	107	0,039
a2	1	0,108	132	0,001	b7	1	0,122	132	0,000
	2	0,066	107	0,200		2	0,082	107	0,076
a3	1	0,153	132	0,000	b8	1	0,101	132	0,002
	2	0,110	107	0,003		2	0,088	107	0,041
a4	1	0,119	132	0,000	b9	1	0,099	132	0,003
	2	0,064	107	0,200		2	0,049	107	0,200
a5	1	0,164	132	0,000	b10	1	0,081	132	0,035
	2	0,074	107	0,185		2	0,106	107	0,005
a6	1	0,083	132	0,028	c1	1	0,080	132	0,037
	2	0,066	107	0,200		2	0,057	107	0,200
a7	1	0,127	132	0,000	c2	1	0,067	132	0,200
	2	0,064	107	0,200		2	0,079	107	0,098
a8	1	0,104	132	0,001	c3	1	0,086	132	0,019
	2	0,076	107	0,150		2	0,051	107	0,200
a9	1	0,092	132	0,008	c4	1	0,096	132	0,004
	2	0,064	107	0,200		2	0,064	107	0,200
a10	1	0,061	132	0,200	c5	1	0,065	132	0,200
	2	0,076	107	0,151		2	0,045	107	0,200
b1	1	0,166	132	0,000	c6	1	0,065	132	0,200
	2	0,115	107	0,001		2	0,063	107	0,200
b2	1	0,108	132	0,001	c7	1	0,102	132	0,002
	2	0,130	107	0,000		2	0,059	107	0,200
b3	1	0,094	132	0,006	c8	1	0,061	132	0,200
	2	0,092	107	0,027		2	0,053	107	0,200
b4	1	0,082	132	0,031	c9	1	0,111	132	0,000
	2	0,094	107	0,020		2	0,053	107	0,200
b5	1	0,115	132	0,000	c10	1	0,074	132	0,075
	2	0,084	107	0,061		2	0,099	107	0,012

Tabla 6. Prueba de normalidad para las variables morfométricas (continuación)

Kolmogorov-Smirnov					Kolmogorov-Smirnov				
Variable	Área	Estadístico	gl	Sig.	Variable	Área	Estadístico	gl	Sig.
d1	1	0,169	132	0,000	DIAMIN_OTO	1	0,111	132	0,000
	2	0,152	107	0,000		2	0,090	107	0,033
d2	1	0,060	132	0,200	DIAMED_OTO	1	0,077	132	0,054
	2	0,054	107	0,200		2	0,066	107	0,200
d3	1	0,058	132	0,200	PER_OTO	1	0,056	132	0,200
	2	0,084	107	0,062		2	0,053	107	0,200
d4	1	0,097	132	0,004	LAR_OTO	1	0,043	132	0,200
	2	0,044	107	0,200		2	0,056	107	0,200
d5	1	0,095	132	0,005	ANC_OTO	1	0,072	132	0,090
	2	0,058	107	0,200		2	0,083	107	0,064
d6	1	0,068	132	0,200	FERMAX_OTO	1	0,289	132	0,000
	2	0,044	107	0,200		2	0,091	107	0,031
d7	1	0,071	132	0,097	FERMIN_OTO	1	0,056	132	0,200
	2	0,062	107	0,200		2	0,055	107	0,200
d8	1	0,080	132	0,036	IND_CIR_OTO	1	0,048	132	0,200
	2	0,045	107	0,200		2	0,073	107	0,196
d9	1	0,084	132	0,023	IND_REC_OTO	1	0,238	132	0,000
	2	0,056	107	0,200		2	0,074	107	0,192
d10	1	0,063	132	0,200	IND_ELIP_OTO	1	0,322	132	0,000
	2	0,077	107	0,135		2	0,045	107	0,200
ARE_OTO	1	0,067	132	0,200	FAC_FOR_OTO	1	0,075	132	0,064
	2	0,059	107	0,200		2	0,060	107	0,200
ASP_OTO	1	0,093	132	0,007	RED_OTO	1	0,052	132	0,200
	2	0,082	107	0,072		2	0,072	107	0,200
CEN_X_OTO	1	0,092	132	0,008					
	2	0,079	107	0,098					
CEN_Y_OTO	1	0,058	132	0,200					
	2	0,078	107	0,110					
DIAMAX_OTO	1	0,046	132	0,200					
	2	0,053	107	0,200					

En la Tabla 6 se muestra la prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov, para las variables de forma (descriptores elípticos de Fourier), para las variables de tamaño y los índices morfométricos; contrastando la hipótesis nula que las variables tienen una distribución normal (K-S, $p > 0,05$). La prueba de aceptación es que ambas variables en las dos áreas se comporten normales. Se aprecia que 10 variables descriptoras de forma, se distribuyen de acuerdo a la normal, a10, c2, c5, c6, c8, d2, d3, d6, d7, d10. De las variables de tamaño 8 se comportaron normales, Are_oto, Cen_y_oto, Diamax_oto, Diamed_oto, Per_oto, Lar_oto, Anc_oto, Feretmax_oto, y 3 índices siguen la distribución, Ind_cir_oto, Fac_for_oto, Red_oto.

5.3.2 Prueba de homogeneidad de varianza de Levene

Tabla 7. Prueba de homogeneidad de las variables morfométricas.

Variables	F	Sig.	Variables	F	Sig.
a1	0,169	0,681	c10	3,229	0,074
a2	1,858	0,174	d1	0,452	0,502
a3	2,487	0,116	d2	14,287	0,000
a4	1,463	0,228	d3	1,627	0,203
a5	5,611	0,019	d4	0,189	0,664
a6	7,950	0,005	d5	0,532	0,466
a7	7,252	0,008	d6	3,486	0,063
a8	8,753	0,003	d7	0,184	0,668
a9	26,482	0,000	d8	0,761	0,384
a10	7,239	0,008	d9	2,239	0,136
b1	2,290	0,132	d10	6,486	0,012
b2	1,045	0,308	ARE_OTO	0,173	0,677
b3	0,055	0,814	ASP_OTO	0,000	0,988
b4	0,231	0,632	CEN_X_OTO	0,141	0,707
b5	10,094	0,002	CEN_Y_OTO	0,899	0,344
b6	3,460	0,064	DIAMAX_OTO	0,140	0,709
b7	2,050	0,154	DIAMIN_OTO	1,299	0,256
b8	1,884	0,171	DIAMED_OTO	0,477	0,490
b9	1,892	0,170	PER_OTO	0,242	0,623
b10	6,165	0,014	LAR_OTO	0,048	0,827
c1	1,672	0,197	ANC_OTO	2,885	0,091
c2	1,307	0,254	FERMAX_OTO	2,101	0,148
c3	0,064	0,801	FERMIN_OTO	0,276	0,600
c4	10,554	0,001	IND_CIR_OTO	0,002	0,963
c5	0,006	0,937	IND_REC_OTO	1,072	0,302
c6	1,798	0,181	IND_ELIP_OTO	0,879	0,349
c7	8,795	0,003	FAC_FOR_OTO	1,143	0,286
c8	1,630	0,203	RED_OTO	0,044	0,834
c9	4,699	0,031			

En la Tabla 7 se muestra la prueba de homogeneidad de varianza, para ambas áreas de estudio, se contrasta la hipótesis nula que las varianzas son iguales para ambas variables en las dos áreas ($p > 0,05$). Se puede observar que 44 variables se comportan homogéneas.

Con ambos supuestos (normalidad y homogeneidad de varianza poblacional), se tiene mayor certeza y robustez en una aplicación de pruebas paramétricas, en este análisis

solo se trabajó con 18 variables que cumplieron ambos supuestos, aquellas que no cumplieron fueron descartadas, previo análisis de transformaciones, las cuales no produjeron efecto favorable para aceptar los supuestos de parametría.

5.3.3 Análisis de covarianza (ANCOVA)

Previo al análisis de covarianza se realizó un análisis exploratorio de asociación múltiple bivariada de Pearson entre las variables, se pudo apreciar una fuerte asociación entre las variables que describen el tamaño del otolito. Para corregir este efecto, se realizó un análisis de la variable largo del otolito (Lar_oto) la cual fue utilizada como covariable de las demás variables de tamaño (perímetro, área, relación de aspecto, diámetro máximo, medio y mínimo, ancho y feret máximo), se utilizó como factor fijo el área (I. Falkland y ZSA Chile), el modelo analizado fue de tipo interactivo como variables dependientes las de tamaño y se estableció la interacción del área con el largo del otolito. Se encontraron que existía covariación en todas las variables analizadas (ANCOVA, $p < 0,05$) y se tomó la decisión de utilizar los resuales no tipificados de cada variable dependiente (diferencia entre el valor observado menos el valor pronosticado por el modelo) para poder corregir los efectos de covariación (Anexo 3).

5.3.4 Análisis discriminante (AD)

Luego de realizar una serie de análisis de tipo exploratorio a todas las variables en cuestión, se decidió realizar un análisis discriminante canónico para encontrar una función de clasificación múltiple que pueda clasificar con la mayor certeza (porcentaje de clasificación por área), robustez y con la menor o nula redundancia de las variables morfométricas (asociación y covariación). El método aplicado incluyó variados modelos que contuvieron las variables que solo fueron significativas en todos los análisis previos de normalidad, homogeneidad y covariación. Para ello se utilizó el método de inclusión por pasos del paquete estadístico SPSS.

Esta inclusión contó con descriptores normalizados de Fourier (c2, c5, c6, c8, d3, d6, d7), residuales no tipificados que se obtuvieron gracias al análisis de covariación (perímetro, área, relación de aspecto, diámetro máximo, medio y mínimo, ancho y feret máximo) y un índice de forma (circularidad). El programa realizó variados algoritmos encontrando un modelo que contuvo cuatro variables y una constante como se muestra en la Tabla 8, los resultados de la clasificación indican que la función discriminante canónica clasifica el 78,7% de los otolitos de forma correcta, de un total de 132 otolitos de las islas Falkland, 106 corresponden a un porcentaje de asignación correcto de 80,3% y para la zona

sur austral de Chile de un total de 107 otolitos, bien clasificados 82 lo que corresponde a un 76,6% (Tabla 8).

Tabla 8. Coeficientes de la función de clasificación.

Coeficientes de la función de clasificación		
	Área	
	I. Falkland	Z.S.A. Chile
c2	413,624	519,386
c5	3325,845	3450,866
Residuo estandarizado para Are_oto (REAO)	-95,023	-92,703
Índice circularidad otolito (IC)	7338,903	7177,670
(Constante)	-1070,422	-1025,128

Tabla 9. Resultados de la clasificación.

Resultados de la clasificación					
		Área	Grupo de pertenencia pronosticado		Total
			I. Falkland	Z.S.A. Chile	
Original	Recuento	I. Falkland	106	26	132
		Z.S.A. Chile	25	82	107
	%	I. Falkland	80,3	19,7	100,0
		Z.S.A. Chile	23,4	76,6	100,0

Por cuanto los dos modelos de clasificación por área fueron los siguientes:

$$\text{Islas Falkland} = -1070,422 + 413,624 * c2 + 3325,845 * c5 - 95,023 * REAO + 7338,903 * IC$$

$$\text{Z. S. A. Chile} = -1025,128 + 519,386 * c2 + 3450,866 * c5 - 92,703 * REAO + 7177,670 * IC$$

5.3.5 Análisis multivariado de la varianza (MANOVA)

El análisis estadístico de forma se llevo a cabo por un análisis multivariado de la varianza (MANOVA, Morrison, 1967) con el fin de probar la siguiente hipótesis: por medio de la morfometría de otolitos sagitales de merluza de tres aletas (*Micromesistius australis*) y a través de los coeficientes elípticos de Fourier normalizados, residuales de tamaño del otolito (Perímetro, área, relación de aspecto, diámetro máximo, medio y mínimo, ancho y feret máximo) e índice de circularidad, comprobar si la forma del otolito es estadísticamente diferente en las dos áreas de muestreo (océanos Pacífico y Atlántico).

Para ello se diseñó el análisis estadístico de la siguiente manera: se asignaron como variables dependientes a los descriptores elípticos de Fourier normalizados (NEFDs), además los residuales de tamaño y el índice de circularidad; como factores fijos el área (Pacífico-Atlántico), sexo (macho, hembra), posteriormente se utilizó un modelo de “Efectos Principales” e interactivo (área*sexo) para visualizar los contrastes multivariados. Luego se contrastaron las hipótesis nulas sobre los efectos de los factores (área, sexo) sobre las medias de los descriptores normalizados de Fourier (c2, c5, c6, c8, d3, d6, d7), residuales no tipificados que se obtuvieron gracias al análisis de covariación (perímetro, área, relación de aspecto, diámetro máximo, medio y mínimo, ancho y feret máximo) e índice de forma (circularidad). También se investigó el modelo de “Interacción” entre los factores (área*sexo) los resultados se muestran en la (Tabla 10).

Tabla 10. Contrastes multivariados con modelo de efectos principales del área, sexo y su interacción.

Efecto	Estadístico	Valor	F	G.l de la hipotesis	G.l. error	Sig.
Interseccion		0,000	30140,71	17	219	0,000
Área	Lambda de Wilks	0,108	106,821	17	219	0,000
Sexo		0,279	33,316	17	219	0,000
Área * Sexo		0,917	1,159	17	219	0,301

La Tabla 10 muestra el estadístico multivariado Lambda de Wilks que pone a prueba cada una de las tres hipótesis de interés en este diseño. Para el factor área, el nivel crítico ($p < 0,05$) es menor que el nivel de significancia, se rechazar la hipótesis nula de igualdad de medias referidas a ese factor. Para el factor sexo, el nivel crítico asociado es ($p < 0,05$) mucho menor que el nivel de significancia, es posible rechazar la hipótesis nula de igualdad de medias. Para la tercera hipótesis asociada a la interacción entre área*sexo, la potencia ($p > 0,05$), por cuanto no es posible rechazar la hipótesis de nulidad referida al efecto de interacción (por lo tanto, no existe efecto significativo de interacción).

6. DISCUSIÓN

La caracterización morfológica y morfométrica de los otolitos de merluza de tres aletas posibilitó el estudio cualitativo y cuantitativo de la forma de la estructura calcárea (otolito). Se sustenta en que la forma del otolito varía geográficamente incluso dentro de una especie (Campana & Casselman, 1993) y presenta alta especificidad morfológica (Aurioles *et al.*, 1984; Aurioles, 1988; 1991; Lowry *et al.*, 1990, 1991; García, 1995; Hernández *et al.*, 2004; Martínez *et al.*, 2007) que la convierte en una herramienta útil para identificar relaciones intraespecíficas e interespecíficas.

En general, un análisis global entre los índices de forma, descriptores básicos de tamaño, en conjunto con la morfometría del contorno en el otolito determinada por análisis de descriptores elípticos de Fourier, demostraron ser una herramienta de medición útil y práctica para la discriminación de stock de *Micromesistius australis* en el cono sur de América. De acuerdo a Cadrin & Friedland (1999), la técnica de análisis de Fourier es un método eficiente para describir contornos de forma. Se considera la técnica de análisis de contorno más objetiva y eficiente para la captura de la variación completa de la forma y diferencias individuales en pequeña escala del contorno en el otolito (Campana & Casselman, 1993), aun cuando su interpretación biológica es más compleja que la morfometría lineal (Stransky & MacLellan, 2005).

Los resultados morfométricos de la forma del contorno en los otolitos de merluza de tres aletas para ambas áreas estudiadas, evidenciados en el presente proyecto corroboran que el método elíptico en conjunto con la morfometría básica y los índices de forma muestran pequeñas variaciones que son difíciles de apreciar por la morfometría lineal cuando es trabajada en forma aislada; las diferencias encontradas entre las dos áreas estudiadas se sustentan sobre una base estadística multivariante; los resultados de la clasificación por área (80,3% correcto para Falkland y 76,6% para zona sur-austral de Chile). Cabe señalar que existió un 80% de clasificación correcta para ambas zonas geográficas, producto de la diferenciación morfométrica de otolitos. El 20% que no se clasificó correctamente podría ser producto de mezcla de individuos adultos que para poder reproducirse buscan su zona de desove, debido a lo reportado por Arkhipkin *et al.* (2009) existe un alto grado de “fidelidad a los sitios de desove” con ciertos niveles de mezcla en el mar de Escocia; esta mezcla se realizaría en la etapa inmadura, cuando los peces quedan en el área común de alimentación en el mar de Escocia durante el verano antártico, lo cual explicaría el porcentaje que no se clasificó correctamente en este análisis.

Estos resultados concuerdan con el análisis de contornos de Fourier realizados por Niklitschek *et al.* (2009), quienes logran una clasificación correcta del 93,8% de los datos para la misma especie en las mismas zonas de estudio, cabe señalar que existió diferencia en las variables utilizadas en el análisis. En el presente proyecto se utilizó una combinación de variables básicas de tamaño, índices de forma y coeficientes armónicos, los cuales en su conjunto clasificaron de una mejor manera. Además se extrajeron variables redundantes que sobre-clasificaron el modelo. Niklitschek *et al.* (2009) trabajaron solo con los coeficientes armónicos, incluyeron los que mejor explicaban la forma, pero no se indicó en el estudio, si existía redundancia en las variables utilizadas. Esto podría haber sobre-parametrizado la clasificación discriminante, al haber incluido todas las armónicas en la clasificación. Para corroborar los porcentajes de clasificación discriminante, y sustentar la potencia discriminatoria de la morfometría de otolitos sagitales en la identificación de stock en esta especie, en este proyecto, se realizó un análisis multivariado de la varianza (MANOVA), los resultados mostraron que existió efecto de tipo interactivo entre los factores (área y sexo). Esta diferencia significativa fortalecería el elevado porcentaje de clasificación encontrado en los modelos de discriminantes, se infiere entonces, que existe una alta probabilidad de encontrar dos grupos de individuos diferenciados en el cono sur de América, con ciertos niveles de mezcla que sería interesante vislumbrar en futuros análisis. Existen diferentes publicaciones, que sustentan en base a metodologías similares la potencialidad de la utilización de esta herramienta como base de estudio o como apoyo a otras técnicas de identificación de stock (DeVries *et al.*, 2002; Stransky *et al.*, 2008b; Farias *et al.*, 2009) encontrando resultados satisfactorios en estudios de identificación de estructura de stock en peces teleósteos.

El presente proyecto corrobora la importancia de garantizar determinadas condiciones de muestreo como lo propuesto por (Farias *et al.*, 2009) quienes hacen énfasis a otolitos que se consideren dentro de una misma longitud y edad. En este estudio, se utilizaron otolitos de peces con longitud total entre 50 y 60 cm para garantizar que los especímenes se limitaban a la etapa adulta y por lo tanto poder evitar el efecto de crecimiento alométrico (Cardinale *et al.*, 2004). Sin embargo Cardinale *et al.* (2004) demostró que los descriptores de Fourier normalizados son variables independientes al tamaño. Igualmente, en este proyecto se corrigió el efecto de covariación que existía entre el largo del otolito y las variables morfométricas de tamaño (perímetro, área, relación de aspecto, diámetro máximo, medio y mínimo, ancho y feret máximo) encontrando covariación en todas las variables analizadas y por ello se tomó la decisión de utilizar los residuales no tipificados de cada variable dependiente para poder corregir los efectos de covariación.

La rigurosidad en el análisis es clave al trabajar con morfometría, en el proyecto se consideró este punto para inferir resultados fidedignos y no conducir a un error por la falta de severidad. Un primer error en el análisis es la inclusión de todas las armónicas en clasificación discriminante sin realizar análisis de covariación de las mismas, por ello en este proyecto se realizó un análisis exploratorio de todas las variables morfométricas para probar los supuestos de parametría y así realizar análisis con supuestos fundados y corroborados. Por lo tanto, las variables que no cumplieron con los supuestos fueron desechadas, esto minimiza el error de clasificación canónica.

El proyecto manifiesta la necesidad de seleccionar cuidadosamente las pruebas estadísticas más apropiadas para el análisis de los datos. Por ello la clasificación mostró claramente el modelo creado y el porcentaje obtenido, cabe señalar que el porcentaje de clasificación correcto estuvo cerca del 80%, no incluyendo variables redundantes que conducen a sobre parametrizar el modelo discriminante.

Otro error en morfometría es trabajar en la vida temprana, cuando el pez aún no presenta su primera madurez y todavía no ha mostrado su comportamiento migratorio. Sin embargo, existen trabajos publicados en morfometría de otolitos en peces juveniles (Pothin *et al.*, 2006), sus objetivos eran describir los otolitos sagitales en tres áreas diferentes y examinar la variación morfológica de los otolitos entre los sitios, usando índices de forma y análisis de forma de Fourier, los resultados obtenidos de la clasificación fue >90% entre los sitios, lo que demostró que la morfometría es una herramienta potencial para separar zonas en peces juveniles. Sería de utilidad realizar un estudio si existe variación entre especies juveniles y adultas respecto a la forma y los resultados obtenidos en la clasificación.

En el estudio se procuró minimizar errores debidos al carácter migratorio que presenta la especie y se trabajo en la vida adulta del pez. Otras posibles fuentes de error de clasificación en el análisis de la forma del otolito son imprecisiones en la metodología, la variabilidad individual y la migración (Campana & Casselman, 1993; Tracey *et al.*, 2006). Cardinale *et al.* (2004) ha demostrado que, incluso en la misma temperatura y condiciones de cultivo, las distintas poblaciones de bacalao tienen formas muy diferentes de otolitos. También las diferencias observadas en la forma de los otolitos puede ser el resultado de efectos genéticos (L'Abée-Lund & Jensen, 1993). Algunos autores sugieren que los factores ambientales son más influyentes en la determinación de la forma del otolito al afectar la tasa de crecimiento de los peces (Smith, 1992; Campana & Casselman, 1993). Un estudio realizado en condiciones de control de temperatura y alimento por (Hüssy, 2008) demostró que para *Gadus morhua* el tamaño y la forma en los otolitos son efectos ontogenéticos pero las diferencias en pequeña escala de la forma son productos de factores medio ambientales, específicamente la disponibilidad de alimento.

A la luz de las últimas investigaciones realizadas al recurso (Niklitschek *et al.*, 2009; Arkhipkin *et al.*, 2009) en relación a la hipótesis de dos unidades de stock en el cono sur de América, se corrobora en el presente estudio que existe dos unidades de stock separadas del recurso, con un grado de mezcla (20%) explicada por la zona de alimentación común en el mar de Scotia y la migración de carácter reproductivo que realiza la especie a mediados de año hacia ambos océanos. Producto de estos dos sucesos, existiría una mezcla de la unidad de stock; en este caso evidenciada por morfometría de otolitos sagitales. Surge la necesidad de realizar un estudio en torno a la isla de los Estados como medida de manejo, que dé cuenta de una cuantificación de la pesca realizada por la Flota Argentina en esta área; ya que el porcentaje de individuos adultos que migra al Pacífico por carácter reproductivo, tiene su ruta migratoria alrededor de esta isla; se estaría en presencia de una intercepción de stock. Por ello, se hace mandatario dilucidar la participación de cada stock en las capturas de la isla de los Estados, a fin de realizar un manejo armónico del recurso, en ambos lados del cono sur de América.

El uso de combinaciones de variables morfométricas (tamaño y forma) y contornos cerrados (análisis elíptico de Fourier de contornos cerrados) mostraron ser una alternativa viable al comparar especies de zonas geográficas en donde exista algún conflicto de identidad, así el uso de la herramienta morfométrica es aplicado por diferentes autores (Bird *et al.*, 1986; Castonguay *et al.*, 1991; Campana & Casselman, 1993; Friedland & Reddin, 1994; Begg *et al.*, 2001; De Vries *et al.*, 2002; Tracey *et al.*, 2006; Turan *et al.*, 2006; Turan, 2006; Tuset *et al.*, 2006; Burke *et al.*, 2008; Stransky *et al.*, 2008a; Stransky *et al.*, 2008b; Farias *et al.*, 2009). Esta técnica se apoya en la rigurosidad metodológica y analítica de los resultados, cualquier equivocación en el tratamiento de los datos podría arrojar resultados erróneos que no contribuirían a una decisión correcta. La técnica de análisis de contornos de otolitos, viene en apoyo y/o complemento a otras técnicas implementadas en nuestro país para identificación de stock de peces (Galleguillos *et al.*, 1996, 1997, 1998, 2000, 2008; Espinosa *et al.*, 2002; Ferrada *et al.*, 2002; Oyarzún *et al.*, 2003; Pardo-Gandarillas *et al.*, 2004; Valdivia *et al.*, 2007; Niklitschek *et al.*, 2009).

7. CONCLUSIONES

En el estudio se determinó, a través de un enfoque morfométrico global, la hipótesis de dos unidades de stock diferenciados de merluza de tres aletas, distribuida en el cono sur de América.

- La caracterización morfológica de los otolitos sagitales, permitió encontrar diferenciación en la forma a priori de la estructura calcificada; y revelar esas diferencias, a través de técnicas morfométricas avanzadas.
- Se comprobó que la morfometría de otolitos, se asoció a variantes geográficas y ello estuvo íntimamente relacionado con la forma que adoptó la estructura calcárea de la especie. Se discuten estudios que demuestran que la forma y tamaño en el otolito es producto del efecto ontogenético a macro escala, la particularidad del método aplicado es que detectó pequeñas variaciones que no son posibles asociarlas con morfometría lineal macroscópica.
- Se sustentó la potencia discriminatoria del método de las funciones elípticas de Fourier en contornos cerrados como una técnica eficiente para clasificar contornos irregulares de otolitos adultos de esta especie.

8. REFERENCIAS

- Agnew, D. J., S. Hill, T. Marlow & L. Purchase, 1999. Revisiting the SBW assessment. B. Assessment of the SW Atlantic southern blue whiting stock. Report presented to South Atlantic Fisheries Commission. Imperial College, London, 12 pp.
- Allendorf, F.W., G. Luikart, 2007. Conservation and the genetics of populations. Blackwell Publishing, Malden, MA, 642 pp.
- Arkhipkin, A., P. C. Schucherta, L. Danyushevskyb. 2009. Otolith chemistry reveals fine population structure and close affinity to the Pacific and Atlantic oceanic spawning grounds in the migratory southern blue whiting (*Micromesistius australis*). Fish. Res., 96: 188-194.
- Aurioles G. D., C. Fox, F. Sinsal & G. Tanos. 1984. Prey of the California sea lion (*Zalophus californianus*) in the Bay of La Paz, Baja California Sur, México. J. Mamm., 65(3): 519-521.
- Aurioles, G. D. 1988. Behavioral ecology of California sea lions in the Gulf of California. Ph. D. Thesis, University of California, Santa Cruz, 175 pp.
- Aurioles, G. D. 1991. Otolith size versus weight and body length relationships for some fishes of the Pacific coast of Baja California Sur, México. Fish. Bull., 89: 701-706.
- Avilés, S. & M. Aguayo. 1979. Merluza de tres aletas (*Micromesistius australis* Norman 1937). En: Estado actual de las pesquerías chilenas. Bases para un desarrollo pesquero. Vol. 1, 26 pp.
- Begg, G. A. & J. R. Waldman. 1999. An holistic approach to fish stock identification. Fish. Res., 43: 35-44.
- Begg, G. A. & R. W. Brown. 2000. Stock identification of haddock (*Melanogrammus aeglefinus*) on Georges Bank based on otolith shape analysis. Trans. Am. Fish. Soc., 129: 935-945.

- Begg, G., W. Overholtz & N. Munroe. 2001. The use of internal otolith morphometrics for identification of haddock (*Melanogrammus aeglefinus*) stocks on George Bank. Fish. Bull., 99: 1-14.
- Bird, J. L., D. T. Eppler & D.M. Checkley. 1986. Comparisons of herring otoliths using Fourier-series shape-analysis. Can. J. Fish. Aquat. Sci., 43: 1228-1234.
- Booke, H. E. 1981. The conundrum of the stock concept. Are nature and nurture definable in Fishery science? Can. J. Fish. Aquat. Sci., 38(12): 1479-1480.
- Bookstein, F. L. 1982. Foundation of morphometrics. Ann. Rev. Ecol. Syst., 13: 451-470.
- Burke, N., D. Brophy & P. A. King. 2008. Shape analysis of Otolith annuli in Atlantic herring (*Clupea harengus*); a new method for tracking fish populations. Fish. Res., 91: 133-143.
- Cadrin, S.X., K. D. Friedland, J.R. Waldman. (eds.), 2005. Stock identification methods. Applications in Fishery Science. Elsevier, Amsterdam, 719 pp.
- Cadrin, S.X. & K. D. Friedland. 1999. The utility of image processing techniques for morphometric analysis and stock identification. Fish Res., 43: 129-139.
- Campana, S. & J.M. Casselman. 1993. Stock discrimination using otolith shape analysis. Can. J. Fish. Aquat. Sci., 50: 1062-1083.
- Canavos, G. 1988. Probabilidad y estadística. Aplicaciones y métodos. Mcgraw Hill. México, 651 pp.
- Cardinale, M., P. Doering-Arjes, M. Kastowsky & H. Mosegaard. 2004. Effects of sex, stock, and environment on the shape of known-age Atlantic cod (*Gadus morhua*) otoliths. Can. J. Fish. Aquat. Sci., 61: (2) 158-167.
- Carvajal, P., A. Trejos & J.S. Mejía. 2004. Aplicación del análisis discriminante para explorar la relación entre el examen de Icfes y el rendimiento en algebra lineal de los estudiantes de ingeniería de la UTP en el período 2001-2003. Scientia et Technica., 25: 191-196.
- Carvalho, J.R. & L. Hauser. 1994. Molecular genetics and the stock concept in fisheries. Res. Fish Biol. Fish., 4: 326-350.
- Castonguay, M., P. Simard & P. Gagnon. 1991. Usefulness of Fourier analysis of otolith shape for Atlantic mackerel (*Scomber scombrus*) stock discrimination. Can. J. Fish. Aquat. Sci., 48: 296-302.
- Correa, J. C., R. Iral & L. Rojas. 2006. Estudio de potencia de pruebas de homogeneidad de varianza. Rev. Col. Es., 29: 57-76.

- Cordo, H. D. 1997. Actualización del modelo dinámico de la biomasa de la polaca y de la evolución del recurso en el corto plazo. INIDEP, DNI, Informe Interno 145: 6 pp.
- Csirke, J. 1987. The Patagonian fisheries resources and the offshore fisheries in the South-West Atlantic. FAO Fish. Tech. Pap., 286: 75 pp.
- Cushing, D. H. 1968. Fisheries biology: a study in population dynamics. Madison, University Wisconsin Press, 200 pp.
- DeVries, D.A., C.B. Grimes & M. H. Prager. 2002. Using otolith shape analysis to distinguish eastern Gulf of Mexico and Atlantic Ocean stocks of king mackerel. Fish. Res., 57: 51–61.
- Espinoza, J. P., R. Galleguillos & S. Astete. 2002. Análisis isoenzimático en (*Brama australis* Valenciennes 1837) (Pisces, Perciformes, Bramidae) en la zona-centro sur de Chile. Gayana, 66 (2): 237-242.
- Farias, I., A. Vieira, L. Serrano & I. Figueiredo. 2009. Otolith shape analysis as a tool for stock discrimination of the black scabbardfish, *Aphanopus carbo* Lowe, 1839 (Pisces:Trichiuridae), in Portuguese waters. Sci. Mar., 73S2: 47-53.
- Falkland Islands Government. 2011. Fisheries Department Fisheries Statistics, Stanley, FIG Fisheries Department. Volume 15: 72 pp.
- Ferrada, S., K. Hernández, R. Montoya & R. Galleguillos. 2002. Estudio poblacional del recurso anchoveta (*Engraulis ringens*, Jenyns 1842) (Clupeiformes, Engraulidae), mediante análisis de ADN. Gayana, 66: 243-248.
- Ferson, S. F., F. J. Rohlf & R. K. Koehn. 1985. Measuring shape variation of two dimensional outlines. Systematic Zool., 34: 59-68.
- Friedland, K. D. & D. G. Reddin. 1994. Use of otolith morphology in stock discriminations of Atlantic salmon (*Salmo salar*). Can. J. Fish. Aquat. Sci., 51: 91-98.
- Galleguillos, R., J. Chong, C. Oyarzun, M. Oliva & R. Roa. 1996. Unidades de stock en los recursos sardina común y anchoveta de la zona centro-sur. Informe final proyecto FIP 94-20: 64 pp.
- Galleguillos, R., S. Ferrada, C.E. Hernández, C. Canales-Aguirre, G. Aedo, M. San Martín & S. Astete. 2008. Unidades poblacionales del bacalao de profundidad. Informe Final FIP 2006-41: 165 pp.
- Galleguillos, R., L. Troncoso & C. Oyarzun. 1997. Diferenciación poblacional en la sardina chilena *Strangomera bentincki* (Pisces: Clupeidae) análisis genético de variabilidad proteínica. Rev. Chil. Hist. Nat., 70: 351-361.

- Galleguillos, R., L. Troncoso, C. Oyarzun, M. Astorga & M. Penaloza. 2000. Genetic differentiation in Chilean hake *Merluccius gayi gayi* (Pisces: Merlucciidae). *Hydrobiologia*, 420: 49-54.
- Galleguillos, R., R. Montoya, T. L., M. Oliva, C. Oyarzun & L. Castro. 1998. Identificación de unidades de stocks en el recurso merluza de cola en el área de distribución de la pesquería. Informe final proyecto FIP 96-30: 81 pp.
- García, R., F. J. 1995. Ecología alimentaria del lobo marino de California, *Zalophus californianus californinus*, en Los Islotes, B.C.S., México. Tesis Profesional: 106 pp.
- Gauldie, R.W. 1988. Tagging and genetically isolated stocks of fish: a test of one stock hypothesis and the development of another. *J. Appl. Ichthyol.*, 4: 168-173.
- Giussi, A. R. & O. C. Wöhler, 2008. Estimación de los índices de abundancia de polaca (*Micromesistius australis*) a partir de la captura por unidad de esfuerzo de buques surimeros argentinos en el período 1992-2007. INIDEP, Informe Técnico 26/08: 10 pp.
- Grant, W.S., J. L. García-Marín & J. M. Utter. 1999. Defining population boundaries for fishery management. In: S. Mustafa, (ed.), *Genetics in sustainable fisheries management*. Fishing News Books, Oxford, pp. 27-72.
- Gulland J. A. 1983. *Fish stock assessment: a manual of basic methods*. Chichester, U.K., Wiley Interscience, FAO/Wiley series on food and agriculture, Vol.1: 223 pp.
- Hare, J.A., 2005. The use of early life stages in stock identification studies. In: S. X. Cadrin, Friedland, K.D., Waldman, J.R. (eds.). *Stock identification methods, applications in fishery science*. Elsevier, Amsterdam, 89-117 pp.
- Hernández, G. M., J.A. Martínez, T. A. Bautista & J.M. Reséndiz. 2004. Descripción morfológica de los otolitos de las familias Engraulidae, Haemulidae y Achiridae del sistema estuarino de Tecolutla, Veracruz. *Rev. Zool*, 15: 7-13.
- Hüssy, K. 2008. Otolith shape in juvenile cod (*Gadus morhua*): Ontogenetic and environmental effects. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 362: 131-136 pp.
- Ices, 2006. Report of stock identification methods working group. ICES CM 2006/LRC: 12 pp.
- Ihssen, P. E., H. E. Booke, J. M. Casselman, J. M. McGlade, N. R. Payne & E. M. Utter. 1981. *Stock identification: materials and methods*. Can. J. Fish. Aquat. Sci., 38: 1838-1855.

- Iwata, H. & Y. Ukai. 2002. SHAPE: A computer program package for quantitative evaluation of biological shapes based on elliptic Fourier descriptors. Department of Information Science and Technology, National Agricultural Research Center, Japan.
- Iwata, H. 2006. SHAPE v.1.3: A computer program package for quantitative evaluation of biological shapes based on elliptic Fourier descriptors. Department of Information Science and Technology, National Agricultural Research Center, Japan.
- Kuhl, F. P. & C.R. Giardina. 1982. Elliptic Fourier features of a closed contour. *Computer Graphics and Image Processes*, 18: 236-258.
- L'Abée-Lund, J. H. & A. J. Jensen. 1993. Otoliths as natural tags in the systematics of salmonids. *Environ. Biol. Fishes.*, 36 (4): 389-393.
- Laurec, A. y J.C. Le Guen. 1981. Dynamique des populations marines exploitées. CNEXO, France, Rapp. Scient. et Tech. N°45, 117 pp.
- Lillo, S., A. Paillamán y S. Pino. 1993. Pesca de investigación de merluza de cola y merluza de tres aletas al sur del paralelo 47°S. Informe Final. SUBPESCA-IFOP, 65 pp.
- Lillo, S. & A. Paillamán. 1995. Selectividad en redes de arrastre de mediagua utilizadas en la captura de merluza de tres aletas. Informe final, IFOP, 22 pp. (+ figuras).
- Lillo, S., R. Céspedes, & M. Barbieri. 1999. Evaluación directa del stock desovante de merluza de tres aletas (*Micromesistius australis*) y monitoreo de sus procesos biológicos y migratorios. Informe Final, IFOP, 48 pp. (+ figuras).
- Lillo, S., R. Bahamonde, C. Cancino, J. Saavedra, A. Saavedra & F. Flores. 2007. Estimación in situ de la fuerza de blanco (TS) de merluza de tres aletas. Informe final proyecto FIP 2005-29: 56 pp.
- Lowry, M. S., C.W. Oliver, C. Macky & J.B. Wexler. 1990. Food habits of California sea lions *Zalophus californianus* at San Clemente Island, California, 1981-86. *Fish. Bull.*, 88: 509-521.
- Lowry, M. S., B. S. Stewart, C. B. Heath, P.K. Yochem & J. M. Francis. 1991. Seasonal and annual variability in the diet of California sea lions *Zalophus californianus* at San Nicolas Island, California, 1981-86. *Fish. Bull.*, 89: 331-336.
- Madirolas, A., E. Guerrero, R. Sánchez, L. Prenskey, M. Sabatini, M. Pájaro & L. Machindarena. 1997. Acoustic, oceanographic and ichthyoplanton surveys on the spawning grounds of the austral blue whiting (*Micromesistius australis*), off southern Patagonian, 1994-1996. ICES, CM 1997/Y: 26.

- Martínez, J., M. Chávez, L. Tello & A. Morales. 2007. Utilización de otolitos como herramienta en la determinación de especies. *Rev. Zool.*, 18: 13-18.
- Monteiro, L. R. & S.F. dos Reis. 1999. Principios de morfometría geométrica. Holos, Ribeirao Preto, 198 pp.
- Morrison, D.F. 1967. Multivariate statistical methods. McGraw-Hill, New York, 338 pp.
- Niklitschek, E., C. Canales, S. Ferrada, R. Galleguillos, M.G. Nascimento, E. Hernandez, C. Herranz, A. Lafon, R. Roa & P. Toledo. 2009. Unidades poblacionales de merluza de tres aletas (*Micromesistius australis*) Informe Final, FIP 2006-15: 108 pp. (+ figuras y anexos)
- Ojeda, V., F. Cerna, M. Aguayo, I. Payá & J. Chong. 1998. Estudio de crecimiento y construcción de claves talla edad de merluza de tres aletas y merluza de cola. Informe Final, FIP N° 97-15: 134 pp.
- Oyarzún, C., S. Gacitúa, M. Araya, L. Cubillos, R. Galleguillos, C. Pino, G. Aedo, M. Salamanca, M. Pedraza & J. Lamilla. 2003. Monitoreo de la pesquería artesanal de bacalao de profundidad entre la VIII y XI regiones. Informe Final Proyecto FIP N° 2001-16: 225 pp.
- Pardo-Gandarillas, M., F. Garcías & M. George-Nascimento. 2004. La dieta y la fauna de endoparásitos del pejesapo *Gobiesox marmoratus* Jenyns, 1842 (Pisces: Gobiesocidae) en el litoral de Chile están conectadas pero no correlacionadas. *Rev. Chil. Hist. Nat.*, 77: 627-637.
- Paya, I., P. Rubilar, H. Pool, R. Céspedes, H. Reyes, N. Ehrhardt, L. Adarme & H. Hidalgo. 2002. Evaluación de merluza de cola y merluza de tres aletas. *Inf. Téc. FIP-IT/2000-15*: 263 pp.
- Perrotta, R.G. 1982. Distribución y estructura poblacional de la polaca (*Micromesistius australis*). *Rev. Invest. Des. Pesq.*, 3: 35-50.
- Ponton, D. 2006. Is geometric morphometrics efficient for comparing otolith shape of different fish species? *J. Morphol.*, 267: 750-757.
- Pothin, K., C. Gonzalez-Salas, P. Chabanet, & R. Lecomte-Finiger. 2006. Distinction between *Mulloidichthys flavolineatus* juveniles from Reunion Island and Mauritius Island (south-west Indian Ocean) based on otolith morphometrics. *J. Fish Biol.*, 69: 38-53.
- Ryan, A. W., P. J. Smith & J. Mork. 2002. Genetic differentiation between the New Zealand and Falkland Island population of southern blue whiting *Micromesistius australis*. *NZ. J. Mar. Fresh. Res.*, 36: 637-643.

- Rohlf, F. J. & J. W. Archie. 1984. A comparison of Fourier methods for description of wing shape in mosquitoes (Diptera: Culicidae). *Systematic Zool.*, 33: 302–317.
- Rohlf, F. J. 1990. Fitting curves to outlines. *Proceedings of the Michigan Morphometrics Workshop. Special Publication 2*:167-178. University of Michigan, Museum of Zoology. Ann Arbor.
- Rohlf, F. J. 1990b. Morphometrics. *Ann. Rev. Ecol. Systematics*, 21: 299-316 pp.
- Rutherford, A. 2001. *Introducing ANOVA and ANCOVA a GLM approach*. SAGE Publications Ltd., London, 177 pp.
- SAFC. 1999. South Atlantic Fisheries Commission Report of the Argentine-UK Workshop on Southern blue Whiting Imperial College, London, June 10-11th. 1999, 7 pp.
- Seber, G.A.F. 1984. *Multivariate observations*. John Wiley and Sons, New York: 686 pp.
- Shpack, V. M. 1978. The results of biological investigations of the southern putassu, *Micromesistius australis*, on the New Zealand plateau and perspectives of its fishery. Unpublished manuscript translated from Russian. (Available from Fisheries Research Division Library, M.A.F., Box 19062, Wellington, N.Z.).
- Smith, M. K. 1992. Regional differences in otolith morphology of the deep slope red snapper *Etelis carbunculus*. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 49: 795–804.
- Sparre, P & S.C. Venema. 1997. *Introducción a la evaluación de recursos pesqueros tropicales. Parte 1. Manual*. FAO Documento técnico de pesca. N°306.1 Rev.2: 420 pp.
- Stransky, C. & S. E. MacLellan. 2005. Species separation and zoogeography of redfish and rockfish (genus *Sebastes*) by otolith shape analysis. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 62: 2265-2276.
- Stransky, C., A. G. Murta, J. Schlickeisen, C. Zimmermann. 2008a. Otolith shape analysis as a tool for stock separation of horse mackerel (*Trachurus trachurus*) in the Northeast Atlantic and Mediterranean. *Fish. Res.*, 89: 159-166.
- Stransky, C., H. Baumann, S.-E. Fevolden, A. Harbitz, H. Høie, K. H. Nedreaas, A.-B. Salberg & T. H. Skarstein. 2008b. Separation of Norwegian coastal cod and Northeast Arctic cod by outer otolith shape analysis. *Fish. Res.*, 90: 26-35.
- Secor, D.H., 1999. Specifying divergent migrations in the concept of stock: the contingent hypothesis. *Fish. Res.*, 43: 13-34.

- Tracey, S. R., J.M. Lyle & G. Duhamel. 2006. Application of elliptical Fourier analysis of otolith form as a tool for stock identification. *Fish. Res.*, 77: 138-147.
- Tuset, V. M., I. J. Lozano, J. A. González, J. F. Pertusa, & M. M García-Díaz. 2003. Shape indices to identify regional differences in Otolith morphology of comber, *Serranus cabrilla* (L., 1758). *J. Applied Ichthyol.*, 19: 88-93.
- Tuset, V. M., P.L. Rosin & A. Lombarte. 2006. Sagittal otolith shape used in the identification of fishes of the genus *Serranus*. *Fish. Res.*, 81: 316-325.
- Turan, C. 2006. The use of otolith shape and chemistry to determine stock structure of Mediterranean horse mackerel *Trachurus mediterraneus* (Steindachner). *J. Fish Biol.*, 69: 165-180.
- Turan, C., M. Oral, B. Öztürk & E. Düzgünes. 2006. Morphometric and meristic variation between stocks of bluefish (*Pomatomus saltatrix*) in the Black, Marmara, Aegean and northeastern Mediterranean Seas. *Fish. Res.*, 79: 139-147.
- Uchida, D.G., D. Weetman, L. Hauser, R. Galleguillos & M. A. Retamal. 2003. Allozyme and AFLP analyses of genetic population structure in the hairy edible crab *Cancer setosus* from the chilean coast. *J. Crustacean Biol.*, 23: 486-494.
- Ubukata, T. 2003. Phylogenetic constraints and adaptive modification in shell outline of the pectinidae (bivalvia). An elliptic Fourier analysis. *Venus*, 62 (3-4): 149-160.
- Valdivia, I. M., R. A. Chávez & M.E. Oliva. 2007. Metazoan parasites of *Engraulis ringens* as tools for stock discrimination along the Chilean coast. *J. Fish Biol.*, 70: 1504-1511.
- Waples, R. S. 2005. Genetic insights into stock structure of marine species: opportunities and challenges. *ICES CM 2005/K*: 21.
- Wöhler, O. C & N. R. Marí. 1999. Aspectos de la pesca de la polaca (*Micromesistius australis*) por parte de la flota argentina en el período 1989-1995. INIDEP informe técnico N° 25: 26pp.
- Wöhler, O. C. & J. E. Hansen, 2004. Evaluación de polaca (*micromesistis australis*) en el Atlántico sudoccidental. Período 1987 y 2003. INIDEP Informe Técnico N° 49/04: 19 pp.

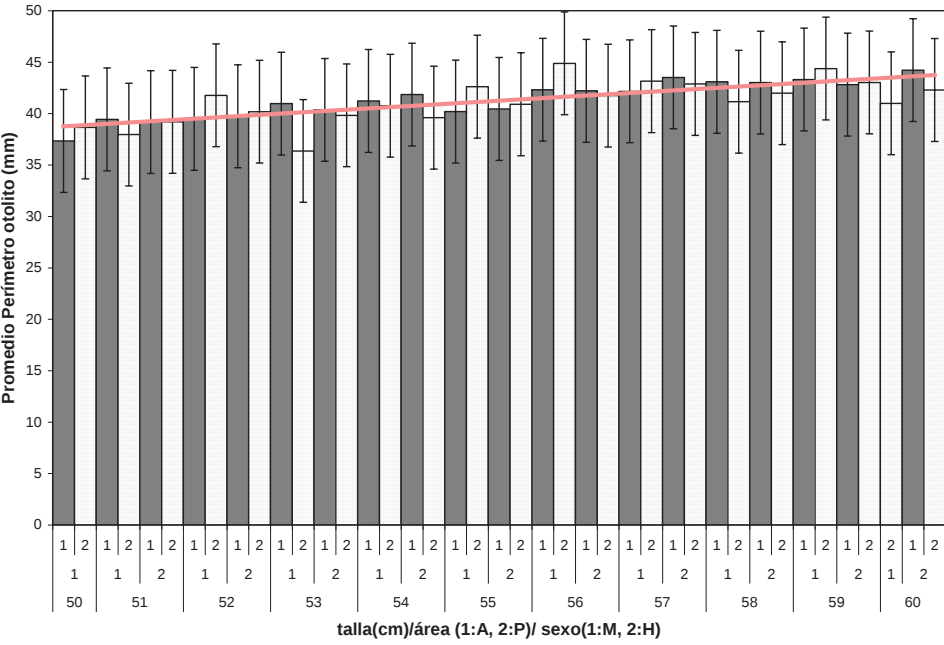
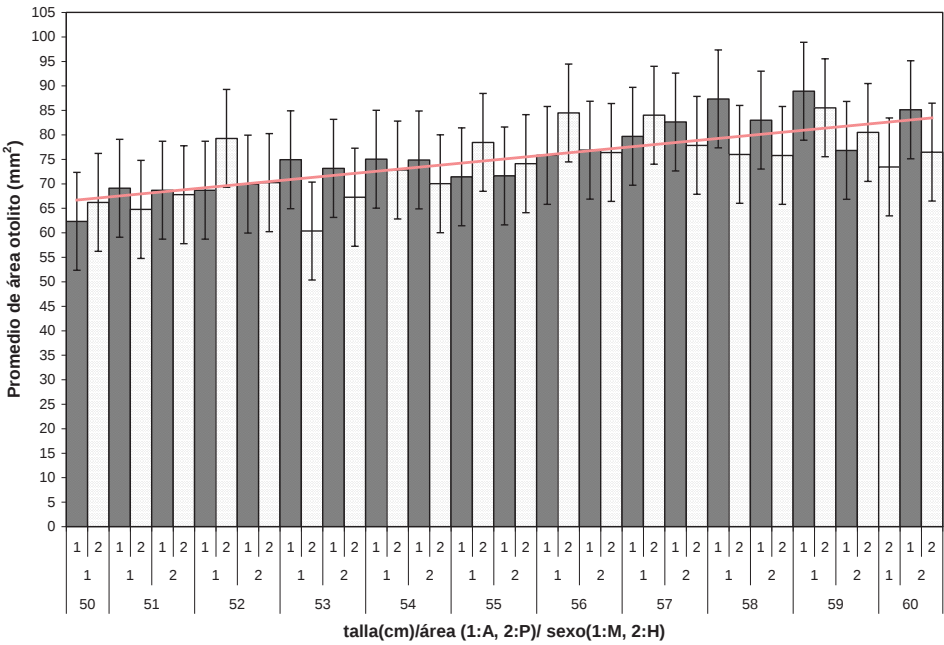
ANEXOS

Anexo 1. Análisis de varianza univariante (ANOVA).

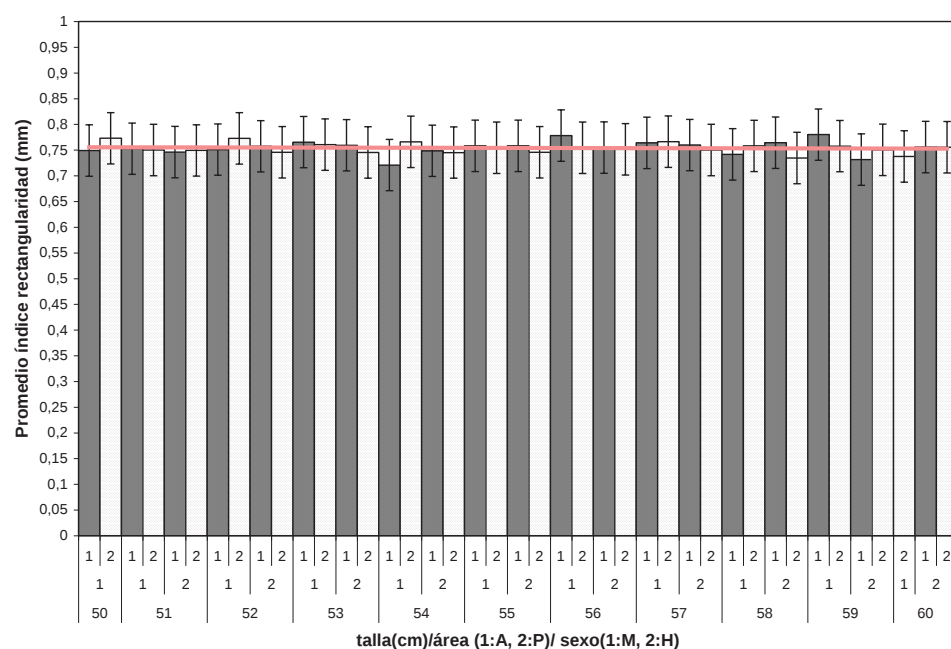
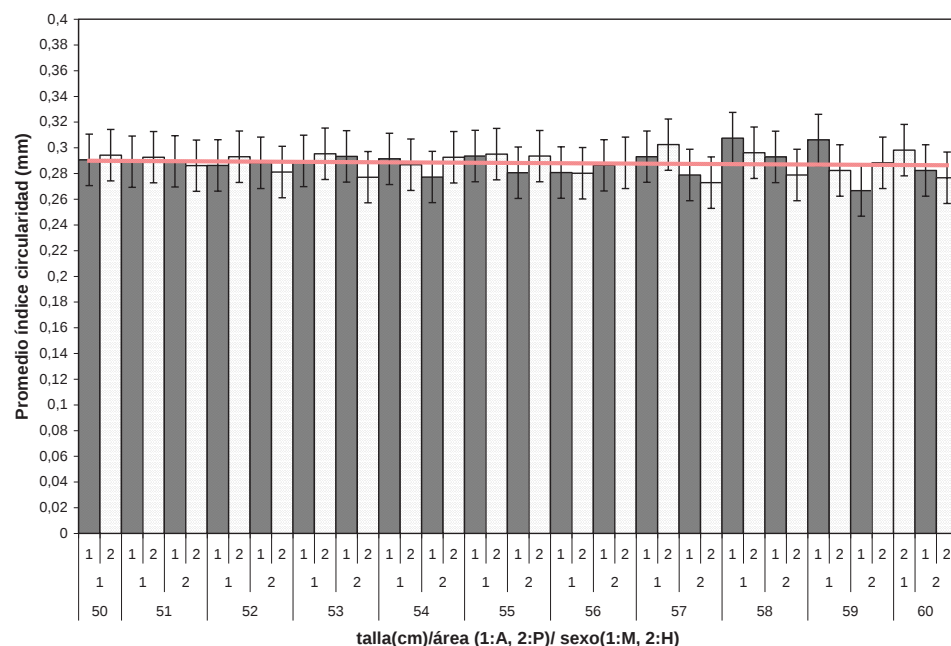
Variable dependiente: Profundidad

Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	0,632	3,000	0,211	4,599	0,004
Intersección	1139,214	1,000	1139,214	24865,551	0,000
Area	0,113	1,000	0,113	2,458	0,118
Sexo	0,008	1,000	0,008	0,184	0,668
Area * Sexo	0,465	1,000	0,465	10,154	0,002
Error	12,095	264,000	0,046		
Total	1257,111	268,000			
Total corregida	12,727	267,000			

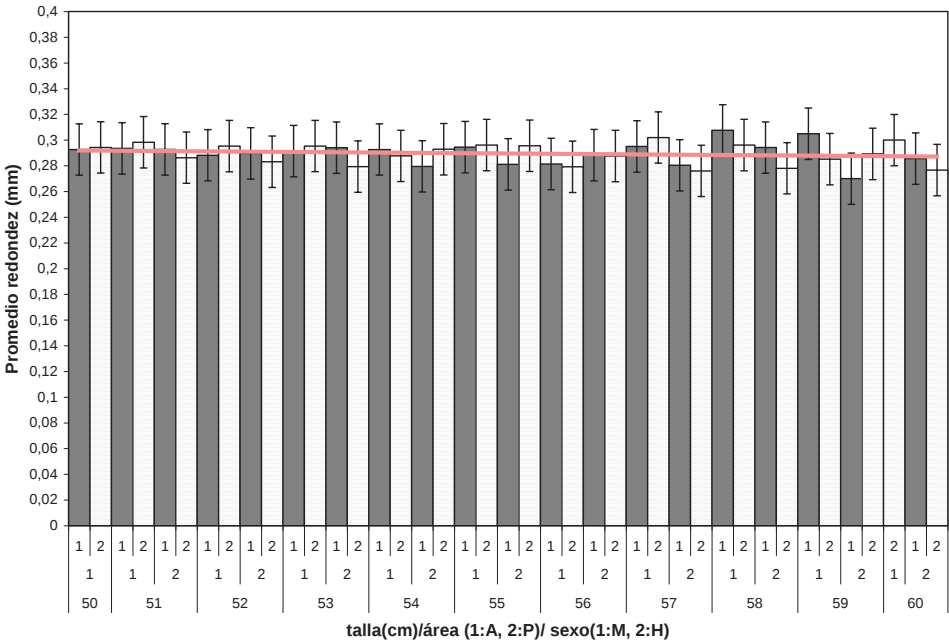
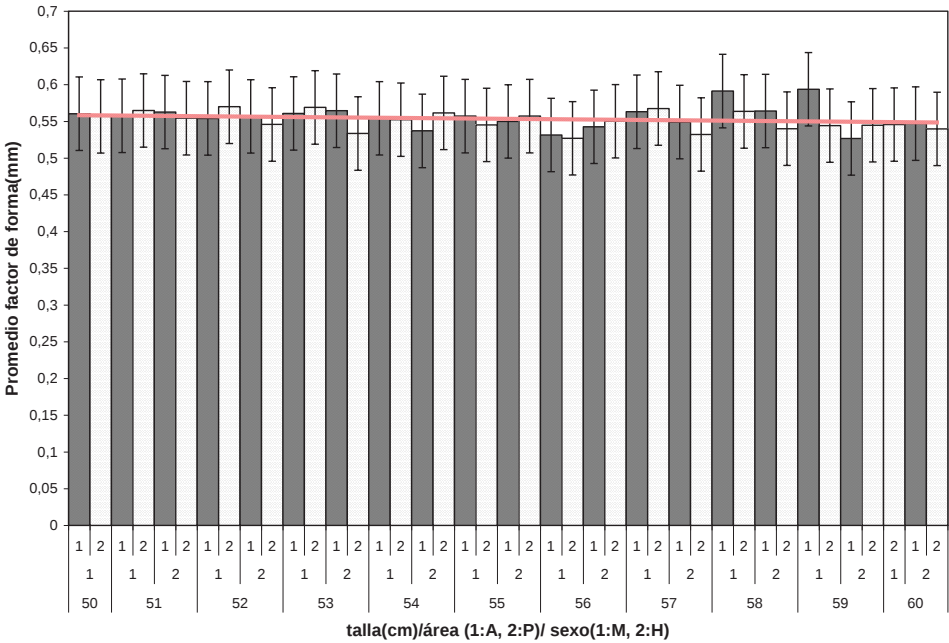
Anexo 2. Tendencias morfométricas básicas del otolito sagita de merluza de tres aletas para ambas áreas de estudio por talla (cm), área: (1) Atlántico (2) Pacífico; Sexo: (1) Macho (2) Hembra.



Anexo 2. Tendencias morfométricas básicas del otolito sagita de merluza de tres aletas para ambas áreas de estudio por talla (cm), área: (1) Atlántico (2) Pacífico; Sexo: (1) Macho (2) Hembra. (Continuación)



Anexo 2. Tendencias morfométricas básicas del otolito sagita de merluza de tres aletas para ambas áreas de estudio por talla (cm), área: (1) Atlántico (2) Pacífico; Sexo: (1) Macho (2) Hembra. (Continuación)



Anexo 3. Análisis de covariación (ANCOVA) de las variables de tamaño.

Pruebas de los efectos inter-sujetos

Variable dependiente:Perimeter

Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	1594,946	2	797,4730976	2245,4826	0,000
Intersección	0,142046407	1	0,142046407	0,399966765	0,528
Area * Sizelength	1594,946195	2	797,4730976	2245,4826	0,000
Error	83,81434397	236	0,355145525		
Total	407147,4809	239			
Total corregida	1678,760539	238			

Variable dependiente:Area_oto

Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	14473,86	2	7236,930019	553,1375992	0,000
Intersección	2211,005928	1	2211,005928	168,9929995	0,000
Area * Sizelength	14473,86004	2	7236,930019	553,1375992	0,000
Error	3087,686476	236	13,08341727		
Total	1352082,433	239			
Total corregida	17561,54651	238			

Variable dependiente:Aspect

Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	1,964	2	0,981879799	37,63540295	0,000
Intersección	4,143847472	1	4,143847472	158,8334637	0,000
Area * Sizelength	1,963759598	2	0,981879799	37,63540295	0,000
Error	6,157065272	236	0,02608926		
Total	2905,917907	239			
Total corregida	8,12082487	238			

Variable dependiente:Diameter (max)

Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	320,64	2	160,3198799	26665,39955	0,000
Intersección	0,000137289	1	0,000137289	0,022834721	0,880
Area * Sizelength	320,6397598	2	160,3198799	26665,39955	0,000
Error	1,418898359	236	0,006012281		
Total	78860,78889	239			
Total corregida	322,0586581	238			

Variable dependiente:Diameter (min)

Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	8,197	2	4,098356538	63,6870948	0,000
Intersección	3,890021717	1	3,890021717	60,4496411	0,000
Area * Sizelength	8,196713076	2	4,098356538	63,6870948	0,000
Error	15,18694087	236	0,064351444		
Total	6052,973862	239			
Total corregida	23,38365395	238			

Variable dependiente:Diameter (mean)

Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	43,729	2	21,86454196	303,3540787	0,000
Intersección	3,613070233	1	3,613070233	50,12863264	0,000
Area * Sizelength	43,72908393	2	21,86454196	303,3540787	0,000
Error	17,00993085	236	0,072075978		
Total	18561,49251	239			
Total corregida	60,73901478	238			

Variable dependiente:Feret (max)

Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	313,891	2	156,9456328	1265,946004	0,000
Intersección	0,085167041	1	0,085167041	0,686969578	0,408
Area * Sizelength	313,8912657	2	156,9456328	1265,946004	0,000
Error	29,25809572	236	0,123974982		
Total	79133,95031	239			
Total corregida	343,1493614	238			