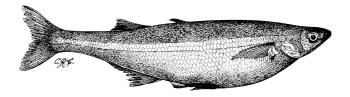


# UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR

# TESIS DE DOCTORADO EN BIOLOGÍA

Aspectos biológicos de interés para el potencial cultivo del pejerrey patagónico, *Odontesthes hatcheri* 



Lic. Cecilia Conte-Grand

BAHIA BLANCA

ARGENTINA



# UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR

# TESIS DE DOCTORADO EN BIOLOGÍA

Aspectos biológicos de interés para el potencial cultivo del pejerrey patagónico, *Odontesthes hatcheri* 

Lic. Cecilia Conte-Grand

BAHIA BLANCA

ARGENTINA

#### **PREFACIO**

Esta Tesis se presenta como parte de los requisitos para optar al grado Académico de Doctor en Biología, de la Universidad Nacional del Sur y no ha sido presentada previamente para la obtención de otro título en esta Universidad u otra. La misma contiene los resultados obtenidos en investigaciones llevadas a cabo en el ámbito del Instituto de Investigaciones en Biodiversidad y Medioambiente (INIBIOMA), Universidad Nacional del Comahue (UNComahue) - Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), durante el período comprendido entre el 20 de junio del 2006 y el 5 de octubre del 2011, bajo la dirección del Dr. Víctor E. Cussac (Instituto de Investigaciones en Biodiversidad y Medio Ambiente (INIBIOMA, UNComahue - CONICET).



# UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR

Secretaría General de Posgrado y Educación Continua

La presente tes	is ha sido	aprobada	el/	/,	mereciendo	) la
calificación de .	(		)			



a quienes este trabajo pueda aportarles algo provechoso y a quienes me enseñan a vivir buscando la verdad

#### **AGRADECIMIENTOS**

Esta tesis no podría haberse completado sin las personas e instituciones que contribuyeron durante su realización, de diferentes maneras, con su conocimiento, experiencias, aportes en lo práctico y material, y desde el ánimo e impulso.

Quiero agradecer a mi director Víctor Cussac, por guiarme en el doctorado, por su tiempo incondicional, sus ideas, sus explicaciones, por permitirme realizar este estudio en el laboratorio de "peces": Laboratorio de Ictiología y Acuicultura Experimental - Departamento de Zoología - INIBIOMA. Agradezco la gran colaboración de mis compañeros de trabajo Miguel, Valeria, Sonia, Víctor B., Mauro. A quienes aprecio mucho y siguen acompañándome: Juana, Cecilia, Juan Pablo. ¡Gracias por los miles peces y mates compartidos!

Agradezco a mi codirector Gustavo Somoza, por todo lo aprendido en las pasantías en el laboratorio de Ictiofisiología y Acuicultura del INTECH, por sus valiosos aportes y su genial predisposición.

Agradezco al Centro Regional Universitario de Bariloche de la Universidad del Comahue, a las autoridades, por brindarme el espacio para realizar este trabajo.

Quiero agradecer a la Universidad Nacional del Sur, por mi formación libre y gratuita y por permitirme realizar este posgrado. A mi supervisora Andrea López Cazorla, por sus eficaces correcciones y por intermediar en lo práctico. A mis profesores y compañeros durante la licenciatura.

A los que acompañaron mis experimentos en la Salmonicultura. Gracias a Mabel, Rodrigo, Willy y Mario, por lo que aprendí del cultivo y por esa calidez humana para sortear el frío. Gracias a Pepe y Mauricio por su dedicación y el clima de trabajo que llevaron a los muestreos. Al grupo de lagartos, Jorgelina, Marlín, Joel, Erica y Jimena. A Mónica y Alejandra y la tarea de la Secretaría de Extensión que me enseñaron a "llevar afuera" a la universidad.

A Guillermo Orti y Julie Sommer, por el trabajo y ambiente de equipo que siempre generaron, por la posibilidad de realizar una pasantía en su laboratorio y todo lo que me enseñaron de genética en Lincoln. Los datos para el estudio del crecimiento del pejerrey fueron provistos por la Autoridad Interjurisdiccional de Cuencas de los Ríos Limay, Neuquén y Negro (AIC). Agradezco particularmente la colaboración en la recopilación de la información de Guillermo Blasetti y Pedro Cordero.

Quiero agradecer la disponibilidad y contribución del equipo del Laboratorio de Nutrición, en especial de Pablo Hualde, durante los ensayos de estrés en el Centro de Ecología Aplicada de Neuquén (CEAN).

A Nora Bacalá por su asesoramiento en análisis estadísticos, y a los técnicos de la universidad por auxiliar numerosos problemas informáticos.

Quiero agradecer otras contribuciones intangibles:

Les agradezco a mis padres que hicieron posible este regalo de la vida y por regar esta plantita con esa dedicación. A mi familia, a Luisi y Andrés por estar siempre, gracias por hacerme reír hermanos.

A mis lucecitas del camino: Eliana, Gabriela, Vero, Silvia, Walter, Nacho, Jimena, Lucho, Damian, Flor, Carolina, Luciana, Romina, Patito, Fernanda, Verito, flia. Bellone, Victoria, Ana y mis abuelos.

A Juan, agradezco el estar en todo momento, el impulsarme y ser mi faro, además de la estimable contribución con la entrada de datos y la confección de gráficos, acompañándome en las angustias de los experimentos fallidos y por compartir los desafíos de la ciencia cotidiana con tanto de amor.

Este trabajo fue financiado por subsidios otorgados por la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (FONCYT-PICTR 2003-00528 y RAICES-PICT 2005-35241), el CONICET (PIP 6551 y PIP 112-200801-0028), National Science Foundation (PIRE OISE0530267) y con una beca de posgrado otorgada por el CONICET.

#### **RESUMEN**

En esta tesis se abordó el estudio de tres aspectos principales de la biología del pejerrey patagónico, *Odontesthes hatcheri*, en relación a su potencial como recurso pesquero y su cultivo.

En primer lugar, se analizó la identidad a nivel específico de pejerreyes provenientes de la región Andina, que corresponde al área de distribución original de O. hatcheri, y donde ha sido sembrado pejerrey bonaerense, Odontesthes bonariensis. En base al análisis de caracteres taxonómicos de clave, a la morfometría geométrica y a la genética mitocondrial, se identificaron 436 individuos, capturados en 18 ambientes continentales y se describieron las combinaciones de los taxa encontrados. El análisis sobre secuencias de citocromo b permitió distinguir los haplotipos de las dos especies con un alto grado de divergencia genética (7%) entre ellas y la variación intraespecífica de este marcador fue muy baja en O. hatcheri. En sitios que correspondieron a la distribución original de O. hatcheri (Dyer, 2000) se identificaron ejemplares de O. bonariensis y se hallaron individuos con incongruencias entre los caracteres morfológicos y los haplotipos mitocondriales. En base a la información de genética mitocondrial, se detectaron en los Embalses Florentino Ameghino y Nihüil, y en la laguna Urre Lauquen, individuos que morfológicamente fueron identificados como O. hatcheri pero que portaban genoma mitocondrial de O. bonariensis, revelando posibles introgresiones génicas. En el lago Pellegrini se encontraron ejemplares con caracteres morfológicos híbridos. En un nivel intraespecífico, el análisis de la morfometría geométrica mostró diferencias en cuanto a la forma corporal según los ambientes. En relación al amplio rango latitudinal de distribución del pejerrey patagónico y a la heterogeneidad de hábitats, se buscaron factores ambientales de variación morfológica y se probó la relación entre la forma del cuerpo y parámetros físicos, químicos y geográficos de los sitios de captura. Entre ellos, la concentración total de fósforo y la altitud mostraron relaciones significativas, lo que podría estar asociado a las relaciones tróficas de los ambientes analizados.

En el estudio del crecimiento, se compararon parámetros de la curva de von Bertalanffy entre poblaciones de pejerreyes pertenecientes a seis embalses ubicados a lo largo de las cuencas de los ríos Neuquén y Limay. A partir de datos de frecuencia de talla se estimaron los parámetros mediante los métodos de Shepherd o SLCA (Shepherd's Length Composition Analysis), de ELEFAN (Electronic Length-Frequency Analysis) y del método de Po-

well-Whetherall en combinación con SLCA (P-W+SLCA). Los parámetros estimados fueron comparados entre los ambientes. Los rangos de valores estimados para  $L_{\infty}$  fueron de 393 a 431 mm, para K de 0,22 a 0,53 y para  $t_0$  de -0,91 a -0,35. El índice de performance del crecimiento o índice  $\phi$ ', mostró valores de entre 2,579 y 2,993. Para ampliar el análisis, se compararon los parámetros de crecimiento con los obtenidos por otros autores en O. bonariensis, O. hatcheri y en la trucha arco iris (Oncorhynchus mykiss) y ésta última resultó ser la especie que crece en forma más veloz, con tallas asintóticas e índices de performance mayores. Los parámetros estimados para las poblaciones de los embalses estudiados no mostraron diferencias significativas con los parámetros encontrados en la bibliografía para O. hatcheri y O. bonariensis. Sin embargo, se pudo observar que estos valores fueron intermedios entre los estimados para ambas especies, lo que posiblemente estaría relacionado a las introgresiones de O bonariensis observadas en estos sitios.

Las estructuras de talla de los pejerreyes mostraron ser similares entre los ambientes analisados, pero la distribución de frecuencias de tamaño del embalse Alicura presentó una primera cohorte de mayor tamaño que los demás ambientes, posiblemente debido a efectos de la predación de salmónidos sobre las tallas menores de pejerrey. El factor de condición mostró variación de acuerdo al ambiente, al sexo y al estadio reproductivo, siendo mayor en el estadio de desove. Los períodos de desove correspondieron mayormente a los meses de primavera y para el embalse El Chañar primavera y otoño. La talla promedio de madurez sexual de las hembras en estos seis ambientes fue de 173 a 206 mm LT, que correspondió a las edades menores a un año de los embalses Chañar y Arroyito, respectivamente.

La tercera parte de esta tesis se enfocó en el estudio de los efectos del estrés en el pejerrey patagónico bajo distintas prácticas ligadas al cultivo, mediante mediciones de cortisol plasmático y expresión hepática del ARNm para IGF-1. Se exploró frente a diferentes salinidades, la relación del cortisol plasmático con parámetros fisiológicos, como la osmolaridad plasmática, el hematocrito, y el contenido relativo de agua corporal. En una primera experiencia se sometieron pejerreyes a captura, transporte y cautiverio. Se observó una regresión cuadrática entre los niveles plasmáticos de cortisol y el tiempo de exposición al tratamiento ligado a una práctica de cultivo. Los niveles máximos de cortisol plasmático y también de IGF-1 ARNm hepático se observaron en cautiverio, seis días después de la captura. En la segunda experiencia, la concentración de sal de 0,5 %, disminuyó el estrés en condiciones de cautiverio, con una mortalidad nula. Por el contrario, la concentración de 2

% fue letal y la exposición gradual a esta concentración generó una mortalidad del 50%. Se observó que los efectos de los factores de estrés tales como la captura, el transporte, y el confinamiento pueden ser evaluados en *O.hatcheri* mediante los niveles plasmáticos de cortisol y que el estrés agudo que generan puede estar relacionado con un aumento en la expresión relativa de ARNm para el IGF-1. En este sentido, la selección de la salinidad cercana a concentraciones de 0,5 % mitiga los efectos del estrés y mejora los niveles de supervivencia de *O.hatcheri* en cautiverio.

#### **ABSTRACT**

This thesis considers three aspects of the biology of the Patagonian silverside, *Odontesthes hatcheri*, regarding its potential for fishery and culture.

Firstly, we analyzed the specific identity of silversides from the Andean region, the original range of *O. hatcheri* in which the Bonaerensean pejerrey *Odontesthes bonariensis* was stocked. Based on the analysis of key taxonomic characters, geometric morphometrics and mitochondrial genes, we identified 436 individuals captured at 18 sites and were able to describe taxa combinations. The analysis of cytochrome b sequences showed a high degree of genetic divergence (7%) between both species. Intraspecific variation was very low in *O. hatcheri*. We identified sites with *O. bonariensis* and some individuals with inconsistencies between morphology and mitochondrial haplotypes, which suggest genetic introgression. In Lake Pellegrini, specimens with hybrid morphology were found. At intraspecific level, the geometric morphometrics showed different body shapes among sites. Regarding the latitudinal range of distribution of the Patagonian silverside and the habitat heterogeneity, we looked for environmental sources of morphological variation and tested the relationship between body shape and physical, chemical and geographic parameters. The total phosphorus concentration and the altitude showed significant relationships that would be associated with trophic relationships in the analyzed environments.

Secondly, we compared growth parameters of von Bertalanffy curve among silverside populations from six reservoirs located along Limay and Neuquén Rivers. The parameters were estimated from length-frequency data using Shepherd or SLCA method (Shepherd's Length Composition Analysis), ELEFAN method (Electronic Length-Frequency Analysis), and the Powell-Whetherall method in combination with SLCA (P -W + SLCA). Ranges of estimated values were 398 to 432 mm for  $L_{\infty}$ , 0.37 to 0.535 for K and -0.8 to -0.612 for  $t_0$ . The growth performance index ( $\phi$ ') ranged from 2.614 to 3.107. To expand the analysis, these values were compared with those obtained by other authors in *O. bonariensis*, *O. hatcheri* and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). In our study, the estimated parameters were within ranges found in the literature for the Patagonian silverside. Size structures of the silversides were shown to be similar between reservoirs, but in Alicura reservoir, effects of salmonid predation on smaller sizes could be observed. The condition changed according to reservoir, sex, and gonadal status, being greater at breeding. Spawning periods corresponded mainly to spring and, in the El Chañar reservoir, to spring and autumn.

The mean size at sexual maturity of females in the six reservoirs ranged from 173 to 206 mm TL, corresponding to ages less than 1 year at El Chañar and Arroyito reservoirs.

Thirdly we studied the effects of stress on the Patagonian silverside under different practices as regards its possible cultivation. We explored different salinities to asses the levels of plasma cortisol and physiological parameters related to osmoregulation, such as plasma osmolality, hematocrit, and relative body water content. The relationship between stress and growth was studied by measuring the hepatic expression of IGF-1 mRNA. In a, first experiment silversides were subjected to capture, transport and captivity. Quadratic regression was observed between plasma levels of cortisol and time. Higher levels of plasma cortisol, as well as hepatic IGF-1 mRNA were observed six days after capture. In a second experiment, a salt concentration of 0.5%, decreased stress in captivity, with no consequent mortality. By contrast, a 2% concentration was lethal and the gradual exposure to this concentration resulted in a 50% mortality. We observed that the effects of stressors such as capture, transport, crowding, and confinement can be evaluated in *O. hatcheri* by plasma levels of cortisol. Acute stress can be related to an increase in the relative expression of mRNA for IGF-1. Finally, careful selection of salinity near 0.5% mitigates the effects of stress and improves survival rates of *O.hatcheri* in captivity.

# ÍNDICE

Prefacio	1
Agradecimientos	3
Resumen	5
Abstract	8
CAPÍTULO 1. Introducción	14
1.1. El pejerrey patagónico	14
1.2. Distribución actual e interrogantes	14
1.3. Piscicultura en Argentina	16
1.4. Estudio del crecimiento	18
1.5. Estrés	21
1.6. Objetivo general y específicos	22
CAPÍTULO 2. Identificación morfológica y genética de pejerreyes en la reg	
Andino Cuyana y Patagónica	
2.1. Objetivos particulares	
2.2. Materiales y Métodos	
2.2.1. Área de estudio	
2.2.2. Obtención del material biológico	25
2.2.3. Análisis de la morfometría geométrica	
2.2.3.1. Análisis estadísticos	28
2.2.3.2. Relación de la forma con parámetros ambientales	29
2.2.3.3. Factor de condición	30
2.2.4. Análisis genético	33
2.2.4.1. Procesamiento del material genético	33
2.2.4.2. Análisis de las secuencias de ADN mitocondrial	34
2.3. Resultados	35
2.3.1. Identificación específica de poblaciones de pejerrey	35
2.3.1.1. Caracteres morfológicos y merísticos	35
2.3.1.2. Identificación de especies en base a la genética mitocondrial	40
2.3.1.3. Análisis de la morfometría geométrica	42

2.3.1.3.1. Análisis de morfometría geométrica de poblaciones <i>O. bonariensis</i>	49
2.3.1.3.2. Análisis de morfometría geométrica de poblaciones de O. hatcheri	51
2.3.1.3.3. Relación de la forma con parámetros ambientales	53
CAPÍTULO 3. Análisis del crecimiento de pejerreyes norpatagónicos	54
3.1. Objetivos particulares	54
3.2. Materiales y Métodos	54
3.2.1. Área de estudio	54
3.2.2. Obtención de los datos	59
3.2.3. Caracterización de la ictiofauna de los embalses	66
3.2.4. Estructura de tallas	66
3.2.5. Análisis de parámetros de crecimiento	66
3.2.5.1. Modelo de crecimiento de von Bertalanffy	67
3.2.5.2. Estimación de los parámetros de crecimiento $L_{\infty}$ , $K$ y $t_o$	67
Método de Powell-Whetherall (P-W).	68
Método de ELEFAN (Electronic Length-Frequency Analysis)	69
Método de Shepherd o SLCA (Shepherd's Length Composition Analysis)	70
3.2.4.3. Procedimiento de análisis	71
Procedimiento en base a los métodos de P-W y SLCA.	71
Procedimiento en base al método SLCA.	71
Procedimiento en base al método de ELEFAN	72
3.2.5.4. Índice del desempeño del crecimiento o (φ')	72
3.2.6. Análisis del estado de condición de pejerreyes	73
3.2.6.1. Relación Largo-Peso	73
3.2.6.2. Factor de condición	73
3.2.7. Proporción de sexos	74
3.2.8. Talla promedio de primera madurez	75
3.3. Resultados	76
3.3.1. Caracterización de la ictiofauna de los embalses	76
3.3.2. Análisis de estructura de tallas de <i>Odontesthes hatcheri</i>	79
3.3.2.1. Curvas y parámetros de crecimiento de los embalses	84
3.3.2.2. Parámetros de crecimiento en el tiempo	
3.3.2.3. Parámetros de crecimiento: comparación entre especies	97
3.3.3.1. Relación Largo-Peso	101
3.3.3.2. Factor de condición	103

Sexos	103
Estadios reproductivos	103
Ambientes	106
3.3.4. Época reproductiva	107
3.3.4.1. Proporción de sexos	109
3.3.4.2. Talla promedio de madurez	110
CAPÍTULO 4. Estudio del estrés en pejerrey patagónico	113
4.1. Objetivos particulares	113
4.2. Materiales y Métodos	113
4.2.1. Experiencia 1	113
Transporte y cautiverio	113
Procesamiento del material biológico	114
Extracción de cortisol plasmático	115
Radioinmunoensayo (RIA)	115
4.2.2. Experiencia 2	116
Cautividad y tratamientos con salinidad	116
Obtención de las muestras y medición de variables	117
Análisis estadísticos	118
4.3. Resultados	118
4.3.1. Experiencia 1	118
Sobrevida, niveles de cortisol plasmático y expresión de ARNm IGF-1	118
4.3.2. Experiencia 2	119
Sobrevida y niveles de cortisol plasmático	119
Relación entre el cortisol y variables fisiológicas	120
CAPÍTULO 5. Discusión	125
5.1. Pejerreyes andinos: nuevos reportes de distribución	125
5.2. Zonas de hibridación y efectos antrópicos	126
5.3. Análisis morfométrico	129
5.4. Análisis genético	130
5.5. Métodos de estimación del crecimiento	131
5.6. Análisis comparativo del crecimiento en O. hatcheri	133
5.7. Estructura de tallas	137

5.8. Estado de condición	138
5.9. Talla promedio de primera madurez	140
5.10. El estrés en prácticas de cautiverio con pejerrey patagónico	141
5.11. Variables fisiológicas frente a cambios en la salinidad en O. hatcheri	142
5.12. Consideraciones finales	143
5.13. Conclusiones	145
ÍNDICE DE TABLAS	146
ÍNDICE DE FIGURAS	148
ÍNDICE DE ABREVIATURAS	151
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	153

# **CAPÍTULO 1. Introducción**

# 1.1. El pejerrey patagónico

Las especies de aterínidos comúnmente conocidas como "pejerreyes" están representadas en la Argentina por especies pertenecientes al género *Odontesthes* y habitan ambientes marinos, estuarinos y continentales (Dyer, 1997; 1998; 2006). El pejerrey patagónico, Odontesthes hatcheri (Eigenmann, 1909), es una especie de agua dulce que se distribuye en la región Andina incluyendo las Provincias ictiogeográficas Andino Cuyana y Patagónica (según López et al. 2008), encontrándose en ríos, lagos y embalses de cuencas atlánticas y pacíficas que se extienden dentro de Argentina y Chile, desde el norte, en el río San Juan y Desaguadero (31°S), hasta el sur, en la cuenca del río Santa Cruz (50°S) (Ringuelet et al., 1967; Campos, 1984; Dyer, 1998, 2000, 2006; Baigún & Ferriz, 2003; Aigo et al., 2008; López et al., 2008). Esta especie es frecuentemente capturada en lagos, ríos y embalses de la Patagonia junto al puyen chico (Galaxias maculatus), el puyen grande (Galaxias platei), la perca (Percichthys trucha), los bagres, Hatcheria macraei, Trichomycterus areolatus, Diplomystes cuyanus (Cuencia del Colorado) D. viedmensis (Cuenca del Negro) D. mesembrinus (Cuenca del Chubut) y los salmónidos introducidos, trucha arco iris (Oncorhynchus mykiss), trucha marrón (Salmo trutta) y trucha de arroyo (Salvelinus fontinalis). (Gosztonyi, 1988; Macchi et al., 1999; Vigliano et al., 1999; Menni, 2004; Pascual et al., 2007).

A diferencia de otras especies, estos pejerreyes poseen una boca con orientación ventral y escamas pequeñas con el borde posterior pigmentado que le dan una coloración oscura en el lomo. Poseen de 21 a 27 rastrillos en la rama inferior de los arcos branquiales, dientes faríngeos molariformes y un embudo hemal sin expansiones (Dyer, 2006). A pesar de caracterizarse por una dieta amplia (Ferriz, 1987), estudios de historia de vida temprana han demostrado que las larvas son en gran parte zooplanctófagas (Modenutti *et al.*, 1993; Battini *et al.*, 1995), y habitan la zona litoral de los lagos durante el verano (Cussac *et al.*, 1992). Los cambios ontogénicos de la dieta hacia la piscivoría acompañan a los cambios de hábitat, desde la zona litoral a la limnética (Cervellini *et al.*, 1993; Macchi *et al.*, 1999).

#### 1.2. Distribución actual e interrogantes

El área de distribución del pejerrey patagónico (Figura 2.1.) ha sido objeto de siembras con el pejerrey bonaerense (*Odontesthes bonariensis*, Valenciennes, 1835) (Dyer 2006), una

especie originaria del centro-norte de Argentina, Uruguay, sur de Brasil y Paraguay (Campos, 1984; Dyer, 2006), principalmente de la cuenca del Río Salado y de las cuencas inferiores de los ríos Paraná y Uruguay, y que domina la zona pelágica de las "lagunas" (lagos de tercer orden según Gómez *et al.*, 2006) de la Provincia de Buenos Aires (Figura 3.1.). Esta especie, altamente valorada en cuanto a la calidad de su carne así como también en la pesca deportiva y recreacional, ha sido utilizada desde principios del siglo XX para la acuicultura extensiva (Somoza *et al.*, 2008), en especial por parte de organizaciones de pesca (Álvarez & Zingoni, 2001). Así, como resultado de siembras y por su gran capacidad para adaptarse a diferentes ambientes (Menni, 2004, Gómez *et al.*, 2006), en la actualidad puede encontrarse a *O. bonariensis* en zonas templadas, en ambientes naturales y artificiales desde el Lago Titicaca (Bolivia), hasta aguas patagónicas de la Argentina y Chile (Dyer, 1998). Ha poblado embalses, especialmente en los ríos que desembocan en la cuenca del Río Salado-Desaguadero (Figura 3.1.) y fue introducida en Japón e Italia para su cultivo (Aramburu, 1968; López *et al.*, 1991; Dyer, 2000; Tejedor, 2001; Somoza *et al.*, 2008).

Del pejerrey patagónico, existen poblaciones aisladas geográficamente y adaptadas a ambientes y climas diferentes, abarcando poblaciones desde Cuyo (Embalse El Nihuil) hasta las del sur patagónico como el Lago Pueyrredón, localidad tipo de *O. hatcheri* (Ringuelet *et al.*, 1967; Liotta, 2005). Estas poblaciones, sometidas a fuerzas selectivas diferentes, constituyen recursos genéticos logrados a través de miles de generaciones, los cuales por el tiempo y naturaleza de su formación, una vez que se pierden no pueden ser recuperados (Tejedor, 2001).

Desde la década del 30' se continúa desarrollando la piscicultura de repoblamiento del pejerrey bonaerense en ambientes naturales y artificiales de la provincia de Buenos Aires, como también en lagos y lagunas de estepa de Patagonia (Macchi *et al.*, 2001), generando así el solapamiento de los rangos de distribución de esta especie con la patagónica (Cussac *et al.*, 2009). Ambas especies hibridan en cautividad y los híbridos recíprocos son capaces de sobrevivir y producir descendencia viable (Strüssmann *et al.* 1997a), y probablemente también en la naturaleza (Amalfi, 1988; Muñiz-Saavedra & Piacentino, 1991; Dyer, 2000; Tejedor, 2001). Así, es evidente la posibilidad de entrecruzamientos e introgresiones génicas en ambientes donde ambas especies habitan (Strüssmann *et al.* 1997a) y en consecuencia existe incertidumbre acerca del estatus taxonómico de estas poblaciones.

La fisiología reproductiva de estas dos especies ha sido estudiada en relación con la determinación del sexo y su dependencia con la temperatura. En Atheriniformes, la diferenciación del sexo dependiente de temperatura (o TSD, del inglés *thermolabile sex determination*) es el principal determinante de la proporción de sexos en condiciones de laboratorio y muy probablemente en poblaciones naturales (Strüssmann *et al.*, 2003 y 2010). En el pejerrey patagónico, si bien la diferenciación sexual es también afectada por la temperatura, el sexo está determinado genéticamente (Strüssmann *et al.*, 1997b; Hattori *et al.*, 2010).

En el pejerrey bonaerense la proporción de sexos se mantiene equilibrada para temperaturas entre 23 y 25°C, mientras que para *O. hatcheri*, este equilibrio se encuentra entre los 17 y 23°C (Strüssmann *et al.*, 1997b). Estos valores pueden ser relacionados con las temperaturas del área de distribución de cada especie (Liotta, 2005). Según lo observado, *O. bonariensis* es capaz de establecerse en ambientes donde la temperatura media del aire de verano es superior a 20 °C (Cussac *et al.*, 2009). Así, Alvear *et al.* (2007) hallaron pejerrey bonaerense en el sector inferior del río Negro y Aigo *et al.* (2008) lo reportan en el Embalse Ezequiel Ramos Mexía en el río Limay (39° 30' S, 69° 00' O), donde fue introducido después de la construcción de la represa de El Chocón, en la década de 1970 (Hidronor, 1981), constituyendo las localidades más australes conocidas para esta especie.

# 1.3. Piscicultura en Argentina

El principal desarrollo de la piscicultura de agua dulce en Argentina incluye el cultivo de trucha arco iris (*Oncorhynhus mykiss*) en Patagonia y de pacú (*Piaractus mesopotamicus*) en el nordeste del país (Luchini, 2011). En los últimos años, se ha sumado el cultivo de tilapias, *Oreochromis spp*. (Luchini & De Bernardi, 2005). Los mayores niveles de producción corresponden al cultivo en jaulas flotantes de trucha arco iris, que en el embalse Alicura llegan a 1000 y 1200 toneladas anuales (Vigliano & Alonso, 2007; Luchini, 2009), alcanzando un pico de 1800 toneladas durante el año 2009 (Zeller *et al.*, 2009).

A principios del siglo XX se realizaron los primeros desoves y siembras de salmónidos importados al territorio argentino (Macchi *et al.*, 1999; Pascual *et al.*, 2001; Vigliano & Darrigran, 2002), junto con el desarrollo de la reproducción controlada y extensas siembras de pejerrey en la pampa húmeda (Luchini & De Bernardi, 2005). Existió una fase dedicada a la acuicultura extensiva, que se propició a través del siglo XX (desde 1902 hasta 1980) con producción de semilla de especies de salmónidos en Patagonia y el apoyo a la difusión

del pejerrey *O. bonariensis* en la región pampeana. El objeto fue la implantación y repoblamiento de poblaciones en ambientes naturales para el mantenimiento de su potencial pesquero, asociado a la práctica de la pesca deportiva y que hoy en día, se encuentra ligado además al turismo (Luchini & Panné Huidobro, 2008; Somoza *et. al.*, 2008).

Desde el punto de vista económico, de las especies dulceacuícolas nativas de la Patagonia, sólo el pejerrey patagónico y la percas, tienen algún valor en la pesca deportiva (Pascual *et al.*, 2007) y la explotación del pejerrey patagónico con fines comerciales es reducida. Ésta sólo se realiza en pesquerías de tipo artesanal en el Lago Pellegrini (Bello *et al.*, 1996a; Amalfi, 2009), en la Provincia de Río Negro, y está asociada al establecimiento de fileteras que procesan y comercializan la producción a nivel local. Por su parte, en el lago Colhue Huapi, provincia de Chubut, la pesca comercial de la perca alcanza las 100 toneladas anuales (Subsecretaría de Recursos Hídricos, www.hidricosargentina.gov.ar/Indice-Colhue.html).

Algunas prácticas de cultivo de tipo extensivo con *O. hatcheri* son realizadas por parte de la Estación de Piscicultura de Cinco Saltos, e incluyen la captura de los reproductores, la fecundación, incubación de las ovas y liberación de larvas en los ríos Negro, Neuquén, Colorado y en el Lago Pellegrini (Amalfi, 2009 y F. García, comunicación personal). Desde el año 2000 además, la Estación de Piscicultura Río Limay (Plottier, Provincia del Neuquén) produce ovas y larvas de pejerrey patagónico a partir de un plantel de reproductores en cautiverio con la finalidad de propagar la especie. Por su parte, el CEAN (Centro de Ecología Aplicada de Neuquén, Junín de los Andes, Provincia del Neuquén) realiza estudios de nutrición de la especie en distintas etapas de cría (Hualde *et al.*, 2009a; Ecos, Boletín Digital del CEAN, 2009). Asimismo, se han desarrollado experiencias de cría de juveniles de pejerrey patagónico en jaulas flotantes en el embalse Ramos Mejía, y los resultados indican que, el crecimiento es lento, como en todos los aterínidos (Hualde *et al.*, 2009b; Hualde *et al.*, 2011).

El cultivo de tipo intensivo implica el desarrollo de tecnologías para producir peces en cautiverio con alta calidad y en forma rentable. En el caso de *O. bonariensis* en la Argentina, si bien ya se cuenta con stocks de reproductores domesticados en cautiverio, se maneja su reproducción y se alcanzan tamaños comerciales en cautiverio, el tiempo en alcanzar dichos tamaños sigue siendo el principal inconveniente que frena la transferencia de esta tecnología al sector productivo (Somoza *et al.*, 2008). Recientes experiencias de cultivo

extensivo con esta especie mostraron buenos registros de crecimiento (entre 16 y 160 mm TL) y sobrevida en jaulas flotantes de bajo costo, con las mayores tasas de crecimiento diario (0.86mm.día<sup>-1</sup>) en los primeros dos meses de cría (Colautti *et al.*, 2010). Hacia comienzos de la década de 1990 la producción comercial de *O. bonariensis* en el Japón alcanzó las 100 toneladas anuales, con precios entre 30 y 40 USD por kilogramo (Somoza, comunicación personal).

Debido a los numerosos registros de cultivos de especies exóticas que han ocasionado graves impactos ecológicos (Gido & Brown, 1999; Vander Zanden et al., 1999; Elvira & Almodóvar, 2001) existe una tendencia mundial hacia la diversificación de las producciones regionales con los recursos disponibles y hacia la conservación de la biodiversidad en base al cultivo de especies nativas (Hualde et al., 2011). La principal dificultad para la cría del pejerrey en cautiverio radica en sus bajas tasas de crecimiento en comparación con otras especies comerciales, como las truchas. En condiciones óptimas de cultivo las tallas comerciales más usuales de pejerrey en la Argentina (pan size, 250 - 300 g) se logran en un lapso de 18 a 30 meses (Reartes, 1995; Espinach Ros & Dománico, 2006; Somoza et al., 2008), mientras que la trucha arco iris cultivada en el embalse Alicura, alcanza ese tamaño entre los 9 y 12 meses (Dirección de Acuicultura, 2008). Estudios en el embalse Florentino Ameghino mostraron para el pejerrey patagónico con tres años de edad un peso que osciló entre los 157 a 208 g. Por su parte, la trucha arco iris, a esa misma edad, mostró un peso de 710 a 738 g (Hidroeléctrica Ameghino S.A., 2010). Sin embargo, un aspecto ventajoso para la potencial explotación del pejerrey es que, en la mayoría de los ambientes aptos para la especie, las temperaturas son demasiado altas para la reproducción de la trucha arco iris (Báez et al., 2011).

# 1.4. Estudio del crecimiento

Los estudios de crecimiento son un instrumento esencial en el manejo de recursos pesqueros ya que contribuyen a estimaciones de la producción, tamaño de la población, reclutamiento y mortalidad de las poblaciones de peces. En un modelo, que es una abstracción simplificada, los rasgos como la tasa de crecimiento o el tamaño máximo pueden ser descriptos paramétricamente. Los parámetros son descripciones cuantitativas de la población, es decir información que describe las propiedades promedio de un grupo de individuos (Jennings *et al.*, 2001).

Entre todos los modelos, la función de crecimiento de von Bertalanffy (EVB, Sección 3.2.5.1. Pág. 68, Fig.3.2) es la más frecuentemente utilizada para describir el crecimiento en los peces y de muchos otros organismos marinos, debido a que las constantes de su ecuación se pueden incorporar fácilmente a los modelos de evaluación de stock. La ecuación describe una curva de tipo exponencial y se deriva de considerar el tamaño del cuerpo relacionado con la edad, asociando el crecimiento y el equilibrio entre los procesos catabólicos y anabólicos en el organismo.

Los parámetros de crecimiento estimados a partir de la EBV son  $L_t$ : longitud del pez a la edad t;  $L_{\infty}$ : longitud asintótica, corresponde a la longitud media que pueden alcanzar los peces más viejos a la edad de máxima longevidad; to: edad correspondiente a una longitud teórica 0 y K: es la constante de crecimiento, o parámetro de curvatura que expresa la tasa a la que la longitud se aproxima a la asíntota. Estos parámetros son ampliamente utilizados para describir la historia de vida de los peces y otros aspectos, tales como la edad y talla de primera madurez. La proporción de la variabilidad de cada parámetro puede diferir de acuerdo con la especie. En muchos peces la varianza en los datos de longitud - edad aumenta con la edad. Esto llevó a algunos autores a suponer que  $L_{\infty}$  constituye la principal fuente de variación entre individuos. Sin embargo, en otros peces (especies pelágicas, y sobre todo de crecimiento rápido), y en muchos moluscos, la variación en la talla por edad primero se incrementa y luego decrece, sugiriendo que es la varianza de K la que es alta (Magnifico, 2007). En general, altos valores de K están asociados a vidas cortas, pequeño tamaño de primera madurez, alto rendimiento reproductivo y longitud asintótica baja. Por el contrario, especies con K bajos son longevas, tienen mayor tamaño en la primera madurez, producen menor cantidad de huevos y tienen mayor longitud asintótica (Jennings et al., 2001). Estas relaciones se pueden medir con parámetros como la tasa de crecimiento y el tamaño medio de la primera madurez. Además estos parámetros pueden variar entre poblaciones de la misma especie y por lo tanto pueden ser potenciales indicadores de bases biológicas y genéticas (Becker et al., 2003) que resultarían especialmente interesantes en el caso del pejerrey.

En la bibliografía se utilizan varios métodos para la estimación de parámetros de crecimiento de peces, encontrándose los que se basan total o relativamente en la edad de los individuos, o los que son derivados de datos de frecuencias de tallas. El estudio del crecimiento del pejerrey ha sido objeto de varios trabajos, contándose en la actualidad con datos

tanto para el pejerrey bonaerense como para el patagónico, a partir de determinaciones lepidológicas (Cataldo, 1989; Dománico, 2006), en otolitos (Ruiz, 2002) y basadas en análisis de progresión modal (Dománico, 2006). También para *O. smitti* (Elías *et al.*, 1991) y *O. nigricans* (Gosztonyi *et al.*, 1993).

Los datos de talla pueden ser obtenidos en forma sencilla y económica (Isaac, 1990), en comparación con el costo y el tiempo que implican las técnicas de identificación de marcas periódicas sobre estructuras de aposición; otolitos, escamas y vértebras (Pauly, 1987). En nuestro caso, el estudio se realizó en base a datos de talla, que fueron provistos por la AIC (Autoridad Interjurisdiccional de Cuencas de los Ríos Limay, Neuquén y Negro). Los monitoreos ambientales sostenidos a partir del año 1993 por las empresas que administran las represas de las cuencas de los ríos Limay y Neuquén, tanto de las poblaciones de peces como de la calidad del agua, forman parte de la información que utiliza la AIC para la administración de recursos (Asorey, 2001; Alonso, 2003).

Con la aplicación de las técnicas existentes de determinación de la edad, son frecuentes los errores y sesgos aleatorios y sistemáticos. Por otro lado, la mayor parte de los factores biológicos y propios de las pesquerías, como la fecundidad, depredación, selección por arte de captura, se encuentran más relacionados con el tamaño que con la edad (Isaac, 1990). Como desventaja, el número de peces requeridos por los métodos basados en datos de talla es mayor. En este trabajo, se plantea el análisis del crecimiento del pejerrey patagónico en base a tres métodos, SLCA o método de Shepherd (Shepherd's Length Composition Analysis, Shepherd, 1987; Isaac, 1990; Pauly & Arreguín-Sánchez, 1995), ELEFAN (Electronic Length-Frequency Analysis, Pauly & David, 1981 y Pauly, 1982, 1987) y método de Powell-Whetherall (Powell, 1979; Wetherall, 1986; Wetherall *et al.*, 1987) en combinación con SLCA (P-W+SLCA).

Uno de los factores que retrasa el crecimiento del pejerrey bonaerense es la maduración gonadal temprana, durante el primer año de vida, antes de alcanzar las tallas comerciales, debido a la redistribución de la energía que de otro modo sería utilizada en el crecimiento somático (Miranda & Somoza, 2001; Somoza *et al.*, 2008). Bello *et al.* (1996b) mostraron que en la laguna Ñe Luan y el lago Moreno el rendimiento somático del pejerrey patagónico (medido como la relación entre peso eviscerado y longitud total) es menor en la época reproductiva. Es por esto relevante el estudio de las variables que pueden influir en el factor de condición en relación con el aprovechamiento de los pejerreyes como recurso pes-

quero. A pesar que existe abundante información sobre aspectos reproductivos del pejerrey bonaerense (Guilgur *et al.*, 2007; 2009; Miranda *et al.*, 2006; 2007; 2009; Miranda & Somoza, 2009; Montaner *et al.*, 2001; Somoza *et al.*, 2006), en cambio, es escasa para el pejerrey patagónico (Dománico & Freire, 2008). Poblaciones de pejerrey provenientes de distintos ambientes naturales podrían presentar distintas capacidades de adaptación y rendimiento, tanto para la acuicultura como para la pesca comercial.

En este contexto se plantea el estudio de parámetros relacionados al crecimiento y la reproducción de poblaciones de pejerrey en forma comparativa entre ambientes, en el marco de un escenario geográfico con introducciones y posibles grados de hibridación entre *O.* hatcheri y *O. bonariensis*.

# 1.5. Estrés

Existen factores que alteran al estado de sanidad de los peces en cautiverio. El manipuleo, el hacinamiento y la calidad inadecuada del agua pueden afectar el crecimiento y la reproducción, y pueden ocasionar deficiencias en el sistema inmune incrementando la incidencia de infecciones y enfermedades perjudiciales para la piscicultura (Wedemeyer, 1972; Pickering, 1981; Wedemeyer & Mc Leay, 1981).

El cortisol es una hormona que interviene en las respuestas fisiológicas durante el estrés, está involucrado en los procesos relacionados con la osmorregulación, la respiración y el metabolismo intermedio (Morgan & Iwama, 1996; Sakamoto *et al.*, 2001; Pankhurst, 2011) y puede ser utilizado como indicador experimental del estrés.

Por otra parte, las acciones fomentadas por la hormona de crecimiento (GH) son mediadas en los peces por el factor de crecimiento insulínico tipo 1 (IGF-1) (Duan, 1997; 1998; Canosa *et al.*, 2007). Sus niveles plasmáticos y los del hígado se correlacionan positivamente con el crecimiento en salmónidos (Duan *et al.*, 1995; Pierce *et al.*, 2001), tilapia (Vera Cruz *et al.*, 2006), anguila japonesa (Moriyama *et al.*, 2000) y en el pejerrey *O. bonariensis* (Sciara *et al.*, 2008; 2011). La edad, el estrés y las deficiencias nutricionales pueden afectar las concentraciones circulantes de GH e IGF-1 (Clark, 1997; Dardenne *et al.*, 2009); IGF-1 también posee funciones inmunomoduladoras en los peces (Yada, 2007). Por otro lado, a pesar que la mayoría de los estudios realizados muestran una inhibición de los niveles de IGF-1 en plasma luego de someter los peces a estrés (Kajimura *et al.*, 2003;

Small, 2004, Peterson & Small 2005; Small *et al.*, 2006; Leatherland *et al.*, 2010), McCormick *et al.* (1998) sugieren que el estrés promueve la elevación de los mismos.

Varios autores han reportado la 'fragilidad' del pejerrey en términos de una baja sobrevida luego del manipuleo durante su mantenimiento en cautiverio (Ringuelet, 1943; Luchini et al., 1984; Somoza et al., 2008). En este sentido es importante destacar que O. bonariensis muestra altos niveles de estrés bajo prácticas de cultivo y este estrés podría ser una de las causas de sus bajas tasas de crecimiento y sobrevida (Tsuzuki et al., 2001).

De la misma manera, en el pejerrey patagónico, la resistencia al estrés y el costo energético generado durante prácticas de cautiverio, podrían afectar su crecimiento y sobrevida y así verse limitada su potencialidad de ser cultivado en forma intensiva.

Para mejorar la sobrevida en prácticas de cultivo con huevos, larvas y juveniles pequeños de *O. bonariensis* y *O. hatcheri* se ha utilizado el agregado de sal al agua (Tsuzuki *et al.*, 2000a; b; 2001; 2007). Sin embargo, la eficacia de las sales en mitigar efectos del estrés puede variar entre las especies y aún entre stocks de la misma especie (Barton & Peter, 1982; Grizzle *et al.*, 1985; Tsuzuki *et al.*, 2001). Por tanto, sus efectos durante distintos tratamientos de manipulación con *O. hatcheri* resultan de interés para mejorar su adaptación al cautiverio.

# 1.6. Objetivo general

Analizar aspectos biológicos y poblacionales del pejerrey patagónico, de potencial interés en su acuicultura.

# **Objetivos específicos:**

- Caracterizar el estado taxonómico de las poblaciones del área de distribución, en el contexto de las siembras de pejerrey bonaerense y la posible introgresión génica.
- Analizar el crecimiento de *O. hatcheri*, en relación a distintos ambientes norpatagónicos y a diferentes posibilidades de introgresión.
- Analizar la respuesta fisiológica de estrés frente a distintas prácticas ligadas a la acuicultura.

# CAPÍTULO 2. Identificación morfológica y genética de pejerreyes en la región Andina

# 2.1. Objetivos particulares

Caracterizar el estado taxonómico de pejerreyes del género *Odontesthes* de la Región Andina y analizar los efectos del ambiente sobre su morfología mediante la utilización de herramientas morfométricas y estudios genéticos.

# 2.2. Materiales y Métodos

# 2.2.1. Área de estudio

El área de estudio está comprendida dentro de la Región Andina, incluyendo las Provincias Andino Cuyana y Patagónica (*sensu* López *et al.* 2008). Los sitios de captura cubrieron la mayor parte del rango de distribución original de *O. hatcheri* (Liotta, 2005). Se incluyó en el análisis, como referencia, una población de *O. bonariensis* proveniente de su área de distribución natural (Laguna San Lorenzo, 36°05'S, 58°01'O, Provincia de Buenos Aires, Figura 2.1).

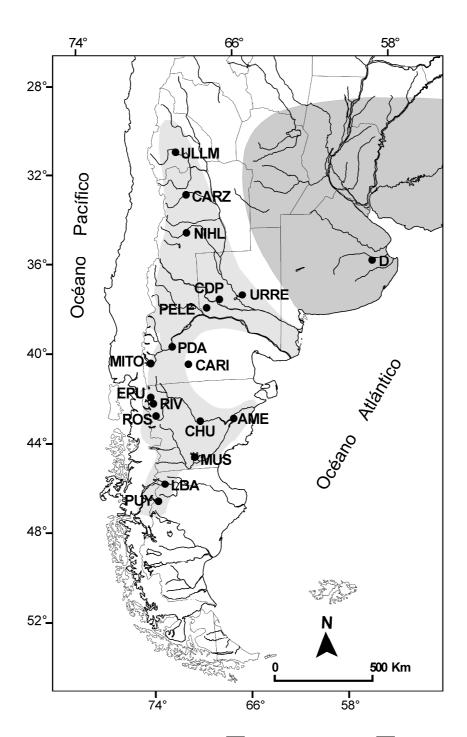


Figura 2.1: Distribución de *O. hatcheri* ( ) y *O. bonariensis* ( ) descripta por Dyer (2006) y sitios de captura de pejerrey en este trabajo: ULLM, Embalse Ullum; CARZ, Embalse Carrizal; NIHL, Embalse Nihüil; D, Lago San Lorenzo; URRE, Lago Urre Lauquen; CDP, Embalse Casa de Piedra; PELE, Lago Pellegrini; PDA, Embalse Piedra del Águila; MITO, Lago Morenito; CARI, Lago Carilafquen; EPU, Lago Epuyén; RIV, Lago Rivadavia; ROS, Lago Rosario; AME, Embalse Florentino Ameghino; CHU, sitio 'Los Altares' en el Río Chubut; MUS, Lago Musters; LBA, Lago Buenos Aires; PUY, Lago Pueyrredón.

# 2.2.2. Obtención del material biológico

Los individuos fueron capturados durante los veranos de 2006, 2007 y 2008 con redes agalleras y de arrastre, tanto en ríos como en el litoral de lagos y embalses (Tabla 2.3). Una vez capturados, fueron inmediatamente muertos con una sobreexposición a anestesia con benzocaína (1:10.000). La identificación específica de los pejerreyes se realizó siguiendo la clave taxonómica de Dyer (2006), basada en caracteres merísticos y morfológicos. Se detallan a continuación los caracteres utilizados para la identificación:

#### O. bonariensis:

- Origen de la primera aleta dorsal posterior a las aletas pélvicas y anterior al (o sobre el) ano.
- Escamas grandes, con menos de 11 hileras de escamas dorsales entre las líneas laterales.
- Más de 30 rastrillos branquiales (32 38) sobre el brazo inferior del primer arco branquial.
- Prognatismo de la mandíbula inferior en especímenes grandes.

# O. hatcheri:

- Origen de la primera aleta dorsal sobre la mitad posterior de las aletas pélvicas.
- Escamas pequeñas, con más de 12 hileras de escamas dorsales entre las líneas laterales.
- Más de 20 rastrillos branquiales (21 27) sobre el brazo inferior del arco branquial.
- Prognatismo de la mandíbula superior y protrusión superior dirigida ventralmente.

Sobre cada individuo se tomaron, en fresco, imágenes digitales del flanco izquierdo. Para minimizar el error de paralaje se utilizó un estativo de sostén para la cámara y ésta se utilizó a máxima altura y perpendicular al plano de la imagen. Se utilizaron palillos y ganchos para mantener al pez lo más recto posible y visualizar puntos de interés, una regla (error: 1 mm) como referencia de escala y luz artificial para eliminar sombras. Los

especímenes siempre fueron ubicados en la misma posición y orientación. Para el análisis genético (citocromo b y microsatélites) se tomaron muestras de músculo de 0.5 cm<sup>3</sup> aproximadamente, que fueron conservadas en etanol 96%.

# 2.2.3. Análisis de morfometría geométrica

En este trabajo se aplicó un conjunto de métodos analíticos y gráficos llamados en conjunto Morfometría Geométrica (MG), que permiten cuantificar y analizar las estructuras morfológicas en distintos niveles; individuos, poblaciones y especies (Rohlf y Marcus, 1993, Riopel & Robinson, 2008), utilizando el paquete de programas TPS (Thin-Plate Spline, www.life.bio.sunysb.edu/morph/index.html). A partir de las imágenes digitales, se realizó un proceso de análisis hasta la obtención de una matriz de forma (*weight matrix*), utilizando en cada paso: TPSUtil, TPSDig v2.10 (Rohlf, 2006), TpsRelw v1.35 (Rohlf, 2003 a) y TPSRegr 1.28 (Rohlf, 2003 b).

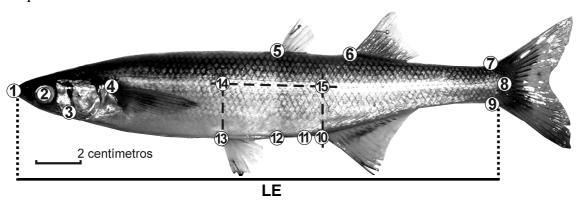
A continuación se describe el proceso de análisis:

- a. Se eligieron 15 puntos homólogos, llamados *landmarks*. Como criterio para la elección de cada *landmark* se consideró una ubicación anatómicamente homóloga entre los ejemplares, que la posición topológica no sea alterada en relación a otros *landmarks* (independencia), que procure una adecuada descripción de la morfología, que pueda ser situado con exactitud y precisión y que se ubique en el mismo plano. Se tuvieron en cuenta los caracteres de la clave taxonómica para especies de pejerrey de Dyer (2006), referidos a las posiciones de las aletas dorsales con respecto a las aletas pélvicas y al ano (*landmarks* 5, 11 y 12) y la descripción de estructura ósea de *O. hatcheri* de Gobbi (1986) (Tabla 2.1. y Figura 2.2.).
- **b.** Se digitalizaron 15 puntos para cada ejemplar (436 imágenes), resultando en un archivo con coordenadas (x, y) de cada *landmark* en cada individuo. El comando *Unbending specimens* fue utilizado para corregir la posición corporal. Para ello se eligieron los *landmarks* 1, 4, 8 y se agregaron dos *semilandmarks* (*landmarks* que no cumplen la condición de independencia), 14 y 15, con los que el programa ajusta una línea recta que corrige la posición del resto de las coordenadas de *landmarks*. Estos *semilandmarks* fueron retirados posteriormente del análisis.

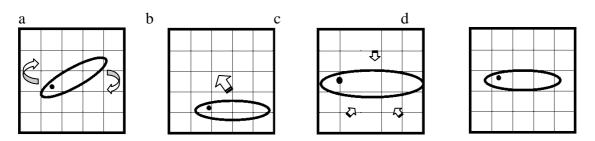
**c.** A través del Análisis Generalizado de Procrustes (Goodall, 1992; Rohlf, 1999) las configuraciones de *landmarks* de cada espécimen se superponen siguiendo el criterio de cuadrados mínimos que minimiza la distancia entre los *landmarks* correspondientes a los efectos de rotación en una orientación dada (Figura 2.3a), traslación a un centro común (Figura 2.3b) y escalamiento a una unidad de tamaño (Figura 2.3c).

Luego de la superposición se analizan las configuraciones de *landmarks* con la forma consenso (o forma promedio) que es la configuración de referencia para detectar diferencias en magnitud y dirección de la forma (Rohlf & Slice, 1990; Rohlf & Marcus, 1993)

**d.** La técnica que fue utilizada en este trabajo (*Thin-plate spline*), propuesta por Bookstein (1989), utiliza funciones de interpolación para describir la ubicación relativa de los puntos en la configuración de la forma consenso con respecto a la forma de interés que se quiere analizar.



**Figura 2.2:** *Landmarks* (13) y *semilandmarks* (14 y 15) aplicados al análisis de morfometría geométrica, indicados sobre una imagen digital de pejerrey. Los números corresponden a los *landmarks* detallados en la Tabla 2.1.



**Figura 2.3:** Análisis Generalizado de Procrustes. a: rotación, b: traslación, c: escalamiento y d: configuración final para la superposición.

**Tabla 2.1.** Definición de los *landmarks* utilizados en el análisis de morfometría geométrica. \* *Semilandmarks*.

Landmark	Definición
1	extremo distal anterior del premaxilar
2	centro del ojo
3	vértice postero-ventral del preopercular
4	extremo anterior de la base de la aleta pectoral
5	extremo anterior de la base de la primera aleta dorsal
6	extremo anterior de la base de la segunda aleta dorsal
7	extremo dorsal de la base de la aleta caudal
8	línea lateral en la base de la aleta caudal
9	extremo ventral de la base de la aleta caudal
10	extremo anterior de la base de la aleta anal
11	ano
12	extremo posterior de la aleta pélvica sobre el cuerpo del pez
13	extremo anterior de la base de la aleta pélvica
14 *	intersección entre línea lateral y la perpendicular que pasa por 12
15 *	intersección entre línea lateral y la perpendicular que pasa por 10

Con los datos de las coordenadas (x, y) de los *landmarks* para cada individuo, se calculó la *weight matrix* o matriz de forma (Rohlf, 1996), con *n* filas correspondiendo a los *n* especímenes y las columnas correspondiendo a la componente uniforme y a la componente no uniforme del cambio en la forma. Los valores de esta matriz fueron utilizados como entrada para los posteriores análisis estadísticos. Éstos se realizaron con el programa SPSS v. 12 y los gráficos con SigmaPlot v. 10.

# 2.2.3.1. Análisis estadísticos

# Análisis de *Relative Warps*

Es un análisis de componentes principales en donde los *Relative Warps* (o componentes principales, CP) permiten visualizar grillas de deformación de cada individuo respecto

de las formas consenso de cada población o de cada población respecto del conjunto de poblaciones y de esta manera se evidencian gráficamente los patrones de variación entre los grupos estudiados (Rohlf, 2003a).

#### Análisis de Agrupamiento (*Cluster Analysis*)

Con el objetivo de agrupar al total de los individuos en base a las variables morfométricas, se realizó un análisis de agrupamiento o *Cluster Analysis* (CA), con el método de centroide (*centroid method*) y ligamiento promedio entre grupos (Wiggerts, T.A. 1997.).

# Análisis discriminante

El análisis discriminante (AD) utilizó la *weight matrix* para probar diferencias entre grupos. Se trabajó en dos niveles de análisis. En el nivel específico, incluyendo el total de los individuos separados en tres grupos: *O. bonariensis*, *O. hatcheri* y presuntos híbridos. En el nivel intraespecífico se asignaron los grupos según los sitios de captura. A partir de este análisis se calculó la probabilidad de pertenencia de cada individuo a los grupos determinados por la clave taxonómica, según los resultados de la MG.

# <u>Regresiones forma – talla</u>

Para evaluar los efectos del tamaño sobre la forma, se utilizó TPSRegr 1.28 (Rohlf, 2003b) y se realizaron regresiones polinomiales entre las funciones discriminantes (FDs) y la longitud estándar (LE). El grado del polinomio fue probado sobre la base del criterio de mayor R<sup>2</sup> y la significancia de los coeficientes de la ecuación.

# 2.2.3.2. Relación de la forma con parámetros ambientales

Se estudió la relación de los parámetros ambientales con la morfometría de los individuos de la especie *O. hatcheri*. En este análisis se descartaron los ambientes en donde se hayaron en forma predominante ejemplares de *O. bonariensis*. Se realizó un análisis multivariado en donde se analizó la regresión de las funciones discriminantes, obtenidas en base al análisis de morfometría geométrica (variables dependientes), versus los parámetros ambientales para cada sitio (variables independientes).

Las variables ambientales utilizadas fueron: Temperatura media del aire en verano (°C, como una estimación de la temperatura del agua superficial en verano, Livingstone &

Lotter, 1998), latitud (°S), longitud (°O), área (km²), perímetro (km), relación perímetro-área (m⁻¹), desarrollo de línea de costa (DLC, Wetzel, 1981), profundidad media (m), altitud (m s.n.m.), conductividad (μS . cm⁻¹), clorofila a (mg . m⁻³), fósforo total (PT, mg . m⁻³), nitrógeno total (NT, mg . m⁻³) y relación NT : PT. La mayoría de estos datos provienen de la base Argentinean Lakes and Reservoirs (ARLARE, Quirós *et al.*, 1988 y Quirós, 1997) y de otros trabajos citados en la Tabla 2.2.

La altitud, área y perímetro fueron obtenidos con el programa Google Earth (www.earth.google.com) y procesados con el programa Image Pro Plus 6.0.

Para el cálculo de DLC, se utilizó la siguiente ecuación (Wetzel, 1981):

DLC = perímetro . 
$$[2 \cdot (\pi \cdot \text{área})^{1/2}]^{-1}$$

Para la elección de las variables se realizó un análisis de correlación y regresiones paso a paso, utilizando la corrección de Bonferroni para comparaciones múltiples.

## 2.2.3.3. Factor de Condición

El factor de condición fue calculado según la expresión matemática dada por Fulton (1902):

Los cambios de condición pueden estar relacionados con la alimentación, la edad, el sexo y ciclo reproductivo y puede emplearse como un indicador de la productividad del medio (Nikolsky, 1963). Para estos cálculos fueron medidos el peso (gramos) y la longitud estándar (centímetros) de cada ejemplar en fresco, luego de la captura.

**Tabla 2.2.** Sitios de captura de pejerrey y parámetros ambientales.

Sitio	área	perímetro	DCL	Profundidad	altitud	conductividad	clorofila a	TN	TP	TNLTD
Siuo	(km <sup>2</sup> )	(km)	DCL	media (m) <sub>1, 2</sub>	(m.s.n.m.)	$(\mu \text{S.cm}^{-1})_3$	$(mg.m^{-3})_1$	$(mg \cdot m^{-3})_1$	$(\mathbf{mg.m}^{-3})_1$	TN:TP <sub>1</sub>
Embalse Ullum	24,07	39,37	2	14	776	550	0,93	1020	17	60
Embalse Carrizal	20,28	53,16	3	12,2	790	1670	4,79	925	12,5	74
Lago San Lorenzo <sup>7</sup>	0,0007	16,3	174	1	3	8450				
Lago Urre Lauquen	62,9	175	6	1,6	230	122100	7,6	2660	38	70
Embalse El Nihüil	97	149	4	4	1325	1692	1,3	1155	17,5	66
Embalse Casa de Piedra	273	201	3	11,1	273	1000	2,04	487	7,8	62,5
Lago Pellegrini	115	74	2	9,4	270	2200	14,07	1675,55	23,4	71,3
Embalse Piedra del Águila	724	1257	13	41,3	590	53				
Lago Morenito <sup>4</sup>	0,3	6,7	3	4,5	760	78	1,2		13	
Lago Carilafquen Chi- ca <sup>5</sup>	5,9	11,3	1	2	821	1000	23,7	1932	30	64,4

Sitio	área	perímetro	DCL	Profundidad	altitud	conductividad	clorofila a	TN	TP	TN:TP <sub>1</sub>
	$(km^2)$	(km)	BCL	media (m) <sub>1, 2</sub>	(m.s.n.m.)	$(\mu \text{S.cm}^{-1})_3$	$(mg.m^{-3})_1$	$(mg \cdot m^{-3})_{1}$	$(\mathbf{mg.m}^{-3})_1$	111111
Lago Epuyén	11,9	27,7	2	92,4	250	64,3	0,16	334,8	1	334,8
Lago Rivadavia	22,7	38,4	2	103,7	527	55	0,35	632,5	2,5	253
Lago Rosario	8	21,36	2	24,9	650		1,76	1547,32	20,2	76,6
Embalse Florentino Ameghino	45	279	12	24,6	169	242	3,67	2751,56	43,4	63,4
Los Altares (Río Chubut)				1,7	269	291				
Lago Musters	417	162	2	20	275	440	4,95	1963,82	29,8	65,9
Lago Buenos Aires <sup>6</sup>	1963	912	6	463	215	80			2,9	
Lago Pueyrredón	315	231	4		156	176				

1 Data base ARLARE (Quirós et al., 1988 y Quirós, 1997)

4 Modenutti et al. (2000)

2 IARH-INCYTH (1995)

5 Diaz & Pedrozo (1996)

- 3 Datos propios
- 6 Díaz et al. (2000)
- 7 Colautti et al. (1998)

# 2.2.4. Análisis genético

Para evaluar la identidad genética de los ejemplares se utilizó el análisis de la secuencia del gen mitocondrial codificante para citocromo b (cit b), una proteína de membrana transportadora de electrones.

Las secuencias de cit b fueron utilizadas como carácter diagnóstico para identificar a las especies. Para ello se utilizó una submuestra de individuos en cada sitio de captura (Tabla 2.3.) y dos especímenes de *O. smitti* obtenidos en una localidad cercana a Puerto Madryn (Argentina, Atlántico Sudoccidental), como *outgroup*. Para las poblaciones que presentaron mayores irregularidades según la clave taxonómica y la morfometría se aumentó el número de ejemplares analizados.

Las tareas de laboratorio se realizaron en forma conjunta con el laboratorio School of Biological Sciences en University of Nebraska-Lincoln, Estados Unidos, a cargo del Dr. Guillermo Orti, en el marco del proyecto "Speciation in Patagonia: establishing sustainable international collaborations in evolution, ecology and conservation biology", National Science Foundation (NSF).

#### 2.2.4.1. Procesamiento del material genético

Se trabajó con fracciones de músculo de pez de 5 mm de lado conservadas en etanol. Se extrajo el ADN mediante el uso de los siguientes *kits* comerciales: Wizard SV Genomic DNA Purification System, Animal Tissues (Promega) y E.Z.N.A. Tissue DNA Kit (Omega). Una vez extraído el ADN, la concentración y calidad de mismo fue evaluada con el uso de un espectrofotómetro (NanoDrop).

Para la amplificación del fragmento a estudiar se utilizó la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) de la siguiente manera. La reacción se realizó en un volumen final de 12 μl en donde había: buffer para PCR 10X, 1,25 μl; MgCl 25 mM, 1,25 μl; dNTPs 0,1 mM, 0,2 μl cada uno; secuencia cebador directo (*primer F*) e inverso (*primer* R) 0,25 mM, 0,3 μl cada uno; Taq ADN polimerasa (Invitrogen), 0,625 unidades y 40 ng de ADN aproximadamente.

Los *primers* que se utilizaron en esta experiencia fueron: GLU31 (Unmack *et al.*, 2009) y Pej15929, diseñado específicamente para pejerreyes (5'-CGGCGTTCGG-TTTACAAGAC-3').

Los ciclos de amplificación en termociclador fueron: inicialización: 94°C, 2 minutos; desnaturalización: 94°C, 30 segundos; unión del cebador – alineamiento: 50,8°C, 30 segundos; extensión – elongación de la cadena: 72°C, 60 segundos; amplificación: repetición desde la desnaturalización 29 veces y elongación final: 72°C, 10 minutos.

Se realizaron electroforesis en geles de agarosa para probar la presencia del fragmento amplificado de ADNmt en los productos de las PCR.

El producto de las PCR fue purificado con el kit ExcelaPure (Edge Biosystems). Las muestras fueron secuenciadas en DNA Sequencing Center en Bringham Young University (BYU), con los mismos *primers* utilizados en las PCR, en un secuenciador automático Applied Biosystems 3730 XL.

#### 2.2.4.2. Análisis de secuencias de ADN mitocondrial

De cada ejemplar se secuenció un fragmento del gen cit b (657 pb), cuya información genética fue posteriormente procesada y alineada con el programa Bioedit (Hall, 1998). Se realizó un dendrograma de Máxima Verosimilitud, utilizando el modelo de evolución HKY+I+G con el programa Treefinder (Jobb, 2008) con 1000 repeticiones *bootstrap*, método estadístico basado en el muestreo con reemplazo repetido al azar, a partir de una muestra original, para generar una colección de nuevas muestras pseudorreplicadas, a partir de las cuales se puede estimar la varianza de muestreo (Abel, 2002).

#### 2.3. Resultados

# 2.3.1. Identificación específica de poblaciones de pejerrey

# 2.3.1.1. Caracteres morfológicos y merísticos

La identificación taxonómica en base a los caracteres morfológicos y merísticos de la clave permitió reconocer a los pejerreyes capturados como *O. bonariensis* y *O. hatcheri*. En la Tabla 2.3. se muestra cada sitio de estudio con el número de ejemplares capturados y su identificación específica. Una situación particular fue la del lago Pellegrini, donde se encontró un grupo de siete individuos que no pudieron ser clasificados mediante el uso de la clave. Estos individuos, a los que consideramos presuntos híbridos, presentaron número de hileras dorsales de escamas correspondientes a *O. hatcheri* y posición de la primera aleta correspondiente a *O. bonariensis* (Tabla 2.4.).

**Tabla 2.3.** Determinación de especies de *Odontesthes* en la Región Andina (Cuyo y Patagonia, *sensu* López, 2008) en base a caracteres de clave (CC), ADN mitocondrial (ADNmt) y CA aplicados a datos de MG. LE: longitud estándar, (n): número de ejemplares empleados para la determinación.

Sitio	Latitud/ Lon- gitud (S/O)	Temp. media del aire en verano (°C) 1	CC (n) <sub>2</sub>	ADNmt (n)	CA aplicado a datos de MG (n) 3	LE (cm) (media - rango)
Laguna Urre Lauquen	38°5'/65°50'	22 - 24	O. bonariensis (6)	O. bonariensis (2), O. hatcheri (4)	O. bonariensis (4), O. hatcheri (1)	12,48 (7,05-16,35)
Embalse Casa de Piedra	38°15'/67°30'	22 - 24	O. bonariensis (1), O. hatcheri (8)	O. bonariensis (1), O. hatcheri (7)	O. bonariensis (1), O. hatcheri (8)	7,75 (3,92-26,58)
Lago Pellegrini	38°41'/67°59'	22 - 24	O. bonariensis (6), O. hatcheri (29), presuntos híbridos (7)	O. bonariensis (5), O. hatcheri (18)	O. bonariensis (6), O. hatcheri (36)	27,51 (22,32-39,40)
Embalse Ullum	31°28'/68°40'	22	O. bonariensis (25)	O. bonariensis (1)	O. bonariensis (25)	8,83 (6,06-14,14)
Embalse El Carrizal	33°20'/68°43'	22	O. bonariensis (30)	O. bonariensis (1)	O. bonariensis (30)	17,00 (13,62-30,90)
Embalse El Nihüil	35°04'/68°45'	22	O. hatcheri (12)	O. bonariensis (2), O. hatcheri (7)	O. hatcheri (12)	7,44 (4,85-9,71)

Sitio	Latitud/ Lon- gitud (S/O)	Temp. media del aire en verano (°C) <sub>1</sub>	CC (n) 2	ADNmt (n)	CA aplicado a datos de MG (n) 3	LE (cm) (media - rango)
Laguna San Lorenzo	36°5'/58° 1'	20 - 22	O. bonariensis (34)	O. bonariensis (2)	O. bonariensis (34)	19,66 (15,54-23,98)
Embalse Florentino Ameghino	43°42'/66°29'	20	O. hatcheri (15)	O. bonariensis (2), O. hatcheri (7)	O. hatcheri (15)	17,75 (13,17-32,90)
Los Altares (Río Chubut)	43°51'/68°48'	18	O. hatcheri (29)	O. hatcheri (11)	O. hatcheri (28)	8,04 (5,15-11,26)
Embalse Piedra del Águila	40° 24'/70° 6'	16 -18	O. hatcheri (30)	Sin datos	O. hatcheri (30)	9,46 (-7,8012,20)
Lago Morenito	41°03'/71°31'	12 - 14	O. hatcheri (27)	O. hatcheri (6)	O. hatcheri (27)	31,37 (21,77-38,00)
Laguna Carilafquen Chica	41°12'/69° 25'	16 - 18	O. hatcheri (24)	O. hatcheri (2)	O. hatcheri (24)	20,93 (14,03-26,70)
Lago Musters	45°28'/69°10'	16 - 18	O. hatcheri (25)	O. hatcheri (11)	O. hatcheri (25)	11,68 (5,70-22,94)
Lago Buenos Aires	46°29'/71°28'	14	O. hatcheri (36)	O. hatcheri (23)	O. hatcheri (36)	17,59 (8,91-27,17)
Laguna Epuyén	42° 27'/71°40'	12 - 14	O. hatcheri (6)	O. hatcheri (11)	O. hatcheri (6)	5,02 (4,14-5,63)
Lago Rivadavia	42°30'/71°45'	12 - 14	O. hatcheri (28)	O. hatcheri (11)	O. hatcheri (28)	7,21 (6,49-7,80)
Lago Rosario	43°15'/71°20'	12 - 14	O. hatcheri (27)	O. hatcheri (3)	O. hatcheri (27)	28,49 (15,91-33,09)
Lago Pueyrredón	47°23'/71°55'	12 - 14	O. hatcheri (29)	O. hatcheri (12)	O. hatcheri (29)	14,15 (9,24-39,05)

<sup>1</sup> Datos del Servicio Meteorológico Nacional (www.smn.gov.ar), temperaturas medias de verano período 1961 – 1990.

<sup>2</sup> AMG: Análisis de Morfometría Geométrica.

<sup>3</sup> Hidronor S.A. (1981).

**Tabla 2.4.** Caracteres taxonómicos de clave aplicados a la identificación de ejemplares de pejerrey del Lago Pellegrini (según Dyer, 2006). En gris oscuro, individuos identificados como *O. hatcheri*; en blanco, *O. bonariensis*. Los casos inciertos se colorearon de gris claro. Se comparó la identificación basada en caracteres taxonómicos con los resultados de las secuencias de ADN mitocondrial.

Inserció	n anterior	de aleta	dorsal					
Sobre aleta pélvica	Más cerca del extremo de la aleta pélvica que del ano	Punto medio entre ano y extremo de aleta pélvica	Sobre el ano	Número de hileras de escamas dorsales entre las líneas laterales	Número de rastrillos branquiales sobre el brazo inferior del primer arco	Prognatis- mo de la mandíbula	Especie, en base a clave taxonómica	Especie, en base a ADN mitocondrial
	X			13	30	superior	O. bonariensis	O. bonariensis
		X		12	29	inferior	O. bonariensis	
		X		13	31	superior	O. bonariensis	O. bonariensis
		X		12	31	no	O. bonariensis	O. bonariensis
			X	12	28	inferior	O. bonariensis	O. bonariensis
			X	13	30	inferior	O. bonariensis	O. bonariensis
X				15	24	no	O. hatcheri	O. hatcheri
X				15	24	superior	O. hatcheri	
X				16	24	superior	O. hatcheri	O. hatcheri
X				16	25	superior	O. hatcheri	O. hatcheri
X				15	25	superior	O. hatcheri	
X				15	23	superior	O. hatcheri	O. hatcheri
X				16	26	superior	O. hatcheri	O. hatcheri
X				15	25	superior	O. hatcheri	O. hatcheri
X				15	23	no	O. hatcheri	O. hatcheri
X				15	23	superior	O. hatcheri	
X				15	24	superior	O. hatcheri	
X				16	24	superior	O. hatcheri	
X				16	25	superior	O. hatcheri	
X				16	25	superior	O. hatcheri	
X				15	24	superior	O. hatcheri	
X				16	26	superior	O. hatcheri	
X				15	24	superior	O. hatcheri	
X				15	22	superior	O. hatcheri	

Inserció	n anterior	de aleta	dorsal	NI				
Sobre aleta pélvica	Más cerca del extremo de la aleta pélvica que del ano	Punto medio entre ano y extremo de aleta pélvica	Sobre el ano	Número de hileras de escamas dorsales entre las líneas laterales	Número de rastrillos branquiales sobre el brazo inferior del primer arco	Prognatis- mo de la mandíbula	Especie, en base a clave taxonómica	Especie, en base a ADN mitocondrial
X				16	25	superior	O. hatcheri	
	X			13	27	no	Presunto híbrido	O. hatcheri
	X			16	24	superior	Presunto híbrido	O. hatcheri
	X			15	23	superior	Presunto híbrido	O. hatcheri
	X			15	23	superior	Presunto híbrido	O. hatcheri
	X			15	25	no	Presunto híbrido	O. hatcheri
	X			16	25	superior	Presunto híbrido	O. hatcheri
	X			15	23	superior	Presunto híbrido	
	X			14	24	superior	Presunto híbrido	
		X		15	22	superior	Presunto híbrido	O. hatcheri
		X		15	24	superior	Presunto híbrido	O. hatcheri
		X		17	24	superior	Presunto híbrido	O. hatcheri
		X		15	25	superior	Presunto híbrido	
		X		16	22	superior	Presunto híbrido	O. hatcheri
		X		17	24	superior	Presunto híbrido	
		X		16	24	superior	Presunto híbrido	
		X		16	25	superior	Presunto híbrido	
		X		15	23	superior	Presunto híbrido	
		X		15	25	superior	Presunto híbrido	
		X		15	23	superior	Presunto híbrido	
		X		16	24	superior	Presunto híbrido	

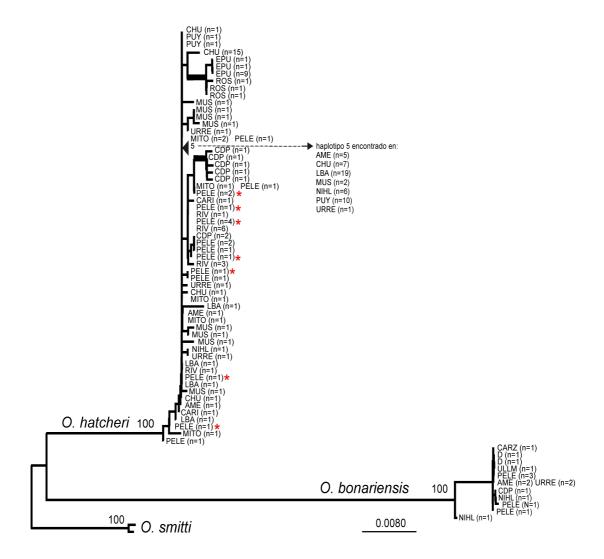
# 2.3.1.2. Identificación específica de los ejemplares en base a la genética mitocondrial

El cladograma de máxima verosimilitud mostró que los ejemplares determinados morfológicamente como *O. bonariensis* o como *O. hatcheri* se agrupan separados, coincidiendo en su mayor parte con la identificación de especies en base a la genética y con la identificación morfológica. Los casos no coincidentes fueron 4 ejemplares del Embalse Urre Lauquen, 2 ejemplares del Embalse Florentino Ameghino y un ejemplar del Embalse Nihüil (Figura 2.4.).

El lago Pellegrini proporcionó pejerreyes de las dos especies pero en los presuntos híbridos, el ADN mitocondrial corresponde al de *O. hatcheri* (Figura 2.4., Tabla 2.4.).

Los grupos monofílicos de cada especie fueron obtenidos con valores de 100% bootstrap.

Se obtuvieron un total de 72 haplotipos, de los cuales el haplotipo 5 fue compartido por 50 individuos (Figura 2.4.).



**Figura 2.4.** Dendrograma de máxima verosimilitud basado en los haplotipos de ADNmt de pejerreyes de la región Andina. *O. hatcheri, O. bonariensis* y *O. smitti*, nombrados según el sitio de captura (Figura 2.1.). El número de ejemplares se indica entre paréntesis. Se agruparon en la misma línea los haplotipos compartidos por más de un ejemplar. Los números en los nodos representan los valores de *bootstrap*. \*: ejemplares identificados como presuntos híbridos (n=7) pertenecientes al lago Pellegrini.

#### 2.3.1.3. Análisis de la morfometría geométrica

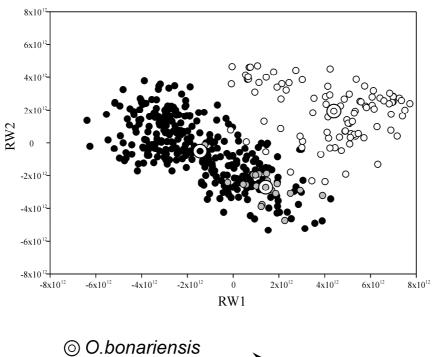
Considerando todos los individuos, los RW 1 y RW 2 explicaron el 64,7% de la variación total (Tabla 2.5.). Las principales diferencias entre los grupos incluyen la posición antero - posterior de las aletas dorsales y pélvicas y la altura corporal (Figura 2.5.).

El AC aplicado a todos los individuos mostró dos grupos principales, uno correspondiente a *O. bonariensis* y el otro incluyendo a *O. hatcheri* y los presuntos híbridos.

El AD entre los tres grupos asignados (*O. hatcheri*, *O. bonariensis* y los presuntos híbridos) mostró dos funciones significativas (Tabla 2.6.) y 89,4% de los casos correctamente agrupados. No obstante, la dependencia de la FD2 con el tamaño corporal, las diferencias entre grupos pueden ser claramente observadas (Figura 2.6). El análisis discriminante muestra, además, una importante variación dentro del grupo identificado por clave como *O. hatcheri*. Los presuntos híbridos encontrados en el lago Pellegrini mostraron un alto nivel de solapamiento con *O. hatcheri* (Figura 2.7). Los mismos datos pero considerados según sitios de captura, muestran una mayor variación para *O. hatcheri* en Carilafquen, Pellegrini, Morenito y Rosario, y para *O. bonariensis* en Pellegrini y Urre Lauquen (Figura 2.8).

En resumen, el análisis taxonómico de pejerreyes de la región Andino Cuyana y Patagónica, mostró la presencia de dos especies (Tabla 2.3.). Siete ambientes presentaron individuos de *O. bonariensis* y 12 ambientes *O. hatcheri*. En tres sitios se mostraron incongruencias en la identificación, considerando los resultados de los caracteres morfométricos de clave y los estudios genéticos. En los 18 sitios de estudio se hallaron:

- sólo individuos de *O. hatcheri*; en el Embalse Piedra del Águila, en los lagos Muster, Buenos Aires, Epuyén, Rivadavia, Rosario, Morenito y Pueyrredón y en la localidad Los Altares, del Río Chubut;
- sólo individuos de O. bonariensis: en Embalses El Carrizal y Ullum;
- ambas especies: en Embalse Casa de Piedra y Lago Pellegrini;
- ejemplares con morfología de *O. hatcheri*, e identificación génica de *O. bonariensis*: en Embalses El Nihüil y Florentino Ameghino;
- ejemplares de morfología *O. bonariensis*, y con identificación génica de *O. hatcheri*: en Lago Urre Lauquen, e
- individuos con caracteres morfológicos de las dos especies, en el Lago Pellegrini.



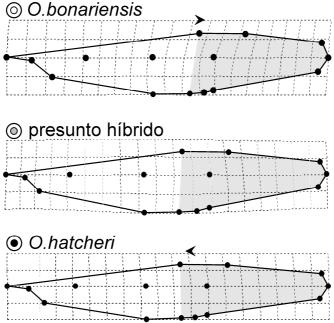


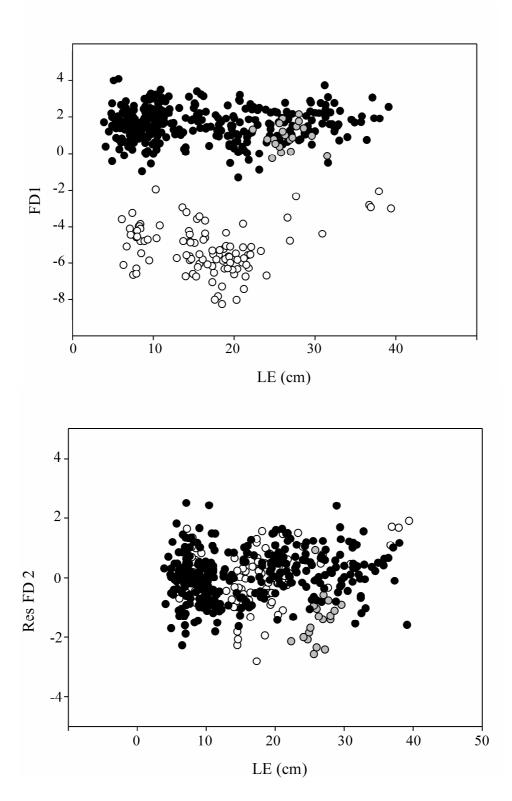
Figura 2.5. AMG aplicado a los individuos de *Odontesthes*. RW2 vs RW1 y grillas de deformación de las formas promedio de *O. bonariensis* (②), *O. hatcheri* (③) y presuntos híbridos (③). Las puntas de flecha indican el desplazamiento de los landmarks en relación con el consenso general. El área sombreada remarca la posición de los *landmarks* 5 (inserción anterior de la primera aleta dorsal) y 12 (extremo distal de la aleta pélvica sobre el cuerpo del pez).

**Tabla 2.5.** Variación explicada por los RW1 y RW2 para los análisis de morfometría geométrica a nivel intra e inter específico.

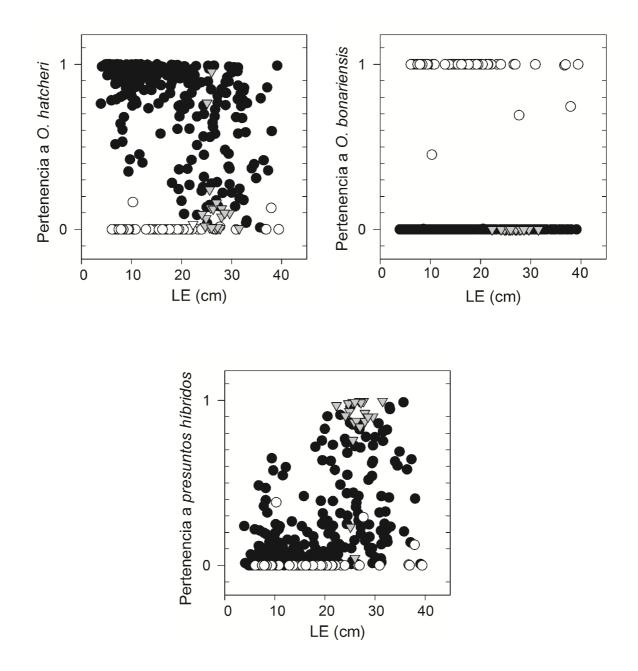
Análisis	n		ción ex- la (%)
		RW1	RW2
Total de pejerreyes capturados	436	48,30	19,92
O. bonariensis	100	46,68	19,69
O. bonariensis del Embalse El Carrizal y de la Laguna San Lorenzo	64	45,69	13,88
O. hatcheri	315	44,81	16,21
O. hatcheri del Lago Pueyrredón y de los embalses El Ni- hüil, Casa de Piedra y Piedra del Águila	79	42,34	19,35

Tabla 2.6. Resultados de los análisis discriminantes.

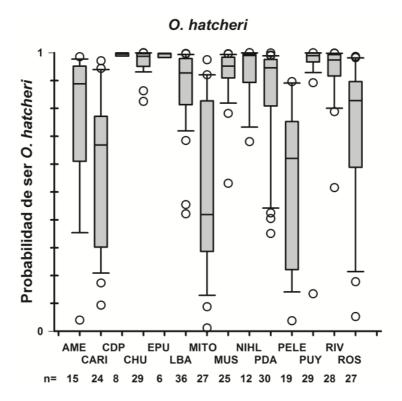
Grupos	n	Casos correcta- mente agrupados (%)	FD	Variación explicada (%)	Correlación canónica	Autovalores	Significación del Lambda de Wilks	Regresión con la talla
O. bonariensis, O. hatcheri y presuntos híbridos (3 grupos)	436	89	1 2	97,5 2,5	0,943 0,411	8,019 0,203	0,000 0,000	0,942 0,000
O. bonariensis, 5 sitios de captura	100	100	1 2 3 4	56,2 33,8 6,9 3,1	0,953 0,925 0,741 0,595	9,894 5,954 1,216 0,549	0,000 0,000 0,000 0,007	0,001 0,002 0,928 0,34
O. hatcheri, 14 sitios de captura	315	90,8	1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11	47,6 14,6 11,1 6,7 5,7 4,4 3,3 2,7 1,6 1,2 0,6	0,944 0,845 0,809 0,731 0,701 0,655 0,602 0,565 0,460 0,406 0,314	8,113 2,491 1,899 1,146 0,966 0,752 0,569 0,469 0,269 0,197 0,110	0,000 0,000 0,000 0,000 0,000 0,000 0,000 0,000 0,000 0,000	0,000 0,443 0,561 0,223 0,003 0,678 0,137 0,628 0,677 0,671 0,827

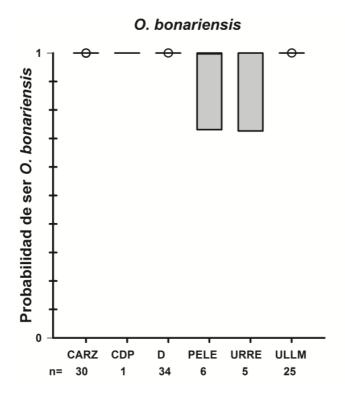


**Figura 2.6.** Diferencias morfométricas entre *O. bonariensis* (○), *O. hatcheri* (●) y presuntos híbridos (○) en base al AD. **Arriba:** FD1 *vs* LE. **Abajo:** residuales de la regresión entre FD2 y LE *vs*. LE.



**Figura 2.7.** Probabilidad de pertenecer, en base a la MG, a alguno de los tres grupos taxonómicos, siendo según clave *O. hatcheri* ( $^{igodot}$ ), *O. bonariensis* ( $^{igodot}$ ) o presunto híbrido ( $^{igodot}$ ).





**Figura 2.8. Arriba:** Probabilidad de ser identificado con MG como *O. hatcheri*, siendo según clave *O. hatcheri*. **Abajo:** Probabilidad de ser identificado como *O. bonariensis*, siendo según clave *O. bonariensis*. Se indican número de peces para cada sitio de captura, media, cuartiles y datos fuera de los percentiles 10 y 90. Ver códigos de sitios de captura en Figura 2.1 o lista de abreviaturas.

#### 2.3.1.3.1. Análisis de morfometría geométrica en poblaciones de O. bonariensis

Sólo un individuo del Embalse Casa de Piedra fue identificado como *O. bonariensis*, y por lo tanto este sitio fue excluido del análisis.

Los RW 1 y 2 explicaron la mayor parte de la variación (66,37%, Tabla 2.5.).

El análisis discriminante produjo cuatro FD significativas, permitiendo separar 5 grupos. FD1 y FD2 dependieron significativamente de la LE (Tabla 2.6).

A pesar de la dependencia de la forma corporal con el tamaño del pez (Regresión, n= 100; r= 0,711; P< 0,001; Análisis TpsRegr; n= 100; P< 0,0001), la FD1 permitió notar diferencias entre la forma corporal de los pejerreyes del Embalse Carrizal y la de la laguna San Lorenzo (Figura 2.9). En efecto, en un segundo análisis sobre estas dos poblaciones, las grillas de deformación mostraron a los pejerreyes del Embalse El Carrizal con pedúnculos caudales levemente más largos que los individuos de la laguna San Lorenzo (Figura 2.9).

Particularmente, los residuales de la FD1 y de la FD2 obtenidos a partir de la regresión con la longitud estándar (LE), mostraron una regresión significativa con el factor de condición (Regresión; n= 100; r= 0,346; P= 0,005 y r= -0,431; P< 0,001; respectivamente).

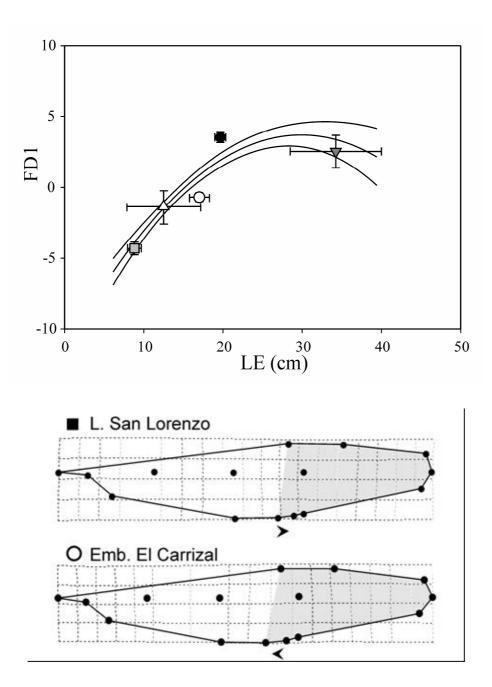


Figura 2.9. Arriba: AMG aplicado a individuos de *O. bonariensis*. DF1 *vs.* LE. Se indican medias e intervalo de confianza del 95% por sitio de captura: Lagos San Lorenzo ( $\blacksquare$ ) y Pellegrini ( $\triangledown$ ) y Embalses Ullum ( $\blacksquare$ ), Carrizal ( $\bigcirc$ ) y Urre Lauquen ( $\triangle$ ). Ajuste a curva cuadrática e intervalo de confianza del 95% (N= 100). **Abajo:** Grillas de deformación correspondientes al análisis de RWs que incluyó al Lago San Lorenzo y al Embalse El Carrizal (ver Tabla 2.5.). Las puntas de flecha indican desplazamientos de los *landmarks* en relación al consenso.

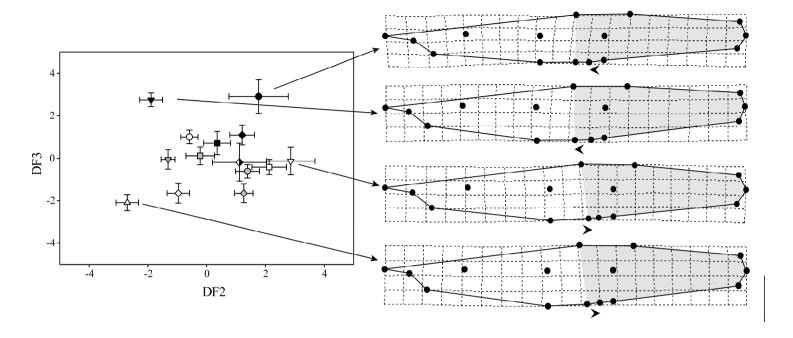
## 2.3.1.3.2. Análisis de morfometría geométrica en poblaciones de O. hatcheri

Los RW1 y RW2 explicaron una alta proporción de la variación total de *O. hatcheri* (Tabla 2.5.).

La relación entre la forma corporal y el tamaño del pez en cada sitio de captura fue significativa y significativamente distinta entre sitios para *O. hatcheri* (Regresión, n= 315; r= 0,886; P< 0,001 y Análisis TpsRegr; n= 315; P< 0,0001).

El análisis discriminante dentro de *O. hatcheri* mostró 11 FD significativas (P< 0,001) para los 14 grupos asignados por sitio de captura (Tabla 2.6.). Solamente la FD1 mostró una dependencia significativa con la talla. El número de FD significativas permitió discriminar 12 de los 14 grupos (Figura 2.10.). Los residuales de la FD1, FD2 y FD4 mostraron una regresión significativa con el factor de condición (Regresión; n= 263; r= -0,265; P< 0,001; r= 0,197; P< 0,001 y r= 0,192; P= 0,002; respectivamente).

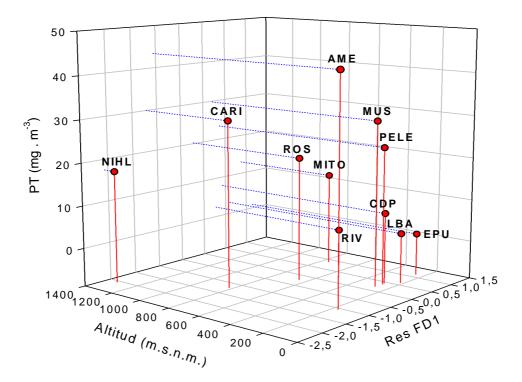
El plano FD3 vs. FD2 mostró diferencias entre las formas corporales correspondientes al Lago Pueyrredón, la localidad tipo de *O. hatcheri* (Ringuelet *et al.*, 1967) y los embalses Piedra del Águila, Casa de Piedra y El Nihüil (Figura 2.10.). En un análisis parcial sobre estas poblaciones, las grillas de deformación mostraron que los individuos de Casa de Piedra tienen menor altura corporal y pedúnculos caudales más largos, con una posición anterior de los *landmarks* relativos al ano, aleta pélvica y aleta anal (10, 11 y 12). Lo opuesto es observado para los individuos del Lago Pueyrredón (Figura 2.10.).



**Figura 2.10.**: AMG aplicado a individuos de *O. hatcheri*. DF3 vs. DF2. Se indican medias e intervalo de confianza del 95% por sitio de captura: NIHL ( $^{\triangleright}$ ), CDP ( $^{\bullet}$ ), PELE ( $^{\square}$ ), PDA ( $^{\blacktriangledown}$ ), MITO ( $^{\bullet}$ ), CARI ( $^{\square}$ ), EPU ( $^{\bullet}$ ), RIV ( $^{\circ}$ ), ROS ( $^{\diamond}$ ), AME ( $^{\square}$ ), CHU ( $^{\diamond}$ ), MUS ( $^{\triangledown}$ ), LBA ( $^{\circ}$ ), y PUY ( $^{\triangle}$ ). Las flechas conducen a las grillas de deformación que corresponden al análisis de RWs de los pejerreyes de Embalse Casa de Piedra (arriba), Piedra del Águila, El Nihüil y del Lago Pueyrredón (abajo). Las puntas de flecha indican desplazamientos de los *landmarks* en relación al consenso. Ver códigos de sitios de captura en Figura 2.1 o lista de abreviaturas.

# 2.3.1.3.3. Relación de la forma con parámetros ambientales

Respecto a los parámetros ambientales de los lagos y embalses (Tabla 2.2.), los residuales de FD1 para *O. hatcheri* mostraron regresiones significativas con las concentraciones de fósforo total y con la altitud (Regresión múltiple; n= 14; r= 0,958; P< 0,005 y P< 0,001, respectivamente, Figura 2.11.).



**Figura 2.11.** Relación entre la concentración de fósforo total (PT, mg . m<sup>-3</sup>), altitud (m.s.n.m.) y la variable morfológica en el grupo de ejemplares identifiados como *O*. *hatcheri* según MG: residuales de la regresión entre la función discriminante 1 y la talla (Res FD1). Ver códigos de sitios de captura en Figura 2.1 o lista de abreviaturas.

El análisis de regresión múltiple también mostró dependencia entre la FD3 para *O. bo-nariensis* y las concentraciones de fósforo total (Regresión; n= 5; r= 0,894; P< 0,041). Sin embargo, estos resultados debieron ser descartados luego de la corrección de Bonferroni.

# CAPÍTULO 3. Análisis del crecimiento de pejerreyes norpatagónicos

#### 3.1. Objetivos particulares

Analizar comparativamente el crecimiento del pejerrey en seis embalses norpatagónicos, sus parámetros y sus distribuciones de talla.

Analizar la condición de los pejerreyes de estos ambientes, la relación longitud-peso y las variaciones temporales del factor de condición.

Determinar la talla promedio de primera madurez y analizar la proporción de sexos en los distintos ambientes.

#### 3.2. Materiales y Métodos

#### 3.2.1. Área de estudio

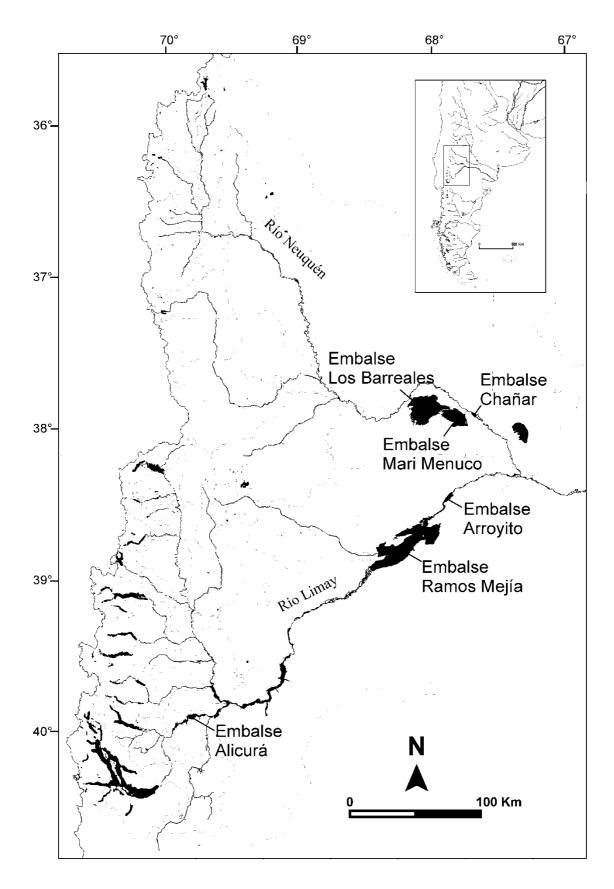
Los ríos Limay y Neuquén son afluentes del río Negro, en un área que se extiende en el norte de la Patagonia desde los 36°15' S hasta los 41°20' S, desde el río Varvarco, afluente del Neuquén, hasta el río Pichileufú, afluente del Limay (Figura 3.1). En esta cuenca fueron construidos una serie de embalses, principalmente para la producción de energía hidroeléctrica (Tabla 3.1).

El embalse Los Barreales es una depresión natural, ubicada en la meseta patagónica y convertida en lago con los aportes del río Neuquén. Desagua hacia el embalse Mari Menuco, junto con el cual conforman el complejo Cerros Colorados, cuya propósito principal es el de generar energía hidroeléctrica, además de la atenuación de las crecidas. Como compensador de caudal se encuentra aguas abajo el embalse El Chañar que regula las descargas provenientes de la central Planicie Banderita y además es utilizado para riego. El área es árida con vegetación característica de estepa. El estado trófico de estos ambientes fue caracterizado como mesotrófico y oligotrófico (IARH-INCYTH, 1995).

El embalse Ramos Mexía, también conocido como el Chocón, se formó a partir del endicamiento del río Limay, con el fin de regular crecidas, aumentar las áreas de riego y producir

energía hidroeléctrica. Se encuentra en una zona desértica de vegetación xerófila y arbustos achaparrados con predominio de clima árido y temperaturas medias anuales entre 12-14°C. Es clasificado como oligo-mesotrófico. El embalse Arroyito fue inaugurado en 1979, aguas abajo de la represa El Chocón, del cual es el dique compensador. Se utiliza para la producción de energía hidroeléctrica y según IARH-INCYTH (1995) su estado es oligotrófico.

El embalse Alicura ubicado en la cuenca del río Limay (40° 40'S, 71° 00' O) fue erigido en el año 1983, también para la producción de energía hidroeléctrica. Se encuentra en la zona de transición entre la estepa y el bosque, con clima semiárido. Las temperaturas en enero tienen un promedio de 18°C, mientras que en julio oscilan en los 4°C. Su estado es oligotrófico. Como fue expuesto anteriormente, en este embalse se desarrolla el cultivo de trucha arco iris, actualmente con una producción de 1000 a 1200 toneladas anuales (Vigliano & Alonso, 2007; Luchini 2009).



**Figura 3.1.** Cuencas de los ríos Limay y Neuquén y los embalses considerados en el presente trabajo.

Tabla 3.1. Parámetros geográficos, morfológicos y físicos de los embalses analizados.

Embalse	Longitud O	Latitud S	Año ini- cio <sup>1</sup>	Área (km²) <sup>1</sup>	Volumen (Hm³)¹	Altitud (m.s.n.m.)	Profundi- dad máxima (m) <sup>1</sup>	Profundi- dad me- dia (m) <sup>1</sup>	Perímetro (km) <sup>1</sup>	Temp.  media de  verano  del aire  (°C) <sup>2</sup>	Temp. media de invierno del aire (°C) <sup>2</sup>
	Cuenca río	Neuquén									
El Chañar	68°24'	38°34'	1980	10,1	34,5	338	7	3,2	-	22	6
Los Barreales	68°50'	38°33'	1977	414	27.700	413	120	67	214	22	6
Mari Menuco	68°34'	38°35'	1980	174	13.800	413	140	80	77	22	6
	Cuenca r	ío Limay			•	l					<u> </u>
Arroyito	68°37	39°08'	1979	39	300	315	15	7,7	69	22	4
Ramos Mejía	68°50'	39°20'	1973	830	20.600	380	60	24,7	565	18	4
Alicura	70°50'	40°35'	1984	67,5	3.270	694	110	48,4	215	14	2

<sup>1.</sup> AIC (Autoridad Interjurisdiccional de las Cuencas de los Ríos Limay, Neuquén y Negro, www.aic.gov.ar/aic/publicaciones.aspx) e Hidronor (1978).

<sup>2.</sup> Servicio Meteorológico Nacional <u>www.smn.gov.ar</u>, temperaturas medias de verano y de invierno, 1961-1990.

Tabla 3.1. Continuación. Parámetros físicos y químicos de 5 de los embalses analizados (Díaz et al., 2007)

Embalse	Disco Secchi (m)	pН	Conductividad (mS/cm)	TP (mg/L)	TN (mg/L)	Na (mg/L)	K (mg/L)	Ca (mg/L)	Mg (mg/L)	SO <sub>4</sub> (mg/L)	HCO <sub>3</sub> (mg/L)	SiO <sub>2</sub> mg/L)	Clorofila a (mg/L)
Los Barreales	1,2	8,3	171,9	15,2	85,2	27,9	13,7	98,9	24,4	186,0	108,6	0,7	1,0
Mari Menuco	6,7	8,2	900,0	10,8	71,9	27,9	13,7	98,9	24,4	186,0	108,6	0,7	0,6
Arroyito	3,5		35,0	13,6	90,8	1,8	1,3	3,3	1,3	1,1	16,3	10,2	1,9
Ramos Mejía	4,0	7,9	58,5	12,6	84,6	4,4	0,8	7,1	2,1	7,0	17,0	5,2	2,0
Alicura	6,7	6,8	31,0	7,2	56,3	1,8	1,3	3,3	1,3	1,1	16,3	10,2	0,7

Los datos de esta tabla fueron tomados de Díaz *et al.* (2007) en base a registros entre 1990 y 2003, tomados en intervalos bimensuales durante el año, o tomados en forma mensual incrementando a quince días en verano.

#### 3.2.2. Obtención de los datos

Como parte de la ejecución de su plan anual de monitoreo ambiental, la Autoridad Interjurisdiccional de Cuencas de los ríos Limay, Neuquén y Negro (AIC) realiza muestreos estacionales de la ictiofauna de los embalses de la cuenca. Pudo disponerse de los datos provenientes de los 6 embalses idicados (Figura 3.1). Estos fueron procesados para el análisis de crecimiento, en el marco de un convenio entre la Universidad Nacional del Comahue y la AIC.

El arte de pesca utilizado en los muestreos fue red agallera. En cada sitio de captura se utilizaron dos baterías de redes, cada una compuesta por 6 paños de 25 m de largo, confeccionados con fibra poliamídica de alta tenacidad (nylon) y con tamaños de malla estirada de 30 (desde el año 2000), 42, 50, 60, 70, 76 y 105 mm.

Las operaciones de pesca fueron de aproximadamente 16 hs de duración, las redes caladas tres horas antes de la puesta de sol e izadas a la mañana siguiente, tres horas después de la salida del sol. Las redes fueron dispuestas en ambientes litorales entre los 2 y 4 metros de profundidad.

Los sitios de captura y la frecuencia de muestreos se detallan en la Tabla 3.2. y el númerototal de peces capturados se indica en la Tabla 3.3. El conjunto de especies de peces capturados fueron identificados siguiendo el criterio de Ringuelet *et al.* (1967) y en el caso de la trucha arco iris se las consideró escapadas de jaula de cría cuando mostraron las aletas pectorales erosionadas.

**Tabla 3.2. a** Sitios de muestreo, fechas de captura y número de ejemplares de pejerrey capturados en los embalses analizados.

		Embalse	Arroyito	Emba	lse Ramos	Mejía
		Arroyito	Cola de	Fernán-	Picún	Pantani-
		Puesto	Embalse	dez	Leufú	tos
1993	diciembre	21	108	61	22	71
1994	febrero	17	89	68	10	25
	abril	91	62	229	222	45
	junio	20	40	15	26	43
	agosto	11	0	2	78	56
	octubre	24	113	131	35	55
1996	abril	3	119	56	8	22
	junio	1	9	0	2	4
	agosto	10	102	2	3	7
	octubre	77	232	1	9	17
	diciembre	70	112	12	0	28
1997	febrero	13	84	44	1	77
	abril	7	58	52	28	1
	junio	1	84	25	0	1
	agosto	1	86	16	41	2
	octubre	47	114	38	2	1
	diciembre	65	126	51	47	3
1998	febrero	27	77	11	4	2
	abril	5	72	17	0	0
	junio	1	108	10	2	13
	agosto	1	97	78	2	8
	octubre	18	216	88	2	9
	diciembre	32	178	164	1	16
1999	febrero	13	167	120	6	3
	abril	26	351	80	48	10
	junio	16	53	11	1	5
	agosto	10	125	3	15	4

		Embalse	Arroyito	Emba	lse Ramo	s Mejía
		Arroyito	Cola de	Fernán-	Picún	Pantani-
		Puesto	Embalse	dez	Leufú	tos
	octubre	79	209	15	12	6
2000	febrero	90			2	
	junio	29			22	
	octubre	123			3	
2001	febrero	146			36	
	junio	4			193	
	octubre	116			41	
2002	febrero	170			26	
	junio	2			44	
	octubre	300			111	
2003	febrero	76			50	
	junio	11			21	
	octubre	105			18	
2004	febrero	34			457	
	junio	12			50	
	octubre	17			110	
2005	febrero	80			13	
	junio	3			15	
	octubre	83			36	
2006	febrero	29			7	
	junio	33			32	
	octubre	49			55	
2007	febrero	26			16	
	junio	4			10	

**Tabla 3.2. b** (**Continuación**). Sitios de muestreo, fechas de captura y número de ejemplares de pejerrey capturados en los embalses analizados.

		Eh	Emb. Ma	ri Menuco	Emb. B	arreales
		Emb. Chañar	Loma la Lata	Canal Aducción	Loma la Lata	Portezue- lo Grande
1994	enero		226		100	
	marzo	177				
1995	enero	151	95	33	1	4
	marzo	193	67	38	0	7
	mayo	149	103	22	0	8
	julio	3	27	4	0	11
	septiembre	39	79	10	5	151
	noviembre	136	161	27	10	6
1996	enero	313	78	22	1	9
	marzo	24	34	24	1	1
	mayo	230	61	8	8	9
	julio	15	27	3	10	15
	septiembre	27	99	36	5	23
	noviembre	81	74	48	4	18
1997	enero	107	106	20	39	25
	marzo	171	13	24	19	0
	mayo	204	76	26	37	30
	julio	13	46	0	22	39
	septiembre	4	180	3	9	1
	noviembre	84	33	30	13	20
1998	enero	183	103	33	5	5
	marzo	102	145	104	15	14
	mayo	35	115	55	4	6
	julio	45	30	20	2	9
	septiembre	16	79	30	1	40

		F	Emb. Mai	ri Menuco	Emb. B	arreales
		Emb. Chañar	Loma la Lata	Canal Aducción	Loma la Lata	Portezue- lo Grande
	noviembre	47	12	31	27	29
1999	enero	81	66	56	9	1
	marzo	50	12	15	3	2
	mayo	166	6	14	1	5
	julio	402	27	24	68	15
	septiembre	31	35	16	17	14
	noviembre	83	174	38	6	5
2000	abril	2	13			16
	octubre	45	85			4
2001	abril	96	123			5
	octubre	67	35			80
2002	abril	45	2			221
	octubre	115	145			129
2003	abril	151	182			17
	octubre	205	175			20

**Tabla 3.2. c** (**Continuación**). Sitios de muestreo, fechas de captura y número de ejemplares de pejerrey capturados en los embalses analizados.

		Embalse Alicura	
		Coloradas	Coloradas
		Boca	Fondo
1993	noviembre	12	37
1994	enero	1	23
	marzo	2	18
	junio	3	44
	agosto	2	25
	septiembre	6	55
	noviembre	15	73
1995	enero	24	42
	abril	6	12
	junio	5	2
	agosto	1	15
	noviembre	14	55
1996	febrero	11	6
	abril	10	21
	junio	0	65
	agosto	0	31
	octubre	40	31
	diciembre	20	49
1997	febrero	25	19
	abril	14	33
	junio	4	14
	agosto	3	41
	octubre	16	54
	diciembre	17	4
1998	febrero	4	18
	abril	3	11

		Embalse Alicura	
		Coloradas	Coloradas
		Boca	Fondo
	junio	10	46
	agosto	0	2
	octubre	2	15
	diciembre	2	4
1999	febrero	2	2
	abril	4	16
	junio	2	8
	agosto	0	30
	octubre	16	18
	diciembre	12	29
2001	enero	0	30
2002	marzo	0	6
2003	marzo	0	31
2004	marzo	0	51
2005	marzo	1	10
2006	marzo	0	6
2007	marzo	0	12

#### 3.2.3. Caracterización de la ictiofauna de los embalses

Se calcularon las abundancias relativas anuales de las especies en cada embalse.

#### 3.2.4. Estructura de tallas

A partir de los datos de longitud total (LT) medida en milímetros desde el extremo anterior del ocico hasta el extremo posterior, en la hendidura de la aleta caudal, se construyeron histogramas de talla con intervalos de clase de 5, 10 y 20 mm.

Como estimador del tamaño de intervalo se empleó la siguiente fórmula (Scott, 1979):

$$h = 3.5 \cdot DS \over n^{1/3}$$
 con h: ancho de intervalo; DS: desvío estandar y n: tamaño poblacional

Para el reconocimiento de clases anuales en cada embalse se empleó el método de Bhattacharya (1967) aplicando el programa FISAT sobre las frecuencias de talla de las capturas de verano.

Dado que la frecuencia de muestreos cambió (Tabla 3.2.), las estructuras de tallas fueron elaboradas a partir del conjunto de datos de todas las capturas y a partir de las capturas de febrero, marzo o abril, solamente. A fin de probar si estos datos son representativos del total, las distribuciones de frecuencias de verano y totales fueron contrastadas para cada ambiente a través de la prueba de Kolmogorov-Smirnov (K-S) para dos muestras y la prueba U de Mann Whitney (M-W). Como se explicará más adelante, para la estimación de parámetros de crecimiento se utilizaron los datos de frecuencias de tallas de las capturas de verano.

#### 3.2.5. Análisis de parámetros de crecimiento

El crecimiento se analizó en base al modelo de von Bertalanffy. El estudio se realizó en dos escalas: entre ambientes a partir de los datos de capturas anuales correspondientes a los meses de febrero, marzo o abril, y dentro de cada ambiente, a lo largo del tiempo, en base a intervalos de dos años, cada uno con datos de los mismos meses de capturas.

# 3.2.5.1. Modelo de crecimiento de von Bertalanffy

El modelo de von Bertalanffy (1938) se ajusta a la mayoría de los datos de crecimiento de peces y puede aplicarse para evaluación de stocks pesqueros y poblaciones naturales (Gulland, 1971) (Figura 3.2). La ecuación de von Bertalanffy (EVB) expresa la talla del pez como una función de la edad,

$$L_t = L_{\infty} \cdot [1 - e^{-K(t-t_{\circ})}]$$

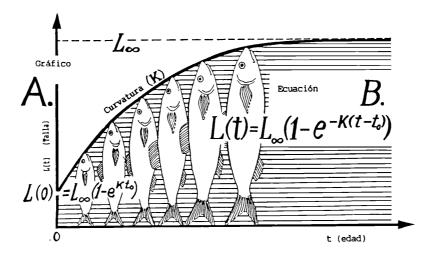
donde:

 $L_t$ : longitud del pez a la edad t;

 $L_{\infty}$ : longitud asintótica, corresponde al tamaño medio que pueden alcanzar los peces más viejos o de edad hipotética máxima;

K: coeficiente de crecimiento o parámetro de curvatura;

 $t_o$ : edad correspondiente a una longitud teórica 0.



**Figura 3.2.** Modelo matemático de crecimiento de von Bertalanffy. Diagrama tomado de Sparre & Venema (1997).

# 3.2.5.2. Estimación de los parámetros de crecimiento $L_{\infty}$ , K y $t_0$

A partir de la longitud total de los pejerreyes se calcularon en cada captura las frecuencias de tallas con el tamaño de intervalo anteriormente estimado por la regla de Scott (1979). Los intervalos de 25 y 50 mm fueron descartados ya que mostraron menores ajustes.

Los métodos utilizados para las estimaciones fueron el método de Shepherd (SLCA, Shepherd, 1987; Isaac, 1990; Pauly & Arreguin-Sanchez, 1995), el método ELEFAN (Pauly & David, 1981 y Pauly, 1982, 1987) y una combinación del método de Powell-Whetherall (Powell, 1979; Wetherall, 1986; Wetherall *et al.*, 1987) con el de SLCA. Cada método busca estimar los valores de K y L∞ de la EVB. Una función de puntuación mide la bondad del ajuste alcanzado para cada combinación de estos parámetros. El criterio de selección de los parámetros es aquél que maximiza la bondad de ajuste de manera que permite identificar la curva de crecimiento que mejor explica la tendencia de las distribuciones de tallas.

# Método de Powell-Whetherall (P-W)

Este método utiliza una regresión lineal basada en una relación algebraica:

$$\bar{L}$$
- $L' = a + b \cdot L'$ 

donde,

L: promedio de la longitud de los peces mayores a L' en la muestra

L': longitud mínima a la que los peces son completamente reclutados

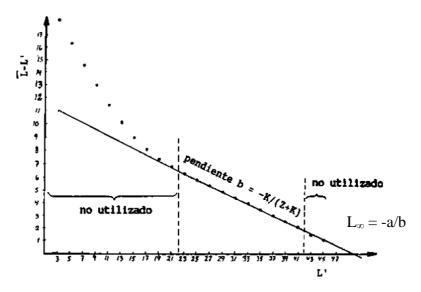
a: intercepto en x.

b: pendiente

Representando gráficamente  $\bar{L}$ -L' respecto de L', se obtiene una regresión lineal con la que se puede estimar Z/K (con pendiente -K/(Z+K) y  $L_{\infty}$  (en el intercepto de x) (Figura 3.3.).

$$b = -1 \mathrel{/} (1 + Z \mathrel{/} K) \hspace{1cm} L_{\infty} = -a/b \cdot \hspace{1cm} Z = -a \mathrel{.} K \mathrel{/} b$$

Este método asume que la población está en equilibrio estable, con un reclutamiento continuo y constante y una mortalidad constante y que el crecimiento sigue al descripto por EVB.



**Figura 3.3.** Estimación del parámetro  $L_{\infty}$  según el método de Powell-Whetherall. Tomado de Sparre & Venema (1997).

En la estimación de  $L_{\infty}$  se descartan los intervalos de tallas más pequeños y las tallas mayores. Los primeros porque no están representados en las capturas, ya que se estima que escapan más del 50% debido al arte pesca utilizado, y las tallas mayores, ya que podrían estar sobre explotadas por el arte de pesca (en el caso de redes de arrastre) y estos individuos más longevos y de tamaño cercano a  $L_{\infty}$  harían incierta la estimación.

Dado que los resultados obtenidos con el método P-W dependen de las clases de tallas incluidas en la regresión, fueron utilizados sólo los puntos que pertenecen a la parte derecha de la moda de la distribución principal que dispone la opción "Pseudocatch curve" en FISAT I, comenzando con el punto correspondiente a la misma moda (Figuras 3.8. y 3.9.).

## Método ELEFAN (Electronic Length-Frequency Analysis)

Este método desarrollado por Pauly & David (1981) y Pauly (1982) estima parámetros de crecimiento mediante un análisis realizado en dos etapas:

Reestructuración de las frecuencias de tallas. Los datos de frecuencias se reordenan de manera de obtener "promedios móviles" obtenidos en base al promedio de un grupo de frecuencias y así se obtiene una nueva distribución de frecuencias en donde se destacan los promedios de frecuencias altas (graficados sobre el nivel del promedio móvil, con

valores positivos) y los promedios de frecuencias bajas (graficados por debajo del nivel promedio con valores negativos).

El ajuste de la curva de crecimiento. El método ELEFAN construye curvas de crecimiento a través de iteraciones, seleccionando la curva con el valor más alto del índice de bondad de ajuste según los valores de Rn:

$$Rn = 10^{ESP/ASP}.10^{-1}$$

que varía entre 0 y 1, donde,

ESP: Suma de Máximos Explicada, suma de los valores positivos y negativos de todas las modas por donde la curva de crecimiento pasa.

ASP: Suma de Máximos Disponibles, es la suma de los valores positivos de los picos por donde pasa la curva.

## Método de Shepherd o SLCA (Shepherd's Length Composition Analysis)

Este método se basa en la detección de picos y valles en las distribuciones de frecuencias de tallas para la estimación de los parámetros de crecimiento (Shepherd, 1987). A partir de valores iniciales de K y  $L_{\infty}$ , el SLCA maximiza una función de bondad de ajuste.

El criterio de decisión del mejor ajuste es obtenido a través de la función S, calculada para cada muestra como:

$$S = \Sigma T_L$$
.  $N_L^{1/2}$ 

donde  $N_L$  es el número de cada clase de talla y  $T_L$  se define para cada clase de talla L, como:

$$T_L = sen(\pi.Q)^{-1} \cdot Q \cdot cos\pi(t-t_1)$$

con Q= t<sub>max L</sub>- t<sub>min L</sub> para la clase de talla L

S es una función periódica de  $t_0$ , de tal manera que  $S_A$ , es el valor de S cuando  $t_0 = 0$  y  $S_B$ , es S cuando  $t_0 = 0,25$ . Entonces el máximo de la función de puntuación S, por encima de  $t_0$ , está dada por:

$$S_{\text{máx}} = (S_A^2 + S_B^2)^{1/2}$$

Para cada par de valores de  $L_{\infty}$  y K,  $t_0$  puede ser expresado como:

$$t_0\!=\!arctan\;(S_{A_-}S_{B_-}^{-1})$$
 .  $(2.\pi)^{\!-1}$ 

#### 3.2.5.3. Procedimiento de análisis

La secuencia de pasos que se siguió con cada método para la estimación de parámetros de crecimiento fue la siguiente:

### Procedimiento en base al método P-W y SLCA

Para la aplicación del método P-W y SLCA se utilizó el programa FISAT II (Gayanilo *et al.* (1996); http://www.fao.org/fishery/topic/16072).

Se estimó gráficamente el  $L_{\infty}$  con el método de Powell-Wetherall, seleccionando las tallas intermedias.

Se calculó el valor de K con el método de Shepherd utilizando el valor de  $L_{\infty}$  obtenido en el paso 1), mediante la rutina de búsqueda de la opción "K scan" en FISAT II.

Se buscó la combinación de los valores de K y  $L_{\infty}$  que representara el mejor ajuste, a través de la opción de búsqueda de "Superficie de respuesta" del FISAT II. Se fijó el valor de K obtenido en 2), y se seleccionó el valor de  $L_{\infty}$  que mostró el mejor ajuste y luego se procedió de igual forma pero con el valor de  $L_{\infty}$  como fijo, obteniéndose  $L_{\infty}2$  y K2.

Para valores de  $L_{\infty}2$  y K2 distintos a  $L_{\infty}$  y K iniciales, se repitieron los pasos 2 y 3 considerando  $L_{\infty}2$  como el  $L_{\infty}$  inicial, hasta que la longitud asintótica fue igual en ambas rutinas.

### Procedimiento en base al método de SLCA

Para la aplicación del método SLCA se utilizó el programa LFDA v.5 (Length Frequency Data Analysis, UK Department for International Development, http://www.fmsp.org.uk/Software.htm).

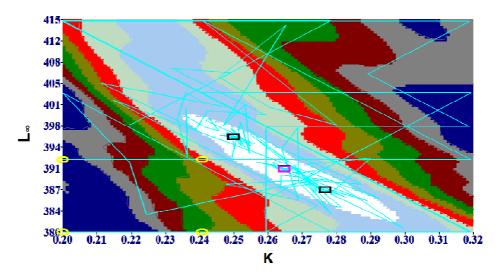
Se especificaron los rangos de entrada para los valores de  $L_{\infty}$  (300 – 600) y para K (0,05 - 1).

Para determinar los parámetros de crecimiento se utilizó la opción de maximización que a través de un proceso de búsqueda selecciona la mejor combinación  $K-L_{\infty}$ , sobre el

gráfico en dos dimensiones de las puntuaciones de ajuste (gráfico de contornos, Figura 3.4.).

En base a esta primera aproximación, a partir de las subregiones que mostraron los mayores ajustes del gráfico de contorno, se redujo el área de búsqueda con un segundo rango de entrada más acotado de K y  $L_{\infty}$  para la estimación de estos parámetros.

Luego se procedió de igual forma que en 2), hasta obtener los mejores valores de los parámetros.



**Figura 3.4.** Método de maximización sobre el gráfico de contorno. A partir de 4 puntos iniciales (en amarillo) de búsqueda (líneas celestes) se convergen en puntos (negros y rosa) que indican máximos locales en la cresta principal. El cuadro rosa identifica la mejor combinación de ajuste y los valores de K  $L_{\infty}$ .

### Procedimiento en base al método de ELEFAN

Ídem método SLCA.

# 3.2.5.4. Índice del desempeño del crecimiento (φ')

El índice del desempeño del crecimiento también llamado índice de performance e índice φ' propuesto por Pauly & Munro (1984) se define con la siguiente ecuación:

$$\phi' = \text{Log } K + 2 \cdot \text{Log } L_{\infty}$$

Capítulo 3

Dada la correlación existente entre K y  $L_{\infty}$ , el índice  $\phi$ ' puede aportar información útil en cuanto a análisis comparativos (Sparre & Venema, 1997), de una misma especie en diferentes áreas o en relación con otras. Dado que  $L_{\infty}$  tiene unidades de tamaño y K tiene unidades de tiempo  $^{-1}$ , el índice  $\phi$ ', resulta en unidades de tamaño . tiempo  $^{-1}$ , es decir, equivale a una tasa de crecimiento.

Se realizaron análisis comparativos con los valores del índice  $\phi$ ' estimados en este trabajo y con los calculados por otros autores (Tabla 3.8.).

Y por otra parte se probaron las tendencias en el tiempo de los valores de este índice calculado para intervalos de tiempo de dos años para cada embalse.

## 3.2.6. Análisis del estado de condición de pejerreyes

## 3.2.6.1. Relación Largo-Peso

La relación entre el peso y la longitud de los peces, según la ecuación descripta por Ricker (1975), se define como:

Peso = 
$$a$$
. Longitud  $b$ 

En este estudio se obtuvieron las relaciones largo-peso para los pejerreyes de cada embalse y las diferencias de esta relación entre sexos se probaron mediante un análisis de covarianza. Los parámetros de la ecuación y sus intervalos de confianza (95%) fueron estimados para cada embalse a partir de la regresión del peso (g) y la longitud total (mm) trasformados a logaritmo natural, según la ecuación:

$$Ln Peso = Ln a + b . Ln Longitud$$

Valores de b no significativamente distintos de 3 (contenidos por el intervalo de confianza del 95%) muestran un crecimiento isométrico, mientras que valores mayores o menores a 3 (fuera del intervalo) muestran un crecimiento alométrico.

## 3.2.6.2. Factor de condición

Calculado con la fórmula indicada en la sección 2.2.3.2. pág. 30:

Factor de condición = Peso (gr) . Longitud (cm)
$$^{-3}$$
 . 100

Se probaron diferencias en los valores del factor de condición entre ambientes y se probó la influencia de los estadios reproductivos sobre este índice por medio de un ANOVA y contrates de Tukey. Se aplicaron pruebas de Kruskal-Wallis (K-W) y contrastes de Dunn en los casos en que los supuestos de homocedasticidad y normalidad no se cumplieron. Se evitó la dependencia con la talla, utilizando los residuales no estandarizados de la regresión entre el factor de condición y la longitud.

Las diferencias entre machos y hembras fueron probadas para cada ambiente mediante ANOVA o prueba de Mann-Whitney (M-W), en los casos en que no se cumplieron los supuestos de homocedasticidad y normalidad.

La escala de madurez gonadal propuesta por Calvo & Dadone (1972), en donde se describen siete estadios reproductivos ha sido utilizada en *O. bonariensis* (Barros 1999 y Barros & Iwaszkiw, 2006) y *O. hatcheri* (Dománico, 2006; Dománico & Freyre, 2008).

En la base de datos del monitoreo, los estadios de madurez gonadal fueron determinados siguiendo observaciones macroscópicas, utilizando dos escalas, una para el período 1993 – 1999, con estadios de 1 al 4 (juveniles, en maduración, puesta y postpuesta (y regresión), respectivamente) y para el período 2000 – 2007 con estadios 1 a 6: juvenil, en preparación, en maduración, prepuesta, puesta y postpuesta, respectivamente. Considerando los datos provistos por la AIC, en este trabajo se emplearon 4 estadios gonadales, en donde: la freza o puesta correspondió a los estadios 3 y 5 de cada escala, respectivamente. Para los análisis en relación al factor de condición, las escalas debieron ser igualadas resultando los estadios 2, 3 y 4 de la escala 1 a 6, en el estadio 2 de la escala 1-4, el estadio 5 en el estadio 3 y el estadio 6 en el estadio 4.

# 3.2.7. Proporción de sexos

Se calculó la razón hembras *vs* machos y los intervalos de confianza (95%) en base a los datos de cada captura.

#### 3.2.8. Talla Promedio de Primera Madurez

La estimación de la talla promedio de primera madurez (TPM) se realizó en base a la ecuación logística de Verhulst (Verhulst, 1838) que describe un modelo de crecimiento poblacional, utilizado en estudios previos con *O. bonariensis* (Barros *et al.*, 2004).

En el cálculo de TPM se consideraron solamente las hembras por ser sus gónadas las que mejor evidencian los cambios del estado reproductivo. En cada ambiente se reunieron todas las capturas, se seleccionaron las hembras y se las agrupó en intervalos de talla de 10 mm. Para cada intervalo se calculó el porcentaje de hembras maduras o que presentaban signos de madurez gonadal (estadio en maduración, predesove, maduro o desovante y postdesove) en relación a las hembras totales (maduras + juveniles y en preparación). Se graficó la proporción de hembras maduras en cada intervalo de talla versus la longitud media del intervalo (L<sub>T</sub>, mm) y los datos se ajustaron al modelo logístico con la siguiente ecuación:

$$M = 1 \cdot (1 + e^{-(L_T - L_o)} \cdot r^{-1})^{-1}$$

donde,

M = proporción de hembras sexualmente maduras en cada intervalo de talla

 $L_T$  = longitud media de cada intervalo de talla medida en longitud total de los individuos (mm)

L<sub>0</sub>= talla promedio de madurez o TPM (mm)

r= rango de tallas (mm)

A través de esta ecuación se estimó  $L_0$ , la talla promedio de madurez (o TPM) que correspondió al 50% de las hembras sexualmente maduras, cuando M=0,5.

Además se obtuvo el valor de r, que es el rango de longitudes entre  $L_o$  y la talla que corresponde a M=0.25 o entre  $L_o$  y la talla correspondiente a M=0.75. Este valor es útil para fines comparativos como medida de la amplitud de tallas en donde se produce el cambio hacia la madurez.

En cada ajuste se adicionaron tres puntos iniciales al set de datos, con M = 0,001 en los intervalos de 40, 45 y 50 mm.

#### 3.3. Resultados

#### 3.3.1. Caracterización de la ictiofauna de los embalses

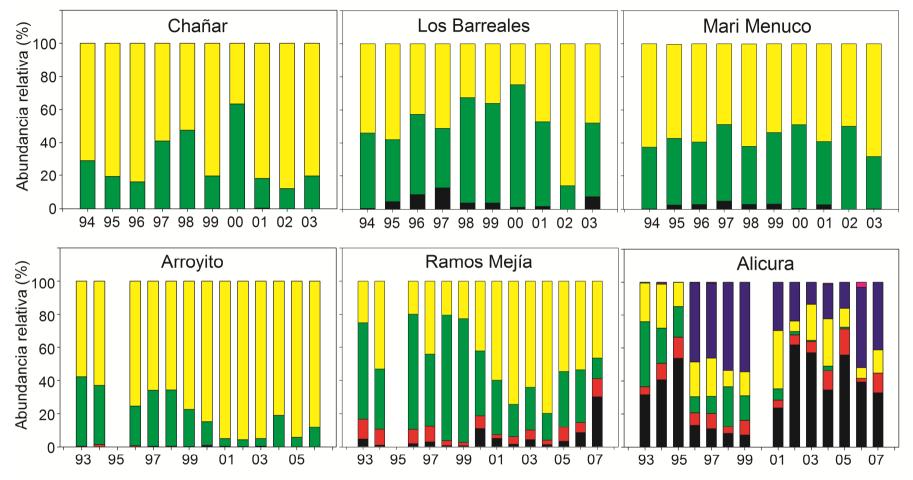
Las abundancias relativas de las especies mostraron distintos ensambles de peces en los ambientes considerados. Las especies predominantes fueron la perca y el pejerrey a excepción del embalse Alicura, que mostró tener mayor proporción de salmónidos y mayor número de especies. En este ambiente la trucha arco iris fue la especie predominante, encontrándose en las capturas truchas silvestres y truchas escapadas de las pisciculturas. El salmón encerrado (*Salmo salar*) y el bagre otuno (*Diplomystes viedmensis*) también se encontraron presentes en este ambiente (Figura 3.5).

Las abundancias relativas de pejerrey fueron mayores en los embalses Arroyito, El Chañar y Mari Menuco. La proporción de percas fue mayor en las capturas del embalse Los Barreales. La trucha marrón (*S. trutta*) fue capturada en el embalse Ramos Mejía y Alicura y en menor medida en el embalse Arroyito.

Fueron identificados sólo tres ejemplares de *O. bonariensis*, en el embalse Mari Menuco, del total capturado en los seis ambientes. El resto de los pejerreyes fueron identificados como *O. hatcheri*.

**Tabla 3.3.** Número total de peces capturados por año por la AIC en la zona litoral de cada embalse.

Año	El Chañar	Los Ba- rreales	Mari Me- nuco	Arroyito	Ramos Mejía	Alicura
1993				223	611	208
1994	249	187	359	743	1975	1004
1995	832	350	1172			1206
1996	822	244	858	973	851	1351
1997	987	496	1140	1043	974	1058
1998	813	478	1218	1267	2089	1206
1999	1010	405	899	1355	1486	1003
2000	128	81	198	282	64	
2001	199	184	257	283	453	85
2002	182	409	295	493	243	97
2003	442	77	523	202	139	142
2004				79	773	179
2005				175	117	95
2006				126	176	89
2007				33	56	85



**Figura 3.5.** Abundancias relativas (%) de las especies capturadas por año en la zona litoral de los embalses indicados. Ver número total de individuos capturados en Tabla 3.3. ■: trucha arco iris, ■: trucha marrón, □: perca, □: pejerrey, ■: trucha escapada de criadero, □: salmón encerrado, □: bagre otuno.

#### 3.3.2. Análisis de la estructura de tallas de Odontesthes hatcheri

Las tallas de los individuos analizados se encontraron entre 130 y 441 mm. Su abundancia relativa en cada sitio puede observarse en las Figuras 3.6. y 3.7. Con la fórmula de Scott (1979) se calcularon los valores de ancho de intervalo (h) en base a los tres intervalos empleados previamente, resultando:

$$h_{5mm} = 9,49 (\pm 3,02) \text{ mm}$$
  $h_{10mm} = 10,95 (\pm 4,38) \text{ mm}$   $h_{20mm} = 12,05 (\pm 6,37) \text{ mm}$ 

Por lo que se seleccionó el ancho de intervalo de 10 mm como el más apropiado para el análisis de las distribuciones de frecuencias de tallas.

Las clases modales discriminadas para cada ambiente en base al método de Bhattacharya (1967) pueden observarse en la Tabla 3.4.

## **Embalse Chañar**

La composición de tallas de los pejerreyes capturados en el litoral del embalse Chañar no presentó diferencias significativas entre las capturas de verano y las totales (K-S; P = 0,982 y M-W; P = 0,921).

Los grupos de tallas en este ambiente parecen estar solapados, y solo pudo diferenciarse una moda principal con una talla media de 253 (±30) mm (Figura 3.6).

#### **Embalse Los Barreales**

Los histogramas construidos en base a las capturas de verano y a las capturas totales no mostraron diferencias significativas (K-S; P = 0.715 y M-W; P = 0.552). En este ambiente se evidencian tres grupos de tallas, con longitudes de 156 ( $\pm 10.86$ ); 213 ( $\pm 15.61$ ) y 246 ( $\pm 15.1$ ) mm (Figura 3.6).

#### **Embalse Mari Menuco**

El histograma construido con las capturas totales no mostró diferencias significativas con respecto a la distribución de tallas de verano (K-S; P = 0.715 y M-W; P = 0.587). La composición de tallas de este embalse muestra un grupo de tallas menores, con una moda en 148 ( $\pm 7.37$ ) mm, y otro grupo de mayor frecuencia de casos en 249 ( $\pm 25.6$ ) mm (Figura 3.6).

# **Embalse Arroyito**

En este caso se distingue un grupo de tallas con una moda de menor frecuencia con 156 (9,46) mm y otro grupo de mayor frecuencia con tallas de 284 (±40,3) mm. Este último parece contener por su tamaño y forma, más de un grupo de tallas solapadas (Figura 3.7).

Las estructuras de tallas del embalse Arroyito fueron semejantes tanto en el verano como en el total de las capturas agrupadas de pejerrey (K-S; P = 0.888 y M-W; P = 0.892).

# Embalse Ramos Mejía

La estructura de tallas de este embalse también muestra dos grupos principales de tamaño (Figura 3.7), uno de baja frecuencia de casos (n=30) con 167 ( $\pm$ 10,27) mm y el otro más abundante de 256 ( $\pm$ 24,38) mm, no mostrando diferencias entre las distribuciones de las capturas totales y las capturas de verano (K-S; P = 0,982 y M-W; P = 0,739).

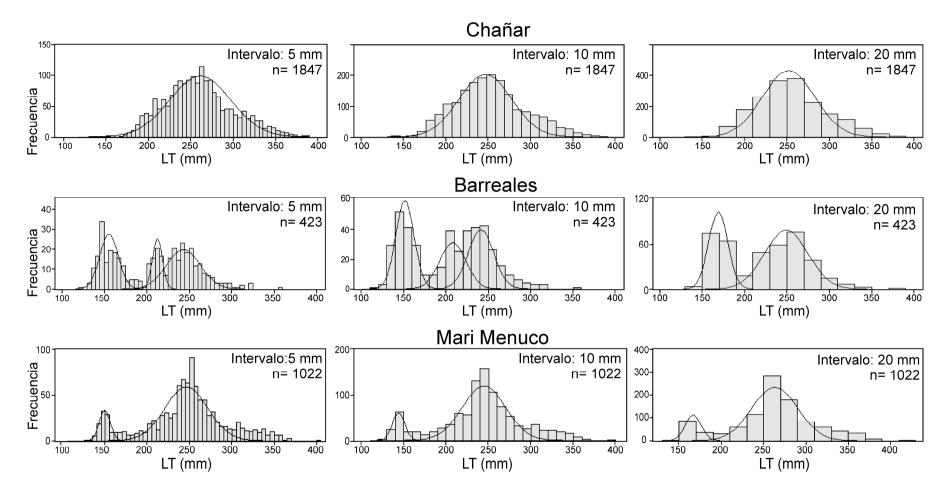
## **Embalse Alicura**

En este ambiente se pudieron observar cuatro grupos de tallas más evidentemente diferenciados que en los demás embalses, con tallas medias de 225 ( $\pm$ 15,21); 289 ( $\pm$ 14,64); 344 ( $\pm$ 26,28); y 436 ( $\pm$ 11,55) mm (Figura 3.7).

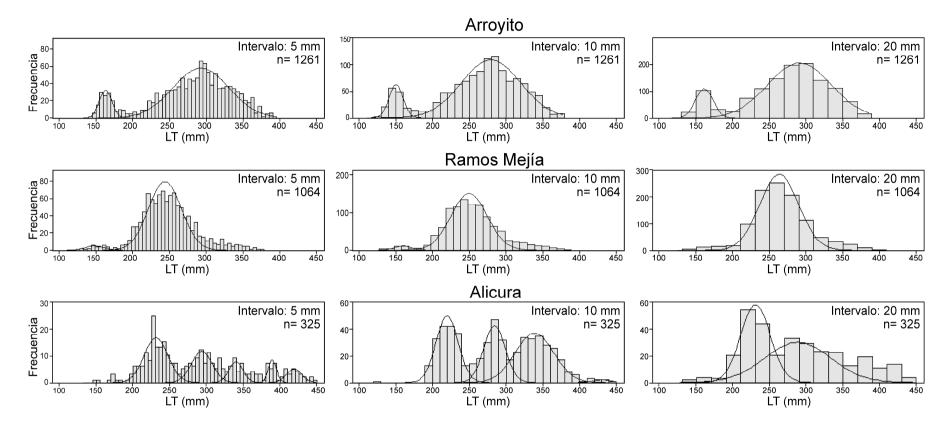
La composición de tallas de verano no fue diferente de la composición de tallas en este embalse (K-S; P = 0,982 y M-W; P = 0,740).

**Tabla 3.4.** Grupos anuales de los embalses analizados en base al método de Bhattacharya. Valores de longitud media (mm), desvío estándar (DS) y tamaño poblacional (n). Se resaltan en negrita los valores estimados en base a las frecuencias en intervalos de 10 mm seleccionados Scott (1979).

			5 mm			10 mm			20 mm	
Sitio	Grupo	Longitud media	DS	n	Longitud media	DS	n	Longitud media	DS	n
Chañar	1	263,48	36,01	1772	253,38	30,38	1535	251,92	30,79	1674
	1	158,32	11,03	151	156,58	10,86	153	169,1	11,37	152
Los Barreales	2	215,17	5,82	76	213,06	15,61	115	249,27	25,68	262
	3	245,31	20,77	208	246,33	15,10	143			
Mai Manuas	1	152,15	6,51	110	148,98	7,37	110	166,37	9,34	134
Mai Menuco	2	248,56	25,4	754	249,5	25,6	<b>756</b>	263,07	27,06	797
Amazita	1	165,51	8,72	140	154,92	9,46	150	161,22	12,16	168
Arroyito	2	294,99	38,16	1103	284,38	40,3	1113	291,22	43,37	1129
D M	1	152,5	12,82	33	166,8	10,27	30	263,01	26,61	955
Ramos Mejía	2	247,84	22,42	897	256,45	24,38	915			
								•		
	1	296	16,22	132	225	15,21	189	230,33	20,36	152
	2	295,7	14,19	81	289,4	14,64	157	287,97	45,26	176
Alicura	3	342,05	9,75	37	343,7	26,28	244	,	•	
	4	391,53	5,57	23	435,92	11,55	6			
	5	421,25	10,54	26		,	J			



**Figura 3.6.** Distribución de frecuencias de tallas y determinación de clases anuales de los embalses Chañar, Barreales y Mari Menuco en base al método de Bhattacharya. Frecuencias en intervalos de 5 (izquierda), 10 (medio) y 20 (derecha) mm.



**Figura 3.7.** Distribución de frecuencias de tallas y determinación de clases anuales de los embalses Arroyito, Ramos Mejía y Alicura en base al método de Bhattacharya. Frecuencias en intervalos de 5 (izquierda), 10 (medio) y 20 (derecha) mm.

# 3.3.2.1. Curvas y parámetros de crecimiento de los embalses

La Tabla 3.5. muestra los parámetros de crecimiento estimados para el pejerrey patagónico en cada embalse y los valores del índice  $\phi$ ' y en las Figuras 3.10. a 3.15. se muestran las curvas de crecimiento de Von Bertalanffy para cada ambiente, estimadas en base al método ELEFAN junto a las estructuras de tallas.

La Tabla 3.6. muestra las claves de talla - edad calculadas en base a los parámetros de las curvas en cada ambiente.

En comparación con los métodos empleados, el método de SLCA mostró curvas diferenciadas en más aplanadas y con valores más bajos para K en los embalses Chañar y Mari Menuco, y otras con valores más altos de K para los embalses Arroyito, Barreales y Ramos Mejía. El método ELEFAN en cambio mostró curvas más homogéneas entre los 6 ambientes (Figuras 3.16. y 3.17.). Los valores del índice φ' para los parámetros del método SLCA fueron más altos (Tabla 3.5.). El método P-W+SLCA mostró las estimaciones más dispersas (CV= 6,7%, Tabla 3.5.), por lo que no fue considerado en los análisis posteriores.

El índice de performance del crecimiento del Embalse Chañar fue el más bajo (2,579), mientras que en Embalse Arroyito fue máximo (2,993) según el método SLCA, lo que también puede ser observado en las curvas de crecimiento de las Figuras 3.16. y 3.17.

Los parámetros de crecimiento no pudieron ser determinados para el Embalse Alicura según el método SLCA debido al efecto *pile-up* o de "amontonamiento" provocado por los cálculos del algoritmo en el gráfico de contorno. Por esto las puntuaciones de ajuste dieron altos valores para K y  $L_{\infty}$  impidiendo su correcta estimación (ver Magnifico, 2007).

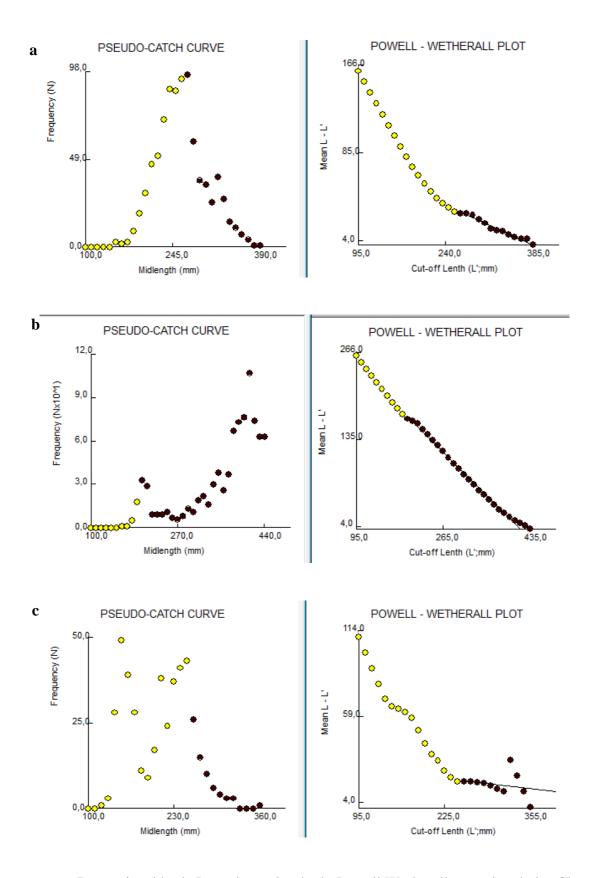
**Tabla 3.5.** Valores de  $L_{\infty}$ , K e índice  $\phi$ ' estimados para cada embalse en base a los tres métodos de estimación empleados. Media, desvío estándar (DS) y coeficiente de variación (CV) calculados para cada método.

F 1 1	P-W	V + SL	CA		SL	CA			ELE	FAN	
Embalse	$\mathbf{L}_{\infty}$	K	ф'	$\mathbf{L}_{\infty}$	K	$t_0$	ф'	$\mathbf{L}_{\infty}$	K	$t_0$	ф'
Chañar	398	0,19	2,479	415	0,22	-0,77	2,579	389	0,36	-0,05	2,736
Los Barreales	570	0,25	2,910	409	0,47	-0,66	2,896	409	0,27	-0,43	2,655
Mari Menuco	413	0,28	2,679	393	0,28	-0,45	2,636	393	0,29	-0,42	2,651
Arroyito	374	0,3	2,623	431	0,53	-0,63	2,993	433	0,32	-0,23	2,778
Ramos Mejía	463	0,36	2,887	404	0,39	-0,91	2,804	431	0,31	-0,4	2,76
Alicura	502	0,33	2,920	-	-	-	-	418	0,28	-0,35	2,69
Media	453,33	0,285	2,750	410,4	0,38	-0,68	2,78	412,17	0,31	-0,31	2,71
DS	73,56	0,06	0,183	14,06	0,13	0,17	0,17	18,64	0,03	0,15	0,05
CV	16,23	21,14	6,670	3,43	34,05	-	6,25	4,52	10,72	-	2,00

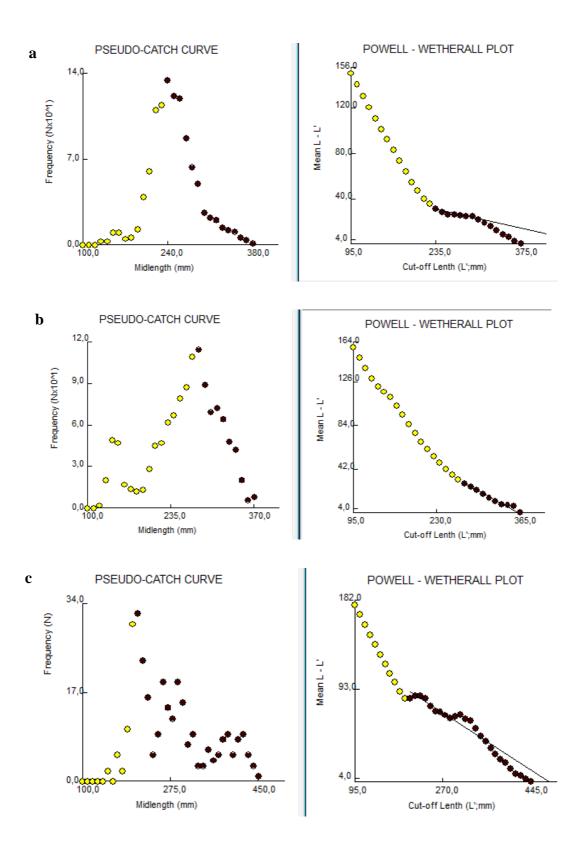
**Tabla 3.6.** Clave talla (LT, mm) - edad (años) calculada en cada embalse a partir de los parámetros de crecimiento estimados según los métodos de Shepherd y ELEFAN. Se indican abajo las tallas máximas (LT, mm) capturadas en cada sitio por la AIC.

	Ch	añar	Los B	arreales	Mari Menuco		Arroyito		Ramos Mejía		Alicura
	SLCA	ELEFAN	SLCA	ELEFAN	SLCA	ELEFAN	SLCA	ELEFAN	SLCA	ELEFAN	ELEFAN
Edad	LT	LT	LT	LT	LT	LT	LT	LT	LT	LT	LT
1	134	122	222	131	131	133	249	141	212	152	132
2	189	203	292	197	195	198	324	221	274	226	202
3	234	259	336	247	243	247	368	279	316	281	254
4	270	298	363	285	280	284	394	321	344	321	294
5	298	326	380	315	308	311	409	352	364	350	325
6	321	345	391	337	328	332	418	374	377	372	347
7	340	358	398	354	344	347	423	390	386	388	365
8	355	368	402	367	356	359	427	402	391	399	378
9	367	374	405	377	365	367	428	410	396	408	388
10	376	379	406	385	372	374	429	417	398	414	395
11	384	382	407	390	377	379	430	421	400	418	401
12	390	384	408	395	381	382	430	424	401	422	405

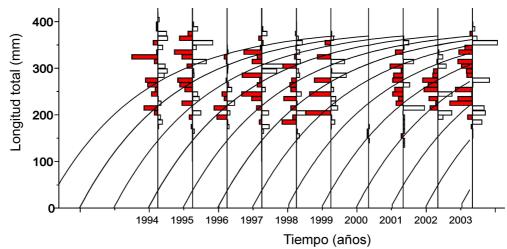
Tallas máximas de captura (LT)								
Chañar	Chañar Los Barrea- les Mari Menuco Arroyito Ramos Mejía Alicur							
397	394							



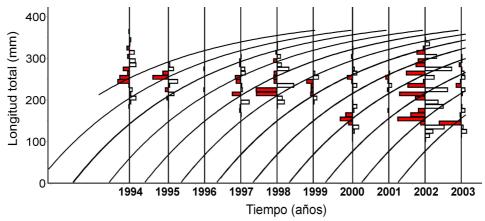
**Figura 3.8:** Determinación de  $L_{\infty}$  en base al método Powell Wetherall para el embalse Chañar (a), Mari Menuco (b) y Barreales (c). Gráficos y estimaciones del programa FISAT II.



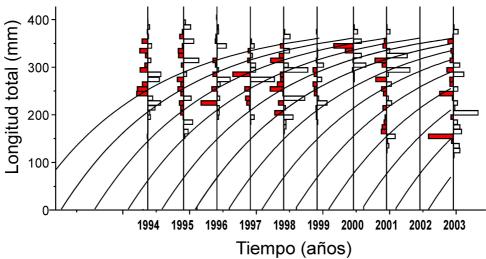
**Figura 3.9:** Determinación de  $L_{\infty}$  según el método Powell Wetherall para el embalse Ramo Mejía (a), Arroyito (b) y Alicura (c). Gráficos y estimaciones del programa FISAT II.



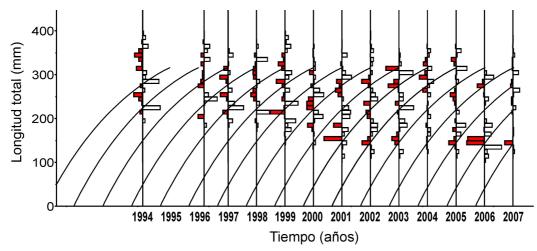
**Figura 3.10.** Curvas de crecimiento estimadas para el Embalse Chañar según el método ELEFAN.



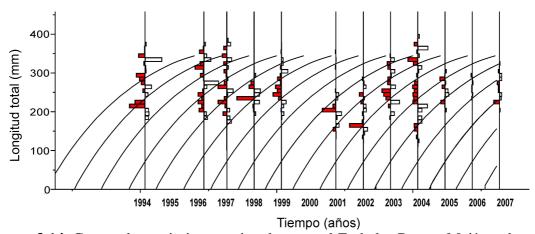
**Figura 3.11.** Curvas de crecimiento estimadas para el Embalse Los Barreales en base al método ELEFAN.



**Figura 3.12.** Curvas de crecimiento estimadas para el Embalse Mari Menuco según el método ELEFAN.



**Figura 3.13.** Curvas de crecimiento estimadas para el Embalse Arroyito según el método ELEFAN.



**Figura 3.14.** Curvas de crecimiento estimadas para el Embalse Ramos Mejía en base al método ELEFAN.

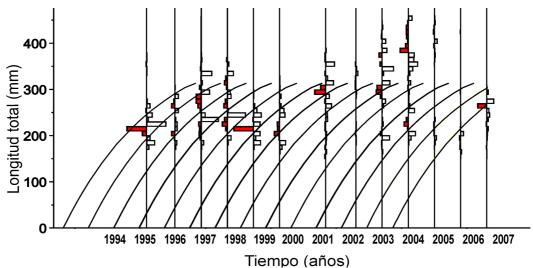


Figura 3.15. Curvas de crecimiento estimadas para el Embalse Alicura según ELEFAN.

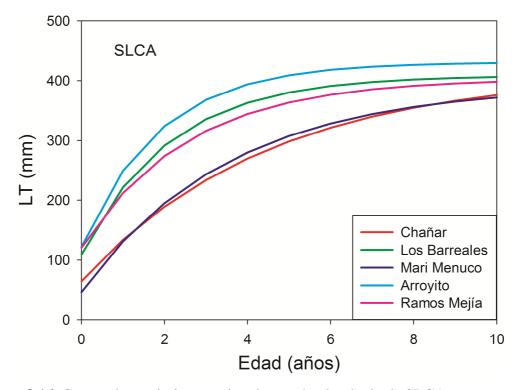


Figura 3.16. Curvas de crecimiento estimadas según el método de SLCA.

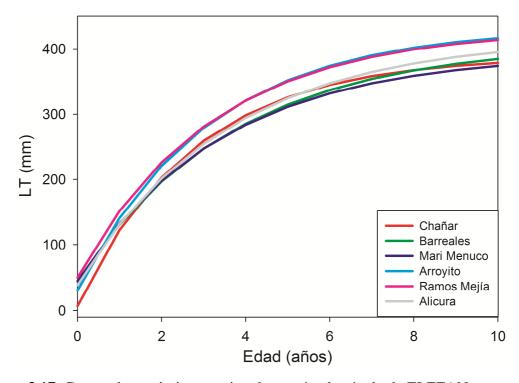


Figura 3.17. Curvas de crecimiento estimadas según el método de ELEFAN.

# 3.3.2.2. Parámetros de crecimiento en el tiempo

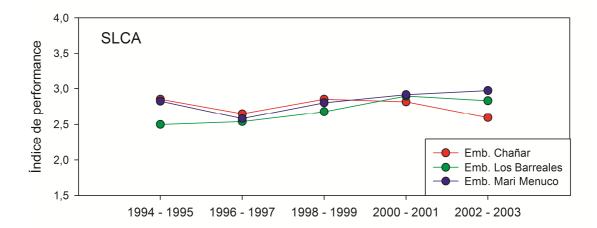
Los parámetros de crecimiento K,  $L_{\infty}$  y el índice  $\phi$ ', estimados según los métodos de SLCA y ELEFAN para intervalos de dos años durante el período 1994 - 2003 y 1994 - 2007 (Tabla 3.7.), no mostraron diferencias significativas entre ambientes (Contrastes multivariados; n= 36; P> 0,05), excepto los valores de  $L_{\infty}$  estimados según el método SLCA (Contrastes multivariados; n= 36; P= 0,004) que fueron significativamente distintos entre los embalses Alicura y Barreales (Test de Tujey; n= 36; P= 0,043). Ninguno de los parámetros de crecimiento mostró tendencias significativas con el tiempo en base a los dos métodos de estimación analizados (Contrastes multivariados; n= 5 y 7; P> 0,05). Las Figuras 3.19. - 3.22. muestran las variaciones en el tiempo del índice  $\phi$ ' en cada embalse.

**Tabla 3.7.** Parámetros de crecimiento de cada embalse estimados por períodos de dos años según 2 métodos empleados con media, DS y CV.

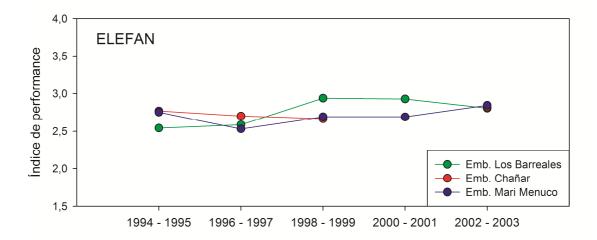
		SLCA			ELEFAN		
	$\mathbf{L}_{\infty}$	K	φ'	$\mathbf{L}_{\infty}$	K	Φ'	
		Embalse	Los Barreale	es			
1994 – 1995	431	0,17	2,500	398	0,22	2,542	
1996 – 1997	365	0,26	2,540	402	0,24	2,588	
1998 – 1999	369	0,35	2,678	430	0,47	2,939	
2000 - 2001	382	0,54	2,896	382	0,58	2,928	
2002 - 2003	368	0,5	2,831	386	0,43	2,806	
		Emba	lse Chañar				
1994 – 1995	417	0,41	2,852	370	0,43	2,770	
1996 – 1997	414	0,26	2,650	391	0,33	2,702	
1998 - 1999	422	0,4	2,853	376	0,33	2,668	
2000 - 2001	452	0,32	2,815	-	-	-	
2002 - 2003	397	0,25	2,596	435	0,35	2,821	
	Mari Menuco						
1994 – 1995	394	0,43	2,825	402	0,35	2,753	
1996 – 1997	427	0,21	2,583	393	0,22	2,531	
1998 – 1999	445	0,32	2,803	375	0,35	2,693	
2000 - 2001	380	0,57	2,915	375	0,35	2,691	
2002 - 2003	409	0,56	2,972	390	0,46	2,845	
		Embal	se Arroyito				
1994 - 1996	446	0,31	2,790	-	-	-	
1997 - 1998	401	0,3	2,683	440	0,24	2,666	
1999 - 2000	410	0,35	2,770	367	0,39	2,721	
2001 - 2002	440	0,31	2,778	382	0,42	2,788	
2003 - 2004	382	0,41	2,776	443	0,16	2,497	
2005 - 2006	405	0,64	3,022	444	0,46	2,957	
2006 - 2007	375	0,46	2,811	405	0,35	2,759	

**Tabla 3.7.** (**Continuación**) Parámetros de crecimiento de cada embalse estimados por períodos de dos años según 2 métodos empleados con media, DS y CV.

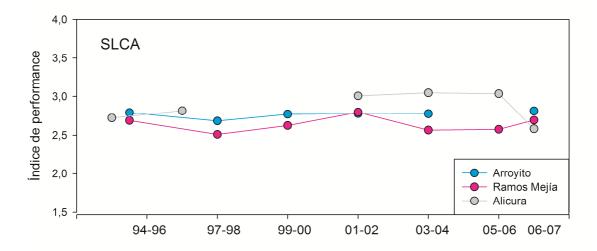
	Embalse Ramos Mejía								
1994 - 1996	397	0,31	2,689	389	0,25	2,578			
1997 - 1998	393	0,21	2,510	394	0,21	2,513			
2000 - 2000	411	0,25	2,625	451	0,3	2,786			
2001 - 2002	386	0,42	2,796	374	0,48	2,827			
2003 - 2004	376	0,26	2,566	376	0,26	2,565			
2005 - 2006	434	0,2	2,576	393	0,32	2,694			
2006 - 2007	360	0,38	2,694	404	0,3	2,690			
		Embal	lse Alicura						
1994 - 1995	420	0,3	2,723	437	0,24	2,660			
1996 - 1997	409	0,39	2,814	390	0,27	2,613			
1998 - 1999	-	-	-	411	0,37	2,795			
2001 - 2002	450	0,5	3,005	444	0,45	2,947			
2003 - 2004	441	0,57	3,045	476	0,51	3,062			
2005 - 2006	443	0,55	3,033	422	0,44	2,893			
2006 - 2007	408	0,23	2,583	452	0,39	2,901			
Media	407,41	0,368	2,759	405,75	0,350	2,741			
DS	26,86	0,125	0,154	28,979	0,100	0,143			
CV	6,594	34,00	5,578	7,1421	28,54	5,215			



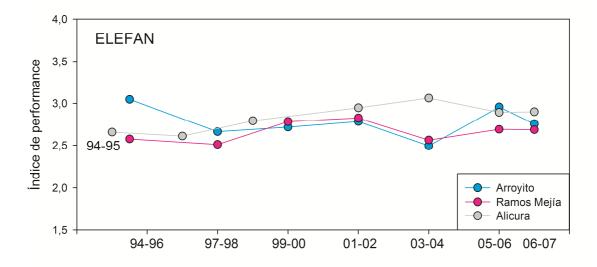
**Figura 3.18.** Valores estimados del índice φ' para los parámetros de la EVB según el método de SLCA en los embalses Chañar, Los Barreales y Mari Menuco.



**Figura 3.19.** Valores estimados del índice  $\phi$ ' para los parámetros de la EVB según el método ELEFAN en los embalses Chañar, Los Barreales y Mari Menuco.



**Figura 3.20.** Valores estimados del índice  $\phi$ ' para los parámetros de la EVB según el método SLCA en los embalses Ramos Mejía, Arroyito y Alicura.



**Figura 3.21.** Valores estimados del índice φ' para los parámetros de la EVB según el método ELEFAN en los embalses Ramos Mejía, Arroyito y Alicura.

## 3.3.2.3. Parámetros de crecimiento entre especies

En la Tabla 3.8. se observan los valores de los parámetros de crecimiento de *O. hatcheri*, *O. bonariensis* y trucha arco iris estimados por otros autores.

La comparación entre los valores de K de O. mykiss, O. bonariensis y O. hatcheri, obtenidos de la bibliografía (Tabla 3.7.) y estimados en este trabajo, según SLCA y ELEFAN para O. hatcheri (Tabla 3.4.) no mostraron diferencias significativas entre estas especies (K-W; n= 48;  $P_{SLCA}=0.348$  y n= 49;  $P_{ELEFAN}=0.238$ ).

Los valores de  $L_{\infty}$  y del índice  $\phi$ ' de *O. mykiss* mostraron ser significativamente mayores que los calculados para *O. bonariensis* y los de *O. hatcheri*, estimados en este trabajo según SLCA (K-W<sub>L $\infty$ </sub>; n=48; P= 0,001 y Comparaciones múltiples de Dunn<sub>L $\infty$ </sub>, n= 48; P= 0,001 y ANOVA $_{\phi}$ '; n= 48; P< 0,001, y prueba de Tukey  $_{\phi}$ '; n= 48; P<sub>mykiss-bonariensis</sub>< 0,001; P<sub>mykiss-hatcheri</sub> (SLCA)= 0,003) y según ELEFAN (Comparaciones múltiples de Dunn<sub>L $\infty$ </sub> y <sub>K</sub> , n= 49; P< 0,001).

No se encontraron diferencias significativas entre los parámetros de los grupos de pejerrey O. bonariensis y O. hatcheri estimados por otros autores y los estimados en este trabajo según SLCA (K-W<sub>L $\infty$ </sub>; n= 35; P= 0,267; K-W<sub>K</sub>; n= 35; P= 0,289; K-W<sub> $\phi$ </sub>; n= 35; P= 0,399) y según ELEFAN (K-W<sub>L $\infty$ </sub>; n= 36; P= 0,162; K-W<sub>K</sub>; n= 36; P= 0,742; K-W<sub> $\phi$ </sub>; n= 36; P= 0,458).

La relación entre el índice de performance de crecimiento ( $\phi$ ') y la temperatura de los ambientes analizados para los pejerreyes puede observarse en la figura 2.23.

**Tabla 3.8.** Parámetros de crecimiento estimados para *O. hatcheri, O. bonariensis, O. smitti* y *O. mykiss* según distintos autores y métodos.

Fuente	Sitio	Especie	Método	$\mathbf{L}_{\infty}$	K	$t_0$	φ'
Baigún, 2001	L. Rosario	O. hatcheri	APM	540	0,33		2,983
Baigún *	L. Los Mosquitos	O. hatcheri	Lepidología	335	0,34		2,582
Baigún *	L. Lezama	O. hatcheri	Lepidología	435	0,23		2,639
Baigún *	L. Terraplén	O. hatcheri	Lepidología	448	0,38		2,882
Guerrero, 1992 *	Emb. Arroyito	O. hatcheri	Lepidología	453,77	0,426	0,572	2,943
Guerrero, 1992 *	Emb. Arroyito	O. hatcheri	Lepidología	444,69	0,453	0,625	2,952
Dománico, 2006	Emb. R. Mejía	O. hatcheri	Lep. R.T. <sup>1</sup>	500,69	0,18	-0,534	2,652
Dománico, 2006	Emb. R. Mejía	O. hatcheri	Lep. R.R. <sup>2</sup>	531,12	0,18	-0,444	2,711
Dománico, 2006	Emb. R. Mejía	O. hatcheri	Lep. D.R. <sup>4</sup>	484,83	0,20	-0,344	2,681
Dománico, 2006	Emb. R. Mejía	O. hatcheri	$APM^4$	507,14	0,210	-0,589	2,734
Grosman, 1993	L. Terraplén	O. hatcheri	Lep. R.T. <sup>1</sup>	394,53	0,53	-0,059	2,950
Grosman, 1993	L. Terraplén	O. hatcheri	Lep. D. R. <sup>4</sup>	524,52	0,249	-0,51	2,836
Grosman, 1993	L. Terraplén	O. hatcheri	$APM^4$	539,09	0,371	0,113	3,033
Cataldo, 1989	L. Muster	O. hatcheri	Lepidología	433,67	0,107	-2,919	2,305

Fuente	Sitio	Especie	Método	$\mathbf{L}_{\infty}$	K	$t_0$	φ'
Cataldo, 1989	L. Terraplén	O. hatcheri	Lepidología	483,96	0,320	0,271	2,875
Cataldo, 1989	Emb. R. Mejía	O. hatcheri	Lepidología	532,76	0,231	-0,199	2,818
Cataldo, 1989	L. Rosario	O. hatcheri	Lepidología	485,681	0,189	-0,854	2,651
Freyre, 1991	Emb. Alicura	O. hatcheri	Lepidología	362,30	0,542	-1,563	2,853
Ruiz, 2002	Emb. F. Ameghino	O. hatcheri	Otolitos	415,8	0,38	-0,15	2,818
Grosman et al., 2001	L. Igartúa	O. bonariensis	Lepidología	391,6892	0,277	-0,628	2,628
Grosman et al., 1999	D. Los Trapenses	O. bonariensis	Lepidología	462,756	0,16	-0,136	2,535
Mancini et al., 2009	L. Los Charos	O. bonariensis	Lepidología	531,58	0,310	-0,981	2,942
Sverlij & Mestre,1991	Emb. La Florida	O. bonariensis	Lepidología	368	0,342	-0,931	2,666
Sendra, 2003	L. Chascomús	O. bonariensis	$APM^3$	593	0,362	0,404	3,105
Sendra, 2003	L. Chascomús	O. bonariensis	$APM^3$	593	0,354	-0,347	3,095
Sendra, 2003	L. Chascomús	O. bonariensis	$APM^3$	333	0,742	-0,399	2,915
Sendra, 2003	L. Chascomús	O. bonariensis	$APM^3$	334	0,764	-0,189	2,931
Sendra, 2003	L. Chascomús	O. bonariensis	$APM^3$	300	1,195	1,057	3,032
Mancini & Grosman, 2004	L. Suco	O. bonariensis	Lepidología	382,42	0,177	-0,386	2,413
Mancini & Grosman, 2004	L. Suco	O. bonariensis	Lepidología	560,77	0,243	-0,286	2,883

Fuente	Sitio	Especie	Método	$\mathbf{L}_{\infty}$	K	$t_0$	φ'
Guerrero et al.,1990	L. Esquel	O. mykiss	Lepidología	606,265	0,289	0,748	3,026
Guerrero et al.,1990	L. Muster	O. mykiss	Lepidología	775,949	0,228	0,574	3,138
Guerrero et al.,1990	L. Mosquitos	O. mykiss	Lepidología	350,469	0,785	0,56	2,984
Guerrero et al.,1990	L. Terraplén	O. mykiss	Lepidología	898,94	0,343	0,769	3,443
Guerrero et al.,1990	L. Pico I	O. mykiss	Lepidología	1168,368	0,199	0,192	3,434
Guerrero et al.,1990	L. Pico III	O. mykiss	Lepidología	1253,155	0,215	0,951	3,528
Guerrero et al.,1990	L. Cardiel	O. mykiss	Lepidología	422,128	1,069	1,136	3,280
Guerrero et al.,1990	L. Roca	O. mykiss	Lepidología	546,76	0,28	1,585	2,923
Guerrero et al.,1990	L. Fontana	O. mykiss	Lepidología	757,98	0,233	1,554	3,127
Guerrero et al.,1990	L. La Plata	O. mykiss	Lepidología	657,737	0,336	0,299	3,162
Guerrero et al.,1990	L. Pico III	O. mykiss	Lepidología	818,638	0,652		3,640
Guerrero et al.,1990	L. Pico IV	O. mykiss	Lepidología	673,111	0,755		3,534
Guerrero et al.,1990	L. Roca	O. mykiss	Lepidología	495,976	0,246		2,782

<sup>\*</sup> citado por Dománico (2006).

<sup>1.</sup> Lep. R.T.: Lepidología por retrocálculo total.

<sup>2.</sup> Lep. R.R.: Lepidología por recuento de radios.

<sup>3.</sup> APM: Análisis Progresión Modal, método de Petersen.

<sup>4.</sup> Lep. D.R.: Método lepidológico por descomposición de radios que considera la naturaleza probabilística de la marcación de anillos, desarrollado por Freyre & Sendra (1987).

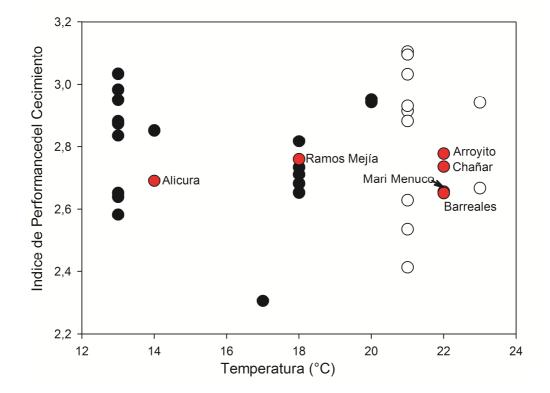


Figura 3.22: Relación entre el parámetro  $\phi$ ' (índice de performance de crecimiento) de pejerreyes: ( $^{\circ}$ ) *O. bonariensis*; ( $^{\bullet}$ ) *O. hatcheri* estimados por otros autores (Tabla 3.8) y ( $^{\bullet}$ ) *O. hatcheri* estimados en este trabajo en base al método ELEFAN y la temperatura media anual de verano (1960-1991, www.servicio meteorológiconacional) de cada ambiente.

## 3.3.3.1. Relación Largo-Peso

La relación largo-peso de los pejerreyes analizados en cada ambiente mostró un crecimiento levemente alométrico, dado por los valores del parámetro b (pendiente) cuyos intervalos de confianza del 95% fueron mayores que tres en todos los casos. La relación largo-peso (valor de b) mostró ser diferente entre machos y hembras de los embalses Mari Menuco y Arroyito (Tabla 3.9).

**Tabla 3.9.** Resultados de la relación Largo-Peso entre sexos en los ambientes analizados (ANCOVA ♀-♂). Valores de las constantes estimadas a y b (Intervalo de confianza del 95%). Se indican los valores de a y b para machos y hembras en los sitios con diferencias significativas entre sexos.

Relación L - P	ANCOVA ♀-♂		a	b [I.C. 95%]
Chañar	P= 0,841		1,77E-06	3,361 [3,337 - 3,386]
Los Barreales	P= 0,071		4,71E-07	3,579 [3,551 - 3,607]
Mari Menuco	P= 0,005*	9	3,73E-07	3,619 [3,589 – 3,648]
		3	5,11E-07	3,568 [3,531 – 3,604]
Arroyito	P= 0,000*	9	1,91E-06	3,337 [3,311 - 3,363]
		3	1,47E-06	3,386 [3,356 – 3,416]
Ramos Mejía	P= 0,574		1,52E-06	3,373 [3,346 - 3,399]
Alicura	P= 0,092		2,16E-06	3,135 [3,085 - 3,184]

#### 3.3.3.2. Factor de condición

Se encontró una relación significativa entre el factor de condición y la talla en cada ambiente (Regresión; n<sub>Chañar</sub>= 4074; n<sub>Barreales</sub>= 1306; n<sub>Mari Menuco</sub>= 3940; n<sub>Arroyito</sub>= 5427; n<sub>Ramos Mejía</sub>= 3919; n<sub>Alicura</sub>= 1394; P< 0,001). Los residuales de la regresión (Res FK) fueron utilizados en análisis comparativos entre las fuentes de variación: sexo, estadio reproductivo y ambiente.

#### **Sexos**

La prueba de Mann-Whitney mostró que los valores de Res FK entre machos y hembras fueron significativamente distintos (Mann-Whitney; n= 20.037; P< 0,001).

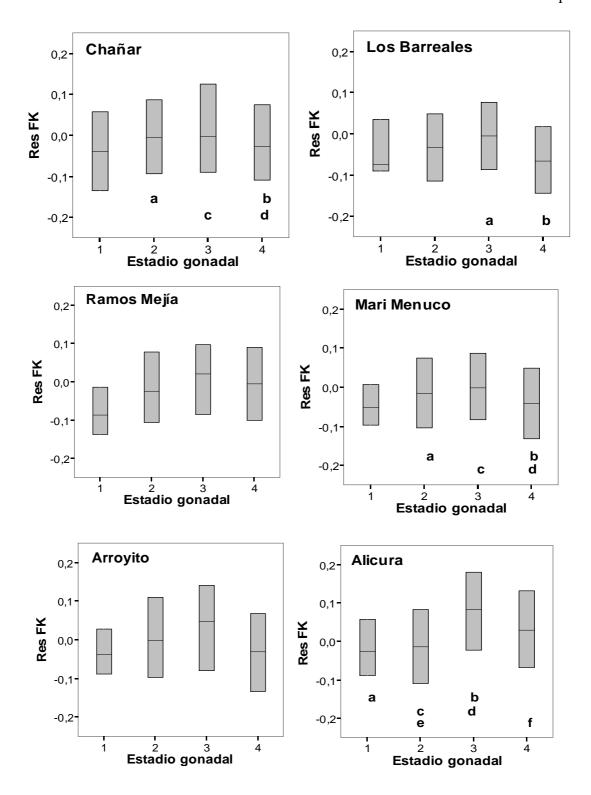
ResFK ♀	n= 11000	Media: -0,011620	DE= 0,163307134
ResFK ♂	n= 9037	Media: 0,014460	DE= 0,159002266

## **Estadios reproductivos**

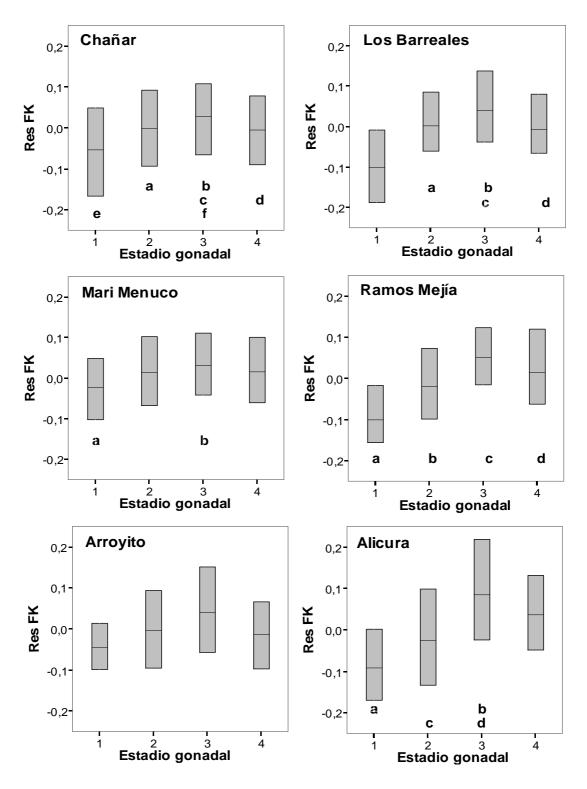
En el caso de las hembras, los Res FK mostraron diferencias significativas con los estadios gonadales en los embalses Chañar, Mari Menuco, Alicura y Arroyito (ANOVA<sub>Chañar</sub>; n= 2463; P= 0,006; ANOVA<sub>Mari Menuco</sub>; n= 2155; P<0,001; Kruskal Wallis<sub>Arroyito</sub>; n= 2913; P< 0,001; ANO-VA<sub>Alicura</sub>; n= 601; P< 0,001). Los embalses Ramos Mejía y Los Barreales no mostraron esta dependencia (ANOVA<sub>Ramos Mejía</sub>; n= 2278; P= 0,081; ANOVA<sub>Barreales</sub>; n= 575; P= 0,071) (Figura 3.23).

Asimismo, en los machos todos los ambientes mostraron una dependencia entre el estado de condición y el reproductivo (Kruskal Wallis<sub>Alicura</sub>; n= 778; P< 0,001; Kruskal Wallis<sub>Arroyito</sub>; n= 2502; P< 0,001; ANOVA<sub>Barreales</sub>; n= 728; P< 0,001; ANOVA<sub>Mari Menuco</sub>; n= 1780; P= 0,024; ANOVA<sub>Ramos Mejía</sub>; n= 1634; P< 0,001; ANOVA<sub>Chañar</sub>; n= 1605; P< 0,001) (Figura 3.24).

Las pruebas de Tukey y Dunn (n= 6; P< 0,05) mostraron diferencias significativas en el estado de condición entre estadios gonadales tanto en las hembras (Figura 3.23) como en los machos (Figura 3.24).



**Figura 3.23.** Res FK de hembras de cada estadio gonadal (mediana  $\pm$  percentiles 25 y 75). Las letras distintas indican diferencias significativas (Test de Tukey, P < 0.05).

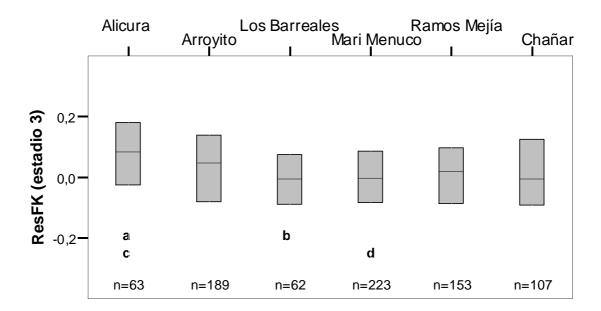


**Figura 3.24.** Res FK de machos de cada estadio gonadal (mediana  $\pm$  percentiles 25 y 75). Las letras distintas indican diferencias significativas (Test de Tukey y Dunn; P < 0.05).

#### **Ambientes**

El estado de condición (Res FK) de las hembras mostró diferencias significativas entre los embalses, en los estadios gonadales 2, 3 y 4 (K-W<sub>estadio 2</sub>; n= 6145; P< 0,001; ANOVA<sub>estadio 3</sub>; n= 797; P= 0,011; K-W<sub>estadio 4</sub>; n= 3848; P< 0,001). En el estadio gonadal 1, el estado de condición no varió entre los ambientes (ANOVA <sub>estadio 1</sub>; n= 200; P= 0,605).

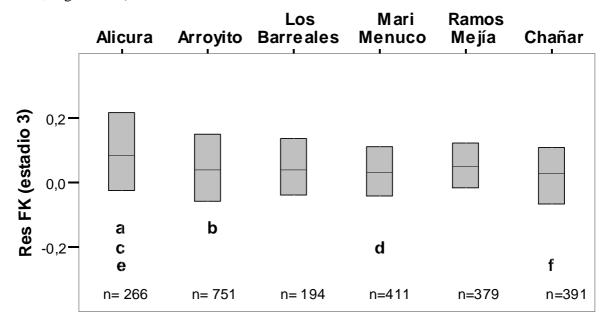
En el estadio gonadal 3 (desove), mostró diferencias significativas entre los valores de Res FK del embalse Alicura con los embalses Los Barreales y con Mari Menuco (Prueba de Tukey; n= 797; P< 0,05; Figura 3.25).



**Figura 3.25.** Estado de condición (Res FK) de las hembras del estadio gonadal 3 (desove), entre ambientes (mediana ± percentil 25 y 75). Se indica n para cada grupo y las diferencias significativas con distinta letra.

El estado de condición (Res FK) de los machos mostró diferencias significativas entre los embalses, en los estadios gonadales 2, 3 y 4 (K-W<sub>estadio 2</sub>; n= 2522; P< 0,001; K-W<sub>estadio 3</sub>; n= 1622; P< 0,001; ANOVA<sub>estadio 4</sub>; n= 2272; P< 0,001). En el estadio gonadal 1, el estado de condición no varió entre los ambientes (K-W<sub>estadio 1</sub>; n= 162; P= 0,61).

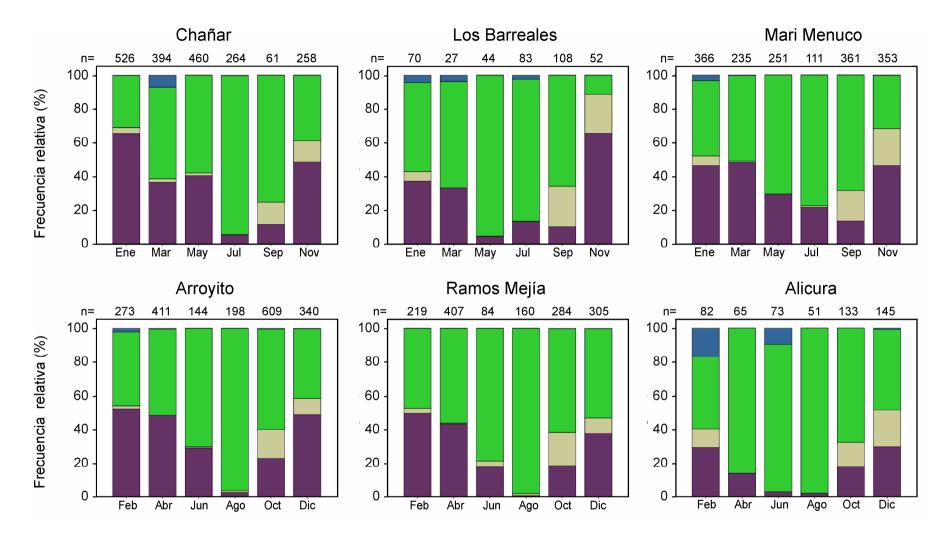
El estadio gonadal 3 (desove), mostró diferencias significativas entre los valores de Res FK del embalse Alicura con los embalses Arroyito, Mari Menuco y Chañar (Prueba de Dunn; n= 1622; P< 0,05; Figura 3.26).



**Figura 3.26.** Estado de condición (Res FK) de los machos del estadio gonadal 3 (puesta), entre ambientes (mediana ± percentil 25 y 75). Se indica el n para cada grupo y las diferencias significativas con distinta letra.

# 3.3.4. Época reproductiva

El análisis de los estadios reproductivos de las hembras durante el período 1993 – 1999 en los seis embalses de estudio, mostró diferencias significativas en cada sitio en las proporciones de estadios gonadales entre los meses de captura (Prueba Chi²; P< 0,001). En la Figura 3.27 se puede observar que el Embalse Chañar mostró la mayor amplitud del período reproductivo anual, con presencia de hembras en el estadio 3 en los meses de septiembre, noviembre, enero, marzo y mayo. Mientras que en el Embalse Arroyito las hembras en estadio de desove se encontraron en octubre y diciembre. En el resto de los embalses el estadio reproductivo correspondió a los meses de primavera y mitad del verano, desde septiembre a enero para Mari Menuco y Los Barreales, y desde octubre a febrero para Ramos Mejía y Alicura.



**Figura 3.27.** Frecuencias relativas (%) de estadios gonadales (1 , 2 , 3 , 3 , y 4 ) de hembras de pejerrey, durante el período diciembre 1993 – octubre 1999. Se indica el número total de ejemplares capturados en cada mes (n).

# 3.3.4.1. Proporción de sexos

En base al intervalo de confianza del 95%, la proporción de sexos calculada para cada embalse fue significativamente distinta a la proporción 1:1, presentando los embalses Chañar, Mari Menuco, Arroyito y Ramos Mejía, una mayor proporción de hembras, y los embalses Barreales y Alicura, una mayor proporción de machos (Tabla 3.10.).

**Tabla 3.10.** Composición de sexos de cada embalse

Sitio	Razón <sup>♀</sup> /♂		n <sup>Q</sup>	n♂	n total	%₽
Sitio	media	Inter.conf.95%			n totai	
Emb. Chañar	1,698	1,316 - 2,080	2468	1608	4076	61
Emb. Barreales	0,815	0,661 - 0,969	657	823	1480	44
Emb. Mari Menuco	1,293	1,120 - 1,465	2641	2197	4838	55
Emb. Arroyito	1,218	1,003 - 1,433	2922	2513	5435	54
Emb. Ramos Mejía	1,948	1,264 - 2,632	2308	1666	3974	58
Emb. Alicura	0,848	0,712 - 0,985	603	778	1381	44

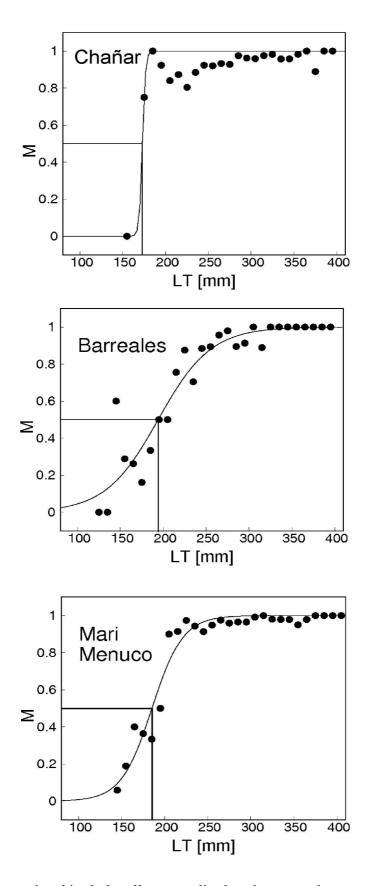
# 3.3.4.2. Talla promedio de madurez

La Figuras 3.28 y 3.29 muestran las curvas logísticas para la estimación de la talla promedio de primera madurez sexual (TPM) sobre las hembras de pejerrey de los seis embalses analizados.

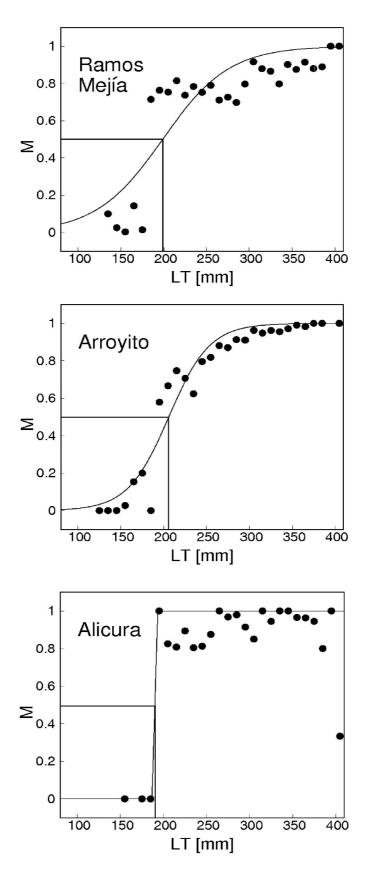
La Tabla 3.11. muestra los valores de TPM y r estimados en cada ambiente. Los valores de r de los embalses El Chañar y Alicura fueron los menores. Esto se debió al bajo número de individuos de los primeros intervalos de tallas (n= 1 a 3), lo que determinó curvas de ajuste más acentuadas y con rangos de talla muy acotados para estos dos ambientes.

**Tabla 3.11.** Talla Promedio de Primera Madurez (TPM  $\pm$  DS, mm) y r (mm) estimados en hembras de los ambientes analizados.

Embalse	TPM ±DS (mm)	r (mm)
El Chañar	173 ± 20	2
Los Barreales	194 ± 5	31
Mari Menuco	$185 \pm 3$	17
Arroyito	206 ± 3	24
Ramos Mejía	199 ± 8	39
Alicura	$190 \pm 41$	0,5



**Figura 3.28.** Determinación de la talla promedio de primera madurez para los embalses Chañar, Barreales y Mari Menuco, en base a la curva logística. M= proporción de hembras sexualmente maduras, LT= longitud total.



**Figura 3. 29.** Determinación de la talla promedio de primera madurez para los embalses Ramos Mejía, Arroyito y Alicura, en base a la curva logística. M= proporción de hembras sexualmente maduras, LT= longitud total.

# CAPÍTULO 4. Estudio del estrés en el pejerrey patagónico

# 4.1. Objetivos particulares

Analizar respuestas al estrés en *O. hatcheri* frente al transporte y la cautividad, mediante la medición de dos variables fisiológicas: niveles de cortisol plasmático y expresión de factor de crecimiento insulino-símil- 1 (IGF- 1) en hígado (Experiencia 1).

Evaluar respuestas al estrés frente a diferentes salinidades a través de las variables fisiológicas: cortisol plasmático, osmolaridad, hematocrito y contenido relativo de agua corporal (Experiencia 2).

## 4.2. Materiales y Métodos

### 4.2.1. Experiencia 1

# Transporte y cautiverio

Se sometieron pejerreyes a dos tratamientos relacionados con prácticas de cultivo. En cada caso los ejemplares fueron procesados para la obtención de muestras de sangre e hígado para la medición de las variables fisiológicas procediendo de igual forma en cada grupo. En cada tratamiento se registró el peso corporal de los individuos con baanza digital.

Los peces (n= 288, longitud total=  $148.9 \pm 2.5$  mm y peso corporal=  $15.84 \pm 1.13$  g, media  $\pm$  EE) fueron capturados con red de arrastre en la laguna Carilafquen (CARI, 41° 12'S, 69° 25'W, Río Negro - Argentina, Figura 3.1.) con una conductividad de 800 a  $1000 \, \mu \text{S} \cdot \text{cm}^{-1}$ , equivalente a una salinidad entre  $0.04 \, \text{a} \, 0.05 \, \text{\%}$  según lo estimado por el programa CICLES 3.0/C (Joan Armengol, Universitat Barcelona). De este grupo se separaron 15 peces para ser procesados, tomados como grupo "Control".

El resto de los individuos fueron transportados al Centro de Salmonicultura Bariloche (Universidad Nacional del Comahue), durante 4 hs sobre ruta de ripio en un tanque de 200 L con agua de la laguna, aireación artificial y NaCl (0,5 %) siguiendo la metodología de Tsuzuki *et al.* (2001). Inmediatamente luego del arribo a la piscicultura otro grupo ("Postransporte", n= 15) fue separado y procesado.

Los demás peces (n=227) fueron ubicados en tanques de 200 L con 0,5 % de NaCl, aireación artificial, fotoperiodo natural y bajo media sombra.

Durante las primeras 24 hs siguientes al arribo de los peces les suministró un flujo de agua corriente. Esta agua utilizada para el resto de la experiencia provino de un arroyo natural con conductividad de entre 60 a 80 μS . cm<sup>-1</sup> y una salinidad de 0,005 % aproximadamente. Durante el experimento el recambio de agua fue del 70% en forma diaria, la aireación fue artificial y la concentración de NaCl se mantuvo en 0,5 %. Considerando posibles efectos de la densidad sobre la respuesta al estrés, el nivel de agua del tanque se ajustó acorde al cambio en el número de peces por mortalidad y muestreo, para lograr una densidad constante de 22 g . L<sup>-1</sup>. Los peces fueron alimentados a saciedad 24 h después de ser colocados en los tanques, con alimento artificial formulado por el Centro de Ecología Aplicada del Neuquén (CEAN; humedad 8,7%, proteínas 41,51%, lípidos 14,21%, cenizas 14,8%, extracto libre de nitrógeno 20,78%) y elaborado por la compañía Fundus ® (Argentina). Se registró la temperatura y la sobrevida en forma diaria.

Una vez en cautiverio las muestras fueron tomadas en los días 1, 3, 6 y 12, luego de la captura. Como referencia, fueron obtenidos niveles plasmáticos de cortisol y ARNm de IGF-1 de peces con al menos 7 meses de cautividad en el CEAN.

## Procesamiento del material biológico

Para la obtención de las muestras en cada tratamiento, una vez apartados del agua, los peces fueron inmediatamente anestesiados y muertos mediante una sobredosis de benzocaína (0,1%).

El pico máximo de cortisol sérico en peces se produce aproximadamente a los 30 minutos desde que un estímulo estresor es aplicado (Pickering & Pottinger, 1989; Arends 1999; Barton, 2002; Ganga *et al.*, 2006). En todos los casos, desde que el pez fue sacado del agua las muestras de plasma fueron tomadas con tiempos de procesamiento menores a los 5 minutos con el objeto de obtener una medida representativa del cortisol antes que se libere.

Como es sabido que el cortisol presenta un ritmo circadiano diario en vertebrados, con niveles máximos en las primeras horas de luz (Laidleya & Leatherland, 1988), para la

Experiencia 1 las muestras se tomaron de 11 a 15 hs y en la Experiencia 2 las muestras se tomaron de 9 a 11 hs.

Las muestras de sangre para las mediciones de cortisol fueron colectadas desde el pedúnculo caudal y colocadas en viales enjuagados con EDTA (500 mM pH 8) como anticoagulante. La sangre fue centrifugada a 4°C durante 30 minutos a 2000 rpm y el plasma fue conservado a -20°C hasta los análisis. También se colectaron muestras de hígado (aproximadamente 0,5 cm³), que fueron conservadas en solución de *RNA later* (QIAGEN, Qiagen Ltd., Crawley, UK) a 5°C durante 24 hs y luego a -20°C para posteriores mediciones de IGF-1.

Los niveles plasmáticos de cortisol se determinaron en el Laboratorio de Ictiofisiología y Acuicultura del Instituto de Investigaciones Biotecnológicas-Instituto Tecnológico de Chascomús IIB-INTECH (CONICET-UNSAM), Chascomús, Pcia. Buenos Aires, donde se empleó la técnica de radioinmunoensayo (RIA) con el siguiente protocolo:

# • Extracción de cortisol plasmático

Las muestras de plasma fueron llevadas a tubos cónicos de extracción. En cada uno se agregó éter etílico en proporción 1:10 (plasma:éter). Fueron pasados por vórtex 2 min. a temperatura ambiente y luego fueron llevados a -80°C durante 10 min, hasta congelar la fase acuosa. La fase orgánica se volcó en otro tubo de extracción. A la fase acuosa remanente, una vez descongelada se le agregó nuevamente éter (1:10) y se repitió el procedimiento anterior. Luego del *freezer* se separó el nuevo sobrenadante y se lo unió a lo anterior. Esta fase orgánica fue colocada en baño termostatizado a 40°C hasta evaporar el éter. Una vez evaporada la fase de plasma así procesadas fueron mantenidas en -20°C hasta su posterior análisis.

## • Radioinmunoensayo (RIA)

Se diluyeron las muestras de plasma en *buffer* fosfato salino con gelatina (PBS-gel). Se agregó cortisol marcado radiactivamente con tritio y suero con anticuerpo anti-cortisol (Sigma–Aldrich, MO, USA) previamente diluido en *buffer* tris clorídrico. Se incubó toda la noche en a 9°C. En este período el cortisol marcado compite con el cortisol de la muestra por la unión al anticuerpo. Luego se agregó carbón dextrán (200 µl), se pasó por vórtex, se mantuvo por 15 min a 4°C y luego se centrifugó 30 min a 4°C. De esta

forma el carbón dextrán extrae la hormona libre que no está unida al anticuerpo. Se separó el sobrenadante y se le agregó solución centelladora. Por último se midió la concentración de cortisol marcado radioactivamente en cada tubo en un contador de centelleo líquido y se realizaron los cálculos correspondientes para las determinaciones de cortisol plasmático de cada muestra.

- **PBS-gel, pH 7,4:** Buffer fosfato 50 mM; NaCl, 150 mM; EDTA, 10 mM; gelatina, 0,1%; ázida sódica, 15 mM.
- **Buffer tris clorídrico, pH 8:** Tris clorídrico 0,05 M; gelatina, 0,1%; ázida sódica, 15 mM; NaCl, 0,1 M.
- **Solución centelladora:** Tolueno, 1 litro; PPO, 5 g; POPOP, 0,25 g.
- Carbón dextrán PBS, pH 7,4: PBS, 100 ml; carbón, 0,5 g; dextrán, 0,05 g; NaCl, 150 mM; EDTA, 10 mM.

La expresión del ARN mensajero para IGF-1 fue medida por el Dr. Andrés Sciara en el Instituto de Biología Molecular y Celular de Rosario, Universidad Nacional de Rosario (IBR -CONICET), a través de PCR cuantitativa a tiempo real, siguiendo a Sciara *et al.* (2008).

# 4.2.2. Experiencia 2

# Cautividad y tratamientos con salinidad

Los peces para esta experiencia fueron provistos por el Laboratorio de Alimentos y Nutrición de Peces del Centro de Ecología Aplicada de Neuquén (CEAN, Junín de los Andes). Fueron capturados en una pequeña laguna cercana a dicho centro (39° 54' S, 71° O, con conductividad 20 - 40 μS.cm<sup>-1</sup>; salinidad cercana a 0,001 - 0,002%), mantenidos en cautividad durante 7 meses en tanques de 900 L con agua corriente del río Chimehuín (con la misma conductividad y salinidad) y alimentados con el mismo alimento que el de la experiencia 1, una vez al día hasta las 24 h anteriores al inicio de la experiencia. Se tomó como referencia un grupo de estos individuos (n= 5), que en el análisis fueron considerados con tiempo de exposición de 0 hs y salinidad 0% (Tabla 4.1.).

Se trabajó con 133 individuos juveniles (longitud total=  $108,0 \pm 0,7$  mm y peso corporal=  $6,24 \pm 0,13$  g, media  $\pm$  EE).

Durante la experiencia los peces fueron mantenidos en acuarios de 100 L con agua extraída del río Chimehuín a una densidad de 0,16 individuos . L<sup>-1</sup>. El mantenimiento se realizó con aireación artificial en niveles cercanos a la saturación de oxígeno, con un recambio del agua diario del 20%. La temperatura del agua fue mantenida en  $16,2\pm0,1$  °C. Una vez en los acuarios, luego de las primeras 24 hs, los peces fueron alimentados a saciedad una vez al día con el mismo alimento.

Los tratamientos consistieron en el agregado de 0 % (n=43); 0,5 % (n=30); 2 % (n=30) y 2 % gradual (n=30) de sal marina comercial (Vita Fish). En el último tratamiento la sal fue adicionada gradualmente desde 0 a 2 % a lo largo de un día. Cada tratamiento a su vez se realizó en tres tiempos de exposición de 3, 24 y 168 hs, con 10 individuos en cada grupo.

# Obtención de las muestras y medición de variables

Se compararon las siguientes variables fisiológicas: hematocrito, osmolaridad plasmática, contenido relativo de agua corporal y cortisol plasmático, entre peces de cada tratamiento. Para ello, se obtuvieron muestras de sangre y registros de peso corporal de los individuos previamente anestesiados con una sobredosis de benzocaína (ídem Experiencia 1). Las muestras de sangre fueron colectadas desde los vasos del pedúnculo caudal, de la misma forma que en la Experiencia 1, en viales con EDTA. El plasma fue extraído de la sangre por centrifugación 12 minutos a 30.000 rpm y conservado en frío (-85°C).

## Cortisol plasmático

La determinación de los niveles de cortisol plasmático se realizó por radioinmunoensayo, igual que en la experiencia 1.

### Contenido relativo de agua corporal

Los peces fueron secados en estufa a 100°C hasta lograr un peso constante para las mediciones de masa corporal seca. El contenido relativo de agua corporal fue determinado en base a la siguiente ecuación (Plaut, 1998):

Capítulo 4

Contenido relativo de agua corporal = (Mb-Md) . Mb<sup>-1</sup>,

donde

Mb = peso corporal en fresco,

Md= peso corporal seco

#### Hematocrito

Una fracción de la muestra de sangre se separó en tubos capilares heparinizados, los que fueron sellados y centrifugados 10 minutos a 12.000 rpm y medidos con un calibre digital (±0,1 mm). El hematocrito fue expresado como porcentaje del volumen de sangre.

### • Osmolaridad plasmática

La osmolaridad del plasma fue medida por un osmómetro de presión de vapor (Wescor Inc.).

#### Análisis estadísticos

Para la comparación de niveles de cortisol plasmático entre tratamientos, los datos fueron transformados a logaritmo base 10 y analizados estadísticamente por ANOVA, seguido por el análisis de contrastes de Tukey.

En los casos en que los supuestos de homoscedacia y normalidad fueron rechazados, se aplicaron la prueba de Kruskal-Wallis (K-W) y la correlación de Spearman. Las diferencias significativas fueron reconocidas a niveles del 95% de probabilidad (p< 0,05).

#### 4.3. Resultados

### 4.3.1. Experiencia 1

## Sobrevida, niveles de cortisol plasmático y expresión de ARNm IGF-1

Se observó una alta mortalidad acumulada (120 sobre 227 peces) del 53% hasta el final del experimento (día 12). Las mortalidades diarias fueron de 7% en el primer día, 32% en el día 6 y 0,5% en el día 12. No se registraron muertes durante el transporte. Los niveles plasmáticos de cortisol (ng .  $mL^{-1}$ ) se ajustaron a una regresión cuadrática con el tiempo ( $R^2$ = 42%; p< 0,001; n=31). El tratamiento Control mostró bajos niveles de cor-

tisol plasmático, aún menores que los peces mantenidos en cautividad durante 7 meses (Figura 4.1.). Del mismo modo, se ajustó una regresión cúbica con el tiempo para la expresión de ARNm de IGF-1 en hígado (R<sup>2</sup>= 0,52; p< 0,001; Figura 4.1.). Los niveles más altos de cortisol plasmático y de expresión de ARNm de IGF-1 en hígado, fueron observados en el día 6 del cautiverio (Figura 4.1.), pero el modelo de ajuste mostró algún retraso para la expresión del ARNm de IGF-1.

### 4.3.2. Experiencia 2

### Sobrevida y niveles de cortisol plasmático

El tratamiento 2 % de salinidad resultó letal después de las 24 hs, por este motivo fue eliminado del análisis.

El análisis de la varianza entre los niveles de cortisol mostró diferencias significativas entre las salinidades (ANOVA; n=45; P<0,001), considerando el tiempo como covariable aunque no fue significativa. Los niveles de cortisol fueron más bajos en la salinidad de 0,5% (Prueba de Tukey; n=45; P<0,05).

En el tratamiento 0% de salinidad no se observaron diferencias significativas en los niveles de cortisol plasmático entre tiempos (K-W; n= 18; P= 0,291).

En 0,5 % de sal marina, no se registraron diferencias en los niveles de cortisol de los individuos entre los tiempos de experimentación (3, 24 y 168 hs) (ANOVA<sub>0,5% salinidad</sub>; n=13; P=0,098).

El tratamiento 2% gradual presentó una mortalidad del 50% luego de las 168 h, con distintos niveles de cortisol en el tiempo (ANOVA; n= 10; P=0,001), con valores mayores en las 168 h que en las 3 y 24 h de experimentación (Prueba de Tukey; n=10; P< 0,05; Figura 4.2.).

El grupo de individuos mantenidos en el CEAN (tiempo 0 y salinidad 0) presentó niveles más altos de cortisol que los de las 3 y 24 hs de experimento (K-W; n= 23; P= 0,005 y Prueba de Dunn; n=23; P< 0,05; Figura 4.2.), diferencias debidas probablemente al tipo de recinto y condiciones de cultivo.

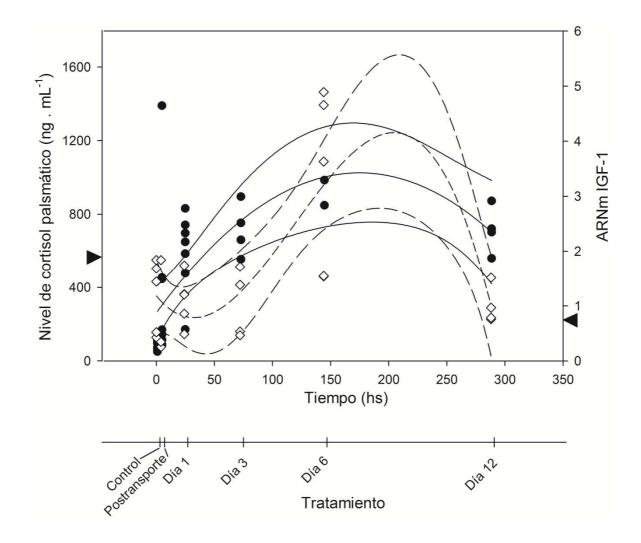
# Relación entre el cortisol y variables fisiológicas

Tomando en cuenta todas las salinidades ensayadas, el contenido relativo de agua corporal correlacionó negativamente con los niveles de cortisol (Spearman; n= 46; P< 0,003; r= -0,425) mientras que el hematocrito y la osmolaridad no mostraron correlación con los niveles de la hormona.

El contenido relativo de agua corporal mostró diferencias significativas entre las salinidades (K-W; n= 46; P< 0,0009), siendo en 2% gradual más bajo que en 0 y 0,5% (Comparaciones Múltiples; n= 46; P< 0,05; Figura 4.3.).

Existieron diferencias significativas en el hematocrito entre los tiempos de exposición (ANOVA; n= 37; P< 0,007). El hematocrito fue más alto al inicio del experimento (0 hs) (49,4  $\pm$ 5,9 %; media  $\pm$  ES) que a las 3 hs de exposición (26,9  $\pm$ 4,6 %; media  $\pm$  EE; Método de Holm Sidak; P< 0,009; Tabla 4.1.; Figura 4.4.).

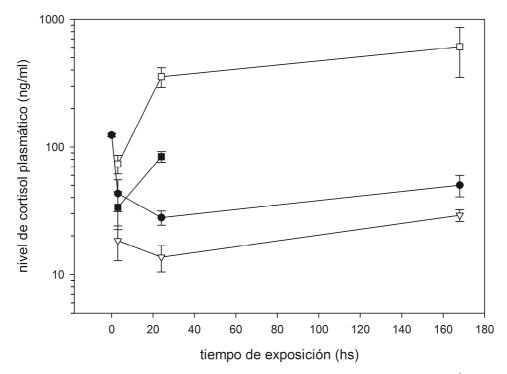
Si consideramos solamente las menores salinidades (0 y 0,5 %), sólo la osmolaridad correlacionó negativamente con los niveles de cortisol (Spearman; n= 36; P< 0,04; r= -0,334). y sólo el hematocrito fue significativamente diferente entre los tiempos de exposición (ANOVA; n= 28; P< 0,005; Figura 4.4. y 4.5.).



**Figura 4.1.** Niveles de cortisol plasmático (ng . mL<sup>-1</sup>) (●) y expresión relativa de ARNm IGF-1 (♦) en *O. hatcheri vs.* Tiempo (Control= 0 hs; Postransporte= 4 hs y Día 1= 24 hs; Día 3= 72 hs; Día 6= 144 hs y Día 12= 288 hs posteriores a la captura). Curvas de ajuste e intervalos de confianza del 95% para cortisol plasmático (-) y para ARNm IGF-1 (--) *vs* tiempo. Las puntas de flecha indican los niveles medios de cortisol plasmático (n= 2) y los de ARNm IGF-1 (n= 5) para peces mantenidos en cautiverio 7 meses en el CEAN.

**Tabla 4.1.** Experiencia 2: Valores de cortisol plasmático, hematocrito, contenido relativo de agua corporal, osmolaridad y mortalidad (media  $\pm$  ES y n) en *O. hatcheri*.

Salinidad (%)	Tiempo de exposi- ción (hs)	Cortisol plasmático (ng.ml <sup>-1</sup> )	Hematocrito (%)	Contenido relativo de agua cor- poral (%)	Osmolaridad (mOsm.kg <sup>-1</sup> )	Mortalidad (%)
0	0	123,9±4,05 n=5	49,39±5,86 n=4	73,99±1,49 n=5	561,6±119,5 n=5	0
	3	43,05±12,12 n=6	26,92±4,57 n=6	75,08±0,86 n=6	843,17±161,9 n=6	0
	24	27,8±3,6 n=6	33,01±3,42 n=5	76,61±1,08 n=6	654±111,2 n=6	0
	168	50,16±9,73 n=6	32,34±4,15 n=5	74,3±0,69 n=6	629,2±103,3 n=6	0
0,5	3	18,38±5,55 n=4	20,46±3,91 n=3	75,39±0,64 n=4	630,7±64,7 n=4	0
	24	13,66±3,19 n=5	31,92±9,55 n=3	74,34±0,33 n=5	707,8±117,3 n=5	0
	168	29,03±3,1 n=4	32,34±3,91 n=3	74,22±0,81 n=4	475,5±53,1 n=4	0
2	3	33,41±10,98 n=5	23,87±3,32 n=5	74,3±0,5 n=5	722,2±89,1 n=5	0
	24	84,11±8,07 n=3	18,84±1,95 n=2	74,6±3,1 n=3	952±302 n=3	50
	168	-	-	-	-	100
2 gradual	3	73,72±12,28 n=4	37,22±2,37 n=4	69,6±1,8 n=4	555,7±35,1 n=4	0
	24	354,9±61,5 n=4	36,88±2,12 n=4	73,1±0,6 n=4	585,2±32,1 n=4	0
	168	607,92±256,9 n=2	39,02 n=1	72,1±2,8 n=3	666,3±117 n=2	50



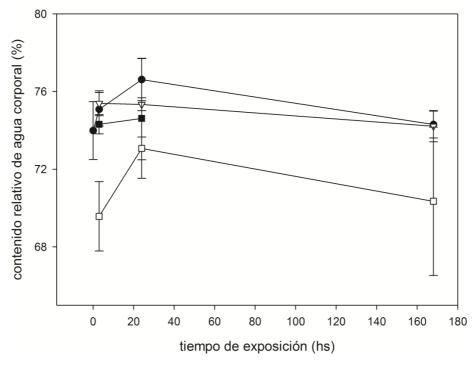
**Figura 4.2.** Niveles de cortisol plasmático (en escala logarítmica, ng . mL<sup>-1</sup>) de *O. hat-cheri* entre salinidades (%) y a lo largo del tiempo de exposición (hs) (medias ± ES). Salinidades: 

— 0 %, n= 23; 

— 0,5 %, n= 13; 

— 2 %, n= 8; 

— 2 % gradual, n= 10.



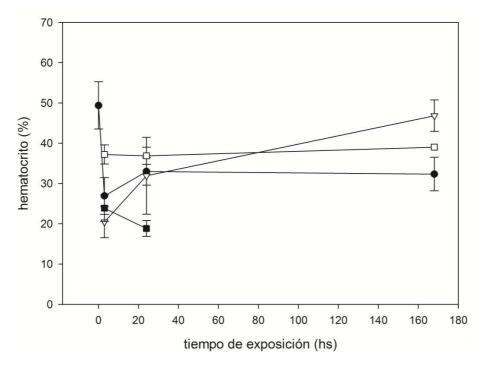
**Figura 4.3.** Porcentaje del contenido relativo de agua corporal entre salinidades (%) y tiempos de exposición (hs) (medias ± ES). Salinidades: 

— 0 %, n= 23; 

— 0,5 % n= 13; 

— 2 %, n= 8; 

— 2 % gradual, n= 10.



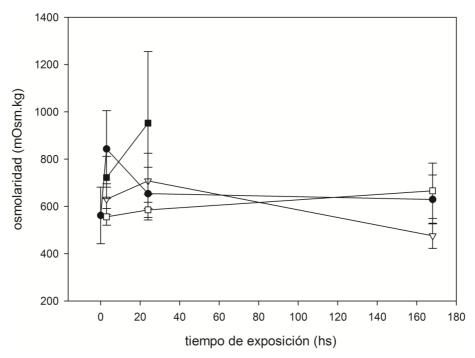
**Figura 4.4.** Porcentaje de hematocrito entre salinidades (%) y tiempos de exposición (hs) (medias ± ES). Salinidades: 

— 0 %, n= 20; 

— 0,5 %, n= 9; 

— 2 %, n= 7; 

— 2 % gradual, n= 9.



**Figura 4.5.** Niveles de osmolaridad (mOsm . Kg) entre salinidades (%) y tiempos de exposición (hs) (medias  $\pm$  ES). Salinidades: -0 %, n= 23; -7 0,5 % n= 13; -8 2 %, n= 8; -10 % gradual, n= 10.

## CAPÍTULO 5. Discusión

# 5.1. Pejerreyes andinos: nuevos reportes de distribución

El análisis taxonómico en pejerreyes de la región Andino Cuyana y Patagónica, mostró la presencia de dos especies (Tabla 2.3.). Siete ambientes presentaron individuos que pudieron clasificarse como *O. bonariensis* y 12 como *O. hatcheri*. En tres sitios se mostraron incongruencias en la identificación, considerando caracteres morfométricos de clave y los resultados de los estudios genéticos, que constituirían casos de probables introgresiones. En los 18 sitios de estudio se hallaron:

- sólo individuos de *O. hatcheri*; en el Embalse Piedra del Águila, en los lagos Muster, Buenos Aires, Epuyén, Rivadavia, Rosario, Morenito y Pueyrredón y en la localidad Los Altares, del Río Chubut;
- sólo individuos de *O. bonariensis*: en Embalses El Carrizal y Ullum;
- ambas especies: en Embalse Casa de Piedra y Lago Pellegrini;
- ejemplares con morfología de *O. hatcheri*, e identificación génica de *O. bo-nariensis*: en Embalses El Nihüil y Florentino Ameghino;
- ejemplares de morfología *O. bonariensis*, y con identificación génica de *O. hatcheri*: en Lago Urre Lauquen;
- además en el Lago Pellegrini se hallaron individuos con identificación genética mitocondrial de O. hatcheri y con combinación de caracteres morfológicos de las dos especies de pejerrey.

En la mayor parte de los estudios morfológicos y moleculares, se ha demostrado una buena concordancia entre las identificaciones usando ambos tipos de datos, sobre todo a nivel de especie (Avise, 1994), a excepción de las especies crípticas (Stepien & Kocher, 1997; Mathews *et al.*, 2002) o casos de hibridación (Avise, 2001) para las que la morfología no refleja la diferencia genética. En efecto, en nuestro caso, las tres herramientas de identificación empleadas; la taxonomía clásica, el análisis de genética mitocondrial y la morfometría geométrica, coincidieron en el 82% de los individuos analizados.

En base a los resultados de Strüssmann *et al.* (1997b), ejemplares de *O. bonariensis* expuestos a 17°C hasta alcanzar el estadio juvenil, se convierten posteriormente en hembras, mientras que grupos expuestos a 25°C se convierten en machos (las proporciones de hembras son del 100% entre 13 y 19°C, 95% a 21°C, 81,2% a 23°C, 29,4% a 25°C, 10% a

27°C y 0% a 29°C). En el caso de *O. hatcheri*, las proporciones de hembras son cercanas a 89% entre 13 y 15°C, 50% entre 17 y 23°C, y 30,8% a 25°C. Según lo indican Cussac *et al.* (2009), estos datos muestran una alta concordancia con las temperaturas medias de verano (www.smn.gov.ar) de las áreas de distribución de ambas especies (Liotta 2006). En cuanto al rango de distribución observado para *O. bonariensis* en este trabajo y, considerando las temperaturas involucradas en el proceso de determinación del sexo que permitirán un equilibrio en la proporción de los sexos (Strüssmann *et al.*, 1997b y Cussac *et al.*, 2009), nuestros resultados muestran que esta especie estaría ausente cuando las temperaturas medias del aire de verano son inferiores a 20° C (Tabla 2.3).

Sin embargo, el caso del embalse F. Ameghino, como registro más austral de genoma mitocondrial *O. bonariensis* (Tabla 2.3.; Figura 5.1.) y el hallazgo de genoma mitocondrial de *O. bonariensis* en el Embalse Alicura (Sommer, 2009), donde las temperaturas rondan los 14 y 16 C° (Figura 5.1.) avalan la presunción de rangos geográficos amplios para la introgresión del genoma de *O. bonariensis* en poblaciones de *O. hatcheri*.

# 5.2. Zonas híbridas y efectos antrópicos

Las introgresiones son generadoras de variabilidad morfológica (Valentín *et al.*, 2002). El lago Pellegrini fue el único de los sitios que mostró un grupo apreciable de individuos con caracteres morfológicos de ambas especies, con el número de hileras dorsales de escamas de *O. bonariensis* y la posición de las aletas dorsales de *O. hatcheri*. Si bien para confirmar casos de hibridación se requieren análisis de genética nuclear, las introgresiones de *O. bonariensis* son más que probables en este ambiente (Dyer, 2000; Tejedor, 2001) ya que lo han sembrado en la Cuenca Vidal (lago Pellegrini) entre los años 1938-1941 técnicos de la Estación de Piscicultura Río Limay, Plottier, provincia de Neuquén (Amalfi, 2009). Tal como señaló Ringuelet (1943) y como se sigue observando en la actualidad (Dyer, 2000), se sabe que la fecundación controlada es una práctica habitual de los pescadores cuando capturan pejerreyes maduros, liberando los huevos fertilizados al lago (F. Gómez, comunicación personal).

El análisis de morfometría geométrica mostró un mayor solapamiento de los presuntos híbridos, con *O. hatcheri* (Figura 3.7.) y es interesante señalar que además estos individuos presentaron haplotipos de citocromo b de *O. hatcheri*. En este sentido, el éxito de expansión de *O. bonariensis* sobre el área de distribución de *O. hatcheri* podría estar relacionado

con sus capacidades adaptativas en los nuevos ambientes en donde fue introducida. Un estudio realizado en dos especies interfértiles (*Barbus meridionalis* y *B. barbus*) registró un flujo génico unidireccionado o asimétrico, en donde una especie fue fuertemente introgresada debido a la invasión de la otra, con mayores capacidades de adaptación a distintos hábitats (Crespín *et al.*, 1999).

La TSD podría conferir ventajas adaptativas para afrontar el balance entre la competencia intraespecífica y la diversidad genética. En el caso de lo observado para la TSD en *O. bonariensis* (Strüssmann *et al.*, 1997b), en lagos con temperaturas menores a los 23°C (Figura 3.1.), la proporción de hembras sería mayor que la de machos. En el caso de *O. hatcheri*, su proporción de sexos se mantendría equilibrada entre 17 y 23 °C, con un fuerte control génico sobre la determinación sexual, como lo confirman los estudios de Koshimizu *et al.* (2010) quienes hallaron un marcador ligado al sexo (polimorfismo de nucleótido único o "single nucleotide polymorphism", SNP).

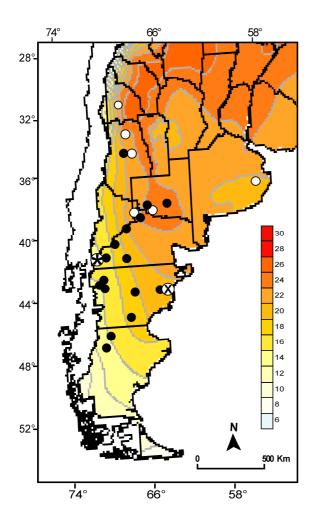
Tales resultados sugieren que ambientes con temperaturas de agua de verano menores a  $23^{\circ}$ C, es decir en el suroeste de la Región Andino Cuyana y Patagónica, serán más propensos a tener hembras *O. bonariensis* y pocos o ningún macho de esta especie, y sexos equilibrados para *O. hatcheri*. Sin embargo, el escenario de posibilidades es complejo. En el caso del lago Pellegrini, los ejemplares identificados como presuntos híbridos presentaron genoma mitocondrial de *O. hatcheri*, con 4\$\times :3\infty\$ de un total de 7 individuos.

Se conoce que los híbridos de estas dos especies obtenidos en laboratorio sobreviven, (Strüssmann *et al.*, 1997a) pero no se conoce aún completamente el modo de su determinación sexual. Recientes ensayos realizados con los dos tipos de híbridos (F1) mantenidos en un rango de 15 a 29 °C durante las primeras semanas de vida, mostraron que la diferenciación del sexo fue mayormente de hembras en el rango bajo de temperaturas, como era de esperar, con una proporción equilibrada (1:1) en 29 °C. Además, en el caso de las hembras con genotipo XY, los ovarios fueron atrésicos. Esto evidencia una particular interacción entre el genotipo y la temperatura en la determinación sexual y en la fertilidad (Inazawa *et al.*, 2011).

Los límites de las subregiones ictiogeográficas Brasílica y Austral (Ringuelet, 1975 y Arratia, *et al.*, 1983) han presentado controversias en la bibliografía (Menni, 2004), con solapamiento de la fauna íctica y una zona de transición en el área marcada entre los ríos Colo-

rado y Negro (Almirón *et al.*, 1997). Sin embargo, las siembras de pejerrey han provocado una dispersión de *O. bonariensis*, mucho más allá de sus posibilidades naturales de dispersión (Aigo *et al.*, 2008; López *et al.*, 2008; Tombari *et al.*, 2005). Cuando dos poblaciones o especies alopátricas hibridan a lo largo de un área estrecha, se forma una zona híbrida o zona de contacto (Turner, 1999). Nuestros resultados evidencian zonas de solapamiento o zonas híbridas entre estas dos especies (Liotta, 2005 y Cussac *et al.*, 2009), que corresponderían principalmente a los embalses y lagos de la cuenca del río Desaguadero - Colorado y de los ríos Neuquén, Limay y Chubut (Figura 5.1.).

En base a los estudios realizados, la presencia de *O. bonariensis* entre las poblaciones de pejerrey patagónico estaría relacionada con dos factores principales, por un lado, las siembras y cruzas, que permiten saltar las barreras geográficas entre poblaciones originalmente alopátricas y por otro, la temperatura, actuando en distinta medida sobre la fisiología reproductiva de estas especies.



**Figura 5.1.** Mapa de temperaturas medias de aire de verano 2008 – 2009. (Servicio Meteorológico Nacional, www.smn.gov.ar). Se indican registros de captura en base a la genética mitocondrial de:

O. bonariensis (○) y O. hatcheri (●) y registros de genoma mitocondrial de O. bonariensis en el Embalse Florentino Ameghino (x) y en el Embalse Alicura (★) (Sommer, 2009).

Las hibridaciones son relativamente comunes en los peces, en especial en especies de un mismo género (Avise, 2001). Cuando ocurren cruzas producto de prácticas de siembras en cuencas naturales, pueden ocurrir serios problemas de conservación de las especies más raras (Crespin & Berrebi, 1999). En este sentido, el único antecedente (Bello & Úbeda, 1998) sobre el estado de conservación de peces continentales patagónicos indica que el estatus de *O. hatcheri* es el de una especie no amenazada. A partir de los resultados de nuestro trabajo, se plantea un nuevo escenario para el pejerrey patagónico con distintos niveles de introgresión de genoma de *O. bonariensis* y es por esto que futuros estudios de conservación de esta especie deberían considerar no sólo la connotación demográfica, sino también el estado de conservación de su identidad genética. Los nuevos datos relativos a los efectos de la temperatura en la determinación sexual de estas especies y sus descendientes híbridos (Hattori *et al.*, 2008; Koshimizu *et al.*, 2010; Inazawa *et al.*, 2011;), representan avances para el conocimiento de las posibilidades de expansión de *O. bonariensis* hacia el sur y las posibilidades de conservación genética de *O. hatcheri* en ciertos ambientes.

### 5.3. Análisis morfométrico

En el nivel específico, los análisis de morfometría geométrica permitieron discriminar a *O. bonariensis* de *O. hatcheri* en base a la posición de la primera aleta dorsal (*landmark* 5 en relación al 11 y 12), en consonancia con lo descripto por la clave taxonómica de Dyer (2006). En pejerreyes del sur de Brasil, *O. bonariensis* y *O. humensis*, esta técnica en comparación con medidas tradicionales fue la que mejor representó y evidenció las diferencias entre especies (Bemvenuti & Rodríguez, 2002).

La morfometría geométrica permitió además analizar la variación en un nivel intraespecífico. Si bien las relaciones de la forma con el tamaño dificultaron la comparación entre los ambientes, los análisis entre grupos menos afectados por alometría mostraron para el caso de *O. bonariensis*, que los pejerreyes del Embalse El Carrizal poseen pedúnculos caudales más largos que los individuos de la laguna San Lorenzo. En el caso de *O. hatcheri*, las grillas de deformación mostraron diferencias en la altura del cuerpo y la longitud del pedúnculo caudal y variación en las posiciones de las aletas entre los pejerreyes del Embalse Casa de Piedra, Piedra del Águila y El Nihüil y del Lago Pueyrredón.

Estudios previos en *O. hatcheri* (Ruiz, 2002) en el embalse Florentino Ameghino, en base a medidas lineales, encontraron diferencias entre juveniles y adultos, con los ojos más prominentes, aletas pectorales y pélvicas más pequeñas y pedúnculo caudal más estilizado, mientras que sólo un carácter merístico, el número de radios de la segunda aleta dorsal, mostró diferencias significativas entre sexos. Datos merísticos del pejerrey patagónico se han estudiado en la laguna Ñe Luan (Gobbi, 1986) y aguas abajo del Dique F. Ameghino (Gosztonyi, 1988).

En pejerreyes marinos del Golfo de California (*Atherinops affinis*), los análisis de morfometría geométrica revelaron diferencias intrapoblaciones en la zona de la cabeza y en la altura corporal, que estarían asociados con condiciones ambientales y en especial con hábitos de alimentación (Reilly & Horn, 2004). En nuestro trabajo, las variables morfométricas para *O. hatcheri* mostraron relaciones significativas con la altitud y con la concentración total de fósforo, esto posiblemente asociado a las relaciones tróficas presentes en los ambientes analizados.

### 5.4. Análisis genético

Johns y Avise (1998) muestran cómo las distancias estimadas a partir de secuencias de ADN mitocondrial han sido y pueden ser utilizadas para validar especies de vertebrados. Más del 90% de especies hermanas exhiben una divergencia en el gen de citocromo b de al menos 2%. En nuestro caso, las diferencias génicas entre las dos especies de pejerrey, mostraron ser significativas con una variación del 7% entre las secuencias de citocromo b.

Abel (2002) analizó la variabilidad y estructura genética de poblaciones de *O. argentinensis*, *O. bonariensis* y *O. hatcheri*. La comparación de frecuencia de alelos y bandas amplificadas de isoenzimas y RAPD (*Random Amplification of Polymorphic DNA*) reveló importantes diferencias entre especies, siendo *O. hatcheri* la más discriminada. A su vez, pudieron diferenciar estas dos especies los estudios genéticos de Yoshizaki *et al.* (1997) en base al análisis de cuatro fragmentos de restricción (RFLP) sobre ADN mitocondrial y el análisis de Strüssmann *et al.* (1997a) a partir de patrones de identificación de 3 alozimas y 11 RFLP en ADN mitocondrial.

En base a la información morfológica, la hipótesis filogenética de Dyer (2006) ubica a *O. hatcheri* como un linaje basal, hermano del resto de las especies del género *Odontesthes*, entre ellas *O. bonariensis*. En cambio, la hipótesis de Beheregaray (2000) en base a análi-

sis moleculares, propone que el pejerrey patagónico puede haber sido originado a partir de una población ancestral marina atlántica, posiblemente relacionada con *O. platensis* (citado por Abel, 2002 pp 157). Además, estudios filogenéticos de Sommer (2009), a partir de análisis de citocromo b, mostraron que el grupo de especies marinas de Chile: *O. smitti, O. gracilis*, y *O. regia*, se relaciona directamente con los haplotipos de *O. hatcheri* (encontrados en los mismos especímenes considerados en este trabajo). Por lo tanto, las relaciones evolutivas de *O. hatcheri* lo hacen más cercano a las especies marinas del oeste de la Patagonia, que a las de agua dulce de la provincia Pampeana (*sensu* López *et al.*, 2008).

La variación génica encontrada en este trabajo entre las poblaciones de *O. hatcheri*, no fue significativa (menos del 1%), sin clara distinción entre grupos de haplotipos ni orientación geográfica, como lo muestra el haplotipo 5 compartido entre 50 individuos (Figura 2.5.) que corresponde a la mayor parte de la distribución de *O. hatcheri*. Sin embargo, este marcador no es útil en un nivel interpoblacional. En cambio la aplicación de RAPD e isoenzimas en estudios realizados por Abel (2002), mostraron en *O. hatcheri* diferencias significativas entre las poblaciones de la Laguna Ruiz, el Embalse Piedra del Águila y el Río Collón Curá, estos dos últimos pertenecientes a la misma cuenca y con mayor flujo génico.

Estos datos muestran que la información aportada por la genética mitocondrial de citocromo b es una herramienta adecuada en la diferenciación de estas especies mientras que la detección de hibridizaciones y el análisis de variación genética interpoblacional estan siendo abordados con técnicas y marcadores moleculares de ADN nuclear.

### 5.5. Métodos de estimación del crecimiento

Uno de los problemas prácticos que se tienen al estimar parámetros de crecimiento a través de datos de frecuencia de tallas, es su validación. Es por esto que además de realizar comparaciones con estudios basados en estructuras de aposición (otolitos, escamas), la comparación del índice de performance del crecimiento o índice φ' contribuye a suplir esta dificultad (de Dios, 2000). Moreau (1987) propuso como medida comparativa el índice φ', cuyo coeficiente de variación no debe exceder el 5%. En nuestro estudio, la variación de este índice estimada para los embalses según el método ELEFAN, fue de 2 % y según SLCA fue 6,25 % (Tabla 3.5.) y para los períodos bianuales en cada sitio fue 5,215 % y 5,57 %, respectivamente (Tabla 3.7.). Es decir, que las diferencias fueron de 4,25 y 0,35

unidades porcentuales, lo que indica que la variación entre métodos debida a los algoritmos fue despreciable. .

Las diferencias observadas entre los métodos SLCA y ELEFAN se observan mayormente en los valores de K, que presentan rangos mayores según SLCA  $(0.38 \pm 0.13)$  con respecto a los estimados por ELEFAN  $(0.31 \pm 0.03)$  (Tabla 3.5 y Figura 5.2) esto debido a los algoritmos que emplea cada método en sus estimaciones.

Los métodos no paramétricos pueden dar respuestas sesgadas, y deben ser aplicados teniendo en cuenta una visión de la ecología de los peces en estudio (Magnífico, 2007). Isaac (1990) comparó los métodos ELEFAN, SLCA y P-W, y propuso:

- 1. El método ELEFAN es más adecuado para las poblaciones de peces pequeños, con un crecimiento más rápido y más corto tiempo de vida, sin embargo, el parámetro K es siempre subestimado y  $L_{\infty}$  siempre sobreestimado.
- 2. El método SLCA muestra una variabilidad relativamente alta en las estimaciones (lo que coincide con el mayor rango de valores estimado para K). A diferencia de ELEFAN, el sesgo de este método es más pequeño para los peces con tasas de crecimiento lentas y mayor para los peces con tasas de crecimiento rápidas.
- **3.** El método del P-W muestra una clara tendencia a sobrestimar tanto  $L_{\infty}$  y Z/K, lo que es más pronunciado para peces con un crecimiento lento y larga vida.

Por su parte, Hampton y Majkowski (1987) demostraron que la eliminación de la mayor longitud de clases a partir de datos de longitud originales mejora ligeramente las estimaciones con ELEFAN. Ambos métodos son sensibles a las variaciones de crecimiento entre individuos (Magnífico, 2007).

Así, teniendo en cuenta estos lineamientos, el método SLCA fue considerado en este trabajo como el más apropiado para el estudio de *O. hatcheri*, ya que se trata de una especie relativamente longeva, y de crecimiento aparentemente lento en relación a otras especies. Como una referencia, Ruiz (2004) en base a conteos de anillos de crecimiento en otolitos, registró ejemplares de pejerrey patagónico con LT: 412 mm y 7 años de edad en el Embalse Florentino Ameghino. Mientras que ELEFAN se aplica mejor a casos de peces pequeños, de crecimiento rápido y vida corta.

Según las tallas máximas registradas para los 6 embases analizados y sus claves de edad - talla calculadas aquí (Tabla 3.6), se observaron individuos de edades mayores a los 12

años. Sin embargo, estos datos requieren ser cotejados con la determinación de la edad por un método directo sobre anillos de crecimiento de estructuras de aposición (escamas u otolitos) de los que no pudieron disponerse para el estudio de esta tesis. Por ejemplo, en base al estudio de otolitos se han registrado ejemplares de pejerrey patagónico de 7 años en el embalse Florentino Ameghino (Ruiz, 2004) y de 8 años, en la laguna Ñe Luan (Bello *et al.*, 1994).

Los métodos de estimación de parámetros del crecimiento más comúnmente utilizados en la bibliografía para el pejerrey bonaerense y el patagónico, fueron el método lepidológico y el análisis de progresión modal (APM) (Tabla 3.8.). En cambio, no existen estudios previos realizados en estos taxones con los métodos de Shepherd (SLCA), Powell-Wetherall (P-W) y ELEFAN, siendo este trabajo un primer antecedente en este aspecto.

Los estudios de Dománico (2006) en pejerreyes del Embalse Ramos Mejía mostraron valores de tallas asintóticas de 485-531 mm y valores de K de 0,18-0,21, mientras que en el mismo ambiente, en nuestro trabajo y durante el período considerado, los valores medios de  $L_{\infty}$  fueron de 360-451 mm y de K=0,2-48. Si bien los períodos de estudio fueron distintos, estos datos proporcionan una idea de la magnitud de las diferencias relacionadas con los métodos, con estimaciones en base al método SLCA mayores para K y menores para  $L_{\infty}$  respecto a los métodos lepidológico y APM.

## 5.6. Análisis comparativo del crecimiento en O. hatcheri

Los parámetros de crecimiento obtenidos en este trabajo fueron comparados en distintos niveles de análisis. Primeramente, con dos especies de importancia para la acuicultura: *O. mykiss* y *O. bonariensis*.

Nuestros resultados mostraron que en ambientes patagónicos la trucha arco iris presentó valores de tallas asintóticas ( $L_{\infty}$ : 350 - 1253 mm) e índices de performance de crecimiento ( $\phi$ ': 2,98 - 3,53) mayores a los estimados para pejerreyes, según datos obtenidos en la bibliografía y según nuestras estimaciones (Figura 5.2). Si bien el coeficiente de crecimiento, de la trucha arco iris (K: 0,199- 1,069) parecería diferir del de pejerreyes (K: 0,22-0,65) (Tabla 3.8), no se hallaron diferencias significativas. Esto significa que la trucha arco iris alcanza su talla máxima en tiempos similares al pejerrey (por los valores de K), pero sus tallas son significativamente mayores y por eso su performance de crecimiento es mayor. Estos análisis comparativos en ambientes naturales evidenciaron lo que en términos de

cultivo se ha observado en forma separada para estas especies: O. mykiss en relación al pejerrey (O. bonariensis y O. hatcheri), crece más rápido.

Si bien los valores de K para el pejerrey pampeano se muestran mayores a los del patagónico, el análisis de los valores de  $L_{\infty}$ , K y el índice  $\phi$ ' entre pejerreyes, no encontró diferencias significativas entre *O. hatcheri* y *O. bonariensis* y se pudo observar que los parámetros estimados en los seis embalses de las cuencas de los ríos Limay y Neuquén, presentaron valores intermedios en relación a las dos especies (Figura 5.2).

Con respecto a la relación entre el crecimiento y parámetros ambientales que pudieran explicar variaciones entre los sitios de estudio para los pejerreyes, no se observaron diferencias entre las dos especies estudiadas en cuanto a sus índices de performance del crecimiento (φ') con la temperatura media de verano (Figura 3.23). Cabe señalar, que si bien la determinación taxonómica de estos ejemplares no contó con la resolución de las técnicas genéticas ni morfométricas tratadas en el Capítulo 1, fueron registrados 3 individuos de *O. bonariensis* en el embalse Mari Menuco, según información reportada por la AIC. En estos ambientes, sujetos a siembras realizadas a partir de reproductores del Lago Pellegrini (F. Gómez, comunicación personal), la ocurrencia de individuos con genoma de *O. bonariensis* es muy probable. Así, los datos morfológicos y genéticos generados en este trabajo sugieren que los valores intermedios de los parámetros de crecimiento de los embalses analizados podrían estar relacionados al efecto de siembras e introgresiones de *O. bonariensis* en estos ambientes (Sommer, 2010).

En cuanto a otras especies de pejerrey de América del Sur, según Becker *et al.* (2003), no ha sido posible discernir ningún patrón en la edad y el crecimiento en relación con la latitud, la proximidad geográfica de las especies o el tipo de hábitat (marino o de agua dulce).

En relación a parámetros de crecimiento del pejerrey patagónico estimados en otros ambientes, en su revisión, Dománico (2006) mostró que valores de  $L_{\infty}$  variaron entre 335 (Lago Los Mosquitos, Baigún, datos no publicados en Dománico, 2006) y 540 mm (Lago Rosario, Baigún 2001); los valores de K variaron entre 0,107 (Lago Muster, Cataldo, 1989) y 0,573 (Laguna Terraplén, Grosman, 1993), y los valores del índice  $\phi$ ' entre 2,3 (Lago Muster, Cataldo, 1989) y 3 (Laguna Terraplén, Grosman, 1993), con un valor medio de 2,789 (Tabla 3.8). En relación a este valor, los valores del índice  $\phi$ ', obtenidos en este trabajo (2,579-2,993) se situaron dentro de los rangos registrados por otros autores para la especie.

En cuanto al análisis de potencialidades para el cultivo de estas dos especies, el trabajo de Fernández et al. (1997) aporta una comparación interesante con otros parámetros. El cociente entre la tasa de crecimiento específico y la tasa metabólica específica calculado para juveniles de *O. hatcheri* en ese trabajo fue menor que lo estimado para *O. bonariensis* por otros autores (Luchini *et al.*, 1984; Freyre 1976; Reartes, 1995 y Zagarece 1996). Sin embargo, un dato bibliográfico ensayado en juveniles de entre 3 y 4 meses (Tsuzuki et al., 2000a), mostró mejor supervivencia y tasas de crecimiento de *O. hatcheri* comparados con juveniles de *O. bonariensis* en las mismas condiciones. La discusión sobre la especie de mayores potencialidades para ser cultivada y comercializada requerirá de otros estudios más concluyentes.

En otro nivel de análisis, en los seis sitios de estudio del presente trabajo se estimaron parámetros de crecimiento para períodos de dos años. Estudios de Baez *et al.* (2011) describen una tendencia general de aumento en la temperatura media del aire de verano en el Embalse Alicura, con 18°C para el período 1961-1990, y 20-21°C en 2008-2009. Sin embargo, pese a las tendencias climáticas, nuestras estimaciones de crecimiento en cada embalse no se relacionaron significativamente con el tiempo en el período analizado.

Los parámetros de crecimiento analizados entre los embalses mostraron un solo contraste entre los valores de las tallas asintóticas de Alicura que fueron mayores que las de Los Barreales.

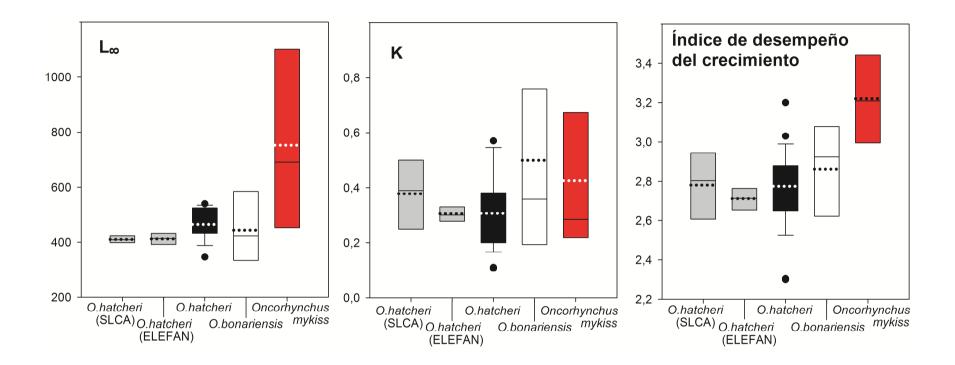


Figura 5.2. Valores de  $L_{\infty}$ , K, e índice  $\phi$ ' calculados para O. hatcheri ( $\blacksquare$ ); O. bonariensis ( $\square$ ) y O. mykiss ( $\blacksquare$ ) por otros autores (Tabla 3.8) y estimados en el presente trabajo ( $\square$ ). Media ( $\cdots$ ), cajas con mediana, percentiles 25 y 75, barras de percentiles 5 y 95 y valores extremos.

### 5.7. Estructura de tallas

A excepción de los Embalses Alicura y Chañar, todas las localidades presentaron estructuras de tallas de verano con al menos dos cohortes diferenciables, con la primera cercana a los 150 mm de LT (Figuras 3.6 y 3.7).

Los estudios de crecimiento requieren una adecuada selección de tamaños de malla a utilizar para la captura de una muestra representativa. La captura de las primeras cohortes se debió a la utilización de mallas de 30 mm entre nudos a partir del año 2000. Es por esto que, para futuros estudios de crecimiento de pejerrey, se recomienda el uso de éste o menores tamaños de malla.

En el embalse Chañar, se observó una única moda en el total de las capturas de verano (Figura 3.6). En este ambiente, con la mayor amplitud del período reproductivo anual, (septiembre, noviembre, enero, marzo y mayo, Figura 3.27), puede ocurrir que los reclutamientos sean más continuos, o más extendidos en el año, o se alternen en distintos meses del año y así resulten solapados. De esta forma la variación de longitud por grupo de edad es mayor y las modas pueden quedar ocultas entre las edades jóvenes. En estos casos, cuanto menos discretas son las cohortes, continúan unidas a medida que envejecen, y así la estimación de parámetros de crecimiento puede ser más imprecisa (Magnífico, 2007).

En el embalse Alicura, es característica una primera moda en 225 mm, de mayor tamaño que la primera moda de los demás ambientes (Tabla 3.4.). Estos resultados sugieren efectos de piscivoría por parte de salmónidos sobre las tallas menores de pejerrey.

Cabe señalar que las abundancias relativas de los seis embalses analizados revelaron que el Embalse Alicura presentó el mayor número de especies (*P. trucha, O. hatcheri, O. viedmensis, O. mykiss,* y *S. salar*) y las mayores abundancias relativas de salmónidos, mientras que en el resto de los embalses, las especies dominantes fueron la perca y el pejerrey (Figura 3.5), coincidiendo con lo observado por Alonso (2003).

Además, se registró en el embalse Alicura un grupo de pejerreyes de 435 (±11,55) mm LT, correspondientes a una captura de verano del año 2004, tallas poco abundantes en los demás sitios. En este sentido, un hecho que ha sido observado en los últimos años en Alicura fue la elevada incidencia de escapes de truchas de las pisciculturas que se des-

arrollan en este ambiente (Alonso, 2003; Temporetti *et al.*, 2001). Dado que *O. hatcheri* depreda sobre peces a partir de los 250 mm LT (Macchi *et al.*, 1999), la abundancia de presas de trucha arcoíris escapadas de criadero, de pequeño tamaño, podría explicar la presencia de tallas mayores de pejerrey. Por otra parte, individuos mayores están sujetos a una menor mortalidad por predación, pueden almacenar más energía y por lo tanto, se vuelven menos susceptibles a las fluctuaciones en el suministro de alimento y condiciones ambientales extremas (Magnífico, 2007). Por lo tanto, frente a la predación de los salmónidos, el aumento en el tamaño, constituiría un refugio para los pejerreyes de tamaño presa.

En este trabajo, las estructuras de tallas obtenidas presentaron variación entre los ambientes analizados. Como ha sido estudiado en *O. bonariensis* (Baigún *et al.*, 2009), las diferencias en este parámetro como también en las tallas máximas alcanzadas entre ambientes, pueden responder a diferencias en el cambio de nicho trófico a lo largo de la historia de vida del pejerrey (Macchi *et al.*, 1999). Estos cambios dependen de las características limnológicas y la disponibilidad de alimento del ambiente. En el caso de Alicura, los cambios en el nicho trófico de *O. hatcheri* estarían afectados por la presencia de un ítem presa y a la vez un predador, como lo es *O. mykiss*.

### 5.8. Estado de condición

En primer lugar, se encontró un crecimiento levemente alométrico en los sitios analizados con pendientes de regresión mayores a 3 (b= 3,135-3,588). La relación largo-peso sólo fue distinta entre los machos y hembras de los embalses Mari Menuco y Arroyito, mostrando variación entre los ambientes. Ruiz (2004) por su parte también observó relaciones alométricas en pejerreyes del Embalse Florentino Ameghino (b= 3,19). En la laguna Ñe Luan los pejerreyes macho tuvieron relaciones alométricas positivas (b>3), mientras que en las hembras las relaciones alométricas fueron negativas (b<3) (Bello *et al.*, 1996).

Baigún *et al.* (2009) no recomiendan comparaciones del índice de condición o índice de Fulton entre ambientes con diferentes relaciones alométricas. En atención a ello, se consideró la relación de este índice con el tamaño y por lo tanto, los análisis fueron realizados sobre los residuales de la regresión entre el peso y la talla. El estado de condición (medido como Res FK) de los pejerreyes fue analizado en relación a 3 fuentes de varia-

ción: el sexo, el estado de madurez gonadal y el ambiente, lo que permitió determinar ciertas interacciones.

En cuanto a los sexos, los pejerreyes presentaron diferencias en el estado de condición con valores mayores para los machos (Media ResFK 3: 0,014 y 9: -0,011). Esto coincidió con lo observado por Bello *et al.* (1996) para ejemplares de pejerrey provenientes de la laguna 9e Luan y Moreno.

En relación a la madurez sexual, se encontraron diferencias significativas en el estado de condición entre estadios gonadales (Figura 3.22 y 3.23), siendo el estadio 3 el que presentó los valores mayores en la mayoría de los ambientes analizados.

Con respecto a la variación del estado de condición debida al ambiente, se presentaron diferencias significativas entre los embalses, tanto en hembras como en machos dentro de los estadios gonadales 2, 3 y 4. Mientras que en el estadio 1 no se observaron diferencias entre los embalses. Pejerreyes en estadio gonadal 3 del embalse Alicura presentaron Res FK mayores con respecto a los embalses Los Barreales y Mari Menuco, para las hembras; y Arroyito, Mari Menuco y Chañar, para los machos.

Los análisis de Freyre *et al.* (2009) sobre *O. bonariensis*, mediante indicadores de desarrollo gonadal y hepático y reserva de grasas, indicaron relaciones estacionales entre la disponibilidad de zooplancton, las reservas de energía y la intensidad de los desoves. Según estos estudios en los desoves de primavera, con disponibilidad de zooplancton mayor, la energía se transfiere de los alimentos a las gónadas. Mientras que en otoño los desoves utilizan las reservas de grasa para la maduración de las gónadas.

En la mayor parte de los embalses, la temporada de desove correspondió a los meses de primavera y la primera mitad del verano (Figura 3.26). Estos resultados coinciden mayormente con lo observado para esta especie en otros ambientes. En el Embalse Ramos Mejía (Dománico & Freyre, 2008), al igual que en la laguna Ñe Luan (Bello *et al.*, 1996a), el porcentaje de hembras desovantes fue mayor entre septiembre y diciembre; en el lago Moreno se presentó en primavera (Bello *et al.*, 1996b), en el Lago Pellegrini fue entre agosto y diciembre, con un máximo en noviembre (Viozzi, 1993), y así mismo, en el Embalse F. Ameghino, el ciclo de maduración y puesta se inició en invierno tardío y continuó en primavera (Ruiz, 2002).

En el embalse el Chañar se encontraron hembras desovantes desde la primavera hasta principios del otoño, siendo el período más amplio entre los demás ambientes. Esto coincide con algunos trabajos sobre la actividad reproductiva de *O. bonariensis*, que en otoño presenta un segundo período de menor duración e intensidad (Boschi & Fuster de Plaza, 1959; Calvo & Morriconi, 1972). Bello *et al.* (1996b) postularon que el pejerrey patagónico es un reproductor asincrónico, que puede presentar individuos maduros en varios meses del año.

En los embalses analizados en esta tesis, el ciclo ovárico fue estacional, probablemente respondiendo a variables de tipo ambiental como fue observado por Strüssmann (1989) para *O. bonariensis* con el fotoperiodo y la temperatura. Miranda & Somoza (2001) exponen que en *O. bonariensis*, la actividad reproductiva es un fenómeno estacional en las hembras, mientras que en los machos ocurre a lo largo de casi todo el año.

Nuestros resultados, junto a los datos de la bibliografía para *O. hatcheri* (Dománico & Freyre, 2008), muestran una temporada de desove más acotada a los meses más cálidos, y una estacionalidad más marcada que la de *O. bonariensis*, por tratarse de climas templado fríos.

## 5.9. Talla promedio de primera madurez

Con respecto al tamaño de madurez sexual, éste varió en los seis sitios de estudio con un rango de 173 y 206 mm LT y edades menores a un año (0,7 y 0,78 años, considerando eclosiones estivales a otoñales) cuyos extremos correspondieron a los embalses El Chañar y Arroyito, respectivamente.

Estos resultados se relacionan con el crecimiento, dado que retrasos en la edad de madurez proporcionan más energía disponible para el aumento del tamaño (Jennings *et al.*, 2001). En el caso del Embalse Ramos Mejía, la talla de primera madurez sexual, en las hembras fue de 174 mm (LT), mientras que según Dománico & Freire (2008) para este ambiente, fue de 244,37 mm (LT) y Ferrada (2010) observó en pejerreyes mantenidos en jaulas, hembras en estadio de predesove con 1 año de edad y 44 g de peso corporal. Ruiz (2002), por su parte, encontró en el Embalse F. Ameghino una TPM de 225 mm LT, que correspondió a los 2 años y Bello *et al* (1996b) estimaron que en el lago Moreno una TPM de 230 mm, con un año de edad. Todo esto demuestra la diversidad entre los ambientes en las tallas de madurez sexual del pejerrey patagónico, y por otra parte,

una madurez e inversión de energía destinada a la reproducción de forma temprana (0,7-0,78 años: 45-46% de la talla máxima), también observada para *O. bonariensis* (Luchini *et al.*, 1984; Reartes, 1995; Barros, 1999; Miranda & Somoza, 2001).

Las proporciones de sexos fueron leve pero significativamente distintas del equilibrio, con mayor proporción de machos en los Embalses Mari Menuco y Alicura y mayores proporciones de hembras en los restantes. Las fluctuaciones en este indicador posiblemente estén relacionadas con la influencia de la temperatura en la determinación del sexo en los pejerreyes, sin embargo, en nuestro estudio no se observó ninguna tendencia clara al respecto.

# 5.10. El estrés en prácticas de cautiverio con pejerrey patagónico

En este trabajo, las experiencias realizadas relacionadas con prácticas de cultivo, permitieron analizar niveles de cortisol plasmático y expresión hepática de IGF-1 de ejemplares de pejerrey patagónico sometidos a captura, transporte y cautiverio. Los valores alcanzados en los niveles de cortisol plasmático fueron máximos en el día 6 de cautiverio, incluyendo en ese período de tiempo a la captura, el transporte y el mantenimiento. Al mismo tiempo, se registró que los valores de expresión relativa de ARNm de IGF-1 llegaron a su nivel más alto en ese mismo momento.

El cortisol es conocido como la hormona del estrés que afecta al desarrollo, el equilibrio osmótico, el estado inmunológico y la reproducción (Schreck *et al.* 2001 y Schreck, 2010). El IGF-1 es un polipéptido con funciones pleiotrópicas, que interviene en algunas de las acciones metabólicas de GH y está involucrada en el metabolismo de las proteínas, lípidos, carbohidratos, el metabolismo de minerales, y la diferenciación celular (Delafontaine *et al.*, 2004). A IGF-1 se le ha asignado también una función antiestrés, por lo tanto cuando el sistema inmunitario es dañado, IGF-1 podría tener una acción remediadora (Clark, 1997).

Los presentes resultados muestran que IGF-1 tiene una expresión de ARNm máxima asociada con el estrés agudo y la mortalidad. Por otra parte, cuando los peces fueron sometidos a un largo período de cautiverio, los niveles de expresión de ARNm de IGF-1 cayeron, lo que podría indicar una reducción en las tasas de crecimiento causado por el estrés crónico. Una disminución similar se observó cuando se inyectó 50 ug/g de cortisol en tilapia (Kajimura *et al.*, 2003). Este perfil de expresión del ARNm de IGF-1 se

podría utilizar en la evaluación del crecimiento. Si se cambian las condiciones de cultivo y se induce el estrés agudo, el aumento de niveles en la expresión relativa de IGF-1 no debería ser asociado con el crecimiento.

### 5.11. Variables fisiológicas frente a cambios en la salinidad en O. hatcheri

Estudios anteriores en salmónidos demostraron que la adición de sales podría reducir los efectos de la manipulación, hacinamiento y otros factores de estrés (Wedemeyer, 1972; Haswell *et al* 1982).

En la experiencia II, la aplicación de concentraciones bajas de salinidad (0,5%) minimizó los efectos del estrés en condiciones de cautiverio, con bajos niveles de cortisol y mortalidad nula (Tabla 4.1.), lo que coincidió con lo observado por Tsuzuki *et al.* (2000b) en *O. hatcheri* y Tsuzuki *et al.* (2001) en *O. bonariensis*.

Además, frente a bajas salinidades (0 y 0,5 %), la osmolaridad plasmática correlacionó negativamente con los niveles de cortisol plasmático como se observó en *O. bonariensis* (Tsuzuki *et al.*, 2001). Cataldi *et al.* (2005) observaron que en tilapia peces sometidos a condiciones de estrés, el aumento de salinidad resultó en una elevación de los niveles de cortisol pero en forma más baja que los peces con ausencia de salinidad.

Un factor de estrés generalmente induce niveles elevados de cortisol en plasma y catecolaminas y puede llevar a desequilibrios osmóticos en peces expuestos a diferentes
salinidades (Pickering & Pottinger, 1995). Estudios anteriores en adultos de *O. bonariensis* reportaron bajos niveles de cortisol con salinidades de 0,5 y 2 %, frente a factores de estrés como el transporte o el hacinamiento (Tsuzuki *et al.*, 2001). Aunque se
esperaba que la exposición gradual a salinidades mayores podría permitir la supervivencia en condiciones que de otro modo no podían ser toleradas (Eddy, 1981; Anyanwu,
1991), este no fue el caso para *O. hatcheri*, de manera similar a lo observado por Tsuzuki *et al.* (2000b). Específicamente para esta especie, valores de salinidad de 2 % fueron letales y salinidades de 2 % suministradas en forma gradual, generaron una mortalidad del 50%, una disminución en el contenido de agua corporal y una relación inversa
entre el contenido relativo de agua corporal y el nivel de cortisol plasmático. Por lo tanto, salinidades más bajas (0,5 %) podrían minimizar el estrés en condiciones de cautividad, pero altas salinidades podrían estar fuera de los límites de tolerancia, revelando una
incapacidad osmorreguladora.

Es de esperar que *O. hatcheri* se adapte bien a menores niveles de salinidad coincidentemente con los lagos y ríos pobres en minerales, en que se distribuye (Modenutti *et al.*, 1998; Tsuzuki *et al.*, 2000a).

Berra (1981) y Bamber & Henderson (1988) señalan que la familia Atherininopsidae reúne especies marinas costeras que prefieren la vida en los estuarios y lagos. *O. bonariensis* y *O. hatcheri* poseen una notoria tolerancia a altas salinidades pero no al agua de mar. Tsuzuki *et al.* (2000a) concluyeron que en ambas especies la eurihalinidad demostrada fue probablemente una expresión de la plasticidad fenotípica. Los resultados de Tsuzuki *et al.* (2000a) para huevos, larvas y pequeños juveniles de *O. hatcheri*, en comparación con nuestros resultados mostraron una cierta pérdida ontogenética de la eurihalinidad. Los recientes estudios moleculares que posicionan a *O. hatcheri* emparentado con especies marinas (Beheregaray, 2000; y Sommer, 2009) concuerdan con su adaptabilidad al empleo de sales en prácticas de cultivo.

Sin bien, el presente estudio indica, que para el pejerrey patagónico una salinidad moderada (0,5 %) permitiría mejores tasas de supervivencia y rendimientos, lo que sugiere que la salinidad moderada actúa como un agente mitigador del estrés en esta especie, estos niveles salinos no se encuentran fácilmente en los lagos y ríos pobres en minerales, en que se distribuye la especie (Modenutti *et al.*, 1998; Tsuzuki *et al.*, 2000a).

Por lo que estas prácticas se podrían aplicar principalmente al cultivo intensivo, siendo menos aplicables al cultivo extensivo en jaulas flotantes dadas las condiciones ambientales.

#### **5.12.** Consideraciones finales

El objetivo de esta tesis fue proporcionar información biológica sobre una especie de pez nativo de la Patagonia y Cuyo, con potencial valor como recurso pesquero y de cultivo para la región. Desde el punto de vista económico, la trucha arco iris, que se comercializa exitosamente en la región del Comahue (Zeller *et al.*, 2009), monopoliza las actividades de cultivo. Como se esperaba, *O. mykiss* presentó las mejores tasas y performance de crecimiento en ambientes de Patagonia. Sin embargo, en el marco de las tendencias de aumento de temperaturas por el calentamiento global, su adaptación al cultivo se ve comprometida principalmente en relación con la fisiología de la reproducción (Báez *et al.*, 2011).

Según este estudio, el pejerrey patagónico, no mostró cambios en los parámetros de crecimiento en los últimos años (1994 – 2003 y 1994 – 2007) en los seis embalses analizados que pudieran corresponder a efectos de calentamiento. Los ensayos de cultivo de *O. hatcheri* en balsas-jaula en el embalse Ezequiel Ramos Mexía muestran baja mortalidad pero también muy bajas tasas de crecimiento y bajas tallas de primera madurez (Hualde *et al.*, 2011), sin mejorar los resultados de Colautti *et al.* (2010) para el pejerrey bonaerense. Nuestros resultados no muestran diferencias significativas en cuanto a sus parámetros e índice de performance de crecimiento con los del pejerrey bonaerense. Es decir, frente a las escasas diferencias en el crecimiento y los efectos de introgresión, no son obvias las ventajas de la siembra de *O. bonariensis* como recurso pesquero en ambientes patagónicos, sin contar con que, como ha sido observado en este trabajo, su introducción en ambientes del área de distribución de *O. hatcheri* perjudica la integridad genética de las poblaciones naturales.

En el marco de las tendencias de cambio ambiental y aumento de la población humana, es posible que un cambio en las condiciones del mercado favorezca la explotación del recurso pejerrey para el consumo, como producto de cultivo o más posiblemente como producto de la pesca. Es aquí donde la información biológica de la especie, la limnología y la biología pesquera, entre otras fuentes, pueden generar una base de conocimiento sobre la cual se pueden desarrollar pautas de manejo y tecnologías necesarias para un adecuado aprovechamiento. Existen cuatro formas de implementar tácticas de manejo de una pesquería: la asignación de derechos de propiedad sobre el recurso, la regulación de la composición de la captura, la regulación del tamaño de la captura y el establecimiento de programas de extensionismo pesquero (Seijo et al., 1997). En este sentido, las tallas promedio de madurez estimadas en este trabajo podrían servir de parámetros para determinar las medidas mínimas de captura para la pesca comercial o deportiva de O. hatcheri en los seis ambientes de estudio y así contribuir a preservar una cierta biomasa de la población y un ingreso continuo de reclutas. Estas medidas han sido implementadas en la provincia de Santa Fé para especies de la cuenca del Plata, entre ellas O. bonariensis (Ley de Pesca 12.212).

### **5.13. CONCLUSIONES**

- 1 El análisis de la morfometría geométrica de pejerreyes Andinos en los 18 sitios analizados, permitió distinguir tres grupos de individuos con formas correspondientes a las especies *O. hatcheri* y *O. bonariensis* y al morfotipo de un grupo de presuntos híbridos.
- 2 Los patrones de variación morfológica intraespecífica, entre sitios de captura, y sus relaciones con las variables ambientales, indicaron para *O. hatcheri* a la altitud y la concentración total de fósforo como las variables relacionadas con la forma.
- 3 El análisis genético sobre secuencias de ADN mitocondrial, permitió distinguir los haplotipos de estas dos especies de pejerrey y permitió registrar otros casos de introgresiones de *O. bonariensis* en individuos morfológicamente identificados como *O. hatcheri*, en los Embalses Florentino Ameghino y Nihüil, y Urre Lauquen.
- 4 Los parámetros de crecimiento estimados en pejerreyes provenientes de seis embalses de las cuencas del rio Neuquén y Limay, no mostraron diferencias significativas con los parámetros encontrados en la bibliografía para *O. hatcheri* y *O. bonariensis*. Sin embargo, se pudo observar que estos valores fueron intermedios entre los estimados para ambas especies, lo que posiblemente estaría relacionado a las introgresiones de *O bonariensis* observadas en estos sitios.
- 5 El estado de condición analizado para los 6 embalses mencionados varió entre ambientes, entre sexos y entre los estadios gonadales. Las tallas promedio de primera madurez oscilaron entre los 173 y 206 mm, de los embalses Chañar y Arroyito, que correspondieron a 0,7 y 0,78 años respectivamente.
- 6 El efecto generado por el estrés a partir de las prácticas de manipulación de captura, transporte y cautiverio, pudo ser estimado en *O. hatcheri* a través del nivel plasmático de cortisol y la expresión de IGF-1. Se observó que valores máximos de cortisol ocurrieron en el día 6 de cautiverio y que aumentos en la expresión de IGF-1 pueden estar relacionados con el estrés agudo.
- 7 La selección de la calidad del agua, con una salinidad de 0,5 %, es esencial frente a ciertas prácticas de manipulación con pejerrey patagónico, a fin de maximizar la supervivencia y minimizar los efectos del estrés.

# ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 2.1.</b> Definición de <i>landmarks</i> utilizados en análisis de morfometría geométrica.28
Tabla 2.2. Sitios de captura de pejerrey y parámetros ambientales31
Tabla 2.3. Determinación de especies de Odontesthes en la Región Andina (Cuyo y
Patagonia, sensu López, 2008) en base a caracteres de clave (CC), ADN mitocondrial
(ADNmt) y AC aplicados a datos de MG
Tabla 2.4. Caracteres taxonómicos de clave aplicados a la identificación de ejemplares
del Lago Pellegrini (según Dyer, 2006)
Tabla 2.5. Variación explicada por los RW1 y 2 para los análisis de morfometría ge-
ométrica a nivel intra e inter específico
<b>Tabla 2.6.</b> Resultados de los análisis discriminantes
<b>Tabla 3.1.</b> Parámetros geográficos morfológicos y físicos de los embalses analizados 57
<b>Tabla 3.1. Continuación.</b> Parámetros físicos y químicos de 5 de los embalses analizdos
(Díaz et al., 2007)
Tabla 3.2. a Sitios de muestreo, fechas de captura y número de individuos capturados
en los embalses analizados según plan anual de monitoreo
Tabla 3.2. b (Continuación) Sitios de muestreo, fechas de captura y número de indivi-
duos capturados en los embalses analizados según plan anual de monitoreo
Tabla 3.2. c (Continuación) Sitios de muestreo, fechas de captura y número de indivi-
duos capturados en los embalses analizados según plan anual de monitoreo
<b>Tabla 3.3.</b> Número total de peces capturados por año por la AIC en cada embalse 77
Tabla 3.4. Grupos anuales de los embalses analizados en base al método de Bhattachar-
ya. Valores de longitud media (mm), desvío estándar (DS) y tamaño poblacional (n)81
<b>Tabla 3.5.</b> Valores de $L_{\infty}$ , $K$ e índice $\varphi$ ' estimados para cada embalse según métodos P-
W + SLCA, SLCA y ELEFAN. Media, DS y CV85
Tabla 3.6. Clave talla (LT, mm) - edad (años) calculada en cada embalse a partir de los
parámetros de crecimiento estimados según los métodos de Shepherd y ELEFAN 86
Tabla 3.7. Parámetros de crecimiento de cada embalse estimados por períodos de dos
años según 2 métodos empleados

Tabla 3.8. Parámetros de crecimiento estimados para O. hatcheri, O. bonariensis, O.
smitti y O. mykiss, según distintos autores y métodos
Tabla 3.9. Resultados de la relación Largo-Peso entre sexos en los ambientes analiza
dos (ANCOVA ♀-♂). Valores de las constantes estimadas a y b (Intervalo de confianz
del 95%)
Tabla 3.10. Composición de sexos de cada embalse    10
Tabla 3.11. TPM estimadas en hembras de cada ambiente y estimación de r         11
Tabla 4.1. Experiencia 2: Cortisol plasmático, hematocrito, contenido relativo de agu
corporal, osmolaridad y mortalidad (media ± ES y n) en O. hatcheri

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 2.1: Distribución de O. hatcheri y O. bonariensis descripto por Dyer (2006) y
sitios de captura de pejerrey
Figura 2.2: 13 Landmarks y semilandmarks aplicados al análisis de morfometría ge-
ométrica, indicados sobre una imagen digital de pejerrey
Figura 2.3: Análisis Generalizado de Procrustes. a, rotación; b traslación; c escalamien-
to y d, configuración final para la superposición
Figura 2.4. Dendrograma de máxima verosimilitud basado en los haplotipos de ADNmt
de pejerreyes de la región Andina. O. hatcheri, O. bonariensis y O. smitti, nombrados
según el sitio de captura41
Figura 2.5. AMG aplicado a los individuos de Odontesthes. RW2 vs RW1 y grillas de
deformación de las formas promedio de O. bonariensis, O. hatcheri y presuntos híbri-
dos
Figura 2.6. Diferencias morfométricas entre O. bonariensis, O. hatcheri y presuntos
híbridos en base al Análisis Discriminante
Figura 2.7. Probabilidad de pertenecer, en base a la MG, a alguno de los tres grupos
taxonómicos, siendo según clave O. hatcheri, O. bonariensis o presunto híbrido 47
Figura 2.8. Probabilidad de ser identificado según MG como O. hatcheri, siendo según
clave O. hatcheri y probabilidad de ser identificado como O. bonariensis, siendo según
clave O. bonariensis. Se indican número de peces para cada sitio de captura, media,
cuartiles y datos fuera de los percentiles 10 y 90
Figura 2.9. AMG aplicado a individuos de O. bonariensis. DF1 vs. LE. Se indican me-
dias e intervalo de confianza del 95% por sitio de captura. Grillas de deformación co-
rrespondientes al análisis de RWs que incluyó solo al Lago San Lorenzo y al Embalse
El Carrizal
Figura 2.10.: AMG aplicado a individuos de O. hatcheri. DF3 vs. DF2. Se indican me-
dias e intervalo de confianza del 95% por sitio de captura
Figura 2.11. Concentración de fósforo total (PT, mg . m <sup>-3</sup> ), altitud (m.s.n.m.) y los resi-
duales de la regresión entre la función discriminante 1 y la talla (Res FD1) 53
Figura 3.1. Cuencas de los ríos Limay y Neuquén y los embalses considerados en el
presente trabajo

Figura 3.2. Modelo matemático de crecimiento de von Bertalanffy. Diagrama tomado
de Sparre & Venema (1998)
Figura 3.3. Estimación del parámetro $L_{\infty}$ según el método de Powell-Wheterall. Toma-
do de Sparre & Venema (1997)
Figura 3.4. Método de maximización sobre el gráfico de contorno. A partir de 4 puntos
iniciales de búsqueda se converge en un punto común con el mejor ajuste
Figura 3.5. Abundancias relativas de las especies capturadas por año en la zona litoral
de los embalses indicados
Figura 3.6. Distribución de frecuencias de tallas y determinación de clases anuales de
los embalses Chañar, Barreales y Mari Menuco en base al método de Bhattacharya 82
Figura 3.7. Distribución de frecuencias de tallas y determinación de clases anuales de
los embalses Arroyito, Ramos Mejía y Alicura en base al método de Bhattacharya 83
Figura 3.8. Determinación de $L_{\infty}$ según el método Powell Wetherall para el embalse
Chañar (a), Mari Menuco (b) y Barreales (c)
Figura 3.9. Determinación de $L_{\infty}$ según el método Powell Wetherall para el embalse
Ramo Mejía (a), Arroyito (b) y Alicura (c)
<b>Figura 3.10.</b> Curvas de crecimiento estimadas para el Embalse Chañar
Figura 3.11. Curvas de crecimiento estimadas para el Embalse Los Barreales
Figura 3.12. Curvas de crecimiento estimadas para el Embalse Mari Menuco
<b>Figura 3.13.</b> Curvas de crecimiento estimadas para el Embalse Arroyito
Figura 3.14. Curvas de crecimiento estimadas para el Embalse Ramos Mejía 90
<b>Figura 3.15.</b> Curvas de crecimiento estimadas para el Embalse Alicura
<b>Figura 3.16.</b> Curvas de crecimiento estimadas según el método de SLCA
<b>Figura 3.17.</b> Curvas de crecimiento estimadas según el método de ELEFAN
Figura 3.18. Valores estimados del índice $\phi$ ' para los parámetros de la EVB según el
método de SLCA en los embalses Chañar, Los Barreales y Mari Menuco
Figura 3.19. Valores estimados del índice $\phi$ ' para los parámetros de la EVB según el
método ELEFAN en los embalses Chañar, Los Barreales y Mari Menuco
Figura 3.20. Valores estimados del índice $\phi$ ' para los parámetros de la EVB según el
método SLCA en los embalses Ramos Mejía, Arroyito y Alicura
Figura 3.21. Valores estimados del índice $\phi$ ' para los parámetros de la EVB según el
método ELEFAN en los embalses Ramos Mejía, Arroyito y Alicura
Figura 3.22. Relación entre la temperatura media anual de verano (1960-1991) de cada
ambiente y el parámetro ф' de pejerreyes: (○) O. bonariensis; (●) O. hatcheri estimados

por otros autores (Tabla 3.8) y ( ) O. hatcheri estimados en este trabajo en base al
método ELEFAN
Figura 3.23. Res FK de hembras en cada estadio gonadal (mediana $\pm$ percentiles 25 y
75)
Figura 3.24. Res FK de machos en cada estadio gonadal (mediana $\pm$ percentiles 25 y
75)
Figura 3.25. Estado de condición (Res FK) de las hembras del estadio gonadal 3 (des-
ove), entre ambientes (mediana ± percentil 25 y 75)
Figura 3.26. Estado de condición (Res FK) de los machos del estadio gonadal 3 (des-
ove), entre ambientes (mediana ± percentil 25 y 75)
Figura 3.27. Frecuencias relativas (%) de estadios gonadales (1 , 2 , 3 , 3 , y 4 )
en hembras de pejerrey, durante el período diciembre 1993 – octubre 1999 108
Figura 3.28. Determinación de la talla promedio de primera madurez de los embalses
Chañar, Barreales y Mari Menuco, en base a las curva logística
Figura 3.29. Determinación de la talla promedio de primera madurez en los embalses
Ramos Mejía, Arroyito y Alicura, en base a las curva logística
Figura 4.1. Niveles de cortisol plasmático ( $ng \cdot mL^{-1}$ ) y expresión relativa de ARNm
IGF-1 en O. hatcheri vs tiempo. Curvas de ajuste e intervalos de confianza del 95% para
cortisol plasmático y para ARNm IGF-1 vs tiempo
Figura 4.2. Niveles de cortisol plasmático (ng $\cdot$ m $L^{-1}$ ) de $O$ . hatcheri entre distintas sa-
linidades (%) y a lo largo del tiempo de exposición (hs) (medias $\pm$ ES)
Figura 4.3. Porcentaje del contenido relativo de agua corporal entre salinidades (%) y
tiempos de exposición (hs) (medias $\pm$ ES)
Figura 4.4. Porcentaje de hematocrito entre salinidades (%) y tiempos de exposición
(hs) (medias $\pm$ ES)
Figura 4.5. Niveles de osmolaridad (mOsm . Kg) entre salinidades (%) y tiempos de
exposición (hs) (medias $\pm$ ES)
Figura 5.1. Mapa de temperaturas medias de aire de verano $2008-2009$ . (Servicio Medias de $1000$ )
teorológico Nacional, www.smn.gov.ar). Se indican los sitios con O. bonariensis y con
O. hatcheri
<b>Figura 5.2.</b> Valores de Longitud asintótica, tasa de crecimiento, e índice $\phi$ ' calculados
para O. hatcheri; O. bonariensis y O. mykiss según datos bibliográficos y los estimados
en el presente trabajo

### ÍNDICE DE ABREVIATURAS

φ': índice de performance del crecimiento

AIC: Autoridad Interjurisdiccional de las Cuencas de los Ríos Limay, Neuquén y Negro

AC: Análisis de Cluster o Agrupamiento

AD: Análisis Discriminante

AMG: análisis de morfometría geométrica

ARNm: ácido ribonucleico

ADNm: ácido desoxirribonucleico mitocondrial

ARLARE: base de datos de Lagos y Embalses de Argentina (Argentinean Lakes and

Reservoirs database)

CARI: Lago Carilafquen

**CARZ**: Embalse Carrizal

CC: caracteres de clave

CDP: Embalse Casa de Piedra

CEAN: Centro de Ecología Aplicada de Neuquén

CHU: localidad Los Altares en el Río Chubut

cit b: citocromo b

**CP**: Componente Principal

CV: Coeficiente de Variación

D: Lago San Lorenzo

DLC: Desarrollo de Línea de Costa

DS: Desvío estándar

ELEFAN: Electronic Length- Frequency Analysis o método ELEFAN

AME: Embalse Florentino Ameghino

EPU: Lago Epuyén

FD/s: Función/es Discriminante/s

GH: hormona de crecimiento

IGF-1: factor de crecimiento insulínico tipo 1

K: constante de crecimiento

 $L_{\infty}$ : longitud asintótica (mm)

L: promedio de la longitud de los peces mayores a L' en la muestra

LBA: Lago Buenos Aires

LE: longitud estándar (mm)

LT: longitud total (mm)

L<sub>T</sub>: longitud total de cada intervalo de talla medido en longitud total de los individuos (mm)

NT: nitrógeno total (mg . m<sup>-3</sup>)

NT:PT: relación fósforo total:nitrógeno total

M: proporción de hembras sexualmente maduras en cada intervalo de talla

MG: Morfometría Geométrica

MITO: Lago Morenito

MUS: Lago Musters

NIHL: Embalse Nihüil

PCR: reacción en cadena de la polimerasa

PDA: Embalse Piedra del Águila

PELE: Lago Pellegrini

PT: fósforo total (mg . m<sup>-3</sup>)

P-W: método de Powell-Whetherall

P-W+SLCA: método de Powell-Whetherall en combinación con el método de Shepherd

r: rango de tallas (mm)

Relative Warps: componentes principales

RIV: Lago Rivadavia

ROS: Lago Rosario

SLCA: Shepherd's Length Composition Analysis o método de Shepherd

TSD: determinación del sexo dependiente de temperatura (thermolabile sex determina-

tion)

TPM: o L<sub>0</sub>: talla promedio de primera madurez sexual (LT, mm)

TPS: Thin-Plate Spline

TPSUtil, TPSDig v2.10 TPSRelw v1.35 y TPSRegr 1.28: paquete de programas para

análisis de morfometría geométrica

TSD: diferenciación del sexo dependiente de temperatura

ULLM: Embalse Ullum;

URRE: Lago Urre Lauquen

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abel, M.C. 2002. Estudio de la variabilidad y la diferenciación genética por medio de técnica de Isoenzimas y RAPD en poblaciones naturales de especies de pejerrey de la República Argentina, género *Odontesthes* (Atherinopsidae, Atherinopsinae, Sorgentinini). Tesis de Doctorado. Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Argentina. 189 p.
- AIC. Autoridad Interjurisdiccional de las Cuencas de los Ríos Limay, Neuquén y Negro. www.aic.gov.ar/aic/publicaciones.aspx [consulta: agosto de 2010].
- Aigo, J.C.; Cussac, V. E.; Peris, S.; Ortubay, S.; Gómez, S. E.; López, H. L.; Gross, M.; Barriga, J. P. & Battini, M. A. 2008. Distribution of introduced and native fish in Patagonia (Argentina): patterns and changes in fish assemblages. Reviews in Fish Biology and Fisheries, 18: 387-408.
- Almirón, A.; Azpelicueta, M.; Casciotta, J. & López Cazorla, A. 1997. Ichthyographic boundary between the Brazilian and Austral Subregions in South America, Argentina. Biogeographica, 73: 23-30.
- Alonso, M.F. 2003. Variación temporal en la estructura de los ensambles de peces de los embalses de la cuenca de los Ríos Limay y Neuquén: diagnóstico y efectos de los escapes de peces de cultivo. Tesis de Maestría. Escuela para Graduados Alberto Soriano, Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires. Argentina. 131 p.
- Álvarez, M.A. & Zingoni, A. 2001. La administración del recurso pejerrey en el ámbito de la provincia de Buenos Aires. En: Fundamentos biológicos, económicos y sociales para una correcta gestión del recurso pejerrey. Grosman, F. (Ed.) Astyanax, Buenos Aires. pp 160-170.
- Alvear, P.; Rechencq, M.; Macchi, P.M.; Alonso, M.F.; Lippolt, G.E.; Denegri, M.A. Navone, G.; Zattara, E.E.; García Asorey, M.I. & Vigliano, P. H. 2007. Composición, distribución y relaciones tróficas de la ictiofauna del río Negro, Patagonia Argentina. Ecología Austral, 17: 231-246.
- Amalfi, M.N. 1988. Resultado de la cruza de dos especies de pejerrey en el Lago Pellegrini (Pcia. Río Negro, Argentina). Informe del Centro Hidrobiológico Lago Pellegrini. Dirección de Pesca de Río Negro. Cinco Saltos. (mimeografiado).

- Amalfi, M.N. 2009. Lago Pellegrini. Características limnológicas. Facultad de Ciencias Naturales y Matemáticas, Universidad Nacional de La Plata. ProBiota, Serie Documentos, 7: 1-64.
- Anyanwu, P.E. 1991. Influence of salinity on survival of fingerlings of the estuarine catfish Chrysichthys nigrodigitatus (Lacépède). Aquaculture, 99: 157-165.
- Aramburu, R.H. 1968. Sobre un envío de ovas de pejerrey a Japón. Dirección de Recursos Pesqueros. Ministerio de Asuntos Agrarios. Serie Boletín Informativo, La Plata, 15: 12-14.
- Arends, R.J.; Mancera, J.M.; Muñoz, J.L.; Wendelaar Bonga, S.E. & Flik, G.1999. The stress response of the gilthead sea bream (*Sparus aurata*, L.) to air exposure and confinement. Journal of Endocrinology, 163: 149-157.
- Arratia, G.; Peñafort, M.B. & Menu Marque, S. 1983. Peces de la región sureste de los Andes y sus probables relaciones biogeográficas actuales. Desert, 7: 48-107.
- Asorey, M.G. 2001. Estructura de edades y crecimineto de *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum 1792) y *Salmo trutta* L. 1758 en Embalses de la Región Patagónica, Argentina. Tesis de Licenciatura. Centro Regional Universitario Bariloche, Universidad Nacional del Comahue. Argentina. 92 p.
- Avise, J.C. 1994. Molecular Markers, Natural History and Evolution. Second Edition. Sinauer Asociates Inc, Sunderland. 684 p.
- Avise, J.C. 2001. Cytonuclear genetic signatures of hybridization phenomena: Rationale, utility, and empirical examples from fishes and other aquatic vertebrates. Reviews in Fish Biology and Fisheries, 10: 253-263.
- Báez, V.H.; Aigo, J.C. & Cussac, V.E. 2011. Climate change and fish culture in Patagonia: present situation and perspectives. Aquaculture Research, 42: 787-796.
- Baigún, C. 2001. Ecología pesquera de lagos y embalses patagónicos. Tesis de Doctorado. Facultad de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Buenos Aires. Argentina. 395 p.
- Baigún, C. & Ferriz, R. 2003. Distribution patterns of native freshwater fishes in Patagonia (Argentina). Organisms Diversity & Evolution, 3: 151-159.
- Baigún, C.; Colautti, D.C. & Grosman, F. 2009. Assessment of condition in pejerrey Odontesthes bonariensis (Atheriniformes: Atherinopsidae) populations: which index works best? Neotropical Ichthyology, 7: 439-446.

- Bamber, R.N. & Henderson, P.A. 1988. Pre-adaptative plasticity in atherinids and the estuarine seat of teleost evolution. Journal of Fish Biology, 33: 17-23.
- Barros, S.E. 1999. Temporada reproductiva y fecundidad del Pejerrey *Odontesthes bonariensis* en el embalse Cabra Corral, Salta. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional de Salta. Argentina. 52 p.
- Barros, S.E. 2004. Biología pesquera del Pejerrey Odontesthes bonariensis (Cuvier y Valenciennes, 1835) en el subtrópico de Argentina. Revista AquaTIC, 20: 32-37.
- Barros, S.E. & Iwaszkiw, J.M. 2006. Fecundidad del pejerrey Odontesthes bonariensis (Cuvier y Valenciennes, 1835) (Pisces: Atherinidae) en el emblase Cabra Corral, Provincia de Salta, Argentina. Revista AquaTIC, 24: 42-49.
- Barton, B.A. 2002. Stress in fishes: a diversity of responses with particular reference to changes in circulating corticosteroids. Integrative and Comparative Biology, 42: 517-525.
- Barton, B.A. & Peter, R.E. 1982. Plasma cortisol response in fingerling rainbow trout, Salmo gairdneri Richardson, to various transport conditions, anaesthesia, and cold shock. Journal of Fish Biology, 20: 39-51.
- Battini, M.A.; Alonso, M.F. & Cussac, V.E. 1995. Growth and nutritional condition of the larvae of *Odontesthes microlepidotus* (Atherinidae): an experimental approach. Environmental Biology of Fishes, 42: 391-399.
- Becker, F.G.; Bruschi J.R. & Peret, A.C. 2003. Age and growth of three Odontesthes species from southern Brazil (Atherinopsidae), with reference to phylogenetic constraints in their life-history. Brazilian Journal of Biology, 63: 567-578.
- Beheregaray, L.B. 2000. Molecular evolution, biogeography and speciation of the Neotropical fish genus Odontesthes. Tesis de Doctorado. Department of Biological Sciences, Division of Environmental and Life Science, Macquarie University. Autralia.
- Bello, M.T.; Alonso, M.F. & Macchi, P.J. 1994. Estado del pejerrey patagónico introducido en la laguna Ñe Luan (Río Negro). I Congreso y III Reunión Argentina de Limnología. Argentina. Tankay, I: 219-221.
- Bello, M.T.; Alonso, M.F. & Baiz, M.L. 1996a. Rendimiento en peso de los ejemplares de tamaño comercial del pejerrey patagónico. Cuadernos Universitarios. CRUB - Universidad Nacional del Comahue, 24: 1-16.

- Bello, M.T.; García, A.A. & Alonso, M.F. 1996b. Aspectos de la biología reproductiva del pejerrey patagónico, *Odontesthes hatcheri* (Eig.) III Jornadas Patagónicas Medio Ambiente, Esquel. pp 50-50.
- Bello, M.T. & Ubeda, C.A. 1998. Estado de conservación de los peces de agua dulce de la Patagonia argentina. Aplicación de una metodología objetiva. Gayana Zoológica, 62: 45-60.
- Bemvenuti, M.A. & Rodrigues, F.L. 2002. Análise comparativa entre técnicas morfométricas aplicadas a *Odontesthes bonariensis* (Valenciennes) e *Odontesthes humensis* De Buen (Osteichthyes, Atherinopsidae). Revista brasileira de Zoologia, Curitiba, 19: 789-796.
- Berra, T.M. 1981. An atlas of distribution of the freshwater fish families of the world. University of Nebraska Press, Londres. 197 p.
- Bertalanffy, L. von. 1938. A quantitative theory of organic growth (Inquiries on growth laws. II). Human Biology, 10: 181-213.
- Bhattacharya, C.G. 1967. A simple method of resolution of a distribution into Gaussian components. Biometrics, 23: 115-135.
- Bookstein, F.L. 1989. Principal warps: thin-plate splines and the decomposition of deformations. IEEE. Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence, 11: 567-585.
- Boschi, E.E. & Fuster De Plaza, M.L. 1959. Estudio biológico pesquero del pejerrey del Embalse del Rio III (*Basilichthys bonariensis*). Departamento de Investigaciones Pesqueras. Secretaría de Agricultura y Ganadería, Buenos Aires. 61 p.
- Calvo, J. & Dadone, L. 1972. Fenómenos reproductivos en el pejerrey (*Basilichthys bona-riensis*) I. Escala de Tabla de Madurez. Rev. Museo de la Plata. Sección Zoología, 11: 153-163.
- Calvo, J. & Morriconi, E.R. 1972. Fenómenos reproductivos en el pejerrey (*Odontesthes bonariensis*) III. Estudio de la fecundidad, época y número de desoves. Anales de la Sociedad Científica Argentina, 1-2: 75-84.
- Campos, H. 1984. Los géneros de atherínidos (Pisces: Atherinidae) del Sur de Sudamérica. Revista Museo Argentino de Ciencias Naturales "Bernardino Rivadavia", 13: 71-84.
- Canosa, L.F.; Chang, J.P. & Peter, R.E. 2007. Neuroendocrine control of growth hormone in fish. General and Compartive Endocrinology, 151: 1-26.

- Cataldi, E.; Mandich, A.; Ozzimo, A. & Cataudella, S. 2005. The interrelationships between stress and osmoregulation in a euryhaline fish, *Oreochromis mossambicus*. Journal of Applied Ichthyology, 21: 229-231.
- Cataldo, D.H. 1989. Crecimiento del pejerrey patagónico (*Patagonina hatcheri*, Campos 1984) en cuatro ambientes lénticos de la Patagonia Argentina. Seminario de Licenciatura en Ciencias Biológicas. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires. Argentina. 45 p.
- Cervellini, P.M.; Battini, M.A. & Cussac, V.E. 1993. Ontogenetic shifts in the feeding of *Galaxias maculatus* (Galaxiidae) and *Odontesthes microlepidotus* (Atherinidae). Environmental Biology of Fishes, 36: 283-290.
- Clark, R. 1997. The Somatogenic Hormones and Insulin-Like Growth Factor- I: Stimulators of Lymphopoiesis and Inmune Function. Endocrine Reviews, 18: 157-179.
- Colautti, D.; Remes Lenicov, M.; Gómez, N. & Claps, C. 1998. Mortandad de peces en el arroyo de San Miguel (partido de Pila, Provincia de Buenos Aires). Gayana Zoologica, 62: 191-197.
- Colautti, D.C.; Garcia de Souza, J.R.; Balboni, L. & Baigún, C. 2010 Extensive cage culture of pejerrey (*Odontesthes bonariensis*) in a shallow pampean lake in Argentina. Aquaculture Research, 41:376-384.
- Crespin, L. & Berrebi, P. 1999. Asymmetrical introgression in a freshwater fishhybrid zone as revealed by a morphological index of hybridization. Biological Journal of the Linnean Society, 67: 57-72.
- Cussac, V.E.; Cervellini, P.M. & Battini, M.A. 1992. Intralacustrine movements of *Galaxias maculatus* (Galaxiidae) and *Odontesthes microlepidotus* (Atherinidae) during their early life history. Environmental Biology of Fishes, 35: 141-148.
- Cussac, V.E.; Fernández, D.A.; Gómez, S.E. & López, H.L. 2009. Fishes of southern South America: a story driven by temperature. Fish Physiology and Biochemistry, 35: 29-42.
- Dardenne, M; Smaniotto, S.; De Mello-Coelho, V.; Serra Villa-Verde, D.M. & Savino, W. 2009. Growth Hormone Modulates Migration of Developing T Cells. Annals of the New York Academy of Sciences, 1153: 1-5.
- De Dios, J. 2000. Crecimiento de *Prionotus stephanophrys*, "trigla coronada" (Lockington, 1880) en la costa oriental del Golfo de California, México. Tesis de Maestría. De-

- partamento de Pesquerías y Biología Marina. Instituto Politécnico Nacional. Méjico. 99 p.
- Delafontaine, P.; Song, Y.H. & Li, Y.X. 2004. Expression, Regulation, and Function of IGF-1, IGF-1R, and IGF-1 Binding Proteins in Blood Vessels. Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology, 24: 435-444.
- Díaz, M.M. & Pedrozo, F.L. 1996. Nutrient limitation in Andean-Patagonian lakes at latitude 40–41 °S. Archiv fuer Hydrobiologie ,138:123–143.
- Díaz, M.; Pedrozo, F. & Baccalá, N. 2000. Summer classification of Southern Hemisphere temperate lakes (Patagonia, Argentina). Lakes and Reservoirs: Research and Management, 5: 213-229.
- Diaz, M; Pedrozo, F.; Reynolds, C. & Temporetti, P. 2007. Chemical composition and the nitrogen-regulated trophic state of Patagonian lakes. Limnologica, 37: 17-27.
- Dirección de Acuicultura. 2008. Especies potenciales para cultivo: cultivo de especies aguas templado-frias. Dirección de Acuicultura. Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca. Buenos Aires. 41 p.
- Dománico, A. 2006. El pejerrey patagónico *Odontesthes hatcheri* (Eigenmann 1909) del Embalse Ezequiel Ramos Mejía: parámetros demográficos y dinámica poblacional. Tesis de Doctorado. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires. Argentina. 236 p.
- Dománico, A.A. & Freyre, R.L. 2008. Aspectos reproductivos del pejerrey patagónico (*Odontesthes hatcheri*, Eigenmann, 1909) en el embalse Ezequiel Ramos Mejía (Argentina). Revista MVZ Córdoba, 13: 1446-1455.
- Duan, C. 1997. The insulin-like growth factor system and its biological actions in fish. American Zoologist, 37: 491-503.
- Duan, C. 1998. Nutritional and developmental regulation of insulin-like growth factors in fish. Journal of Nutrition, 128: 306-314.
- Duan, C.; Plisetskaya, E.M. & Dickhoff, W.W. 1995. Expression of insulin-like growth factor I in normally and abnormally developing coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). Endocrinology, 136: 446-452.
- Dyer, B.S. 1997. Phylogenetic revision of Atherinopsidae (Teleostei, Atheriniformes, Atherinopsidae), with comments on the systematic of the South American freshwa-

- ter fish genus Basilichthys Girard. Miscellaneous Publications, Museum of Zoology, University of Michigan, 185: 1-64.
- Dyer, B.S. 1998. Phylogenetic Systematics and Historical Biogeography of the Neotropical Silverside Family Atherinopsidae (Teleostei: Atheriniformes). En: Phylogeny and Classification of Neotropical Fishes. Malarba, L.R.; Reis, R.E.; Vari, R.P.; Lucena, Z.M. & Lucena, C.A.S. (Eds.), Porto Alegre. pp 519-536.
- Dyer, B.S. 2000. Systematic review and biogeography of the freshwater fishes of Chile. Estudios Oceanológicos, 19: 99-127.
- Dyer, B.S. 2006. Symposium: Biology and culture of silversides (pejerreyes). Systematic revision of the South American silversides (Teleostei, Atheriniformes). Biocell, 30: 69-88.
- Ecos, Boletín Digital del Centro de Ecología Aplicada de Neuquén. 2009. [consulta: diciembre 2010]. www.4.neuquen.gov.ar/cean/images/stories/boletin\_cean\_n1.
- Eddy, F.B. 1981. Effects of stress on osmotic and ionic regulation in fish. En: Stress and fish. Pickering, A.D. (Ed.) Academic Press, Londres. pp 77-102.
- Elías, I; Ré, M.E. & Gosztonyi, A.E. 1991. Observaciones preliminaries sobre el crecimiento del pejerrey "manila" *Odonteshes smitti* (Atherinidae) en el Golfo Nuevo, Chubut, Argentina. Revista Biología Marina, 26: 49-60.
- Elvira, B. & Almodóvar, A. 2001. Freshwater fish introductions in Spain: facts and figures at the beginning of the 21st century. Journal of Fish Biology, 59: 323–331.
- Espinach Ros, A. & Dománico, A. 2006. Growth of argentine silverside (*Odontesthes bonariensis*) stocked at low densities in two oligohaline shallow lakes (Buenos Aires Province, Argentina). Revista de Investigación y Desarrollo Pesquero, 18: 75-80.
- Fernández, C.; Báez, V. & Cussac, V. 1997. Tasa metabólica y crecimiento de juveniles de "pejerrey patagónico", *Odontesthes hatcheri* (Eigenmann) (Pisces, Atherinidae). VIII Congreso Iberoamericano de Biodiversidad y Zoología de Vertebrados, Concepción. Chile.
- Ferrada, M. 2010. Cría del pejerrey patagónico, *Odonteshtes hatcheri* (Eigenmann, 1909) en balsas jaulas en el embalse Ezequiel Ramos Mejía: ensayos de alimentación e incidencia de cianotoxinas. Tesis de Licenciatura. Centro Regional Universitario Bariloche, Universidad Nacional del Comahue. Argentina. 76 p.

- Ferriz, R.A. 1987. Alimentación del pejerrey patagónico, *Patagonina hatcheri* (Eigenmann, 1909) en el embalse Ramos Mexía, Neuquén, Argentina. Revista del Museo Argentino de Ciencias Naturales "Bernardino Rivadavia", Hidrobiología, 6: 61-66.
- Freyre, L. 1976. Normas para la inspección y determinación de ambientes pesqueros pampásicos. La Plata: Dir. Rec. Nat. Min. Asuntos Agrarios. Argentina.
- Freyre, L.R. & Sendra, E.D. 1987. Un método para la interpretación de las marcas de crecimiento en peces. Limnobios, 2: 677-684.
- Freyre, L.R; 1991. Evaluación de los recursos ícticolas en aguas interiores del Río Negro. Informe final. CFI. Centro Regional Universitario Bariloche, Universidad Nacional del Comahue. (inédito).
- Freyre, L.R.; Colautti, D.C.; Maroñas, M.E.; Sendra, E.D. & Remes-Lenicov, M. 2009. Seasonal changes in the somatic indices of the freshwater silverside, *Odontesthes bonariensis* (Teleostei, Atheriniformes) from a Neotropical shallow lake (Argentina). Brazilean Journal of Biology, 69: 389-395.
- Fulton, T. W. 1902. The rate of growth of fishes. 20th Annual Report of the Fishery Board of Scotland, 1902: 326-446.
- Ganga, R.; Tort, L.; Acerete, L.; Montero, D. & Izquierdo, M. S. 2006. Modulation of ACTH-induced cortisol release by polyunsaturated fatty acids in interrenal cells from gilthead seabream, *Sparus aurata*. Journal of Endocrinology, 190: 39-45
- Gayanilo, F.C.; Sparee, P. & Pauly, D. 1996. Stock Assessment Tools (FiSAT) User's Guide. Computerized Information Series Fisheries. FAO - International Center for Living Aquatic Resources Management, Roma. 126 p.
- Gido, K.B. & Brown, J.H. 1999. Invasion of North American drainages by alien fish species. Freshwater Biology, 42: 387-399.
- Gobbi, M. 1986. Osteología del pejerrey patagónico, *Patagonina hatcheri*. Tesis de Licenciatura. Centro Regional Universitario Bariloche, Universidad Nacional del Comahue. Argentina. 129 p.
- Gómez, S.E.; Menni, R.C.; González Naya, J. & Ramirez, L. 2006. The physical chemical habitat of the Buenos Aires pejerrey, *Odontesthes bonariensis* (Teleostei, Atherinopsidae), with a proposal of a water quality index. Environmental Biology of Fishes, 78: 161-171.

- Goodall, C.R. 1992. Dynamic graphics in non-Euclidean spaces: The visualization and statistical analysis of shape. 1992 Proceedings of the Statistical Graphics Section American Statistical Association, Alexandria.
- Gosztonyi, A.E. 1988. Peces del río Chubut Inferior, Argentina. Physis, B-46: 41-50.
- Gosztonyi, A.E.; Ré, M.E. & Elías, I. 1993. Relaciones talla/tamaño otolito y peso/tamaño otolito en los pejerreyes *Odontesthes smitti* y *Sorgentinia nigricans* en el Golfo Nuevo, Chubut. Actas Jornadas Nacionales de Ciencias del Mar '91, Puerto Madryn. pp 105-108.
- Grizzle, J.M.; Maudin, A.C.; Young, D. & Henderson, E. 1985. Survival of juvenile striped bass (*Morone saxatilis*) and Morone hybrid bass (*Morone chrysops* X *Morone saxatilis*) increased by addition of calcium to soft water. Aquaculture, 46: 167-171.
- Grosman, F. 1993. Comparación de diferentes metodologías para la estimación del crecimiento del pejerrey patagónico. Ecología Austral, 3: 33-41.
- Grosman, F.; Antivero, E.; Sanzano, P. & Agüería, D. 1999. Ictiología de un ambiente pampásico afectado por una mortalidad de peces. Universidad Nacional de la Plata. Archivos de la Universidad Nacional de La Plata, 1: 15 25.
- Grosman, F.; Sanzano, P.; Agüeria, D.; González, G. & Sergueña, S. 2001. Ecología reproductiva, edad, crecimiento, condición y alimentación del pejerrey (*Odontesthes bonariensis*) en un ambiente del SO de la provincia de Buenos Aires, Argentina. Revista AquaTIC, 12:1-24.
- Guerrero, C.A.; Lafarga, A.M.; Cataldo, D.H.; & Quirós, R. 1990. Evaluación del Rendimiento Pesquero Potencial de la República Argentina: III. Edad y crecimiento de peces 1. Instituto Nacional de Investigación y Desarrollo Pesquero. Informes Técnicos del Departamento de Aguas Continentales, 11: 1-38.
- Guilgur, L.G.; Ortí; G.; Strobl-Mazzulla, P.H.; Fernandino, J.I.; Miranda, L.A. & Somoza, G.M. 2007. Characterization of the cDNAs encoding three GnRH forms in the pejerrey fish *Odontesthes bonariensis* (Atheriniformes) and the evolution of GnRH precursors. Journal of Molecular Evolution, 64: 614-627.
- Guilgur, L.G.; Strüssmann, C.A. & Somoza, G.M. 2009. mRNA expression of GnRH variants and receptors in the brain, pituitary and ovaries of pejerrey (*Odontesthes bonariensis*) in relation to the reproductive status. Fish Physiology and Biochemistry, 35: 157-166.

- Gulland, J. A. 1971. Manual de Métodos para la Evaluación de las Poblaciones de Peces. FAO Manual in Fisheries Science. Acribia, Zaragoza. 154 p.
- Hall, T. 1998. BioEdit. Biological sequence alignment editor for Windows. North Carolina State University, North Carolina, USA. [disponible en: http://www.mbio.ncsu.edu/jwb/papers/1999Hall1.pdf].
- Hampton, J.& Majkowski, J. 1987. An examination of the reliability of the ELEFAN computer programs for length-based stock assessment. En: Length-based methods in fisheries research (Eds Pauly, D. & Morgan, G.). ICLARM Conf. Proc., 13: 203-216.
- Haswell, M.S.; Thorpe, G.J.; Harris, L.E.; Mandis, T.C. & Rauch, R.E. 1982. Millimolar quantities of sodium salts used as prophylaxis during fish hauling. Progresive Fish-Culturist, 44: 179-183.
- Hattori, R.; Fernandino, J.I.; Strüssmann, C.A.; Somoza, G.M.; Yokota, M. & Watanabe, S. 2008. Characterization and expression profiles of DMRT1, AMH, SF1 and P450aro genes during gonadal sex differentiation in Patagonian pejerrey, *Odontesthes hatcheri*. Cybium, 32: 95-96.
- Hattori, R.S.; Oura, M.; Sakamoto, T.; Yokota, M.; Watanabe, S. & Strüssmann, C.A. 2010. Establishment of a strain inheriting a sex-linked SNP marker in Patagonian pejerrey (*Odontesthes hatcheri*), a species with both genotypic and temperature-dependent sex determination. Animal Genetics, 41: 81-84.
- Hidroeléctrica Ameghino S.A. 2010. Monitoreo de fauna íctica Embalse Florentino Ameghino. Informe otoño 2010. 36 p.
  - www.hidroameghino.com.ar/informes/PECES\_201004. [consulta: diciembre 2010].
- Hidronor (Hidroeléctrica Norpatagónica Sociedad Anónima) 1978. Plan de Estudios Ecológicos de la Cuenca del Río Negro. Informe Final Primera Etapa. Asesoría Agronómica. 1: 1-273.
- Hidronor. (Hidroeléctrica Norpatagónica Sociedad Anónima) 1981. Plan de Estudios Ecológicos de la Cuenca del Río Negro. Informe Final Segunda Etapa. Asesoría Agronómica, 2: 274-413.
- Hualde, P.; Torres, W.; Demicheli, M.; Molinari, L.; Moreno, P.; Ferrada, M.; Posse, M.; Garrido, E; Gader, R. & Luquet, C. 2009a. Cría experimental de pejerrey patagónico

- (*Odontesthes hatcheri*) en jaulas. 2 da. Conferencia Latinoamericana sobre Cultivo de Peces Nativos, Chascomús.
- Hualde, P.; Torres, W. & Demicheli, M. 2009b. Sustitución de proteínas de por lípidos y carbohidratos en dietas para pejerrey patagónico (*Odontesthes hatcheri*) 2 da. Conferencia Latinoamericana sobre Cultivo de Peces Nativos, Chascomús.
- Hualde, P.; Torres, W.D.; Moreno, P.; Ferrada, M.; Demicheli, M.A.; Molinari, L.J. & Luquet, C.M. 2011. Growth and feeding of Patagonian pejerrey *Odontesthes hatcheri* reared in net cages. Aquaculture Research, 42: 754-763.
- IARH-INCYTH, 1995. Catálogo de los lagos y embalses de la Argentina. Ministerio de Economía y Obras y Servicios Públicos Secretaría de Obras y Subsecretaría de Recursos Hídricos. (sin paginar).
  - www.hidricosargentina.gov.ar/catalogoLagos.html [consulta: diciembre 2009].
- Inazawa, J.; Hattori, R.S.; Oura, M.; Yokota, M. & Strüssmann, C.A. 2011. Temperature effects on sex differentiation of the reciprocal hybrids of *Odontesthes bonariensis* and *Odontesthes hatcheri* (Atherinopsidae). Aquacultue Research, 42: 746-753.
- Isaac, V. 1990. The accuracy of some length-based methods for fish population studies. International Center for Living Aquatic Resources Management. Technical Report, 27: 1-81.
- Jennings, S.; Kaiser, M.J. & Reynolds, J.D. 2001. Marine fisheries ecology. Blackwell Science Ltd, Malden. 417 p.
- Jobb, G. 2008. Treefinder Version 2008. Distributed by the author Munich. [disponible en: http://www.treefinder.de].
- Johns, G.C. & Avise, J.C. 1998. A Comparative Summary of Genetic Distances in the Vertebrates from the Mitochondrial Cytochrome b Gene. Molecular Biology and Evolution, 15:1481-1490.
- Kajimura, S.; Hirano, T.; Visitacio, N.; Moriyama, S.; Aida, K. & Grau, E.G. 2003. Dual mode of cortisol action on GH/IGF-I/IGF binding proteins in the tilapia, *Oreochromis mossambicus*. Journal of Endocrinology, 178: 91-99.
- Koshimizu, E; Strüssmann, C.A.; Okamoto, N.; Fukuda, N. & Sakamoto, T. 2010. Construction of a Genetic Map and Development of DNA Markers Linked to the Sex-Determining Locus in the Patagonian Pejerrey (*Odontesthes hatcheri*). Marine Biotechnology, 12: 8-13.

- Laidleya, C.W. & Leatherland, J.F. 1988. Circadian studies of plasma cortisol, thyroid hormone, protein, glucose and ion concentration, liver glycogen concentration and liver and spleen weight in rainbow trout, *Salmo gairdneri*, Richardson. Physiology; Comparative Biochemistry and Physiology, Part A, 89: 495-502.
- Leatherland, J.F.; Li, M. & Barkataki, S. 2010. Stressors, glucocorticoids and ovarian function in teleosts. Journal of Fish Biology, 76: 86-111.
- Liotta, J. 2005. Distribución geográfia de peces de aguas continentales de la República Argentina. Facultad de Ciencias Naturales y Museo. Universidad Nacional de La Plata. ProBiota. Serie Documentos, 3: 1-701.
- Livingstone, D.M. & Lotter, A.F. 1998. The relationship between air and water temperatures in lakes of the Swiss Plateau: a case study with palaeolimnological implications. Journal of Paleolimnology, 2: 181-198.
- López, H.L.; García, M.L. & Togo, C. 1991. Bibliografía de los pejerreyes argentinos de agua dulce, Situación Ambiental de la Provincia de Buenos Aires. Recursos y rasgos naturales en la evaluación ambiental. Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires, La Plata. CIC, 1:1-72.
- López, H.L.; Menni, R.C.; Donato, M. & Miquelarena, A.M. 2008. Biogeographical revision of Argentina (Andean and Neotropical Regions): an analysis using freshwater fishes. Journal of Biogeography, 35: 1564-1579.
- Luchini, L.; Quirós, R. & Avedano, T. 1984. Cultivo del pejerrey (*Basilichthys bonariensis*) en estanques. Serie: Memorias de la Asociación Latinoamericana de Acuicultura, 5: 581-587.
- Luchini, L. & De Bernardi, L.A. 2005. Producción de peces cultivados: de las truchas al pacú. Alimentos Argentinos. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentos. Dirección Nacional de Alimentos. Dirección de Industria Alimentaria, Buenos Aires, 24: 32-35.
- Luchini, L. & Panné Huidobro, S. 2008. Perpectivas en acuicultura: nivel mundial, regional y local. Dirección de Acuicultura Subsecretaría de Pesca y Acuicultura- SAGPyA. 98 pp.
- Luchini, L. 2009. Antecedentes sobre la calidad sanitaria, en relación al cultivo de salmónidos: Lago Nahuel Huapi, embalses de Alicurá y Piedra del Águila. Dirección de Acuicultura. Subsecretaría de Pesca y Acuicultura. SAGPyA, Buenos Aires. 108 p.

- Luchini, L. 2011. Potencial acuícola general de América Latina y Argentina. Dirección de Acuicultura. Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca. 37 p.
- Macchi, P.J.; Cussac, V.E.; Alonso, M.F. & Denegri, M.A. 1999. Predation relationships between introduced salmonids and the native fish fauna in lakes and reservoirs in Northern Patagonia. Ecology of Freshwater Fishes, 8: 227-236.
- Macchi, P.J.; Alonso, M.F.; Temporetti, P.F.; Bello, M.T. & Baiz, M.L. 2001. Efectos de la introducción de pejerrey patagónico (*Odontesthes hatcheri*) en una laguna de la estepa rionegrina. 1° Reunión Binacional de Ecología, Bariloche.
- Magnifico, G. 2007. New insights into fish growth parameters estimation by means of length based methods. Tesis de Doctorado. University of Rome "Tor Vergata". Italia. 202 p.
- Mancini, M. & Grosman, F. 2004. Estructura y funcionamiento de la pesquería recreacional del Pejerrey *Odontesthes bonariensis* en la laguna de Suco (Córdoba), Argentina. Revista AquaTIC, 20: 20-31.
- Mancini, M.; Nicola, I.; Salinas, V. & Bucco, C. 2009. Biología del pejerrey *Odontesthes bonariensis* (Pisces, Atherinopsidae) de la laguna Los Charos (Córdoba, Argentina). Revista Peruana de Biología, 15: 65-71.
- Mathews, L.M.; Schubart, C.D.; Neigel, J.E. & Felder, D.L. 2002. Genetic, ecological, and behavioral divergence between two sibling snapping shrimp species (Crustacea: Decapoda: *Alpheus*). Molecular Ecology, 11: 1427-1437.
- McCormick, S.D.; Shrimpton, J.M.; Carey, J.B.; O'Dea, M.F.; Sloan, K.E.; Moriyama, S. & Björnsson, B.T. 1998. Repeated acute stress reduces growth rate of Atlantic salmon parr and alters plasma levels of growth hormone, insulin-like growth factor I and cortisol. Aquaculture, 168: 221-235
- Menni, R.C. 2004. Peces y ambientes en la Argentina continental. Monografías del Museo Argentino de Ciencias Naturales, 5: 1-316.
- Miranda, L.A. & Somoza, G.M. 2001. Biología reproductiva del pejerrey *Odontesthes bonariensis*: diferenciación sexual y endocrinología de la reproducción, aspectos básicos y su potencial aplicación en acuicultura. En: Fundamentos biológicos, económicos y sociales para una correcta gestión del recurso pejerrey. Grosman, F. (Ed.) Astyanax, Buenos Aires. pp 41-45.

- Miranda, L.A.; Berasain, G.E.; Velasco, C.A.M.; Shirojo, Y. & Somoza, G.M. 2006. Natural spawning and intensive culture of pejerrey *Odontesthes bonariensis* juveniles. Biocell, 30: 157-162.
- Miranda, L.A.; Strüssmann, C.A.; Guilgur, L.G.; Strobl-Mazzulla, P.H. & Somoza, G.M. 2007. Cloning of FSH-β, LH- β and glycoprotein hormone α subunits in pejerrey fish *Odontesthes bonariensis*. Expression profile and relationship with GnRHs expression and plasma sex steroid levels in male fish. Journal of Fish Biology, 71: 1571-1589.
- Miranda, L.A. & Somoza, G.M. 2009. Spawning induction of pejerrey *Odontesthes bonariensis* in captivity by the use of sustained-release GnRHa implants. Aquaculture Research, 41: 129-134.
- Miranda, L.A.; Strüssmann, C.A. & Somoza, G.M. 2009. Effects of light and temperature conditions on the expression of GnRH and GtH genes and plasma steroids levels in *Odontesthes bonariensis* females. Fish Physiology and Biochemistry, 35: 101-108.
- Modenutti, B.E.; Balseiro, E.G. & Cervellini, P.M. 1993. Effect of selective feeding of *Galaxias maculatus* (Salmoniforme, Galaxiidae) on zooplankton of a South Andes lake. Aquatic Sciences, 55: 65-75.
- Modenutti, B.E.; Balseiro, E.G.; Queimaliños, C.P.; Añón Suárez, D.A.; Diéguez, M.C.; Albariño, R.J. 1998. Structure and dynamics of food webs in Andean lakes. Lakes & Reservoirs: Research & Management, 3: 179-186.
- Modenutti, B.E., Balseiro, E.G. & Queimaliños, C.P. 2000. Ciliate community structure in two South Andean lakes: the effect of lake water on *Ophrydium naumanni* distribution. Aquatic Microbial Ecology, 21: 299-307.
- Montaner, A.D.; Park, M.; Fischer, W.H.; Craig, A.G.; Chang, J.P.; Somoza, G.M.; Rivier, J.E. & Sherwood, N.M. 2001. Primary structure of a novel gonadotropin-releasing hormone (GnRH) variant in the brain of pejerrey (*Odontesthes bonariensis*). Endocrinology, 142: 1453-1460.
- Moreau, J. 1987. Mathematical and biological expresión of growth in fishes: recent trends and further developments. En: The Age and Growth of Fish. Summerfelt, R.C. & Hall, G.E. (Eds.) The Iowa State University Press, Ames. pp 81-113.

- Morgan, J.D. & Iwama, G.K. 1991. Effects of salinity on growth, metabolism, and ion regulation in juvenile rainbow and steelhead trout (*Oncorhynchus tshawytscha*). Aquaculture, 112: 291-299.
- Moriyama, S.; Ayson, F.G. & Kawauchi, H. 2000. Growth regulation by insulin-like growth factor-I in fish. Bioscience Biotechnology and Biochemistry, 64: 1553-1562.
- Muñiz-Saavedra, J. & Piacentino, G. 1991. Estudio del desarrollo ontogenético de *Odontesthes bonariensis* (Cuvier y Valenciennes, 1835). Medio ambiente, 11: 61-68.
- Niklosky, G.V. 1963. The ecology of fishes. Academic Press, Londres. UK. 352 p.
- Pankhurst, N.W. 2011. The endocrinology of stress in fish: An environmental perspective. General and Comparative Endocrinology, 170: 265-275.
- Pascual, M.; Bentzen, P.; Riva Rossi, C.; Mackey, G.; Kinnison, M.T. & Walker, R. 2001. First Documented Case of Anadromy in a Population of Introduced Rainbow Trout in Patagonia. Argentina Transactions of the American Fisheries Society, 130: 53-67.
- Pascual, M.A.; Cussac, V.; Dyer, B.; Soto, D.; Vigliano, P.; Ortubay, S. & Macchi, P. 2007. Freshwater fishes of Patagonia in the 21st Century after a hundred years of human settlement, species introductions, and environmental change. Aquatic Ecosystem Health & Management, 10: 212-227.
- Pauly, D. 1982. Studying single-species dynamics in a tropical multi-species context, En: Theory and management of tropical fisheries. Pauly D. & Murphy G.I. (Eds.) International Center for Living Aquatic Resources Management, Manila Philippines and Division of Fisheries, Commonwealth Scientific and Industrial Research Organisation, Cronulla. pp 33-70.
- Pauly, D. 1987. A review of the ELEFAN system for analysis of length-frequency data in fish and aquatic vertebrates. En Length-based methods in fisheries research. Pauly, D. & Morgan, G.R. (Eds.) International Center for Living Aquatic Resources Management. Manila, Philippines and KISR, Safat, Kuwait. pp 7-34.
- Pauly, D. & David, N. 1981. ELEFAN I, a Basic program for the objective extraction of growth parameters from length-frequencies data. Meeresforsch, 28: 205-211.
- Pauly, D. & Munro, J.L. 1984. Once more on the comparison of growth in fish and invertebrates. International Center for Living Aquatic Resources Management. Fishbyte, 2: 1-21.

- Pauly, D. & Arreguín-Sánchez, F. 1995. Improving Shepherd's Length Composition Analysis (SLCA). Method for Growth Parameter Estimations. International Center for Living Aquatic Resources Management. NAGA, 18: 31-33.
- Peterson, B.C. & Small B.C. 2005. Effects of exogenous cortisol on the GH/IGF-I/IGFBP network in channel catfish. Domestic Animal Endocrinology, 28: 391-404.
- Pickering, D.A. 1981. Introduction: The concept of biological stress. En: Stress in fish. Pickering, A.D. (Ed.) Academic Press, Londres. pp 1-9.
- Pickering, A.D. & Pottinger, T.G. 1989. Stress responses and disease resistance in salmonid fish: Effects of chronic elevation of plasma cortisol. Fish Physiology and Biochemistry, 7: 253-258.
- Pickering, A.D. & Pottinger, T.G. 1995. Biochemical effects of stress. En: Biochemistry and Molecular Biology of Fishes. Hochanka, P.W. & Mommsen, T.P. (Eds.) Elsevier, Amsterdam. pp 329-379.
- Pierce, A.L.; Beckman, B.R.; Shearer, K.D.; Larsen, D.A. & Dickhoff, W.W. 2001. Effects of ration on somatotropic hormones and growth in coho salmon. Comparative Biochemistry and Physiology B, 128: 255-264.
- Plaut, I. 1998. Comparison of salinity tolerance and osmoregulation in two closely related species of blennies from different habitats. Fish Physiology and Biochemistry, 19: 181-188.
- Powell, D.G. 1979. Estimation of mortality and growth parameters from the length-frequency data in the catch. Rapport proces-V Réunion Conseil International pour l'Exploitation de la Mer, 175:167-169.
- Quirós, R. 1997. Argentinean lakes and reservoirs data base (ARLARE). [consulta: octubre 2009] http://www.agro.uba.ar/users/quiros.
- Quirós, R.; Baigún, C.R.; Cuch, S.; Delfino, R.; De Nichilo, A.; Guerrero, C.; Marione, M.C.; Menu Marque, S. & Scapini, M.C. 1988. Evaluación del rendimiento pesquero potencial de la República Argentina I: Datos 1. Informes Técnicos del Departamento de Aguas Continentales. Instituto Nacional de Investigación y Desarrollo Pesquero, Mar del Plata. 55 p.
- Reartes, J.L. 1995. El Pejerrey (*Odontesthes bonariensis*): Métodos de cría y cultivo masivo. Documento ocacional. COPESCAL, Roma. 35 p.

- Reilly, K.M. & Horn, M.H. 2004. Phenotypic variation among populations of *Atherinops affinis* (Atherinopsidae) with insights from a geometric morphometric analysis. Journal of Fish Biology, 64: 1117-1135.
- Ricker, W.E. 1975. Computation and interpretation of biological statistics of fish populations. Bulletin of the Fisheries Research Board of Canada, 191: 1-382.
- Ringuelet, R.A. 1943. Piscicultura del pejerrey o Aterinicultura. Colección Agro, 6:1-162.
- Ringuelet, R.A. 1975. Zoogeografía y ecología de los peces de aguas continentales de la Argentina y consideraciones sobre las áreas ictiológicas de América del Sur. Ecosur, Corrientes. 2: 1-151.
- Ringuelet, R.A.; Aramburu, R.H. & Alonso, A. 1967. Los peces argentinos de agua dulce. Comisión de Investigación Científica Provincia de Buenos Aires, La Plata. 602 p.
- Riopel, C.; Robinson, B.W. & Parsons, K.J. 2008. Analyzing nested variation in the body form of Lepomid sunfishes. Environmental Biology of Fishes, 82: 409-420.
- Rohlf, F.J. 1996. Morphometric spaces, shape components, and the effects of linear transformations. En: Advances in Morphometrics. Marcus, L.F.; Corti, M.; Loy, A.; Naylor, G. & Slice, D.E. (Eds.) Proceedings of the 1993 NATO Advanced Studies Institute on Morphometrics in Il Ciocco, Plenum Publishing Corp., Nueva York. pp 117-129.
- Rohlf, F.J. 1999. Shape statistics: Procrustes superimposition and tangent space. Journal of Classification, 16: 197-223.
- Rohlf, F.J. 2003a. TPSRelw Version 1.35. Department of Ecology & Evolution, State University of New York at Stony Brook. Estados Unidos [disponible en: http://life.bio.sunysb.edu/morph/].
- Rohlf, F.J. 2003b. TPSRegr Version 1.28. Department of Ecology & Evolution, State University of New York at Stony Brook Estados Unidos [disponible en: http://life.bio.sunysb.edu/morph/].
- Rohlf, F.J. 2006. TPSDig Version 2.10. Department of Ecology & Evolution, State University of New York at Stony Brook Estados Unidos [disponible en: http://life.bio.sunysb.edu/morph/].
- Rohlf, F.J. & Slice D. 1990. Extension of the procrustes method for the optimal superimposition of landmarks. Systematic Zoology, 39: 40-59.

- Rohlf, F.J. & Marcus, L.F. 1993. A revolution in Morphometrics. Trends in Ecology and Evolution, 8: 129-132.
- Ruiz, A.E. 2002. Biología del pejerrey patagónico, *Odontesthes hatcheri* (Eigenmann, 1909) Dyer, 1993, en el embalse Florentino Ameghino, Chubut, Argentina. Tesis de Doctorado. Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales Universidad Nacional de Córdoba. Argentina. 177 p.
- Ruiz, A.E. 2004. Estudio de edad y crecimiento del pejerrey patagónico (*Odontesthes hat-cheri*) mediante el uso de otolitos, en el embalse Florentino Ameghino (Chubut, Argentina). Physis B, 59: 19-27.
- Sakamoto, T.; Kozaka, T.; Takahashi, A.; Kawauchi, H. & Ando, M. 2001 Medaka *Oryzias latipes* as a model for hypoosmoregulation of euryhaline fishes. Aquaculture, 193: 347-354.
- Schreck, C.B. 2010. Stress and fish reproduction: The roles of allostasis and hormesis. General and Comparative Endocrinology, 165: 549-556.
- Schreck, C.B.; Contreras-Sanchez, W. & Fitzpatrick, M.S. 2001. Effects of stress on fish reproduction, gamete quality, and progeny. Aquaculture, 197: 3-24.
- Sciara, A.A.; Somoza, G.M. & Arranz, S.E. 2008. Insulin-like growth factor I of pejerrey, *Odontesthes bonariensis*: cDNA characterization, tissue distribution and expression profiles after growth hormone administration. Journal of Experimental Zoology, 309A: 407-418.
- Sciara, A.A.; Vigliano, F.; Somoza, G.M. & Arranz, S.E. 2011. Muscular hypertrophy and growth promoting effects in juvenile pejerrey (*Odontesthes bonariensis*) after oral administration of recombinant homologous growth hormone obtained by a highly efficient refolding process. Aquaculture Research, 42: 844-857.
- Scott, D.W. 1979. On optimal and data-based histograms. Biometrika, 66: 605-610.
- Seijo, J.C.; Defeo, O. & Salas, S. 1997. Bioeconomía pesquera. Teoría, modelación y manejo. FAO. Documento Técnico de Pesca N° 368, Roma. 176 p.
- Sendra, E.D. 2003. Evolución de parámetros demográficos clave del pejerrey *Odontesthes bonariensis* de la laguna Chascomús a lo largo de tres décadas. Biololgía Acuática, 20: 93-100.
- Shepherd, J.G. 1987. A weakly parametric method for the analysis of length composition data. En: Length-based methods in fisheries research. Pauly, D. & Morgan, G.R.

- (Eds.) International Center for Living Aquatic Resources Management. Manila, Philippines and KISR, Safat, Kuwait. pp 113-120.
- Small, B.C. 2004. Effect of dietary cortisol administration on growth and reproductive success of channel catfish. Journal of Fish Biology, 64: 589-596.
- Small, B.C.; Murdock, C.A.; Waldbieser, G.C. & Peterson, B.C. 2006. Reduction in channel catfish hepatic growth hormone receptor expression in response to food deprivation and exogenous cortisol. Domestic Animal Endocrinology, 31: 340-356.
- Sommer, J.A. 2009. Molecular Systematics of the South American silversides (Atherinopsidae, Sorgentinini). Tesis de Maestría. Graduate College, University of Nebraska. Estados Unidos. 64 p.
- Somoza, G.M.; Miranda, L.A.; Guilgur, L.G. & Strobl-Mazzulla, P.H. 2006. Characterization of the brain-pituitary axis in pejerrey *Odontesthes bonariensis*. Biocell, 30: 89-95.
- Somoza, G. M., Miranda, L. A., Berasain, G. E., Colautti, D., Lenicov, M. R. & Strüssmann, C. A. 2008. Historical aspects, current status and prospects of pejerrey aquaculture in South America. Aquaculture Research, 39: 784-793.
- Sparre, P. & Venema, S.C. 1997. Introducción a la evaluación de recursos pesqueros tropicales. Parte 1. Manual. Documento Técnico de Pesca 306. FAO, Roma. 420 p.
- Stepien, C.A. & Kocher, T.D. 1997. Molecules and morphology in studies of fish evolution.En: Molecular Systematics of Fishes. Stepien, C.A. & Kocher, T.D. (Eds.). Academic Press, San Diego. pp 1-11.
- Strüssmann, C.A. 1989. Basic studies on seed production of pejerrey *Odontesthes bonariensis*. Tesis de Doctorado. University of Fisheries. Japón. 351 p.
- Strüssmann, C.A.; Akaba, T.; Ijima, K.; Yamaguchi, K.; Yoshizaki, G. & Takashima, F. 1997a. Spontaneous hybridization in the laboratory and genetic markers for the identification of hybrids between two atherinid species, *Odontesthes bonariensis* (Valenciennes 1835) and *Patagonina hatcheri* (Eigenmann1909). Aquaculture Research, 28: 291-300.
- Strüssmann, C.A.; Saito, T.; Usui, M.; Yamada, H. & Takashima, F. 1997b. Thermal thresholds and critical period of thermolabile sex determination in two atherinid fishes, *Odontesthes bonariensis* and *Patagonina hatcheri*. The Journal of Experimental Zoology, 278: 167-177.

- Strüssmann, C.A.; Oikawa, T.; Otake, T. & Kasuga, S. 2003. Potential use of otolith microchemistry for field studies of temperature-dependent sex determination and gonadal degeneration in fish. Fish Physiology and Biochemistry, 28: 129-130.
- Strüssmann, C.A.; Conover, D.O.; Somoza, G.M. & Miranda, L.A. 2010. Implications of climate change for the reproductive capacity and survival of New World silversides (family Atherinopsidae). Journal of Fish Biology, 77: 1818-1834.
- Subsecretaría de Recursos Hídricos. www.hidricosargentina.gov.ar/Indice-Colhue.html. [consulta: enero 2012].
- Sverlij, S.B. & Mestre, J.P. 1991. Crecimiento del pejerrey, Odontesthes bonariensis (Pisces, Atheriniformes) en el embalse La Florida, San Luis, Argentina. Revista Hidrobiológica, 24: 183-195.
- Tejedor, D. 2001. El Pejerrey como recurso genético. En: Fundamentos biológicos, económicos y sociales para una correcta gestión del recurso pejerrey. Grosman, F. (Ed.) Astyanax, Buenos Aires. pp 41-45.
- Temporetti, P.F.; Alonso, M. F.; Baffico, G.; Diaz, M.M.; Lopez, W.; Pedrozo, F.L. & Vigliano, P. H. 2001. Trophic state, fish community and intensive production of salmonids in Alicura Reservoir (Patagonia, Argentina). Lakes & Reservoirs: Research and Management, 6: 259-267.
- Tombari, A.D.; Volpedo, A.V. & Echeverría, D.D. 2005. Desarrollo de la sagitta en juveniles y adultos de *Odontesthes argentinensis* (Valenciennes, 1835) y *O. bonariensis* (Valenciennes, 1835). Revista Chilena de Historia Natural, 78: 623-633.
- Tsuzuki, M.Y.; Aikawa, H.; Strüssmann, C.A. & Takashima, F. 2000a. Comparative survival and growth of embryos, larvae, and juveniles of pejerrey *Odontesthes bonariensis* and *O. hatcheri* at different salinities. Journal of Applied Ichthyology, 16: 126-130.
- Tsuzuki, M.Y.; Aikawa, H.; Strüssmann, C.A. & Takashima, F. 2000b. Physiological responses to salinity increases in the freshwater silversides *Odontesthes bonariensis* and *O. hatcheri* (Pisces, Atherinidae). Revista Brasileira de Oceanografía, 48: 81-85.
- Tsuzuki, M.Y.; Ogawa, K.; Strüssmann, C.A.; Maita, F. & Takashima, F. 2001. Physiological responses during stress and subsequent recovery at different salinities in adult pejerrey *Odontesthes bonariensis*. Aquaculture, 200: 349-362.

- Tsuzuki, M.Y.; Ogawa, K.; Strüssmann, C.A.; Maita, F.; Takashima, F. & Melo, C.M. 2007. The significance of cortisol on acclimatation to salinity in pejerrey *Odontesthes bonariensis*. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinaria e Zootecnia, 59: 1301-1307.
- Turner, G.F. 1999. What is a fish species? Reviews in Fish Biology and Fisheries, 9: 281-297.
- Unmack, P.J.; Bennin, A.P.; Habit, E.M.; Victoriano, P.F. & Johnson, J.B. 2009. Impact of ocean barriers, topography, and glaciation on the phylogeography of the catfish *Trichomycterus areolatus* (Teleostei: Trichomycteridae) in Chile. Biological Journal of the Linnean Society, 97: 876-892.
- Valentin, A.; Sévigni, J.M. & Chanut, J.P. 2002. Geometric morphometrics reveals body shape differences between sympatric redfish *Sebastes mentella*, *Sebastes fasciatus* and their hybrids in the Gulf of St Lawrence. Journal of Fish Biology, 60: 857-875.
- Vander Zanden, M.J.; Casselman, J.M. & Rasmussen, J.B. 1999. Stable isotope evidence for the food web consequences of species invasions in lakes. Nature, 401: 464-467.
- Vera Cruz, E.M.; Brown, C.L.; Luckenbach, J.A.; Picha, M.E.; Bolivar, R.B. & Borski, R. 2006. Insulin-like growth factor-I cDNA cloning, gene expression and potential use as a growth rate indicator in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. Aquaculture, 251: 585-595.
- Verhulst, P.F. 1838. Notice sur la loi que la population poursuit dans son accroissement, Correspondance Mathemátique et Physique, 10: 113-121.
- Vigliano, P.H.; Macchi, P.; Denegri, M.; Alonso, M.; Milano, D.A.; Lippolt, G. & Padilla, G. 1999. Un diseño modificado y procedimiento de calado de redes agalleras para estudios cuali-cuantitativos de peces por estratos de profundidad en lagos araucanos. Natura Neotropicalis, 30: 1-11.
- Vigliano, P.H.; & Darrigran, G. 2002. Argentina's Freshwater Systems, Aliens In Wonderland. En: Proceedings of the 11th International Conference on Aquatic Invasive Species. The Professional Edge. Pembroke, Alexandria. pp 25-44.
- Vigliano, P.H. & Alonso, M.F. 2007. Salmonid introductions in Patagonia: A mixed blessing. En: Ecological and Genetic Implications of Aquaculture Activities. Methods and technologies in fish biology and fisheries, Volumen 6. Bert, T.M. (Ed.) Springer, Berlin. pp 315-331.

- Viozzi, G. 1993. Infestación parasitaria de *Patagonina hatcheri* (Pisces Atherinidae) en el lago Pellegrini, Río Negro. Tesis de Licenciatura. Centro Regional Universitario Bariloche, Universidad Nacional del Comahue. Argentina. 72 p.
- Wedemeyer, G. 1972. Some physiological consequences of handling stress in the juvenile coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) and steel-head trout (*Salmo gairdneri*). Journal of the Fisheries Research Board of Canada, 29: 1780-1783.
- Wedemeyer, G. & Mc Leay, D.J. 1981. Methods for determining the tolerance of fishes to environmental stressors. En: Stress and fish. Pickering, A.D. (Ed.) Academic Press, Londres. pp 247-275.
- Wetherall, J.A. 1986 A new method for estimating growth and mortality parameters from length-frequency data. Fishbyte, 4:12-14.
- Wetherall, J.A.; Polovina, J.J. & Ralston, S. 1987. Estimating growth and mortality in steady-state fish stocks from length-frequency data. En: Length-based methods in fisheries research. Pauly, D. & Morgan, G.R. (Eds.) International Center for Living Aquatic Resources Management. Manila, Filipinas & KISR, Safat, Kuwait. pp 53-74.
- Wetzel, R. 1981. Limnología. Omega, Barcelona. 679 p.
- Wiggerts, T.A. 1997. Using Clustering Algorithms in Legacy Systems Remodularization. Proc. Fourth Working Conference on Reverse Engineering. pp 33-43.
- Yada, T. 2007. Growth hormone and fish immune system. General and Comparative Endocrinology, 152: 353-358.
- Yoshizaki, G.; Yamaguchi, K.; Oota, T.; Strüssmann, C.A. & Takashima, F. 1997. Cloning and characterization of pejerrey mitochondrial DNA and its application for RFLP analysis. Journal of Fish Biology, 51: 193-203.
- Zagarese, H.E. 1996. Growth of *Odontesthes bonariensis* (Atherinidae) larvae feeding on suboptimal zooplankton densities. Environ. Biol. Fish., 45:191-219
- Zeller, N.; Ávila, C.D. & Núñez, P. 2009. Acuicultura. Documento Sectorial Integral. Ministerio de Desarrollo Territorial, Neuquén. 55 p.