

Informe del Taller de Trabajo

“Otolitos y su utilidad para la identificación de stock y patrones migratorios en peces chilenos”

Concepción, 9 – 11 de diciembre de 2009-12-08

1. Introducción

En la actualidad, la identificación de stocks de peces es esencialmente multidisciplinaria, involucrando la genética de poblaciones, biometría, y estudios de parámetros de historia de vida. Aunque la definición del término stock varía entre disciplinas, en términos generales la unidad de stock comprende a un grupo de individuos que se sostiene en el tiempo. La variación morfométrica puede ser utilizada para identificar stocks sobre una base fenotípica, y que comprende un grupo de individuos con tasas de crecimiento, de mortalidad y reproductiva similares.

La variabilidad en el crecimiento, desarrollo y madurez crea una variedad de formas corporales dentro de una especie. No obstante, algunas características ontogenéticas son desplazadas por el desarrollo, pero otras características persisten en la historia individual. La interacción entre el ambiente, la selección, y genética sobre la ontogenia individual produce diferencias morfométricas dentro de una especie. Por lo tanto, identificar grupos intraespecíficos con diferencias estables en la historia de vida es un requisito necesario para modelar la dinámica poblacional, la evaluación de stock y administración pesquera, sin considerar las similitudes o diferencias genéticas. Por otra parte, la heterogeneidad espacial determina que una población de peces utilice diferentes hábitats en su historia de vida, conectados entre sí a través de la migración ontogenética de los individuos. Esta migración ocurre entre el hábitat de desove, donde los individuos se originaron a través de la reproducción del stock parental, y las áreas de crianza donde se verifica el máximo bienestar/fitness para la supervivencia y crecimiento de la descendencia.

En este contexto, los otolitos de los peces pueden ser de gran ayuda para identificar la estructura poblacional como también la fidelidad al sitio de desove. En efecto, los otolitos actúan como una verdadera bitácora de registros que ocurren durante la historia de vida del pez. Al ser una estructura metabolitamente inerte, el análisis de microquímico es gran utilidad para dilucidar patrones migratorios y mezcla, mientras que el análisis morfométrico podría revelar diferencias en la estructura poblacional.

1.1. Términos de Referencia

En el marco de los objetivos del área estratégica Pesquerías del Programa COPAS Sur-Austral, del Centro COPAS de la Universidad de Concepción, se realizará un taller de trabajo de

3 días para investigadores que trabajen en otolitos con el objeto de identificar patrones migratorios y unidad de stock. El área Pesquerías del Programa COPAS Sur-Austral tiene por objetivo generar conocimiento para el manejo sustentable de pesquerías demersales y bentónicas de la zona sur-austral de Chile. No obstante, el taller de trabajo está abierto para el estudio de casos de peces que sustentan pesquerías en otras regiones frente a Chile.

Este primer acercamiento entre investigadores, permitirá no sólo intercambiar experiencias sino también involucrar a las partes interesadas en el desarrollo de la línea de investigación en Chile, y planificar proyectos de investigación y desarrollo que permitan dotar a los laboratorios del equipamiento e infraestructura necesaria.

Objetivo General

Revisar, consolidar y planificar investigación y desarrollo sobre el uso de los otolitos para deducir patrones migratorios y unidades de stock en peces chilenos.

Objetivos específicos

- Establecer y describir procedimientos metodológicos que permitan discriminar unidades poblacionales mediante el análisis morfológico y de microquímica de los otolitos de peces.
- Identificar casos de estudio realizados en Chile, y establecer un plan de acción con énfasis en peces de la pesquería demersal austral.
- Consolidar una masa crítica de investigadores para desarrollar la línea de investigación en Chile, con énfasis en la aplicación de las técnicas en el caso de especies ampliamente distribuidas y con heterogeneidad espacial
- Establecer vínculos con centros de excelencia o laboratorios en el mundo, para el intercambio y formación de recursos humanos altamente calificados.

1.2. Participantes

Nombre	Institución	E-mail
Edwin Niklitschek	UACH	eniklits@uach.cl
Miguel Araya	UNAP	maraya@unap.cl
Rodolfo Serra	IFOP	rserra@ifop.cl
Juan Carlos Quiroz	IFOP	jcquiroz@ifop.cl
Guido Plaza	PUCV	guido.plaza@ucv.cl
Segio Núñez	INPESCA	snunez@inpesca.cl
Leonardo Castro	UdeC	lecastro@udec.cl
Carolina Alarcón	EPOMAR, UdeC	calarcon@udec.cl
Claudio Castillo	EPOMAR, UdeC	clacastillo@udec.cl



Participantes del taller, de izquierda a derecha: Miguel Araya (UNAP), Edwin Niklitschek (UACH), Luis Cubillos (UdeC), Carolina Alarcón (EPOMAR), Sergio Núñez (INPESCA), Leonardo Castro (UdeC), Rodolfo Serra (IFOP), Claudio Castillo (EPOMAR), Juan Carlos Quiroz (IFOP), y Guido Plaza (PUCV).

2. Morfometría de otolitos

La interacción entre el ambiente, la selección, y genética sobre la ontogenia individual produce diferencias morfométricas dentro de una especie. Así, la forma de los otolitos es específica, y aunque cambia con la ontogenia, ésta se estabiliza en los ejemplares adultos. De esta manera, la variación morfométrica de los otolitos puede ser utilizada para identificar stocks sobre una base fenotípica.

2.1. Principales técnicas

El análisis morfométrico tradicional considera mediciones en 2D sobre la cara externa o interna del otolito, tal como largo, ancho, volumen, grosor. Con el progreso en los programas computacionales de análisis de imágenes digitales, es factible no sólo realizar mediciones en 2D, sino también calcular perímetro, áreas, y la distancia entre puntos característicos o “landmarks”.

A su vez, los índices de forma, tales como el de circularidad, rectangularidad, excentricidad, entre otros, son fácilmente calculados con software de libre distribución, tales como “Image J”, o en paquetes o bibliotecas para el lenguaje R (Fig. 1). A su vez, existen programas comerciales que pueden ser utilizados con el mismo fin.

El análisis de forma utilizando la transformada elíptica de Fourier se ha constituido en un enfoque de trabajo que permite comparar la forma sobre la base del número de armónicos que representa la forma del otolito (Fig. 2). Técnicas de análisis multivariado son usualmente aplicadas para comparar y discriminar diferentes formas caracterizadas con esta técnica.

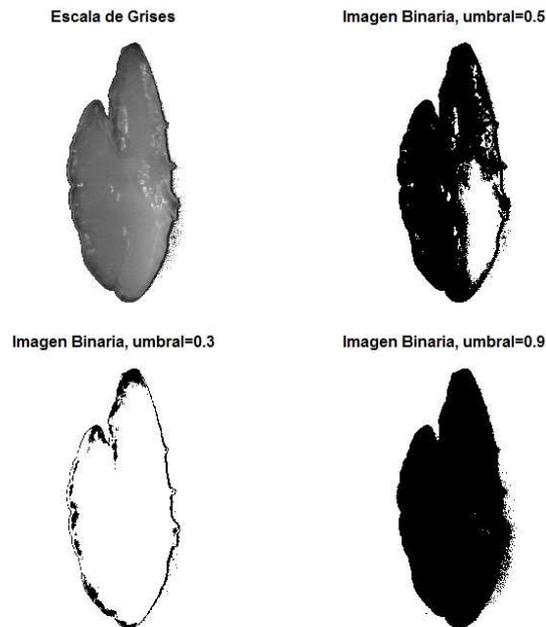


Figura 1. Ejemplo del proceso de binarización de una fotografía de un otolito de anchoveta analizada con R.

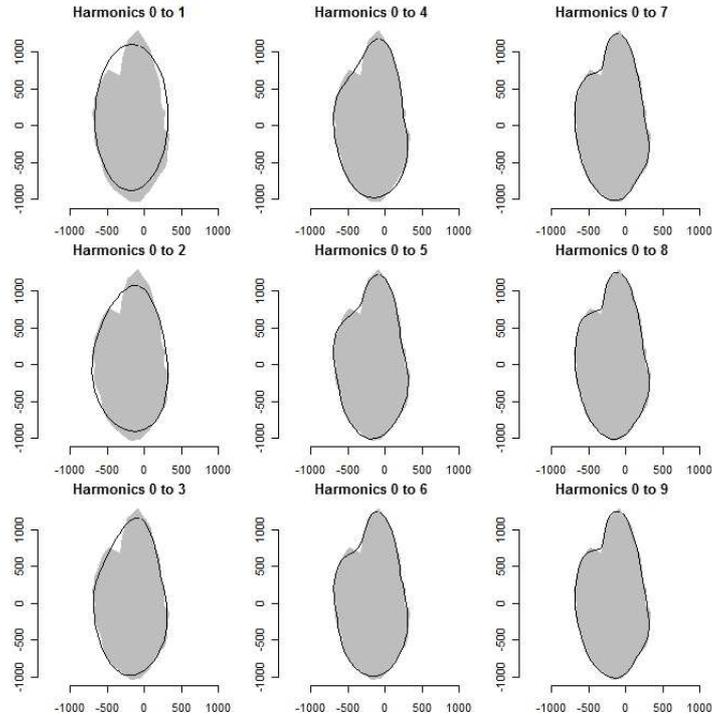


Figura 2. Armónicos de la transformada elíptica de Fourier.

3. Microquímica de otolitos

La microquímica de los otolitos, o la composición elemental, se refiere a las marcas químicas naturales que se fijaron en los otolitos de los peces; es decir, a las propiedades características relacionadas con el ambiente en el que estuvieron expuestos durante un periodo de tiempo particular de su historia de vida individual. Los incrementos de crecimiento en los otolitos proveen además la cronología que cubre dicha historia de vida. La consecuencia más inmediata es por lo tanto que la química del núcleo del otolito, puede ser utilizada para detectar la separación espacial temprana que resulta de la segregación durante el desove, y de aquí la estructura poblacional.

3.1. Principales técnicas

La microquímica de los otolitos puede ser resuelta en términos de isotopos estables como de la composición elemental. Dos técnicas principales pueden ser usadas dependiendo de la disponibilidad de instrumentación relacionada con el espectro.

La composición química elemental en los otolitos se usa como una “marca natural” de las propiedades características relacionadas con el ambiente en el que el pez estuvo expuesto durante

un periodo de tiempo particular de su historia de vida individual. Asimismo, los isotopos estables pueden revelar el origen de los individuos si se analiza cerca del núcleo de los otolitos.

La técnica de espectrometría de masas permite medir los iones derivados de las moléculas, y el espectrómetro de masas es el instrumento que permite separar los núcleos atómicos en función de su masa-carga. Mide razones carga/masa de iones, a través del calentamiento de un haz del material hasta evaporizarlo e ionizar los diferentes átomos. El haz de iones produce un patrón específico en el detector, lo que permite analizar el compuesto.

Dos tipos de análisis pueden ser realizados dependiendo de los instrumentos disponibles. El análisis grueso, bulk análisis (BA) se basa en una solución y el equipo para realizar mediciones es el ICP-MS, específicamente Isotope Dilution (ID-ICPMS). La otra técnica, microprobes (microsondas), donde el equipo es un Wavelength Dispersive Electron Microprobe (WD-EM), laser ablation-ICPMS (LA-ICPMS), y Proton Induced X-ray emission analysis (PIXE). Las desventajas de BA radica en que al disolver la muestra se pierde resolución y los elementos que se miden representan un promedio durante la historia de vida individual, finalmente no se puede detectar movimientos. Las ventajas radican en la fácil preparación, en permitir detectar múltiples elementos y sus isotopos, y los protocolos son precisos y exactos.

Los otolitos pueden ser recortados con un microtaladro, tal que permita obtener muestras de porciones de los otolitos, y usar BA (Fig. 3). Por lo general, 2 a 40 μm contienen cerca de 10 – 40 μg de material (app. 2 semanas a 6 meses). Para BA, 5 a 10 mg es la cantidad mínima de material requerido para el análisis, pero si el analizador es adecuadamente equipado, ca. 0,3 mg son requeridos.

Las ventajas del análisis de microprobes es que son instrumentos que permiten el análisis de las muestras en estado sólido (Fig. 3). La información puede ser colectada desde una zona específica a desde una serie de puntos desde el centro al borde de la estructura. Los cambios en la química pueden ser correlacionados con la edad o cambios fisiológicos.

Existen varios instrumentos, la mayoría usan ($< 10 \mu\text{m}$) electrón, proton, o ion beams y por lo tanto son relativamente no destructivos. Producen emisiones de rayos X de los elementos en la muestra, y requiere más preparación de la muestra que el bulk analysis. Los otolitos deben ser montados y seccionados, y orientados de tal manera que el núcleo y los anillos queden expuestos.

El instrumento que está siendo utilizado es el Laser Ablation Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry (LA-ICPMS). Combina la resolución espacial de microprobes con las capacidades analíticas basadas en solución del ICMPS. Un láser permite que la energía photon sea convertida en energía cinética. Esta permite que parte de la muestra se vaporice y la muestra ionizada sea arrastrada en el analizador de masa. Permite una menor preparación de las muestras, pero es localmente destructiva (10 μm a 30 μm).

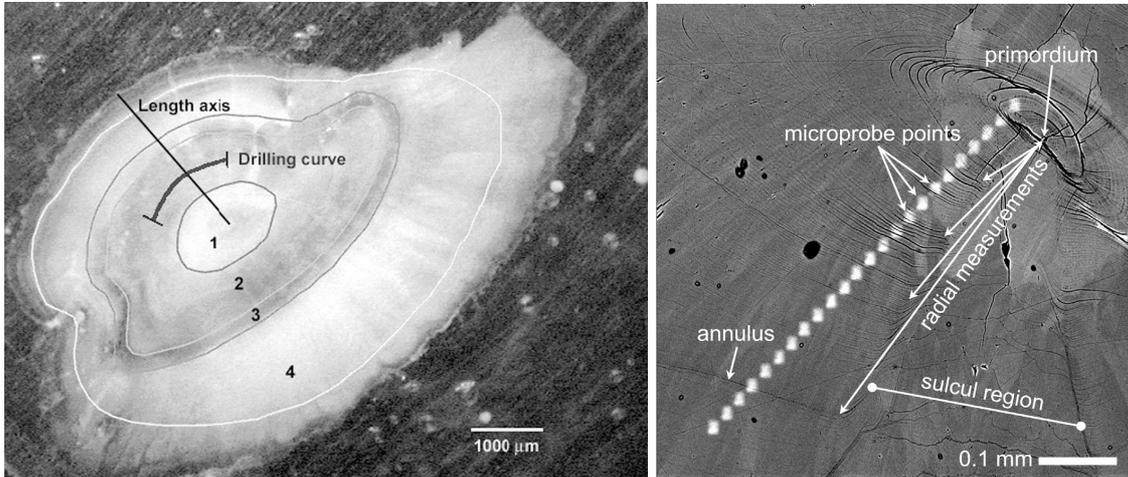


Figura 3. Izquierda: esquema de corte de un otolito (de Kennedy¹), derecha: puntos de disparo del láser en el LA-ICMPS (Kraus & Secor² 2004).

4. Casos de estudio

El Grupo identificó a los siguientes recursos de peces como casos de estudio para iniciar estudios basados en morfometría y microquímica de los otolitos:

4.1. Anchoqueta

La anchoqueta (*Engraulis ringens*), de extensa distribución a lo largo de las costas de Chile y Perú constituye un buen caso de estudio para estudiar la estructura de stock, patrones migratorios ontogénicos relacionados con la fidelidad natal, y la mezcla de contingentes en la zona centro-sur y sur-austral.

4.2. Jurel

El jurel (*Trachurus murphyi*) presenta una estructura poblacional compleja, con límites difusos debido a las extensas migraciones costa-oceano, y la capacidad de colonizar nuevos ambientes que este recurso posee cuando se encuentra en una fase de expansión poblacional. Los primeros intentos para investigar la estructura poblacional con microquímica y morfometría de los otolitos está siendo desarrollada en el ámbito de un proyecto financiado por el Fondo de Investigación Pesquera, FIP N° 2007-27 “Estudio de la migración de jurel (fase 1)”, liderado por R. Serra (IFOP).

¹ Kennedy et al. (2002) Can J Fish Aquat Sci 59, 925-929.

² Kraus & Secor (2004) Mar Ecol Prog Ser 279, 247-259

4.3. Merluza del sur

La conectividad entre el uso de diferentes hábitats, y el cierre del ciclo de vida, son preguntas sin contestar para la merluza del sur (*Merluccius australis*).

Hasta el momento, no existen estudios específicos sobre el comportamiento migratorio de la merluza del sur. Sin embargo se conocen antecedentes que se derivan básicamente de la actividad de la flota que opera sobre este recurso. En este contexto, se identifica dos tipos de migración:

- Migraciones latitudinales, donde se señala que desde julio hasta octubre de cada año existe una migración gatillada por el desove, donde los individuos se desplazan desde los centros de abundancia hacia la isla Guamblin (44°85' S). Desde octubre en adelante esta especie migra hacia el norte, posiblemente en busca de alimento.
- Migraciones longitudinales, donde se observa que a fines de primavera y comienzos del verano existe una importante migración desde aguas exteriores hacia aguas interiores. En otoño, comienza a desplazarse hacia aguas exteriores, donde los adultos comenzarían su migración para el desove que se produce a fines de invierno y principios de primavera.

Las causas de estas migraciones no se conocen a cabalidad, pero probablemente sea de carácter trófico, asociado a una abundancia estacional de la sardina de los canales (*Sprattus fueguensis*).

Estas hipótesis no han sido puestas a prueba, y el uso de la microquímica de otolitos podría permitir resolver algunos aspectos relacionados con la conectividad ontogenética, y la estructura poblacional.

4.5. Merluza de cola

La merluza de cola constituye otro caso de estudio, ya que presenta una extensa distribución geográfica que se extiende desde Valparaíso hasta las costas del O. Atlántico frente a Argentina, bordeando el cono sur de América del sur.

La merluza de cola es un desovador sincrónico, cuyo desove se realiza regularmente entre la Isla Guafo y la Península de Taitao en el mes de agosto de cada año; los principales focos de desove se encontrarían asociados a la existencia de cañones submarinos, el Cañón Guamblín (45°10' S), el Cañón Guafo (44°10' S) y Cañón Taitao (46°20' S). Lo anterior genera una concentración de la flota orientada a pescar merluza de cola en dicha área, con altas capturas y rendimientos de pesca, altos índices reproductivos (IGS) y cambios en las tallas de la captura, desde estructuras de tallas juveniles a peces adultos. En primavera, una fracción importante de juveniles se distribuye en aguas superficiales desde Talcahuano al 42°S, incluyendo también la zona de aguas interiores en la Región de los Ríos. Sobre la zona norte de alimentación se

desarrolla la operación comercial de la flota arrastrera demersal Centro Sur, que captura generalmente ejemplares adultos. Las operaciones de pesca se realizan entre los meses de octubre y mayo del año siguiente, con rendimientos de pesca decrecientes desde abril en adelante (Figura 2). Lo anterior, junto con una operación que progresivamente se desplaza al sur, evidencia una migración de la fracción adulta del recurso al área de desove, retomando la dinámica reproductiva anteriormente descrita.

En este recurso se identifica una sola gran área de desove en el O. Pacífico, y se desconoce alguna zona de desove que conecte o soporte el stock explotado en aguas argentinas. Estudios recientes (Schuchert³), que han utilizado la microquímica de otolitos, indican que en el borde de los otolitos no se distingue entre merluza de cola del Atlántico (Falkland) y del Pacífico (Chile). Sin embargo, se identifica tres grupos diferentes, lo que indica mezcla de contingentes. En el centro del otolito, se identifica dos grupos a través del 137Ba. Aparentemente, la merluza de cola se estructura como una mezcla de stocks con a lo menos dos áreas de desove alrededor del cono sur de América del sur.

4.6. Merluza de tres aletas

Resultados preliminares obtenidos a través de isotopos estables y la microquímica de otolitos, obtenidos por E. Niklitschek, revelan una fuerte evidencia contra la hipótesis de una sola unidad de stock. Los isotopos estables permiten señalar una alta fidelidad natal y segregación de las áreas de crianza durante el primer año. Trabajo en progreso estaría orientado a la evaluación de la migración parcial.

4.7. Bacalao de profundidad

En el caso del bacalao de profundidad, los estudios de Ashfor⁴ y colaboradores, revelan que a través de la microquímica de los otolitos se puede identificar cuatro grupos de peces diferentes, uno sudamericano y otros tres antárticos que se mezclan a lo largo de la Corriente Circumpolar Antártica (CCA). Aparentemente la pesca se desarrolla sobre ejemplares vagabundos no reproductivos. Estos resultados sugieren que las poblaciones de bacalao de profundidad se estructuran por su entorno, y que la abundancia de la población y la persistencia podrían sustentarse en un número restringido de reproductores que acceden a las zonas de desove, mientras que la pesca puede depender sustancialmente de vagabundos transportados a las zonas de pesca.

Verificar estas conclusiones y la conectividad del ciclo de vida del bacalao son aspectos que deben ser considerados, y en esto la composición isotópica y la microquímica de otolitos podrían ayudar en dilucidar patrones de migración y fidelidad natal.

³ Schuchert et al. (in press) Traveling around Cape Horn: Otolith chemistry reveals a mixed stock of Patagonian hoki with separate Atlantic and Pacific spawning grounds. Fisheries Research

⁴ Ashford et al. (2008) Can J Fish Aquat Sci 65, 135-146

4. Acciones futuras

Las acciones futuras para consolidar esta línea de investigación y promover estudios basados en otolitos, ya sea morfología como microquímica, el grupo considera las siguientes acciones:

4.1. Realizar una interacción y sinergia entre instituciones académicas y de investigación, para realizar trabajos, proyectos en conjuntos. En este contexto es crucial considerar a las instituciones que tienen programas rutinarios de colecta de otolitos tal como el Instituto de Investigación Pesquera y el Instituto de Fomento Pesquero. Asimismo, es oportuno invitar a colegas que hace un uso más tradicional de los otolitos tal como la determinación de la edad.

4.2. Crear y desarrollar una plataforma de información a nivel país, con distintos entes dedicados a la investigación, para dar a conocer que son los otolitos. Se destaca que la forma, al ser específica, permite identificar especies, evaluar el estado de desarrollo, identificar zonas (crianza, alimentación, desove etc), aspectos de migración, trofodinamica, entre otras. Por lo tanto, crear, desarrollar y mantener una base de otolitos, denominada como OTOLITOTECA, que cumpla con aspectos como la morfometría, composición bioquímica, lectura de anillos, entre otros sería un gran aporte.

Dentro de este aspecto, se da como ejemplo la página web AFORO (<http://www.cmima.csic.es/aforo/>), una plataforma de información creada por el Centro Mediterráneo de Investigaciones Marinas y Ambientales (CMIMA). En este sentido, se podrían realizar un símil de AFORO, solo para el Pacífico, y a futuro, invitar a otros países a incorporarse a esta base de datos. O tal vez, utilizar la plataforma AFORO para que incorpore los resultados de Chile.

4.3. Como idea inicial de plataforma de comunicación, se creara un Wiki, con la finalidad de fomentar la interacción de profesionales y técnicos interesados en aportar con información como proyectos, paper, datos etc, y poder conocer aspectos asociados a especies en base a los otolitos.

4.4. Crear una plataforma de referencias, utilizando Endnote, Reference Manager.

4.5. Como producto, crear un ATLAS de otolitos.

4.6. Invitar a ser participe de esta idea, a distintos profesionales extranjeros especialistas en otolitos, tales como D. Secor, S. Campana, J. Ashford, D. Kimura, y Thorrold.

4.7. Crear y/o complementar, y estandarizar protocolos de técnicas empleadas, específicamente morfometría y microquímica.

4.8. Considerar realizar entrenamiento básico a profesionales jóvenes, estudiantes de postgrado, a través de cursos cortos de morfometría de otolitos y microquímica de otolitos.

Como acciones inmediatas, se creará la WIKI con un nombre de fantasía a fin con el propósito, y se desarrollaran fichas de proyectos para ser ejecutados para las especies aquí recomendadas, entre otras. Estas fichas se promoverán en Subsecretaría de Pesca, con la finalidad de que puedan ser priorizadas e incorporadas en el Programa de investigación del Fondo de Investigación Pesquera.

5. Referencias

Paginas Web de científicos e instituciones dedicados a estudios de otolitos

Karin Limburg: <http://www.esf.edu/efb/limburg/>

Audrey Geffen: <http://www.uib.no/personer/Audrey.Geffen#publikasjoner>

Dave Secor: <http://www.cbl.umces.edu/~secor/>

Steve Campana : <http://www.aquatic.uoguelph.ca/human/research/c/campanas.htm>
<http://www.marinebiodiversity.ca/otolith/english/home.htm>

Manual de Jerry Jenke : <http://www.fish.wa.gov.au/docs/frr/frr141/frr141.pdf>

AFORO: <http://www.cmima.csic.es/aforo/>

Roman Fablet: <http://www.ifremer.fr/lasaa/rfablet/>

AGRADECIMIENTOS

Se agradece el financiamiento otorgado por COPAS Sur-Austral para la ejecución del Taller. A la Dirección de Investigación por facilitar la sala de reuniones, a la Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas por facilitar el auditorio que permitió realizar el seminario de difusión. También se agradece la colaboración del Laboratorio de Evaluación de Poblaciones Marinas (EPOMAR) por colaborar con el servicio de café. Finalmente, los participantes agradecen la gestión de María Angélica Carmona de COPAS Sur-Austral por su apoyo y dedicación en los aspectos logísticos relacionados con la ejecución del taller.

ANEXO

Programa del Taller de Trabajo

Septiembre 30, 2009 : Primera convocatoria, invitación.

Octubre 30, 2009 : Fecha límite para resúmenes y confirmación de participación.

Taller de trabajo

Diciembre 9, 2009

9:30 – 12:30 **Tema 1: Métodos, técnicas y procedimientos de laboratorio en el análisis morfológico/microestructural de otolitos**

14:45-17:00: **Tema 2: Métodos, técnicas y procedimientos de laboratorio en el análisis microquímico de otolitos**

Diciembre 10, 2009

9:30 – 12:30 **Tema 3: Vinculación con laboratorios y centros de excelencia, formación de capital humano**

Tema 4: Discusión de un plan de acción.

14:45-17:00: **Reporte del grupo de trabajo**

Diciembre 11, 2009

9:30 – 12:30: **Seminario de difusión**

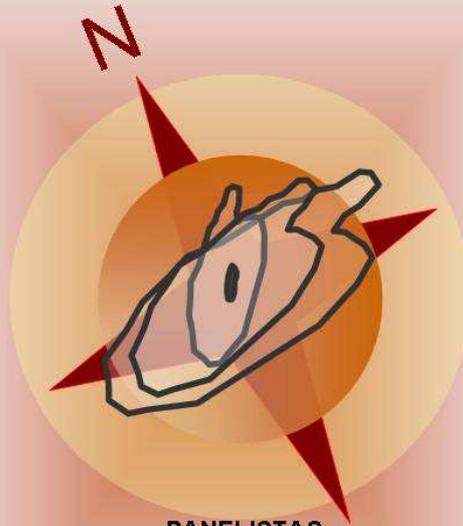
Lugar: Auditorio Claudio Gay, Facultad de Ciencias Naturales & Oceanográficas

Contacto:

Luis A. Cubillos
Programa COPAS Sur-Austral del Centro COPAS, Línea Pesquerías Demersales
Laboratorio Evaluación de Poblaciones Marina (EPOMAR)
Departamento de Oceanografía, Fac. Ciencias Nat. & Oceanogr.
Universidad de Concepción, Casilla 160-C, Concepción, Chile
Tel.: 56-41-2207233 -- Fax: 56-41-2256571

INVITACION A SEMINARIO

Otolitos y su utilidad para identificar patrones migratorios y unidades de stock en peces chilenos



PANELISTAS

Edwin Niklitschek (UACH), Rodolfo Serra (IFOP), Miguel Araya (UNAP),
Guido Plaza (PUCV), Juan Carlos Quiroz (IFOP), Luis Cubillos (UDEC)

11 de Diciembre de 2009 - 9:30 hrs
Auditorio Claudio Gay, Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas
UNIVERSIDAD DE CONCEPCION
Dirigido a:
Académicos, Estudiantes de Pre y Postgrado, y Profesionales de la Pesca