

## Aplicaciones de metodologías en la reconstrucción de historia de vida de los organismos marinos

Guido Plaza Pastén<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Escuela de Ciencias del Mar, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Altamirano 1424, Región de Valparaíso, Chile, tel. 56-32-2274272, guido.plaza@ucv.cl

El océano es una fuente muy importante de recursos naturales vivos, cuya explotación en los últimos 50 años ha producido una expansión de la actividad pesquera como nunca antes se había producido. Actualmente la pesquería de recursos marinos produce alrededor de 90 millones de toneladas por año, lo que corresponde a más del 80% de la producción pesquera global. Las capturas han incrementado debido a la creciente demanda de alimento de una población humana que crece en forma acelerada, sumado al proceso de mejoramiento tecnológico en las capacidades de captura. En algunos casos este proceso ha conducido al colapso de muchas pesquerías, generando reducción de empleo. Para soslayar esta problemática, los gobiernos han comenzado a intervenir para regular las pesquerías orientando sus esfuerzos a obtener un desarrollo sustentable en los aspectos biológicos, económicos y sociales que rodean una actividad pesquera productiva. El desarrollo sustentable de los recursos marinos ha demandado la creación de una institucionalidad pesquera en los países que los explotan comercialmente. Esta institucionalidad se compone de una arista de investigación científica y otra de administración pesquera, donde se hace necesario también la formación permanente de recursos humanos calificados que contribuyan a mejorar la toma de decisiones para garantizar la sustentabilidad. Dentro del componente de investigación se ha hecho imprescindible contar con información en tiempo real del estado de situación de los recursos y conocer sus ciclos de vida, en muchos casos complejos, debido

a su adaptación a forzantes ambientales cambiantes y al rol ecológico que cumplen en los ecosistemas en que habitan. En la presente revisión, se resumen algunas metodologías que se utilizan en el estudio de la historia de vida de recursos marinos, haciendo hincapié en peces de importancia comercial, sobre algunas investigaciones llevadas a cabo en Chile.

### Estrategias reproductivas

Uno de los aspectos biológico-pesqueros claves para el manejo de un determinado recurso es conocer su estrategia reproductiva. En primera instancia, se debe monitorear el ciclo reproductivo de un recurso particular, con el fin de identificar la época del año en que una especie se reproduce y determinar los periodos de veda (prohibición de pesca). El método más simple para este efecto es la utilización de índices de madurez, que permiten cuantificar los cambios en el desarrollo de las gónadas, utilizando una muestra aleatoria de la población, mediante muestreos realizados a frecuencias regulares, que pueden ser semanales y/o mensuales dependiendo de las capacidades logísticas de investigación. Hasta la fecha el índice de madurez más utilizado es el IGS (índice gonadosomático), el cual se define como un porcentaje del peso de la gónada en relación al peso total, "IGS= (Peso ejemplar Peso Gonada-1)/100. Aunque el IGS ha sido ampliamente usado para identificar a la época de desove en peces de importancia comercial, también ha sido de gran utilidad en otros organismos marinos, principalmente

cefalópodos y otros invertebrados.

Conjuntamente con el IGS, también es altamente recomendable caracterizar los cambios micro-y macroscópicos que experimentan las gónadas a través de la época reproductiva, porque por una parte proveen información de mayor resolución para validar los índices de madurez y por otra parte proveen información adicional, para dilucidar otros aspectos de la estrategia reproductiva de una especie determinada. El estudio histológico gonadal se aborda a través de técnicas histológicas convencionales, pero que han sido adaptadas para el estudio gonadal de organismos marinos. Estas técnicas comprenden la creación de finas secciones de tejido gonadal, de entre 0.3-0.6 micrones, a través de un proceso de embebido (bloques de parafina), seccionamiento (a través de micrótopo) y posterior tinción con hematoxilina-eosina, que permite la adecuada identificación los ovocitos en sus diferentes estados de desarrollo. El análisis histológico también permite contrastar la información con el análisis macroscópico, a fin caracterizar los diferentes estados de desarrollo gonadal, los cuales pueden ser usados posteriormente para propósitos de monitoreo.

En el caso particular de los peces, es importante avanzar en comprender las diferentes modalidades de reproducción, en términos de tipo de fertilización (externa vs interna), las veces que se reproducen (semélparos vs iteróparos) y presencia y/o ausencia de cuidado parental, entre otros aspectos. En el caso particular de los peces de importancia comercial, que en la mayoría de los casos poseen fertilización externa, es muy importante dilucidar si son desovadores totales o parciales. Los peces que desovan una vez, desarrollan sus ovocitos de forma sincrónica desde oogonias, pasando por los procesos de vitelogénesis, hidratación y finalmente ovulación. Otros peces, pueden desovar repetidamente durante una estación reproductiva liberando tandas parciales de huevos a intervalos discretos (Wallace y Selman 1981, Maddock y Burton 1999). Estos peces son denominados “desovadores parciales o seriales”, los cuales pueden ser

clasificados a su vez como desovadores con fecundidad determinada e indeterminada. La existencia de un intervalo bien definido entre los ovocitos inmaduros y los ovocitos vitelados más avanzados es indicativo de fecundidad determinada, i.e., todos los ovocitos en la moda más avanzada serán liberados en una estación de desove, ya sea en un simple evento o en tandas sucesivas (Horwood y Walker 1990, Kjesbu et al. 1990, Fig. 1a). En estos casos la fecundidad anual puede ser estimada al inicio de la estación de desove a partir del stock de ovocitos vitelados avanzados. Por otro lado, los desovadores parciales con fecundidades indeterminadas, muestran distribuciones de ovocitos que se sobrepone con un reclutamiento continuo de un estado de desarrollo al siguiente (i.e., presentan una organización ovárica asincrónica). Para ambos tipos de organización ovárica (i.e., asincrónico o sincrónico por grupo) la fecundidad anual solamente puede ser estimada como el producto de la fecundidad parcial y el número de desoves por estación reproductiva. (Lowerre-Barbieri et al. 1996, Fig. 1b).

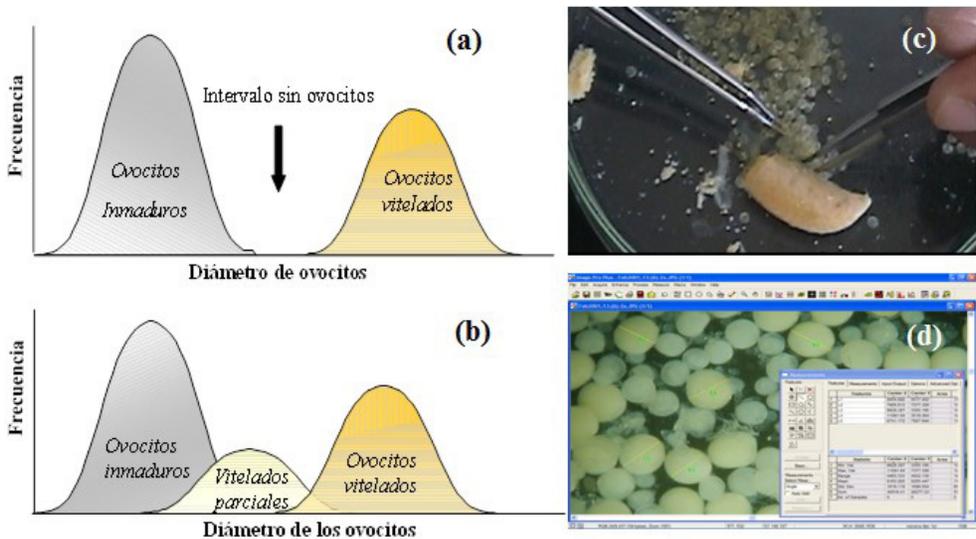
La aproximación metodológica que se utiliza para determinar el patrón de desove (asincrónico vs sincrónico) y el tipo de fecundidad (determinada vs indeterminada) corresponde al análisis de distribución de frecuencia de diámetros de ovocitos, el cual puede ser efectuado analizando macroscópicamente una sub-muestra de algún lóbulo de un ovario maduro. Los ovocitos son disgregados del tejido adherente y posteriormente el material es digitalizado utilizando analizadores de imágenes, los que permiten medir las dimensiones de los ovocitos de forma automática y/o semi-automática con elevada precisión, para posteriormente construir las distribuciones de frecuencia de diámetro de ovocitos (Fig. 1c, d). Esta aproximación permite también determinar la fecundidad parcial, al cuantificar el número de ovocitos de la última moda de la distribución y ser posteriormente complementada con información histológica, para determinar la frecuencia de desove y la fecundidad total anual. Ambos indicadores

son utilizados en la estimación de la producción total de huevos.

### Reconstrucción de la historia de vida

Otro de los aspectos de monitoreo rutinario en la investigación pesquera es la determinación de edad y crecimiento. Ambos rasgos de la historia de vida son utilizados en modelos para determinar la abundancia de un determinado recurso y fijar una cuota de captura (i.e., cuántos individuos es recomendable capturar en un año particular). En el caso de los peces, la determinación de edad y crecimiento normalmente se realiza mediante la exanimación de estructuras calcificadas que forman un anillo por cada año transcurrido. Dentro de las estructuras calcificadas, los otolitos de peces han sido las más usadas, los cuales están compuestos mayoritariamente de carbonato de calcio, algunas proteínas estructurales, elementos mayores y metales trazas que se depositan

en pequeñas concentraciones. Los tres pares otolitos (sagittae, lapillus y asteriscus, Fig. 2i) se encuentran en el oído interno de peces óseos y su función es actuar como receptor mecánico de las señales transmitidas por el nervio auditivo, a fin de mantener el balance del pez en el medio acuático. Estas estructuras crecen por deposición de capas concéntricas (denominados anillos de crecimientos), las cuales son depositadas a intervalos regulares que pueden ser diarios o estacionales. Los anillos de crecimiento estacionales están formados a su vez por una zona translúcida y otra opaca, constituyendo entre ambas un anillo anual (denominado anulo), cuyo crecimiento registra la cronología histórica desde el nacimiento hasta la fecha de muerte del pez (Fig. 2ii). Alternativamente, los anillos de crecimiento diario (Panella 1971) son solamente visibles a través de un microscopio durante el primer año de vida del pez, debido a que su crecimiento es mayor durante dicho periodo (Fig. 2iii).



**Fig. 1.** Fotografía ilustrativa de una distribución de frecuencia de tamaño de los ovocitos para especies con desove parcial y desarrollo ovárico sincrónico por grupo (a) y asincrónico (b). Se ilustra también el proceso de separación de ovocitos (c) y medición de su diámetro utilizando un analizador de imágenes (d).

Los otolitos poseen la capacidad para registrar en su micro y macro estructura, no sólo información sobre edad y crecimiento, sino también permite reconstruir los

patrones de movimientos, y/o interacción de hábitat a diferentes escalas temporales. Dicha información puede ser interpretada a nivel poblacional en términos de ecología y

demografía con el fin de asegurar su manejo y conservación. Más específicamente, a nivel micro-estructural los otolitos también registran transiciones ontogénicas que

ocurren durante las fases tempranas del desarrollo de los peces, tornándose en una herramienta potencial para estudios ecológicos de peces marinos y dulceacuícolas.

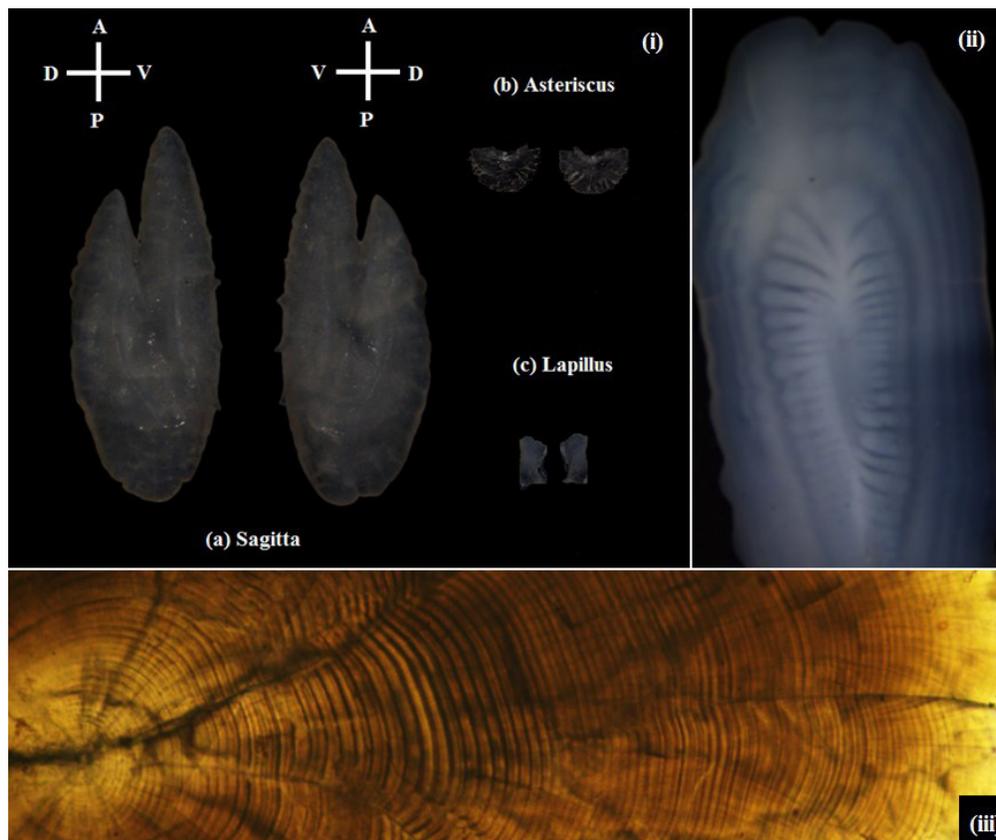


Fig. 2. (i). Fotografía ilustrativa de los tres pares de otolitos de un ejemplar de 11 cm LT de anchoveta *Engraulis ringens*. (a) Sagitta; (b) asteriscus y (c) lapillus: A: Anterior; P: Posterior; V: Ventral; D: Dorsal. (ii) Otolito sagital de merluza de tres aletas (*Micromesistius australis*) ilustrado la presencia anillos anuales (ánulos). (iii) Sección de un otolito sagital de juvenil de 10 cm de LT de la anchoveta (*E. ringens*), donde es posible observar micro-incrementos diarios utilizando microscopía óptica.

### Aplicaciones de la otolimetría

Actualmente la otolimetría se proyecta como una disciplina interdisciplinaria con diversas aplicaciones en el estudio de la historia de vida de peces, experimentando un notorio incremento en los últimos años en países industrializados, particularmente en aquellos que explotan comercialmente sus recursos acuáticos. En las últimas dos décadas cinco congresos internacionales han sido organizados exclusivamente en este campo

(Begg et al. 2005) y el próximo evento se realizará en la ciudad de Taiwan en abril de 2018. A continuación, se describen algunos ejemplos de aplicaciones de otolimetría en Chile.

### Un caso de estudio: La anchoveta *E. ringens*

La anchoveta (*E. ringens*) es una especie de forraje para mamíferos marinos, aves marinas y peces, transfiriendo energía del plancton a depredadores de mayor tamaño (Alder et al.

2012). Esta especie, cuyas longitudes máximas fluctúan entre 18 y 20 cm, se distribuye desde el norte de Perú (4°30'S) al sur de Chile (42° 30'S), donde se han identificado dos grandes stocks principales: una en la zona centro-norte del Perú y la otra en el sur de Perú y el norte de Chile. En el norte de Chile, la pesquería se localiza entre los 18° 21'S y 24° S y se inició a principio de la década sesenta sobre la base del recurso anchoveta con destino de las capturas a la reducción a harina y aceite. A comienzos de la década 1970 este recurso disminuyó de manera importante, en contraposición a la abundancia de la sardina española (*Sardinops sagax*) que aumentó considerablemente, constituyéndose en el recurso principal de esta pesquería desde mediados de los setenta. La anchoveta permaneció en un régimen de baja abundancia hasta 1985, cuando la situación se invirtió y nuevamente la anchoveta se transformó en el recurso pesquero principal de la zona norte.

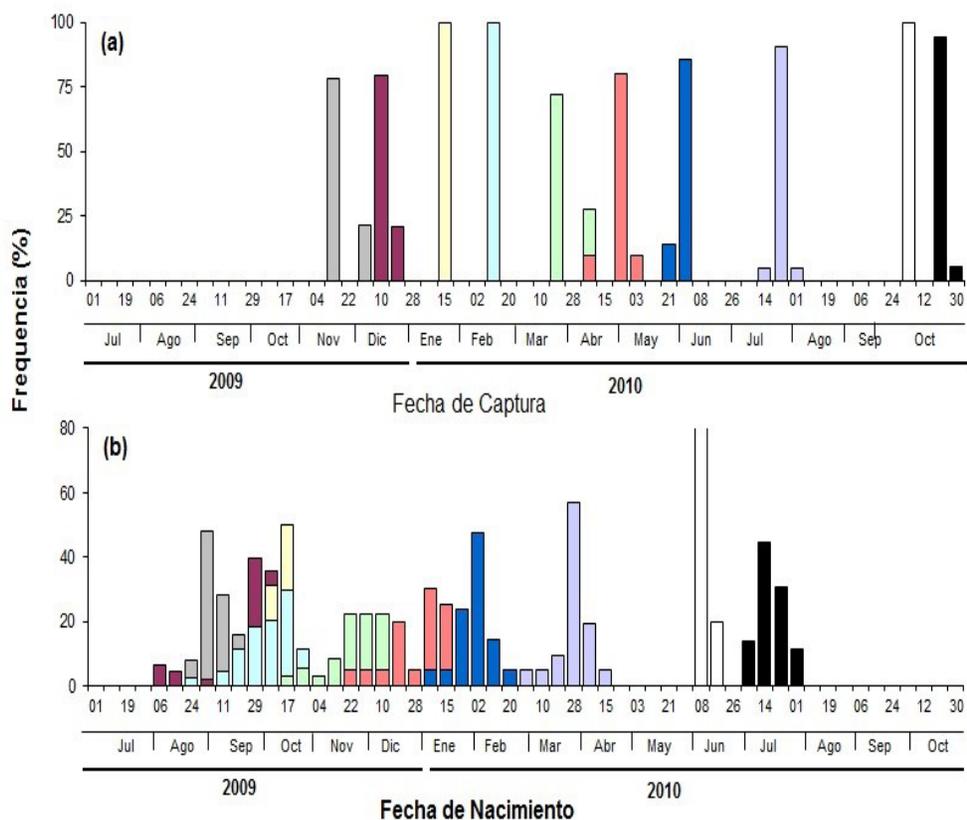
A pesar de la importancia ecológica y pesquera de la anchoveta, aún hay muchos aspectos de su historia de vida que aún no han sido revelados en esta especie. En este contexto, el Laboratorio de Esclerocronología de la Escuela de Ciencias del Mar de la Pontificia Universidad Católica de Valparaíso y la Sección de Edad y Crecimiento del Instituto de Fomento Pesquero, iniciaron a partir del año 2009 una línea de investigación en edad y crecimiento de la anchoveta en la zona norte de Chile, utilizando análisis del micro-incremento diario de sus otolitos (Plaza y Cerna 2015, Cerna y Plaza 2016). A través de estas investigaciones se ha demostrado que la anchoveta maximiza gran parte de su crecimiento durante el primer año de vida, alcanzando los talla media de reclutamiento y madurez (12 cm) a los primeros 5 meses de vida, donde las mayoría de los ejemplares que aparecen por primera vez en la pesquería han sido originados de eventos de desove de la estación anterior (Cerna y Plaza 2016, Fig. 3).

### Identificación de stock

Un stock pesquero corresponde a un grupo semi-discreto de peces con algunos

atributos característicos que son de interés para la administración, con el fin de fijar cuotas de captura de manera de asegurar la sustentabilidad de un determinado recurso en el tiempo (Begg et al. 1996). El análisis de otolitos ofrece tres herramientas alternativas para identificación de stock de peces: (a) análisis de la morfología, micro-química y micro-estructura de los otolitos. La primera se basa en el hecho de que la morfología de los otolitos es altamente especie-específica e incluso puede variar entre sub-poblaciones o unidades de stock (Fig. 4). Por su parte, la micro-química está basada en el principio de que el otolito al ser metabólicamente inerte (i.e. su material no es reabsorbido) y crecer continuamente a través de la vida del pez, mantiene la composición química del ambiente al cual el pez estuvo expuesto (Campana 1999). La micro-estructura se puede transformar en un marcador natural debido a que los controladores del crecimiento temprano pueden fluctuar entre áreas geográficas (Clausen et al. 2007).

Hasta la fecha algunas de estas aproximaciones han sido aplicadas en el estudio de recursos pesqueros chilenos. Por su parte, Niklitschek et al. (2010) reportó diferencias significativas en la macroquímica de los otolitos, específicamente en las tasas Sr:Ca,  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{18}\text{O}$  de la merluza de tres aletas (*M. australis*) entre ejemplares recolectados en zonas de desove del océano Atlántico, surgiendo la existencia de dos sub-poblaciones. Complementariamente, Legua et al. (2013) reportó diferencias significativas en la forma del otolito entre ejemplares adultos provenientes del océano Atlántico y Pacífico, mediante el uso de descriptores básicos de forma y descriptores elípticos de Fourier. En otro estudio Ashford et al. (2011) utilizó la micro-química de otolitos para evaluar la estructura poblacional del jurel (*Trachurus murphy*) a lo largo de su área de distribución. En este estudio se demostró la existencia de una heterogeneidad espacial fuerte durante la fase adulta de esta especie, con un elevado nivel de conectividad y suministro de las áreas de desove frente a Chile.



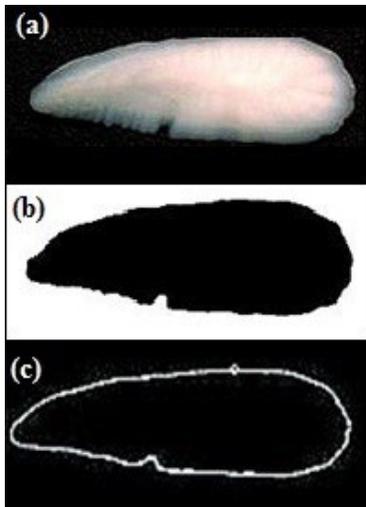
**Fig. 3.** Ilustración de la relación entre fecha de captura y fecha de nacimiento, estimada a través de análisis de la micro-estructura de otolitos sagitales de la anchoveta *E. ringes* en el norte de Chile. Figura modificada de Cerna & Plaza (2016).

### Historia de vida durante los estadios tempranos

Hasta la fecha en Chile, algunos estudios han utilizado la micro-estructura de los otolitos para reconstruir aspectos de la historia de vida durante los estadios tempranos de peces. Por ejemplo, para algunos peces litorales de la zona central se ha podido determinar con extraordinaria precisión tasas de crecimiento larval y otros procesos como la reconstrucción de sus tiempos de eclosión y sincronía con ciclos linareos y/o mareales (Palacios-Fuentes et al. 2014, Rodríguez-Valentino et al. 2014, Castillo-Hidalgo et al. 2017). En otros casos ha sido posible determinar la duración del periodo en que las larvas permanecen en el plancton y los

tamaños que ellos alcanzan cuando reclutan a pozas intermareales, de forma transitoria o permanente. Estos estudios han reportado tasas de crecimiento < 2 mm/día para las fases larvales de algunos peces litorales, duraciones planctónicas extensas de más de tres meses en la mayoría de las especies estudiadas hasta la fecha y patrones de asincronía y/o sincronía a los ciclos lunares, dependiendo de la especie (Palacios-Fuentes et al. 2014, Mansur et al. 2014). Consecuentemente se ha inferido que la existencia de periodos planctónicos largos y flexibles pueden ser el resultado de la influencia de las condiciones hidrográficas asociadas con la corriente de Humboldt, los que, combinado a una estrategia de tamaño competente, puede incrementar sustantivamente las probabilidades de reclutar

con éxito a las a ambientes costeros muy conspicuos, como son las pozas intermareales.



**Fig. 4.** Ilustración del proceso de digitalización, binarización y extracción del contorno de un otolito sagital de un ejemplar adulto de la merluza de tres aletas (*M. australis*), mediante el uso de coeficientes normalizados de Fourier, utilizando el programa SHAPE 1.3.

### Reconstrucción de la historia de vida en otros organismos

En la última década se han incrementado las publicaciones científicas con aplicaciones de esclero-cronología en otros organismos marinos. Dentro de estas aplicaciones se puede mencionar la “reconstrucción paleoclimática”, donde se utiliza la información registrada en corales e invertebrados marinos, fundamentalmente bivalvos. El principio de esta aplicación es que las bandas anulares presentes en fósiles de ambos tipos de organismos registran también marcas isotópicas ( $^{14}\text{C}$ ,  $\delta^{18}\text{O}$ ,  $\delta^{13}\text{C}$ ), las que pueden ser usadas para reconstruir la circulación del océano, cambios hidrográficos y la dinámica del sistema (Scourse et al. 2006). Hasta la fecha, la mayoría de las aplicaciones utilizando corales han estado restringidas a áreas tropicales, pero el desarrollo de la esclero-cronología en bivalvos proyecta estas aplicaciones a ambientes templados, sub-polares y polares. Otras aplicaciones de esclero-cronología contempla la

reconstrucción de parámetros de historia de vida en cefalópodos, a través del estudio de sus otolitos y más recientemente en crustáceos, a través del estudio de bandas de crecimiento en el molinillo gástrico y el pedúnculo ocular.

### AGRADECIMIENTOS

Manifiesto mi agradecimiento a la Secretaría Técnica y de Planificación de la Presidencia (SETEPLAN), al Ministerio de Educación (MINED), a la Universidad de El Salvador a través del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología (ICMARES) y al Ministerio de Relaciones Exteriores (RREE) por el financiamiento otorgado para participar en el Primer Simposio en Ciencias del Mar de El Salvador. Algunas de las aplicaciones de Esclero-cronología descritas en este documento han sido financiadas por diversos proyectos de investigación, entre las cuales se incluyen: SUBPESCA No 4728-31-LP11; FIP 2009-17; FIP 2014-31; FONDECYT 1100895; 1100424; FONDECYT 1140740; FONDECYT 1150296.

### REFERENCIAS

- Alder J, Campbell B, Karpouzi V, Kaschner K, Pauly D. 2008. Forage fish: from ecosystems to markets. *Annu. Rev. Environ. Resour.* 33, 153–166.
- Ashford. J, Serra R, Saavedra JC, Letelier J. 2011. Otolith chemistry indicates large-scale connectivity in Chilean jack mackerel (*Trachurus murphyi*), a highly mobile species in the Southern Pacific Ocean. *Fish. Res.*, 107 (2011):291-299
- Begg GA, Friedland KD, Pearce JB. 1999. Stock identification and its role in stock assessment and fisheries management: An Overview. *Fish. Res.* 43; 1-8.
- Campana S. 1999. Chemistry and composition of fish otoliths: Pathways, mechanisms and applications. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 9: 263-297.

- Castillo-Hidalgo G, Plaza G, Díaz-Astudillo G, Landaeta MF. 2017. Seasonal variations in early life traits of *Sindoscopus australis* (Blennioidei: Dactyloscopidae): hatching patterns, larval growth and bilateral asymmetry of otoliths. *J. Mar. Biol. Assoc. UK*.
- Clausen LA, Bekkevold W, Hatifield D, Mosegard H. 2007. Application and validation of otolith microstructure as a stock identification method in mixed Atlantic herring (*Clupea harengus*) stocks in the North Sea and western Baltic. – *ICES J.Mar. Sci.* 64: 377-385.
- Cerna F, Plaza G. 2016. Daily growth patterns of juveniles and adults of the Peruvian anchovy (*Engraulis ringens*) in northern Chile. *Mar Freshwater Res* 67: 899-912.
- Fossum P, Kalish J, Mokness E. 2000. Editorial foreword. In “Special Issue”: 2nd International Symposium of Fish Otolith Research and Application, Bergen, Norway, 20-25 June 1998. *Fish. Res.* 46: 1-2.
- Horwood JW, Walker MG. 1990. Determinacy of fecundity in sole (*Solea solea*) from the Bristol Channel. *J. Mar. Biol. Assoc. UK*. 70: 803-813.
- Kjesbu OS, Witthames PR, Solemdal P, Walker MG. 1990. Ovulatory rhythm and a method to determine the stage of spawning in Atlantic Cod (*Gadus morhua*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 47: 1185-1193
- Legua J, Plaza G, Pérez D, Arkhiokin A. 2013. Otolith shape analysis as a tool for stock identification of the southern blue whiting, *Micromesistius australis*. *L. Amer. J. Aquat. Res.* (41): 479-489.
- Maddock DM, Burton MPM. 1998. Gross and histological observations of ovarian development and related condition changes in American plaice. *J. Fish. Biol.* 53: 928-944.
- Mansur L, Plaza G, Landaeta MF, Ojeda FP. 2014. Planktonic duration in fourteen species of intertidal rocky fishes from the south-eastern Pacific Ocean. *Mar. Freshwat. Res.* 65: 901-909
- Niklitschek EJ, Secor DH, Toledo P, Lafon A, George- Nascimento M. 2010. Segregation of SE Pacific and SW Atlantic southern blue whiting stocks: integrating evidence from complementary otolith microchemistry and parasite assemblage approaches. *Environ. Biol. Fish.* 2010: 399-413.
- Palacios-Fuentes P, Landaeta MF, Jahnsen-Guzmán, Plaza G, Ojeda FP. 2014. Hatching patterns and larval growth of a triplefin from central Chile inferred by otolith microstructure analysis. *Aquat. Ecol.* 48: 259-266.
- Panella G. 1971. Fish otoliths: daily growth layers and periodical patterns. *Science* 173: 1124-1127
- Plaza G, Landaeta MF, Espinoza CV, Ojeda FP. 2013. Daily growth patterns of six species of young-of-the-year of Chilean intertidal fishes. *J. Mar. Biol. Assoc. UK*. 93: 389-395.
- Plaza G, Cerna F. 2015. Validation of daily microincrement deposition in otoliths of juvenile and adult Peruvian anchovy *Engraulis ringens*. *J. Fish. Biol.* 86: 203-216.
- Scourse J, Richardson C, Forsythe G, Harris I, Heinemeier J, Fraser N, et al. 2006. First cross-matched floating chronology from the marine fossil record: data from growth lines of the long-lived bivalve mollusc *Arctica islandica*. *The Holocene.* 16: 967-974.
- Wallace RA, Selman K. 1981. Cellular and dynamic aspects of oocyte size in teleosts. *Amer Zool* 21:325-343.