

BASES AMBIENTALES DEL COMPORTAMIENTO  
MIGRATORIO DE LA TRUCHA ARCO IRIS  
(*ONCORHYNCHUS MYKISS*) DEL RÍO SANTA CRUZ



Autora: Lic. Ana Laura Liberoff

Directora: Dra. Carla Riva Rossi

Co-Director: Dr. Miguel Pascual

TRABAJO PARA OPTAR AL TÍTULO DE DOCTOR EN BIOLOGÍA

Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales

Universidad Nacional de Córdoba

2013

# Tabla de Contenidos

Resumen.....	i
Capítulo 1 .....	1
Introducción General.....	1
La trucha arco iris del río Santa Cruz .....	4
Objetivos.....	6
Enfoque analítico y resumen de capítulos.....	7
Capítulo 2 .....	10
Influencia del origen materno sobre trayectorias de desarrollo juvenil.....	10
Introducción.....	10
Materiales y Métodos.....	13
Muestreo y procesamiento de muestras .....	13
Determinación del origen materno .....	14
Análisis de la condición fisiológica de los individuos.....	17
Análisis de datos .....	22
Resultados.....	24
Determinación del origen materno .....	24
Análisis de la condición fisiológica .....	27
Discusión .....	37

Capítulo 3 .....	41
Trayectorias y patrones de desarrollo juvenil conducentes a anadromía y residencia.....	41
Introducción.....	41
Materiales y Métodos.....	44
Muestreo y procesamiento de muestras .....	44
Variables fisiológicas .....	45
Análisis de datos .....	46
Resultados.....	49
Progresión Modal de Variables Fisiológicas .....	50
Análisis de Componentes Principales .....	58
Asociación entre los patrones de crecimiento del primer y segundo año .....	63
Discusión .....	67
Capítulo 4 .....	74
Patrón geográfico y ambiental asociado a la incidencia y producción de ecotipos alternativos .....	74
Introducción.....	74
Métodos .....	77
Muestreos.....	77
Caracterización ambiental del río Santa Cruz.....	77
Patrones espaciales y ambientales asociados a las zonas de producción de anádromía y residencia y a la cría temprana de juveniles .....	78

Patrones ambientales asociados a las trayectorias de crecimiento temprano	79
Análisis de datos.....	80
Resultados.....	82
Variación ambiental en el río Santa Cruz.....	82
Patrones espaciales asociados a la contribución reproductiva de anadromía y residencia.....	83
Patrones ambientales asociados a las trayectorias de crecimiento temprano	88
Discusión.....	91
Discusión General.....	95
Agradecimientos.....	103
Bibliografía.....	105

## Resumen

Varias especies de salmónidos exhiben un comportamiento conocido como anadromía parcial, donde solo una fracción de la población migra al océano con fines tróficos (*i.e.*, anadromía) mientras que la fracción restante completa su ciclo de vida exclusivamente en el agua dulce (*i.e.*, residencia). En poblaciones donde ambas formas conviven en simpatria, la adopción de historias de vida alternativas está asociada a trayectorias de desarrollo juvenil divergentes que desencadenan alternativamente la migración o la maduración en agua dulce. Estas trayectorias se inician o inhiben en base a una combinación entre el estado fisiológico de los individuos en momentos del año de mayor sensibilidad y un umbral fisiológico determinado genéticamente. En varios sistemas, se ha observado que peces de mayor tamaño con altas tasas de crecimiento y menor reserva de lípidos adoptan la trayectoria anádroma mientras que el patrón contrario se ha asociado a la maduración en agua dulce y a la adopción de la residencia. Tanto factores ambientales como genéticos y aquellos relacionados con efectos maternos tempranos (*i.e.*, herencia no genética de caracteres) han demostrado influir fuertemente en las trayectorias de desarrollo y en la eventual adopción de la anadromía o la residencia.

La trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) del río Santa Cruz es uno de los pocos casos en los que esta especie desarrolló la anadromía fuera de su rango nativo (costa oeste de Norteamérica y costa este de Asia). Estudios previos establecen que ambas ecotipos (anadromía vs. residencia) son genéticamente indistinguibles y pueden dar descendencia a la forma alternativa y, además, que la expresión de la anadromía está relacionada a altas tasas de crecimiento juvenil. En conjunto estos estudios sugieren que la migración parcial en esta población se desarrolló en respuesta a condiciones particulares de este río y que la plasticidad fenotípica se asocia a la historia de crecimiento temprano de los individuos y no a un

polimorfismo genético. En este contexto, se contempla a esta población como un experimento natural para poner a prueba consideraciones próximas asociadas a la adopción de historias de vida alternativas en salmónidos.

El análisis de la influencia materna sobre el desarrollo temprano de los individuos puso en evidencia que las madres anádromas confieren ventajas fisiológicas a su descendencia en etapas muy tempranas del desarrollo y que éstas se propagan a lo largo del primer año de vida. Las principales diferencias entre progenie anádroma y residente durante los primeros meses de vida se detectaron en la talla a la edad y en el contenido de lípidos lo cual sugiere que la influencia materna se establece mediante la provisión de energía diferencial a través del huevo (efectos maternos directos). Mientras que las diferencias en cuanto a la reserva de lípidos se disuelven en etapas más avanzadas, las ventajas en relación a la talla a la edad y en las tasas de crecimiento se mantienen a lo largo de todo el primer año.

El seguimiento de la población de peces juveniles durante los dos primeros años de vida permitió diferenciar patrones de desarrollo divergentes en la población y establecer momentos críticos a partir de los cuales la presencia de distribuciones bimodales de talla indicó la presencia de distintas trayectorias de crecimiento en la población asociadas a la adopción de la historia de vida. En base a evidencias en éste, y en otros sistemas, las trayectorias de bajo y alto crecimiento se asociaron a la adopción de la residencia y la anadromía, respectivamente. Mientras que los peces sobre la trayectoria anádroma (moda superior de talla) fueron en su mayoría peces de origen anádromo, los peces de origen residente se vieron restringidos a las modas inferiores (trayectoria residente) reflejando la predominancia de la herencia de la historia de vida. Sin embargo, la presencia de momentos críticos para el refuerzo o el cambio en las trayectorias de crecimiento y el solapamiento entre modas al inicio del desarrollo indicaría que, aunque en menor proporción, la progenie de ambos ecotipos puede adoptar la trayectoria complementaria.

El estudio de los patrones geográficos y ambientales asociados a la contribución reproductiva de ambos ecotipos a lo largo del río permitió establecer el predominio de la estrategia anádroma en esta población por sobre el ecotipo

residente. Los sitios de desove de las hembras anádromas se asociaron a las zonas altas y medias del río y a zonas con tamaño de sustrato intermedio a grande, mientras que el ecotipo residente mostró mayor incidencia hacia las zonas bajas. Por otro lado, la variación en la talla de los juveniles durante el primer otoño se vio asociado al origen materno y a las variables de profundidad, velocidad de corriente y tamaño de sustrato. Evidenciando esto último una asociación entre la elección de características particulares de los sitio de desove (sustrato de mayor tamaño) y la condición de la progenie (efecto materno indirecto). Los cruces de trayectorias planteados anteriormente se vieron reflejados en el uso de ambientes más costosos (mayor velocidad) por parte de los peces residentes de mayor talla que les permitiría continuar en la trayectoria de mayor crecimiento (conducente a anadromía) y en el uso de ambientes menos costosos de los peces de origen anádromo de menor talla que los reduciría a una trayectoria residente de menor crecimiento.

El enfoque particular de esta tesis, en el que se realizó un seguimiento temporal de la población previo a la manifestación de la historia de vida, permitió comprender en mayor detalle la relación entre las formas alternativas que conviven en simpatria, establecer las trayectorias de desarrollo que conducen a las mismas e identificar momentos críticos, factores y mecanismos asociados con la adopción de tácticas alternativas. Estos resultados permitieron hipotetizar las causas del éxito de establecimiento de la anadromía en este río, y predecir la respuesta poblacional y fenotípica ante un escenario de cambio ambiental que se avecina con la construcción de dos represas en el río Santa Cruz.

# CAPÍTULO 1

## Introducción General

Las migraciones son uno de los comportamientos más intrigantes del mundo animal; gran variedad de grupos taxonómicos incluyendo aves, insectos, peces y mamíferos desarrollan este comportamiento de movimiento entre ambientes (Brower y Malcolm 1991; Dockx *et al.* 2004; Malecki *et al.* 2001, Reeves *et al.* 2004). Existe un rango muy amplio en cuanto a la escala temporal y espacial del comportamiento migratorio en la naturaleza, en peces por ejemplo, puede variar desde movimientos verticales diarios (Mehner y Kasprzak 2011) y movimientos a pequeña escala entre lagos (Skov *et al.* 2008) a complejas migraciones en el océano como las llevadas a cabo por el atún azul *Thunnus thynnus* (Block *et al.* 2005). La elucidación de las causas tanto últimas (*i.e.*, relacionadas a los costos y beneficios de un comportamiento) como próximas (*i.e.*, relacionadas a las respuestas internas y externas de un organismo) que promueven este interesante comportamiento son



indispensables para el entendimiento de los mecanismos ecológicos y evolutivos que actúan sobre la dinámica de las poblaciones y las especies del mundo animal.

Se han propuesto varias teorías para explicar las migraciones; y de todas éstas la interacción entre los individuos y su ambiente es el factor más citado. En muchos casos se ha sugerido que las migraciones han evolucionado como respuesta a condiciones desfavorables del ambiente como fluctuaciones en las temperaturas (Cossette y Rodríguez 2004) condiciones de sequía (Adis y Junk 2004; Herremans 2004) o períodos de escasez de alimento (Hirche 1996; Whitehead 1996). Más allá de los factores ambientales específicos, se ha propuesto que la migración se ha desarrollado en los casos donde ésta provee a los individuos una ganancia relativa en el *fitness* (éxito reproductivo a lo largo de la vida) que excede los costos debidos al desarrollo de este comportamiento (Gross 1987b). El cambio en el *fitness* relativo conferido por una estrategia específica (*e.g.*, migración) es determinada por la influencia que tiene este comportamiento sobre la supervivencia, la edad de madurez y el rendimiento reproductivo (Hendry *et al.* 2004).

Las migraciones de los peces diádromos, aquellos que migran entre el agua dulce y el océano, son particularmente enigmáticas ya que incluyen cambios fisiológicos en la osmorregulación. Dentro de este grupo se encuentran los peces anádromos, entre los cuales se incluye a los salmónidos (Salmonidae), que nacen en agua dulce, migran al océano a alimentarse y crecer y luego retornan al agua dulce a desovar (Jonsson y Jonsson 1993; Thorpe 1988). Los costos de la migración se asocian a la disminución de la supervivencia mientras que los beneficios se asocian al incremento del rendimiento reproductivo. En los peces anádromos la migración incurre en costos asociados al ajuste de mecanismos fisiológicos para sobrevivir a las condiciones de mayor salinidad del medio marino (*i.e.*, smoltificación) (Beckman y Dickhoff 1998) pero trae aparejados importantes beneficios asociados a la mayor disponibilidad de alimento en el océano en relación al agua dulce (Gross 1987b), resultando en un incremento en la talla relativa a su edad (Gross 1987b; Hendry *et al.* 2004). La diferencia en la disponibilidad relativa del alimento entre el agua dulce y el océano parece ser la variable biológica más determinante que

explica el incremento en la ocurrencia de poblaciones anádromas a lo largo del gradiente latitudinal: en latitudes templadas los océanos tienden a ser más productivos que los sistemas de agua dulce, promoviendo el desarrollo de migraciones tróficas desde el agua dulce hacia el océano en los salmónidos y otras especies (Gross *et al.* 1987).

Los patrones de migración pueden variar entre poblaciones, por ejemplo la trucha marrón (*Salmo trutta L.*) puede presentar poblaciones compuestas enteramente por individuos migradores o residentes (*i.e.*, aquellos que completan todo el ciclo de vida en el río) (Bohlin *et al.* 2001). Sin embargo, uno de los aspectos más intrigantes de la variación en los patrones de migración es la variación intrapoblacional, aquella que ocurre dentro de las poblaciones. Algunas especies de salmónidos como *Salmo salar*, *Salmo trutta*, *Salvelinus spp.*, (originalmente asociados a cuencas de vertiente atlántica en el Hemisferio Norte, Lever 1996), y *Oncorhynchus mykiss* han desarrollado un comportamiento anádromo parcial, donde sólo una fracción de los individuos de la población migra al océano, mientras que la fracción restante desarrolla una historia de vida residente (Jonsson y Jonsson 1993, Thériault y Dodson 2003).

Años de estudio en relación a mecanismos ambientales y de desarrollo subyacentes a la manifestación de tácticas alternativas (*e.g.*, Morinville y Rasmussen 2003; Olsson *et al.* 2006; Páez *et al.* 2011; Thorpe *et al.* 1998) han permitido arribar al consenso de que todos los individuos dentro de un población con anadromía parcial tienen el potencial innato de desarrollar la migración (revisado en Chapman *et al.* 2012). Los modelos conceptuales de historias de vida (Rikardsen *et al.* 2004; Thorpe *et al.* 1998) establecen que la adopción de una u otra historia de vida o ecotipo (anadromía vs residencia) es determinado por el estado en la condición fisiológica de los individuos (*i.e.*, talla a la edad, tasa de crecimiento, reserva de energía) en relación a un umbral poblacional determinado genéticamente (Páez *et al.* 2011). De esta manera los individuos que sobrepasan el umbral de migración expresarán la anadromía mientras que los individuos que sobrepasan el umbral de la maduración expresarán la residencia (Thorpe *et al.*

1998). Debido a que el desarrollo exitoso de la migración y la supervivencia en los primeros meses en el mar depende fuertemente del tamaño del cuerpo de los individuos (Acolas *et al.* 2012, Páez *et al.* 2011, Thériault y Dodson 2003) los umbrales para la anadromía se encuentran asociados a la talla a la edad: las tasas de crecimiento elevadas desencadenan los procesos fisiológicos y comportamentales de preparación para el cambio de ambiente (“smoltificación”) (Beckman y Dickhoff 1998). Mientras que el umbral de maduración se encuentra asociado a la reserva de energía para la producción de gametas y desarrollo de caracteres secundarios (McMillan *et al.* 2012, Rikardsen y Elliott 2000).

## La trucha arco iris del río Santa Cruz

La trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*), así como otras especies de salmónidos, ha sido intensamente introducida alrededor del mundo desde finales del siglo XIX. Si bien su rango nativo corresponde a las costas Oeste de Norteamérica y Este de Asia, actualmente se encuentra establecida en todos los continentes a excepción de la Antártida (Lever 1996).

La siembra de trucha arco iris en nuestra región data de principios del siglo XX, entre 1906 y 1910 (Dyer 2000, Pascual *et al.* 2001), y si bien ha establecido poblaciones sustentables en diversos ríos y lagos de la Patagonia Argentina (Pascual y Ciancio 2007), el río Santa Cruz (Fig. 1.1) es el primer caso conocido donde se ha desarrollado una población exótica con anadromía parcial (Pascual *et al.* 2001). Estudios moleculares indicaron que esta población se originó a partir de un ancestro común proveniente de ríos de la costa Oeste de Estados Unidos, principalmente del Estado de California, y en la actualidad las historias de vida alternativas son genéticamente indistinguibles y poseen una gran afinidad genética con formas residentes del rango original (Riva Rossi *et al.* 2004). Confirmando los resultados genéticos, el análisis del origen materno de los peces indicaron que en el Santa Cruz ambas historias de vida producen descendencia con el fenotipo propio y, en menor medida, el alternativo (Riva Rossi *et al.* 2007) mientras que estudios del crecimiento temprano revelaron que en este río la expresión de la

historia de vida anádroma se asocia a una tasa de crecimiento elevada durante el primer año de vida, mientras que la expresión de residencia se asocia al crecimiento lento (Riva Rossi 2004).

En conjunto estos estudios sugieren que la anadromía parcial en la trucha arco iris del río Santa Cruz se desarrolló en respuesta a condiciones particulares de este río y que la adopción de anadromía y residencia en la población resulta en gran medida de la plasticidad fenotípica asociada a la historia de crecimiento temprano de los individuos y no de un polimorfismo genético.

La variación geográfica en el establecimiento de poblaciones residentes y anádromas de trucha arco iris en Patagonia, desarrolladas a partir de linajes de origen e historia de vida conocidos y distribuidas a lo largo de un amplio gradiente ambiental provee un escenario único para evaluar cuáles son los factores ambientales particulares asociados al desarrollo de historias de vida alternativas en salmónidos. Dentro de este marco general, en esta tesis el desarrollo excepcional de la anadromía parcial en el río Santa Cruz se contempla como un experimento natural para poner a prueba consideraciones próximas asociadas a la evolución de este comportamiento en salmónidos.

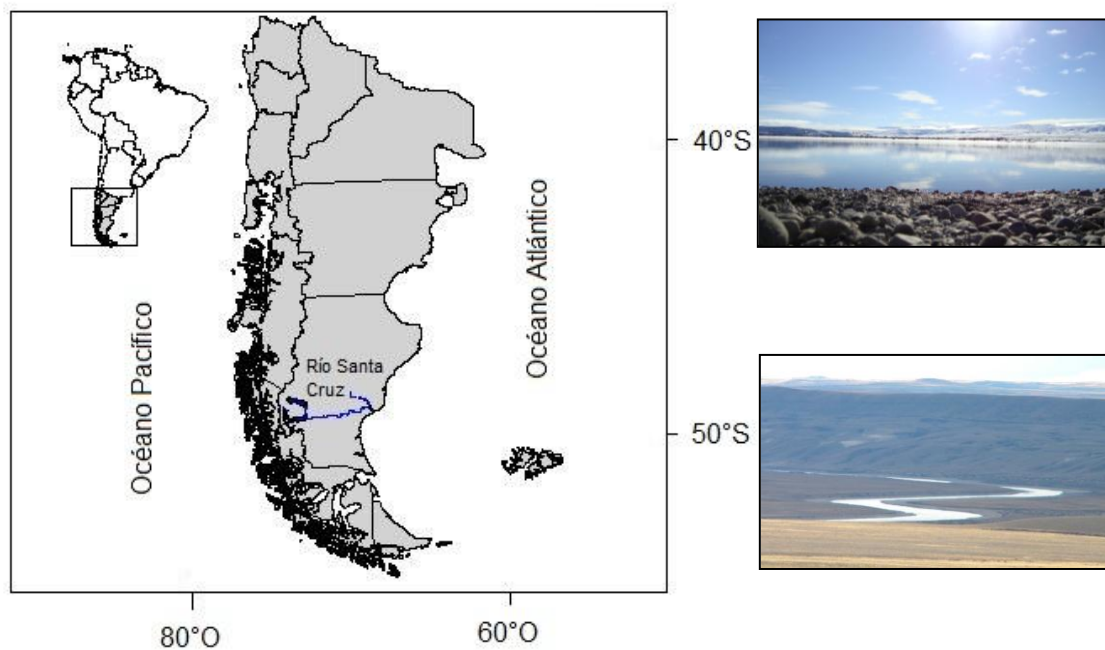


Figura 1 Ubicación de la cuenca del río Santa Cruz

## Objetivos

El objetivo principal de esta tesis fue identificar las trayectorias de desarrollo juvenil conducentes a anadromía y residencia y explorar los mecanismos por los cuales la herencia materna y la variabilidad ambiental operan sobre el desarrollo de historias de vida alternativas dentro de una población natural.

Los objetivos particulares fueron:

- 1) Estimar parámetros biológicos relacionados con la condición de los individuos (talla a la edad, crecimiento, contenido energético, factor de condición) a lo largo de la ontogenia.
- 2) Contrastar los parámetros biológicos utilizados como indicadores de la condición de los individuos con el origen materno y con las variables ambientales en distintas zonas del río.

- 3) Identificar las trayectorias de desarrollo y los momentos críticos de la conversión fisiológica asociados a la adopción de anadromía o residencia.
- 4) Explorar el patrón geográfico asociado a la incidencia de anadromía y residencia en el río Santa Cruz en función de variables ambientales relevantes para los estadios juveniles.

## **Enfoque analítico y resumen de capítulos**

En esta tesis se analizaron las etapas críticas del desarrollo de los peces con el fin de identificar patrones de crecimiento asociados a la adopción de tácticas de vida alternativas en la población con anadromía parcial del río Santa Cruz, analizando a su vez el efecto de la herencia materna no-genética sobre la descendencia y de los patrones geográficos y controles ambientales de la producción y el desarrollo de historias de vida alternativas.

En el Capítulo 2 se evaluó la influencia materna sobre el desarrollo juvenil desde etapas tempranas del desarrollo hasta la finalización del primer año de vida con el fin de establecer la relación entre el fenotipo materno y la condición fisiológica de su progenie. Mediante análisis químicos en otolitos e Isótopos Estables en músculo se determinó el fenotipo materno de los juveniles (madres anádromas vs. madres residentes); las tasas de crecimiento se estimaron a partir de la lectura de otolitos y escamas y se estimó la condición energética mediante la determinación del contenido de lípidos en músculo. Se estudió la influencia del fenotipo materno sobre estas variables de condición individual utilizando regresiones, pruebas de comparación de medias y modelos de efectos mixtos.

En el Capítulo 3, a través del seguimiento temporal de la población de peces juveniles durante los dos primeros años de vida, se caracterizaron las trayectorias y los patrones de desarrollo conducentes a anadromía y residencia identificando ventanas de tiempo de mayor sensibilidad para los individuos y momentos de divergencia de las trayectorias de crecimiento. Esto se realizó combinando una serie de herramientas que incluyeron el análisis de la progresión modal de cada

variable fisiológica (talla a la edad, crecimiento, reservas energéticas y factor de condición) a lo largo de las estaciones del año, los que permitieron establecer los momentos de manifestación de las divergencias poblacionales; análisis de componentes principales que permitieron establecer las relaciones y correlaciones entre las variables fisiológicas determinando los patrones de desarrollo y los momentos de mayor sensibilidad donde se refuerzan las mismas; y, por último, se combinaron los resultados del seguimiento de las cohortes y de las distribuciones modales de talla con análisis de retro-cálculo y estimación de crecimiento a edades pretéritas mediante la información contenida en las escamas para reconstruir las trayectorias de crecimiento de los individuos durante los dos primeros años de vida.

Por último, en el Capítulo 4 se caracterizó al río en su gradiente longitudinal de acuerdo a variables de importancia para el desarrollo juvenil y para la reproducción de los adultos de cada ecotipo (*e.g.*, velocidad de corriente, sustrato, profundidad, ancho del canal, temperatura). En función de esta información se evaluó el patrón geográfico de la contribución reproductiva de cada ecotipo a la población juvenil de manera de establecer si existen zonas del río más propensas para el desarrollo de la trayectoria de desarrollo anádroma o residente. Además, se evaluó el patrón longitudinal y el uso de hábitat de individuos de distinta condición (talla) en relación de las variables de micro-hábitat (*e.g.*, velocidad de corriente, sustrato, profundidad) que expliquen la divergencia en patrones de desarrollo y en la adopción de la anadromía y la residencia en esta población. Se utilizaron modelos lineales generalizados con estructuras del error binomial para respuestas binarias [Origen materno =  $f(\text{variables ambientales} + \text{ubicación en la cuenca})$ ] y modelos lineales generalizados con estructuras del error gaussiano para los casos de variables respuesta normales [Talla =  $f(\text{variables ambientales} + \text{ubicación en la cuenca})$ ].

Por último, se aborda una discusión general de la tesis resaltando los resultados más relevantes y comparándolos con la información existente para otros salmónidos con migración parcial en el rango nativo. Además, se plantean nuevos

escenarios para abordar estudios futuros en relación a las hipótesis delineadas en este estudio.



## CAPÍTULO 2

### **Influencia del origen materno sobre trayectorias de desarrollo juvenil**

#### **Introducción**

En poblaciones de salmónidos con migración parcial la expresión de la historia de vida (anadromía vs. residencia) se encuentra bajo la influencia tanto de las condiciones ambientales que experimenta el individuo (Morinville y Rasmussen 2008; Olsson *et al.* 2006) como de controles genéticos (Hecht *et al.* 2012; Varian y Nichols 2010). En estas poblaciones, que un pez adopte la táctica anádroma o residente depende de una relación entre su constitución genética y las oportunidades de crecimiento provistas por el ambiente donde éste se desarrolla (Jonsson y Jonsson 1993). Por ejemplo, Olsson *et al.* (2006) encontró que la disponibilidad del alimento afectaba las oportunidades de crecimiento de los individuos y ésta, a su vez, estaba fuertemente ligada a la adopción de la estrategia anádroma en la trucha marrón (*Salmo trutta L.*). En *Salvelinus fontinalis*, Thériault *et al.* (2007) mostró evidencias de una alta heredabilidad en caracteres asociados a la adopción de historias de vida alternativas, como ser el tamaño del cuerpo. En la trucha arco iris, Nichols *et al.* (2008) y Hecht *et al.* (2012) encontraron evidencias

de bases genéticas para los cambios fisiológicos y morfológicos asociados al proceso de smoltificación.

En los peces existe, además, una fuente importante de variación individual asociada al efecto del fenotipo de la hembra sobre rasgos fenotípicos de su descendencia (Einum y Fleming 1999). A través de la elección del lugar y el momento del desove las hembras influyen en distintos aspectos que determinarán directa o indirectamente la supervivencia y el desarrollo de su progenie, como ser la temperatura durante la incubación y las primeras semanas de vida, la disponibilidad de alimento al momento del inicio de la alimentación exógena, la competencia por el territorio y el riesgo de predación (Einum y Fleming 1999; Fleming y Reynolds 2004). Por otro lado, las hembras proveen los requerimientos energéticos esenciales para asegurar la supervivencia y el desarrollo apropiado de los embriones y alevines hasta el inicio de la alimentación exógena (Fowler 2005; Smith 1957). Se ha demostrado que la elección de los sitios de desove, el momento de la reproducción, la condición materna y la subsiguiente provisión de energía a la progenie afectan rasgos de la historia de vida temprana, como la tasa de crecimiento, la supervivencia y el tamaño en etapas clave como la eclosión o la emergencia (Einum y Fleming 1999; Houde *et al.* 2011; Régnier *et al.* 2010).

Inclusive, existen evidencias acerca de que la variación temprana en estos rasgos puede afectar la futura manifestación de las tácticas alternativas. Por ejemplo, en salmón del Atlántico (Metcalfé y Thorpe 1992; Aubin-Horth y Dodson 2004), encontraron que los peces que alcanzan altas tasas de crecimiento durante los primeros meses de vida mantienen el apetito, crecen durante el invierno y en la primavera siguiente migran al mar. Por el contrario, los peces con bajas tasas de crecimiento cesan de alimentarse durante el invierno y continúan su desarrollo en agua dulce. Las consecuencias últimas del efecto materno han sido extensamente modelizadas en el contexto de la teoría de historias de vida (*e.g.*, bajo la teoría de estrategia condicional, Wiegmann *et al.* 2004), señalándose que el efecto del fenotipo o del ambiente materno sobre su descendencia puede tener importantes

consecuencias ecológicas y adaptativas sobre las especies (Benton *et al.* 2005; Bernardo 1996).

En salmónidos con migración parcial, la expresión de historias de vida alternativas conduce a grandes diferencias fenotípicas entre hembras residentes y anádromas, estas últimas alcanzando tallas mucho mayores y presentando ventajas en la fecundidad y tamaño de los huevos (Morita y Takashima 1998; Zimmerman y Reeves 2000). En virtud de la explotación de mejores recursos alimenticios en el océano, las hembras anádromas pueden potencialmente invertir mayor energía en la producción y calidad de los huevos. Asimismo, como consecuencia de sus mayores tallas, las hembras anádromas también pueden acceder a sitios de desove de mejor calidad en relación con las hembras residentes (Chernoff y Curry 2007; Fleming y Reynolds 2004; Jardine *et al.* 2008).

En particular, en la trucha arco iris del río Santa Cruz varios atributos fenotípicos asociados al desarrollo del comportamiento migratorio difieren drásticamente entre hembras residentes y anádromas, estas últimas exhibiendo mayor crecimiento, fecundidad (número y tamaño de huevos) e iteroparidad (la habilidad de repetir el desove) que hembras residentes (Liberoff *et al.* 2011; Pascual *et al.* 2001; Riva Rossi *et al.* 2007). Dadas las marcadas diferencias fenotípicas entre las formas en este río, sería de esperar, entonces, que éstas resulten a su vez en importantes consecuencias sobre el fenotipo de su descendencia.

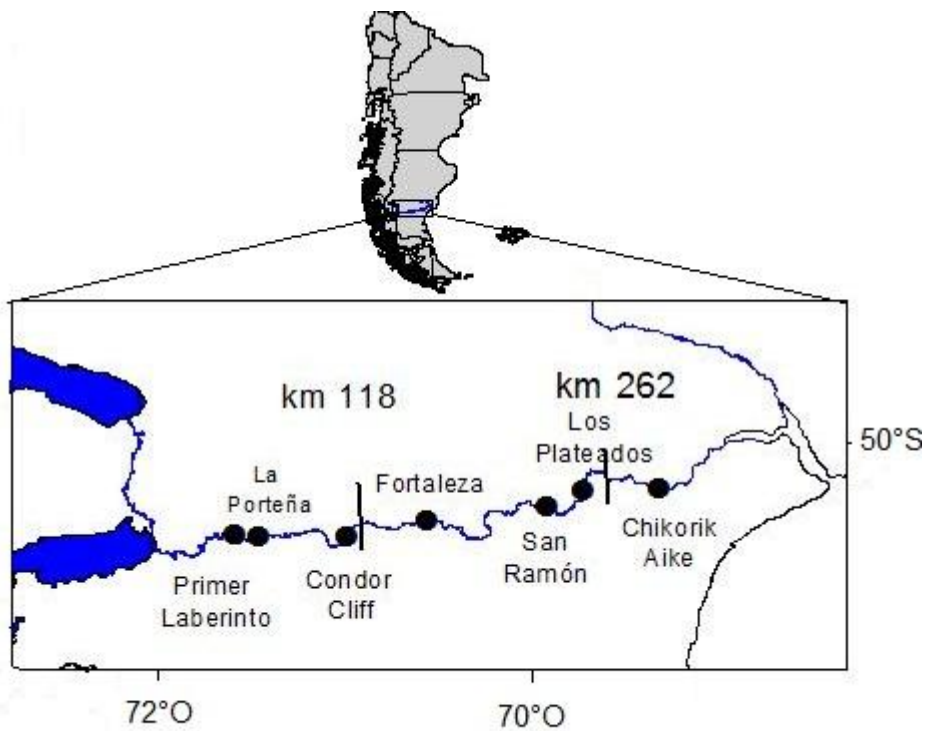
El objetivo de este capítulo es, por lo tanto, describir y comparar la variación en rasgos fenotípicos asociados al crecimiento y a la reserva de energía durante el desarrollo temprano de los juveniles (primer año de vida) en función del ecotipo materno y determinar su influencia sobre la expresión de historias de vida alternativas en la población de trucha arco iris del río Santa Cruz.

## Materiales y Métodos

### Muestreo y procesamiento de muestras

Se siguieron dos cohortes de peces durante su primer año de vida a lo largo de los años 2009 y 2010 en 7 localidades a lo largo del río Santa Cruz; tres localidades en la zona alta del río (Primer Laberinto, La Porteña y Condor Cliff), tres localidades en la zona media (Fortaleza, San Ramón y Los Plateados) y una localidad en la zona baja (Chikorik Aike) (Fig. 2.1, Tabla 2.1). Las localidades Primer Laberinto, La Porteña, San Ramón y Chikorik Aike forman parte de las localidades visitadas estacionalmente para el desarrollo de esta tesis mientras que Condor Cliff, Fortaleza y Los Plateados fueron localidades específicamente visitadas en Septiembre de 2010. Para facilitar el análisis, se discretizó la ontogenia en tres etapas principales: “fry” (capturados en Diciembre de 2008 y 2009), juveniles capturados otoño (Abril de 2009 y Junio 2010) y juveniles capturados en primavera (Septiembre 2010) (Tabla 2.1).

Los peces se capturaron mediante pesca eléctrica y se sacrificaron con una sobredosis de triclaína metano sulfonato “MS-222” (*i.e.*, método de eutanasia aceptado para peces y anfibios que actúa a nivel del sistema nervioso central, SECAL 1996). Los individuos colectados fueron congelados inmediatamente a  $-20^{\circ}\text{C}$  y se mantuvieron en este estado hasta su procesamiento. Los peces fueron medidos (largo de furca en mm) y pesados (mg) en el laboratorio, y se extrajeron los estómagos, las escamas y los otolitos. La carcasa restante fue secada a  $60^{\circ}\text{C}$  hasta obtener un peso constante y fue dividida en dos alícuotas. Para la etapa de fry una porción de la carcasa seca se utilizó para la determinación del origen materno por Análisis de Isótopos Estables (AIE) y la otra para la determinación de lípidos. Un otolito del par fue utilizado para determinar la edad de los individuos y el otro fue utilizado para la determinación del origen materno mediante análisis de Estroncio/Calcio. Para las etapas juveniles, la determinación de lípidos se realizó sobre una fracción de músculo y la determinación del origen materno mediante análisis de Estroncio/Calcio.



**Figura 2.1 Zonas y ubicación de las localidades de muestreo incluidas en esta tesis. Las líneas transversales y el kilometraje desde el nacimiento del río corresponden a los límites entre las zonas alta, media y baja.**

### Determinación del origen materno

Se utilizaron dos métodos alternativos para la determinación del origen materno. Por un lado, la determinación del origen materno en el estadio fry se realizó mediante la señal del isótopo estable de Nitrógeno ( $\delta^{15}\text{N}$ ) en músculo, mientras que en los peces de mayor desarrollo ontogenético el origen materno se determinó mediante análisis micro-químico en otolitos.

#### *Análisis de isótopos estables en músculo*

Los tejidos y estructuras de los peces difieren en sus componentes cuando estos se alimentan en distintos ambientes, por ello es posible distinguir peces anádromos que se alimentan en el mar de peces residentes que se alimentan en el agua dulce (Doucett *et al.* 1999). El tejido muscular de peces anádromos y residentes en esta población difieren en su señal de isótopo estable de Carbono ( $-19.2 \pm 1.3 \text{ ‰}$ , media

± d.s;  $-23.2 \pm 2.5$  ‰ respectivamente) y de Nitrógeno ( $15.2 \pm 1.0$  ‰;  $8.8 \pm 1.1$  ‰ respectivamente) principalmente como consecuencia de las diferencias en el nivel trófico (Ciancio *et al.* 2008). Debido a que los peces en las primeras etapas del ciclo de vida se nutren de las reservas maternas, sus tejidos reflejan el hábitat de alimentación de sus madres (Doucett *et al.* 1999). Es por esto, que el tejido muscular de la prole anádroma y residente difiere en la relación de  $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{15}\text{N}$  en el período que precede al inicio de la alimentación exógena (*i.e.*, cuando los peces comienzan a alimentarse de ítems presa disponibles en el medio) (Curry 2005; Doucett *et al.* 1999; Jardine *et al.* 2008); a partir de este cambio de alimentación, el tejido muscular se reemplaza por nuevo tejido, con lo cual la señal materna se diluye y los peces de distinto origen materno se tornan indiferenciables por este método (Doucett *et al.* 1999).

La carcasa seca fue molida con mortero hasta obtener un polvillo fino y se colocaron aproximadamente 0.1 mg en cápsulas de estaño de 3.5 x 5 mm. Las muestras fueron analizadas en un Espectrómetro de Masas en el *Carnegie Institution of Washington, Geophysical Laboratory, Washington D.C.* La abundancia de los isótopos en la muestra ( $\delta$ ) se expresa como la desviación de la razón isotópica del nitrógeno de la misma con respecto a la relación estándar universal en el aire ( $\text{N}_2$ ) (Mariotti 1983) La abundancia es expresada en ‰ según la siguiente ecuación:

$$\delta X = [(R_{\text{muestra}} / R_{\text{estándar}}) - 1] \times 1000$$

La razón isotópica se calcula como  $^{15}\text{N} / ^{14}\text{N}$ , donde  $^{15}\text{N}$  es el isótopo pesado y  $^{12}\text{C}$  el isótopo liviano. El estándar del laboratorio fue acetanilida ( $\delta^{13}\text{C} = -27.7$  ‰,  $\delta^{15}\text{N} = 1.8$  ‰); muestras repetidas del estándar realizadas a lo largo de la determinación arrojaron valores de  $1.80$  ‰  $\pm 0.16$  (media  $\pm$  d.s.) para  $\delta^{15}\text{N}$  (n=20). La medición de estándares de laboratorio repetidamente a lo largo de la duración del análisis permite estimar el nivel de precisión del método. El valor de d.s. reportado se encuentra por debajo del valor típicamente reportado en la literatura ecológica ( $\sim 0.26$  ‰, Peterson 1999), por lo tanto el método se consideró preciso.

### *Análisis de Estroncio/Calcio en otolitos*

Los otolitos son estructuras de carbonato de calcio del oído interno de los peces que tienen la característica de crecer a un ritmo constante y continuo generando un registro completo de los eventos de la historia de los peces (Campana 1990). Debido a que los elementos del agua circundante son incorporados a los otolitos sin discriminación significativa, los otolitos proveen además un registro completo de los ambientes habitados por el pez a lo largo de toda su vida (Kalish 1990). La relación entre Estroncio y Calcio (Sr:Ca) en general es mayor para el agua de mar ( $\sim 8.5 \text{ mmol mol}^{-1}$ ) que para el agua dulce ( $< 5 \text{ mmol mol}^{-1}$ ) (Kraus y Secor 2004). Debido a que la relación Sr:Ca en el núcleo de los otolitos (formado durante el desarrollo del embrión mientras se nutren del vitelo) está directamente influido por el contenido de Sr en el ambiente en el que la vitelogénesis tuvo lugar, el origen materno de cada individuo puede ser determinado mediante el análisis de Sr:Ca en el núcleo (relación Sr:Ca en el núcleo de otolitos de progenie anádroma será mayor a la relación en otolitos de progenie residente) (Kalish 1990).

Para este análisis, un otolito del par fue enjuagado en una solución de hipoclorito de sodio de forma tal de remover cualquier resto de membranas y tejidos adheridos y enjuagado repetidas veces con agua destilada. Los otolitos fueron montados en portaobjetos sobre la cara proximal (sobre la que se observa el surco denominado *sulcus acústicus*) utilizando un medio de montaje transparente. Con el fin de obtener una fina lámina transversal y descubrir el núcleo, los otolitos fueron pulidos con papel de lija de 3 y 9  $\mu\text{m}$  hasta que los primordios nucleares fueron visibles claramente (Fig. 2.2).

Las concentraciones de Sr y Ca a lo largo de una transecta a lo largo del eje transversal de crecimiento fueron cuantificadas mediante el uso de un espectrómetro de masas en *W. M. Keck Collaboratory for Plasma Spectrometry*, en *Oregon State University*. Las relaciones entre iones fueron transformadas a medida de moles en base a las mediciones, las concentraciones conocidas de un estándar, *National Institute of Standards and Technology (NIST) 612*, y las masas molares del Sr y Ca. El porcentaje de desviación estándar relativo (RSD%) para el estándar fue

de Ca = 4.2% y Sr = 4.7%. Este valor se encuentra dentro de los valores reportados y aceptados en la bibliografía ecológica (<5%, *e.g.*, Miller y Kent 2009).

## Análisis de la condición fisiológica de los individuos

Del análisis de la literatura emerge que en salmónidos con migración parcial las trayectorias de desarrollo juvenil asociadas a la anadromía o residencia difieren en distintos rasgos fisiológicos. Los individuos con crecimiento juvenil lento, alto nivel de lípidos y tasas metabólicas bajas se han asociado a la maduración sexual temprana y a la adopción de la historia de vida residente, mientras que aquellos de rápido crecimiento juvenil, niveles bajos de lípidos y tasas metabólicas elevadas en el año previo a la migración son los que eventualmente smoltifican y expresan anadromía (*e.g.*, *Salmo trutta*: Jonsson 1985; Forseth *et al.* 1999; *Salmo salar*: Thorpe 1986; 1999; *Salvelinus fontinalis*: Morinville y Rasmussen 2003; Thériault y Dodson 2003; *Salvelinus alpinus*: Rikardsen y Elliott 2000; Rikardsen *et al.* 2004).

A fin de estudiar el efecto materno sobre la condición fisiológica de los individuos, en esta sección se analizarán el crecimiento y las reservas energéticas en etapas tempranas de la ontogenia como variables representativas del eje de smoltificación y maduración, respectivamente.

### *Crecimiento*

#### *Estadio fry*

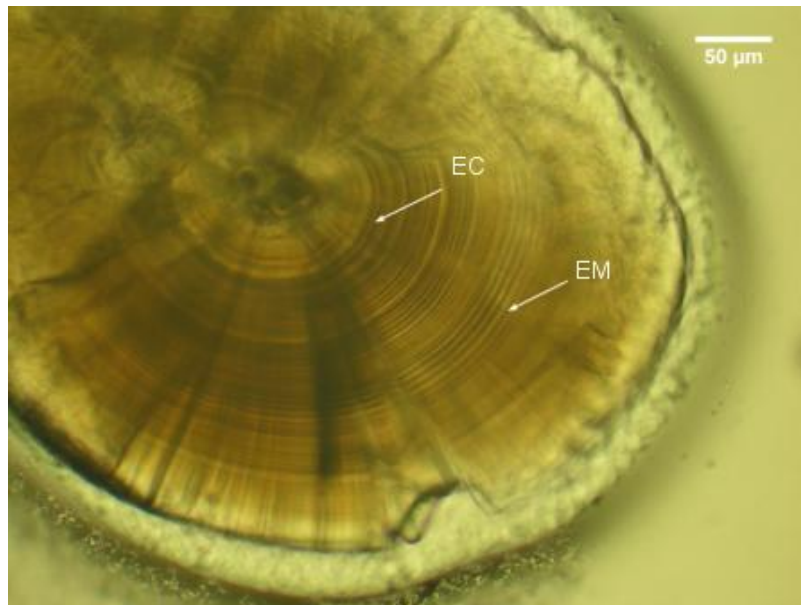
La comparación del crecimiento entre progenie anádroma y residente para el estadio de fry se basó en el análisis de la relación largo-edad, como una aproximación al crecimiento acumulado de los individuos (Thériault y Dodson 2003; McMillan *et al.* 2012). La edad se estimó a través del conteo de anillos diarios en otolitos. Estas estructuras están compuestas por carbonato de calcio y proteínas queratínicas (Degens *et al.* 1969) que son depositados siguiendo el ritmo endógeno cíclico del metabolismo del calcio (Mugiya 1987) y de la secreción de neuropéptidos del oído interno (Gauldie y Nelson 1988). La diferencia entre el



depósito de las dos fases (calcio y proteína) resulta en la formación de microincrementos de naturaleza diaria. El conteo de estos incrementos permite estimar con gran exactitud los días de vida de un individuo. Por otro lado, los otolitos muestran discontinuidades o marcas que se observan como un cambio abrupto en la apariencia del patrón de depósito de los anillos diarios y se encuentran asociadas a eventos de la historia de vida, como la eclosión, cambios en el ambiente o cambios en la alimentación (Campana 1984; Geffen 1996; Modin *et al.* 1996; Neilson *et al.* 1985; Karakiri *et al.* 1989).

La edad de los individuos y el momento de ocurrencia de la eclosión y la emergencia se estimaron a partir de la lectura de anillos diarios y marcas ontogénicas en otolitos [validación de la naturaleza diaria en *O. mykiss* por Campana (1983)]. Para ello los otolitos fueron pulidos con papel de lija de 3  $\mu\text{m}$  hasta que todos los anillos desde el núcleo al extremo fueron visibles claramente. Luego se examinaron visualmente bajo un microscopio a 400 X de magnificación (Fig. 2.2). El conteo de anillos se realizó sobre el eje longitudinal mayor.

En este trabajo se hace referencia a los días de vida entre la eclosión del huevo y la emergencia como *edad endógena*, a los días de vida a partir de la emergencia como *edad exógena* y a los días a partir de la eclosión como *edad total*. Finalmente, a partir de la lectura de anillos diarios y la ubicación de las marcas de eclosión y emergencia se estimaron las fechas de ocurrencia de estos eventos para los peces capturados.



**Figura 2.2** Sección transversal de un otolito pulido de fry. Las flechas resaltan las marcas de eclosión (EC) y emergencia (EM)

### *Estadio juvenil*

Para el estudio del crecimiento se compararon por un lado las tallas a la edad de los juveniles a lo largo del primer año de vida y además se estimaron las trayectorias de crecimiento individual a partir del espaciamiento de los circuli (ancho del radio entre circuli consecutivos) en escamas.

Las escamas son estructuras frecuentemente utilizadas para determinar edad e historias de vida en peces. A medida que el individuo crece, en la escama se forman anillos concéntricos los cuales pueden ser contados y medidos para obtener estimaciones de la edad y el crecimiento en los individuos. A medida que el individuo crece, en la escama se forman anillos que se disponen según un patrón regular de bandas alternadas que reflejan las variaciones estacionales del hábitat en el cual se desarrolla el individuo. Los anillos de calcio que se depositan periódicamente en la escama se denominan circuli. Durante períodos de crecimiento lento (otoño – invierno) los circuli se encuentran fuertemente apilados, mientras que durante períodos de crecimiento rápido (primavera –

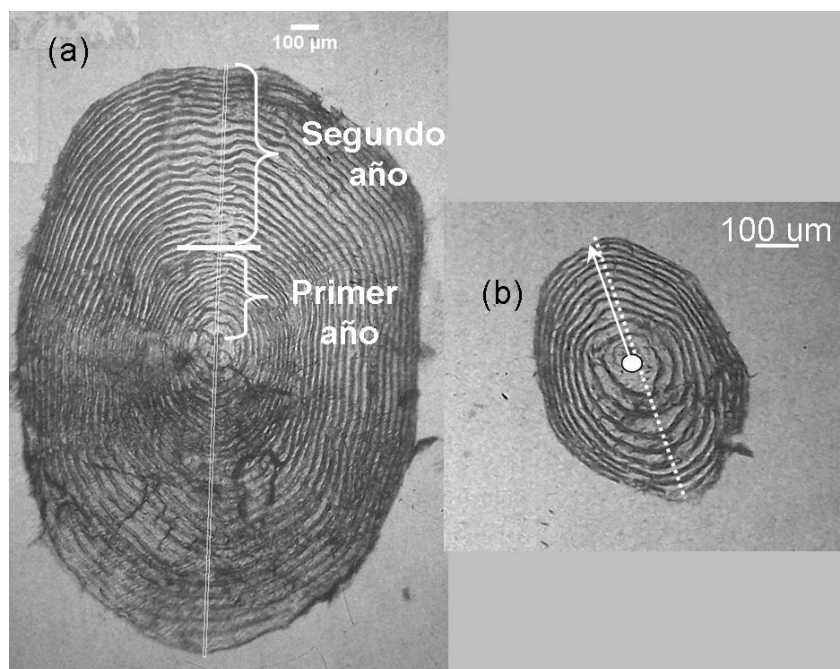
verano) se espacian notablemente (Bagenal 1974). La secuencia de circuli correspondiente al ciclo anual se conoce como *annulus*, el cual se reconoce por la alternancia de una banda de circuli apilados más otra de circuli espaciados (Fig. 2.3a) (Bagenal 1974). La edad de los peces juveniles se determinó identificando el número de anuli de acuerdo a su patrón de depósito de circuli (Fig. 2.3).

La utilización de las escamas para estimar el crecimiento corporal depende de la verificación de dos supuestos: la tasa o patrón de depósito de las estructuras periódicas, ya sea a escala anual (*annulus*) o diaria (*circulus*) es constante y correlacionada positivamente con la tasa de incremento corporal y que la distancia entre estructuras consecutivas es proporcional al incremento somático en el pez (Campana 1990; Ricker 1992; Sirois *et al.* 1998). Mientras que para el primer supuesto no existen estudios previos que determinen el patrón de depósito de circuli en esta especie, el segundo supuesto ha sido verificado ésta (Hallock *et al.* 1961) y en diversas especies: salmón del Atlántico (Ducharme 1969), *Oncorhynchus tshawytscha*, *O. kisutch*, *O. nerka* (Bilton 1985), *O. nerka* (Fukuwaka y Kaeriyama 1997); *O. kisutch* (Fisher y Pearcy 1990); *Salvelinus leucomaenis* (Morita 2001), entre otras.

Para este trabajo, con el fin de determinar el patrón de regularidad del depósito de los circuli, se utilizaron medidas de incrementos diarios en otolitos y número de circuli en las escamas para un subset de 34 individuos de edad 0+ capturados en Abril y Junio. La tasa de depósito de circuli (circuli por día) se estimó mediante análisis de regresión lineal entre ambas variables. Para este análisis se utilizó la edad exógena, es decir, el número de días de vida de un individuo a partir del inicio de la alimentación exógena (alimentación basada en ítems presa del río) ya que es a partir de este período cuando las escamas comienzan a formarse (a partir de los 39 mm de largo, observación personal). Por otro lado, el supuesto de linealidad entre el radio de la escama y el largo de los individuos se corroboró mediante regresión lineal.

Varias escamas de cada individuo se colocaron entre dos portaobjetos y se visualizaron en un lector de microfichas de 55 aumentos. Como referencia se

agregó una escala a la pantalla del lector. Se fotografió cada escama con una cámara digital montada sobre un trípode. Las distancias entre circuli sucesivos fueron medidas a partir de las imágenes digitales de las escamas utilizando el software Imagen (National Institutes of Health, USA, <http://rsb.info.nih.gov/ij/>). Estas medidas fueron tomadas sobre el eje longitudinal mayor desde el punto medio del foco hasta el borde de la escama (Fig. 2.3b).



**Figura 2.3** Escamas de peces juveniles capturados en Abril 2010 (a) pez juvenil en el segundo año de edad (1+). La línea central indica el eje longitudinal mayor de la escama y la línea gruesa transversal el término del primer annulus. (b) Escama de pez juvenil del primer año de edad (0+). La línea central indica el eje longitudinal mayor de la escama y la flecha el sentido de lectura de los circuli para la determinación del crecimiento. El punto central indica el centro del foco y el inicio de las mediciones.

### *Contenido energético*

Para ambos estadios, la determinación del contenido de lípidos (% en peso seco) se basó en el método de Zöllner y Kirsch (1962) adaptado para pequeñas alícuotas de muestra (Honkoop *et al.* 1999). Este método se basa en la coloración de los

lípidos mediante una reacción con fosfo-fenol-vainillina. La determinación se realizó mediante espectrofotometría utilizando colesterol como estándar. Por cada individuo se realizaron tres réplicas y los análisis se realizaron sobre el valor promedio.

## Análisis de datos

Los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas para cada variable fisiológica fueron evaluados mediante las pruebas de Shapiro-Wilk y Levene. Con el fin de evaluar las hipótesis de diferencias en la talla a la edad y en el contenido energético entre peces de distinto origen materno a lo largo de la ontogenia se realizaron Análisis de la Varianza (ANOVA) de dos vías incluyendo el mes de captura y su interacción con el origen materno de manera de evaluar también el efecto de la ontogenia. En los casos donde la tabla de ANOVA arrojó efectos significativos de los factores se realizaron comparaciones múltiples *a posteriori* utilizando el método de la Diferencia Significativa Honesta de Tuckey (“DSH-Tuckey”). De manera de evaluar la hipótesis de diferencias en las variables fisiológicas entre progenie de ecotipos alternativos dentro de un mismo estadio o mes de captura se realizaron comparaciones simples mediante la prueba t de Student.

Se reconstruyeron las trayectorias de crecimiento de los juveniles a través del modelado del crecimiento de la escama en función del tiempo (progresión de circuli) mediante el ajuste de modelos lineales de efectos mixtos (“LME”). Estos modelos son especialmente adecuados para datos de crecimiento a partir de medidas repetidas ya que permiten incorporar fuentes de variación aleatorias asociadas a los individuos (“efectos aleatorios”) y efectos asociados a los parámetros de crecimiento poblacional (“efectos fijos”) (Pinheiro y Bates 2000). Los modelos fueron ajustados a través de métodos de máxima verosimilitud utilizando el paquete nlme (Pinheiro *et al.* 2012) en el software R (versión 2.15.1) (R Development Core Team 2012).

Las trayectorias de crecimiento fueron estimadas utilizando un modelo cuadrático (Riva Rossi 2004):

$$Y_{ij} = \beta_0 + \beta_1 t_{ij} + \beta_2 t_{ij}^2 + b_{0i} + b_{1i} t_{ij} + b_{2i} t_{ij}^2 + \varepsilon_{ij}$$

dónde  $Y_{ij}$  representa el incremento acumulado en la distancia entre circuli sucesivos a lo largo de la secuencia de circuli de la escama,  $\beta_0$ ,  $\beta_1$ , y  $\beta_2$  corresponden a los parámetros de crecimiento poblacional (pendiente, término lineal y cuadrático respectivamente),  $b_{0i}$ ,  $b_{1i}$  +  $b_{2i}$  corresponden a los efectos aleatorios del intercepto, término lineal y cuadrático asociados a cada individuo e independientes para cada  $i$ .  $t_{ij}$  representa cada intervalo de tiempo (circuli) y  $\varepsilon_{ij}$  corresponde al error residual que se asume independiente para cada  $i$ ,  $j$  e independiente del error de los efectos aleatorios.

Las diferencias en las trayectorias de desarrollo entre progenie anádroma y residente se evaluó mediante la inclusión del ecotipo materno como efecto fijo sobre los parámetros de crecimiento, donde  $\gamma_{0k}$ ,  $\gamma_{1k}$ , y  $\gamma_{2k}$  corresponden a los efectos del ecotipo materno sobre el intercepto, el término lineal y el cuadrático, respectivamente.

Se ajustaron cinco modelos de distinta complejidad (número de parámetros) y estructura de efectos fijos (Tabla 2.3). El modelo más simple sin efectos del ecotipo materno (M5) permitió examinar la estructura del error y el ajuste básico. De acuerdo al análisis de los residuales, un modelo para las varianzas de los errores del tipo potencia corrida por una constante mostró mejor ajuste que el modelo simple ( $\Delta AIC = 41$ , ver abajo, métodos de selección de modelos).

Con el fin de establecer la influencia del ecotipo materno sobre las trayectorias de crecimiento primero se ajustó el modelo más complejo (efecto del ecotipo materno sobre todos los parámetros, M1, Tabla 2.3) y se extrajo secuencialmente un efecto a la vez (M2 a M4). El modelo completo o complejo (mayor número de parámetros) fue comparado con los modelos más simples mediante el valor del Criterio de Información de Akaike (AIC) (Akaike 1974; Pinheiro y Bates 2000). Todos los modelos incluyeron la estructura de efectos aleatorios y la estructura de error

mencionada anteriormente. Posterior a la selección del mejor modelo se corroboraron los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas mediante gráficos de cuantil-cuantil (q-q plot) y residuales estandarizados en función de las variables predictivas.

## Resultados

Se analizaron un total de 106 fry capturados en Diciembre de 2008 y 2009 (Tabla 2.1) en 3 localidades en la zona alta y media, no se encontraron peces en el estadio de fry en la zona baja del río. Se analizaron además 175 juveniles capturados en siete localidades a lo largo del río (Fig. 2.1, Tabla 2.1).

**Tabla 2.1 Número de peces analizados por estadio, mes de captura y localidad**

Mes	Estadío	Primer Laberinto	La Porteña	Condor Cliff	San Ramón	Los Plateados	Chikorik Aike	Total
Dic	fry ~1-3 meses	33	31	x	42	x	0	106
Abr	Juvenil ~5-7 meses	17	16	x	13	x	x	46
Jun	Juvenil ~7-9 meses	11	11	x	12	x	10	44
Sep	Juvenil ~10-12 meses	7	10	11	10	9	9	56
Total		68	68	11	77	9	19	252

### Determinación del origen materno

Los fry mostraron una gran variación en las señales de  $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{15}\text{N}$ ; algunos de los peces presentaron señales isotópicas similares a aquellas de adultos anádromos, mientras que otros mostraron señales similares a aquellas reportadas para el ecotipo residente en este río (Fig. 2.4). Sin embargo, las señales de  $\delta^{15}\text{N}$  obtenidas para los fry se encontraron por encima de los valores citados para los adultos en este sistema (Fig. 2.4); esto último podría deberse al enriquecimiento asociado a la asimilación del saco vitelino durante la embriogénesis (Murchie y Power 2004) o bien a errores analíticos asociados al uso de distintos laboratorios y estándares

entre este trabajo y aquel de Ciancio *et al.* (2008). Aún asumiendo esta fuente de error resultó evidente que la señal de  $\delta^{15}\text{N}$  fue la que permitió mejor diferenciación entre adultos de distintos ecotipos y, consistentemente, presentó mayor variación en el estadio fry (Fig. 2.4), por ello se utilizó el valor de este isótopo para la asignación del ecotipo materno.

El análisis de las señales de Nitrógeno en función del largo acoplado con la identificación de las marcas de emergencia a partir de otolitos (ver sección Crecimiento – Estadio fry) permitió identificar la dilución de la señal materna en un grupo de individuos (Fig. 2.5). Los individuos que no presentaron evidencias de dilución de la señal materna y además mostraron señales enriquecidas en  $\delta^{15}\text{N}$  ( $>15\text{‰}$ ) (Fig. 2.5) se asignaron como progenie anádroma. Sin embargo, aquellos individuos con señal isotópica baja o intermedia (Figs. 2.4, 2.5) no pudieron ser asignados mediante esta técnica, ya que no fue posible establecer si se trataba de verdadera progenie residente o de progenie anádroma con señal materna diluida. Por lo tanto estos individuos y aquellos en etapas juveniles más avanzadas fueron determinados mediante el análisis químico (Sr:Ca) en el núcleo del otolito.

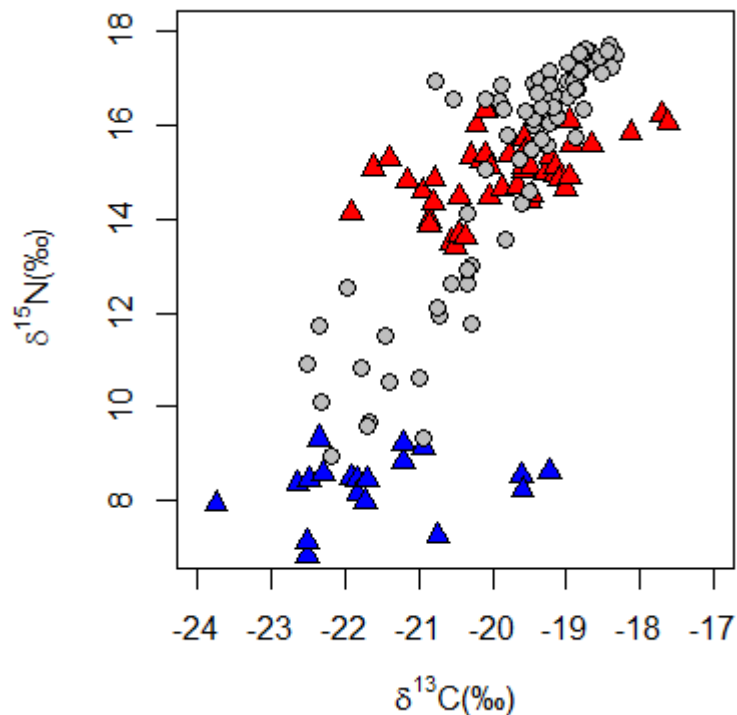




Figura 2.4 Biplot  $\delta^{15}\text{N}$  vs  $\delta^{13}\text{C}$ . Dónde (●) fry capturados (▲) adultos anádromos (▲) adultos residentes (datos de adultos de Ciancio et al. 2008)

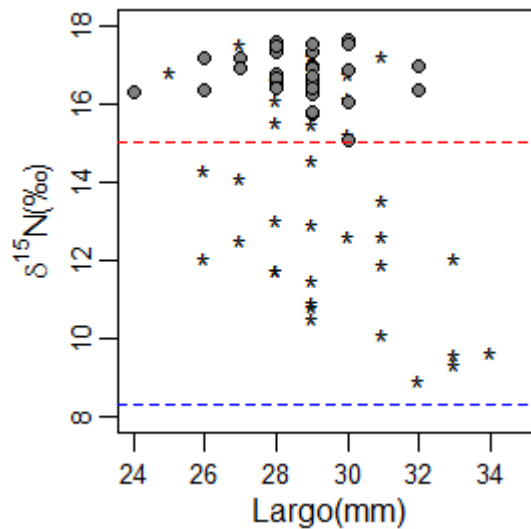
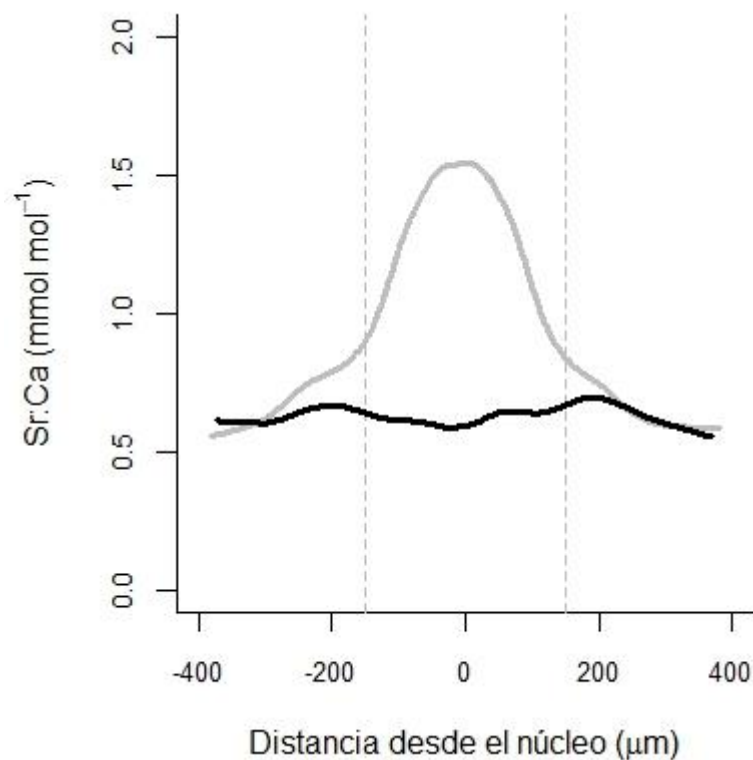


Figura 2.5 Relación entre la composición isotópica de los fry (a)  $\delta^{13}\text{C}$  y (b)  $\delta^{15}\text{N}$  en función del largo. Los símbolos representan (\*) individuos alimentándose exógenamente, (●) individuos alimentándose del vitelo. Las líneas discontinuas representan las señales isotópicas promedio para los adultos anádromos (rojo) y residentes (azul).

El análisis del origen materno empleando los otolitos mostró dos patrones bien diferenciados que permitieron la identificación inequívoca del origen materno: individuos cuyos otolitos presentaron perfiles de concentración Sr:Ca homogéneos a lo largo de la transecta transversal [0.77 (0.15) mol mmol<sup>-1</sup>, promedio (d.s.)], atribuibles a progenie residente e individuos cuyos otolitos presentaron picos de concentración en la zona del núcleo (> 1.0 mmol mol<sup>-1</sup>), los que fueron asignados como progenie anádroma (Fig. 2.6).

Este análisis permitió validar la asignación del origen materno en la etapa de fry (donde todavía es detectable la contribución del vitelo materno) realizada a partir de las señales isotópicas, según lo cual señales isotópicas de  $\delta^{15}\text{N}$  entre 14 y 18 ‰ indicarían origen materno anádromo, mientras que señales menores a 14 ‰ indicaría progenie residente.

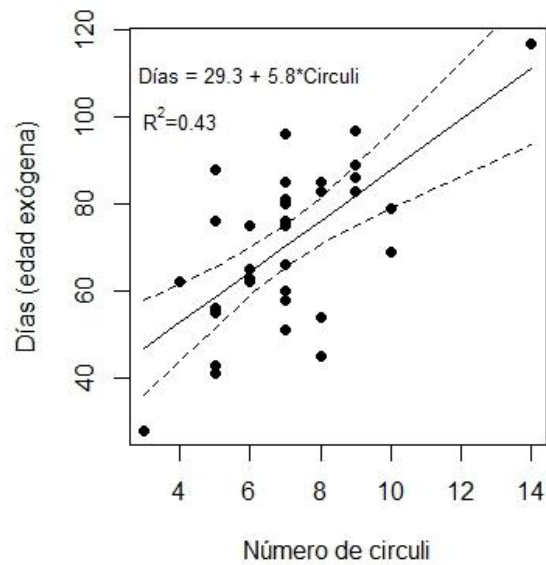


**Figura 2.6** Perfiles para la asignación del origen materno por análisis de Sr:Ca en otolitos. Perfil de un individuo de origen anádromo (línea gris) y de un individuo residente (línea negra). Las líneas punteadas encierran la zona correspondiente al núcleo del otolito donde la influencia de los componentes maternos es mayor.

## Análisis de la condición fisiológica

### *Verificación de supuestos*

El análisis de la relación entre el número de días, estimada a partir de lectura de anillos diarios en otolitos, y el número de circuli en las escamas para la corroboración del supuesto de regularidad del depósito de circuli arrojó una relación significativa y positiva ( $P < 0.001$ , Fig. 2.7). La estimación de la tasa de depósito fue de 5.8 (1.9) días por circuli [pendiente (d.s.)] (Fig. 2.7). Ésta estimación coincide con los rangos estimados para la tasa de formación de circuli reportada en otras especies [*e.g.*, 6 días en *Oncorhynchus gorbuscha* (Cross *et al.* 2008), 5-7 días en *O. kisutch* (Fisher y Pearcy 1990)], constituyendo la primer estimación del patrón de circuli reportada para esta especie.



**Figura 2.7** Relación entre días y número de circuli. Cada símbolo representa un individuo, la línea continua representa la recta de regresión y las líneas discontinuas los intervalos de confianza del 95%.

Por otro lado, la relación entre el radio de la escama y el largo de los individuos para la corroboración del supuesto de linealidad arrojó una relación significativa y positiva ( $P < 0.05$ , Fig. 2.8). La corroboración de ambos supuestos permite hacer inferencias de las tasas de crecimiento de los individuos a partir de la información contenida en las escamas.

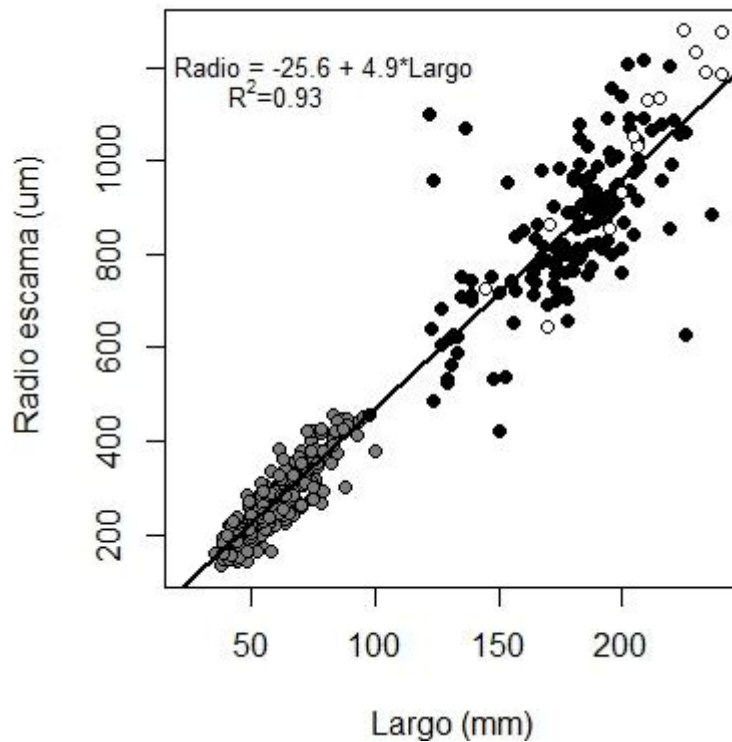
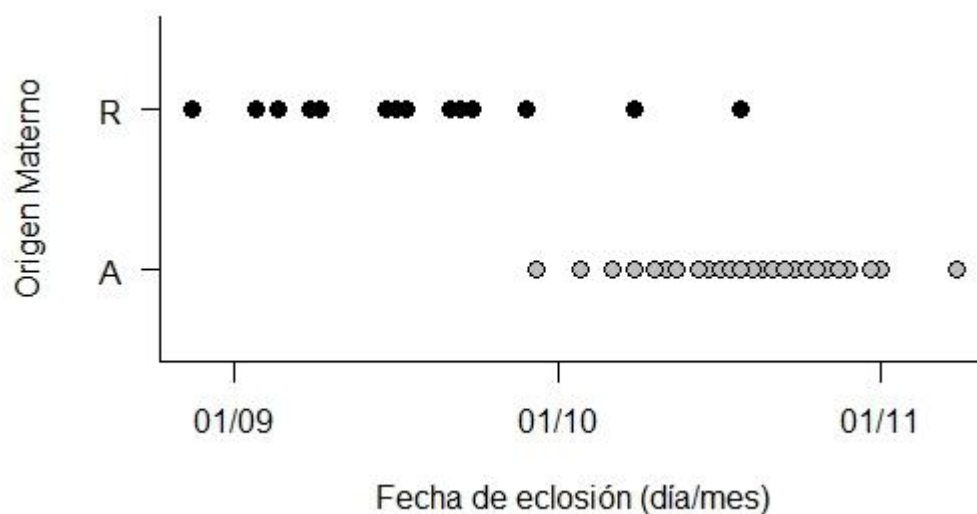


Figura 2.8 Relación radio escama en función del largo. La línea representa la recta de regresión; los símbolos representan las clases de edad ( $\circ$ ) primer año ( $n=226$ ), ( $\bullet$ ) segundo año ( $n=152$ ), ( $\circ$ ) tercer año ( $n=14$ ).

### *Crecimiento*

#### *Estadio fry*

La lectura de otolitos permitió estimar los días de vida desde la eclosión (edad total), los días desde la emergencia (edad exógena) y retro-calcular las fechas de eclosión. Al momento de captura los peces de progenie residente mostraron ser más viejos que los peces de origen anádromo (Prueba de t,  $P < 0.001$ ; 68.5 (11.6), 39.2 (7.3) días, edad total promedio (d.s.) para la progenie residente y anádroma, respectivamente), lo que indicaría una segregación temporal en las fechas de eclosión (Fig. 2.9). Mientras que los peces de origen residente comenzaron a eclosionar a finales del invierno los peces de origen anádromo lo hicieron más tarde en la temporada, entrada la primavera, mostrando poco solapamiento con las fechas de eclosión del primer grupo (Fig. 2.9).



**Figura 2.9** Fechas de eclosión de fry por ecotipo materno estimadas a partir de la lectura de anillos diarios en otolitos. A= ecotipo materno anádromo, R= ecotipo materno residente.

Los peces de origen materno alternativo también difirieron en la relación largo-edad, mientras que los peces de origen anádromo no presentaron una relación significativa (regresión,  $P > 0.05$ ) los peces de origen residente mostraron un aumento en la talla con la edad (regresión,  $P < 0.05$ ,  $r^2 = 0.43$ ) (Fig. 2.10). Este patrón de crecimiento disímil en peces de la misma población se ha atribuido a cambios en los estadios de desarrollo, tales como el cambio de alimentación endógena (basada en consumo del vitelo) a la alimentación exógena (*e.g.*, Aubin-Horth y Dodson 2002). En el presente estudio la diferencia en la relación largo-edad entre ambas progenies es probablemente consecuencia del inicio de la alimentación exógena en los peces de origen residente (100% de los individuos mostraron marcas de emergencia en los otolitos) que, a diferencia de los peces de origen anádromo, exhibieron mayor tiempo de nutrición en base a ítems presa del río (edad exógena de 37.2 (10.8) y 4.2 (6.2) días para origen residente y anádromo, respectivamente). A pesar de la segregación temporal en fechas de eclosión y la diferenciación en los períodos de desarrollo, las progenies no se diferenciaron en su largo de captura (prueba de t,  $P > 0.05$ ), indicando que los peces de madres anádromas en un lapso muy breve alcanzan tallas a la edad mayores que los peces de madres residentes (Fig. 2.11).

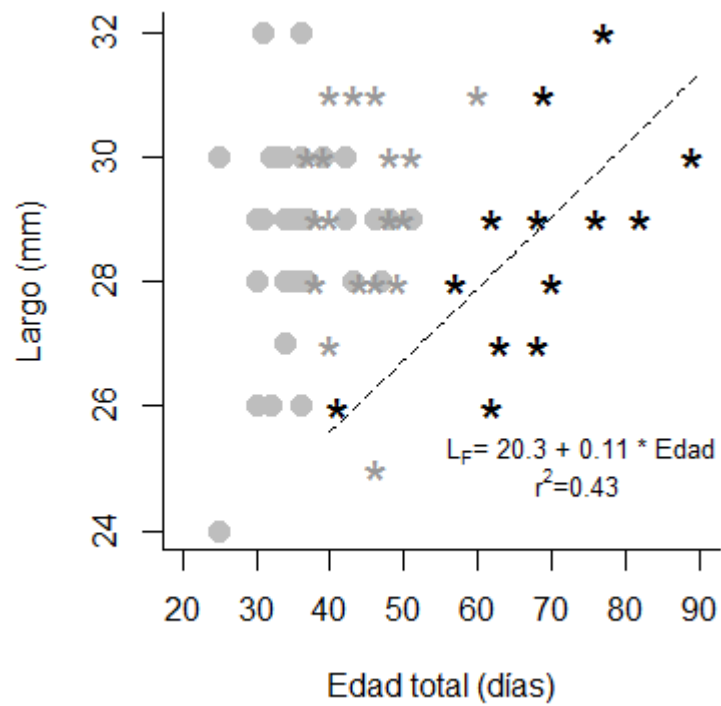
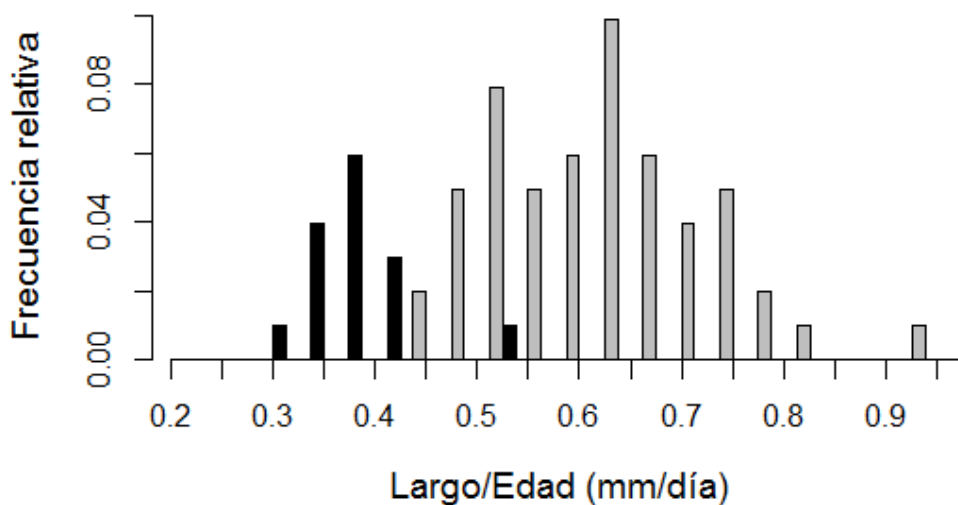


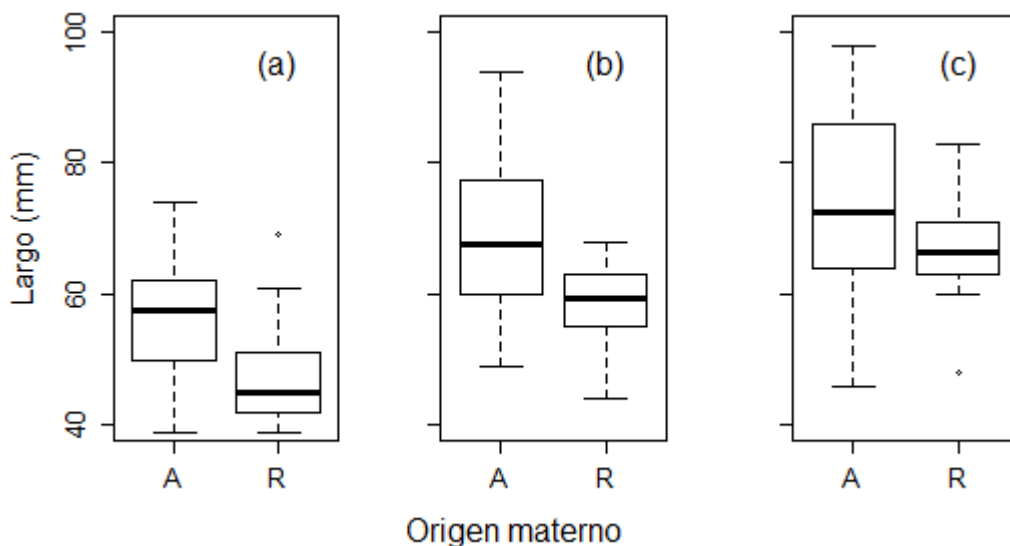
Figura 2.10 Largo ( $L_F$ ) en función de la edad total para fry de origen anádromo (círculos y asteriscos grises) y residente (asteriscos negros). Los asteriscos representan peces que han comenzado la alimentación exógena. La línea discontinua representa la recta de regresión ajustada para la progenie residente.



**Figura 2.11** Histograma de frecuencias de la relación largo/edad para progenie residente (barras grises) y progenie anádroma (barras negras).

*Estadio juvenil*

La talla de los juveniles a lo largo del primer año de vida varió entre 39 y 98 mm para peces de origen anádromo y entre 39 y 83 mm para progenie residente. El largo promedio se diferenció entre peces de origen materno alternativo y entre meses de captura (ANOVA de dos vías,  $P_{\text{ecotipo}} < 0.001$ ,  $P_{\text{mes}} < 0.001$ ,  $P_{\text{interacción}} > 0.05$ , Prueba DSH-Tuckey  $P < 0.05$  para todas las comparaciones de a pares, Fig. 2.12). A pesar de que las tallas de ambos grupos se solaparon en los rangos inferiores, los peces de progenie residente presentaron tallas menores en rangos más acotados (Fig. 2.12).



**Figura 2.12** Gráficos de caja para el largo de progenie anádroma (“A”) y residente (“R”) capturados en (a) Abril, (b) Junio y (c) Septiembre. Las cajas representan el primer y tercer cuartil (límite de la caja inferior y superior respectivamente), la línea gruesa la mediana, los bigotes el rango de los datos y los puntos marginales los “outliers”.

Por otro lado, con el fin de evaluar si el ecotipo materno además de afectar el atributo de talla a la edad afectó los patrones de crecimiento, se modelaron las trayectorias individuales mediante modelos de efectos mixtos (Tabla 2.3). La rutina de selección arrojó cinco modelos alternativos con distinta estructura del término fijo. La estructura del término aleatorio y la función de estructura del

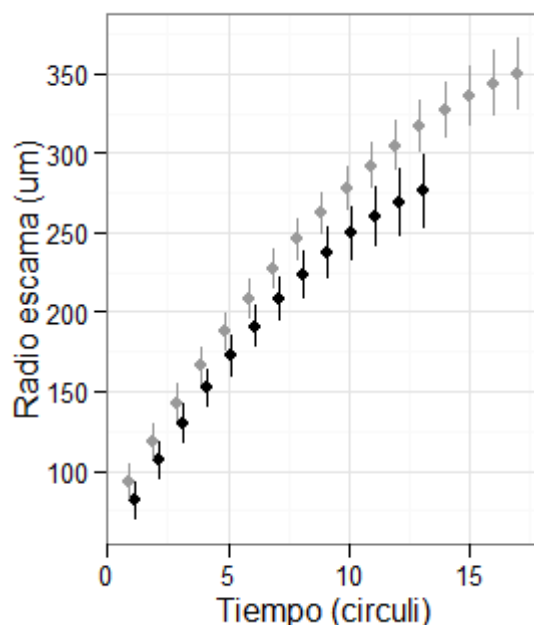
error se mantuvieron constantes tal como se describió en la metodología. Comenzando con el modelo más complejo (M1, efecto materno sobre todos los parámetros) y extrayendo el efecto del ecotipo materno sobre la pendiente (M2) resultó en una leve mejora del ajuste (menor AIC para M2,  $\Delta AIC_{M2-M1} = -1.3$ ); sin embargo, las extracciones de los efectos sobre los términos lineal y cuadrático (M3 y M4) mostraron un ajuste pobre (mayor AIC para M3 y M4,  $\Delta AIC_{M3-M1} = 2.8$ ,  $\Delta AIC_{M4-M1} = 10$ ) indicando que estos términos deberían ser retenidos en el modelo final (Tabla 2.3). El valor de AIC para el modelo más simple sin efectos maternos sobre el crecimiento (M5) indicó un bajo soporte para este modelo ( $\Delta AIC_{M5-M1} = 9.2$ ). Por lo tanto, el modelo con efectos de ecotipo materno sobre el intercepto y sobre el término cuadrático fue el que mejor ajustó a los datos de incremento de circuli.

El modelo final (M2) indicó que tanto el intercepto ( $\sim$  largo inicial) como el término cuadrático ( $\sim$  aceleración/desaceleración del crecimiento) varió entre los peces de distinto origen, resultando en un mayor incremento en el radio de la escama, y por ende mayor largo, para los peces de origen anádromo durante el primer año juvenil, e indicando que además que estos últimos disminuyen el crecimiento hacia finales del otoño (Fig. 2.13).



**Tabla 2.3 Selección de modelos para la evaluación del efecto del ecotipo materno sobre las trayectorias de desarrollo estimadas a partir del espaciamiento de los circuli depositados en las escamas en función del tiempo (circuli). Las trayectorias de crecimiento fueron estimadas ajustando una función cuadrática con parámetros: intercepto ( $\beta_0$ ), pendiente ( $\beta_1$ ) y término cuadrático ( $\beta_2$ ). Los modelos incorporaron tanto efectos aleatorios (todos los parámetros variando con el individuo) como efectos fijos (modelos de efectos mixtos). Se muestran el criterio de Información de Akaike (AIC) y los grados de libertad (g.l.) de cada modelo con estructura fija variante (efecto materno sobre los distintos parámetros de crecimiento) para su comparación.  $\gamma_{0k}$ ,  $\gamma_{1k}$  y  $\gamma_{2k}$  representan el efecto del ecotipo materno sobre el intercepto, la pendiente y el término cuadrático.**

Modelo	Descripción del término fijo	Estructura del término fijo	g.l.	AIC
M1	Origen materno afecta el intercepto, la pendiente y el término cuadrático	$(\beta_0 + \gamma_{0k}) + (\beta_1 t_{ij} + \gamma_{1k}) + (\beta_2 t_{ij}^2 + \gamma_{2k})$	15	6065.1
M2	<b>Origen materno afecta el intercepto y el término cuadrático</b>	<b><math>(\beta_0 + \gamma_{0k}) + \beta_1 t_{ij} + (\beta_2 t_{ij}^2 + \gamma_{2k})</math></b>	<b>14</b>	<b>6063.8</b>
M3	Origen materno afecta el intercepto y la pendiente	$(\beta_0 + \gamma_{0k}) + (\beta_1 t_{ij} + \gamma_{1k}) + \beta_2 t_{ij}^2$	14	6067.9
M4	Origen materno afecta la pendiente y el término cuadrático	$\beta_0 + (\beta_1 t_{ij} + \gamma_{1k}) + (\beta_2 t_{ij}^2 + \gamma_{2k})$	14	6075.1
M5	Origen materno no afecta al crecimiento	$\beta_0 + \beta_1 t_{ij} + \beta_2 t_{ij}^2$	12	6074.3



**Figura 2.13 Trayectorias de crecimiento promedio para progenie anádroma (●) y residente (●) ajustados mediante modelos de efectos mixtos (M2, Tabla 2.3). Las líneas corresponden a la desviación estándar para cada unidad de tiempo.**

### *Condición energética*

En el estadio fry, el contenido de lípidos promedio de los peces de origen anádromo fue mayor que el contenido energético de peces de origen residente (prueba de t,  $P < 0.01$ , Fig. 2.14a).

Por otro lado, los individuos de ambos ecotipos mostraron una disminución en el contenido de lípidos en función del largo, exhibiendo la misma tasa de disminución pero distinto nivel inicial de lípidos (regresión múltiple,  $P_{\text{largo}} < 0.001$ ,  $P_{\text{origenmaterno}} < 0.001$ , interacción  $P > 0.05$   $r^2 = 0.43$ , Fig. 2.15). El contenido de lípidos no varió en función de la edad para ninguno de los dos grupos (regresión,  $P > 0.05$ ).

Durante el desarrollo juvenil el contenido de lípidos no mostró diferencias entre orígenes alternativos para ninguno de los meses analizados, pero sí exhibió

diferencias a lo largo de las estaciones (ANOVA dos vías,  $P_{\text{ecotipo}} > 0.05$ ,  $P_{\text{mes}} < 0.01$ , Fig. 2.14 b y c).

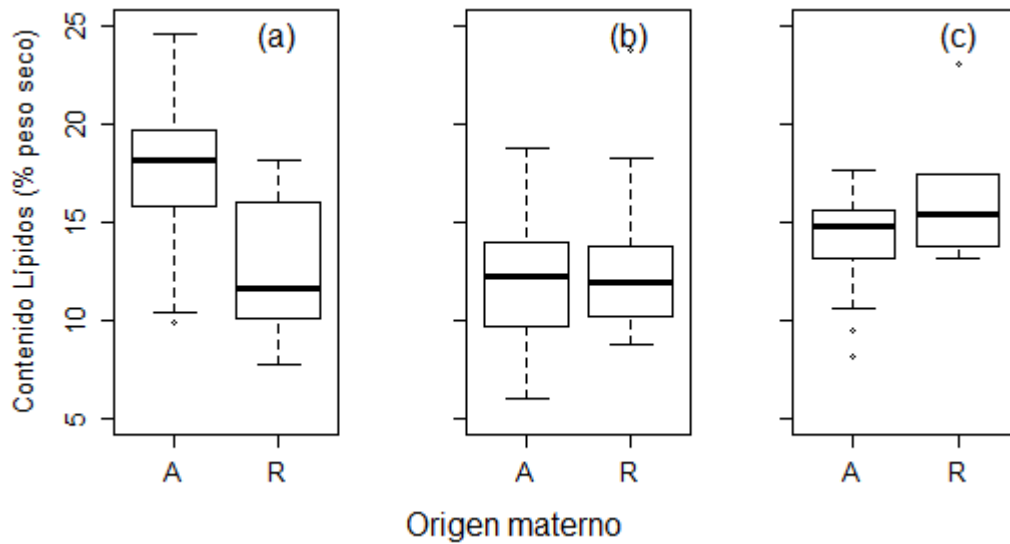
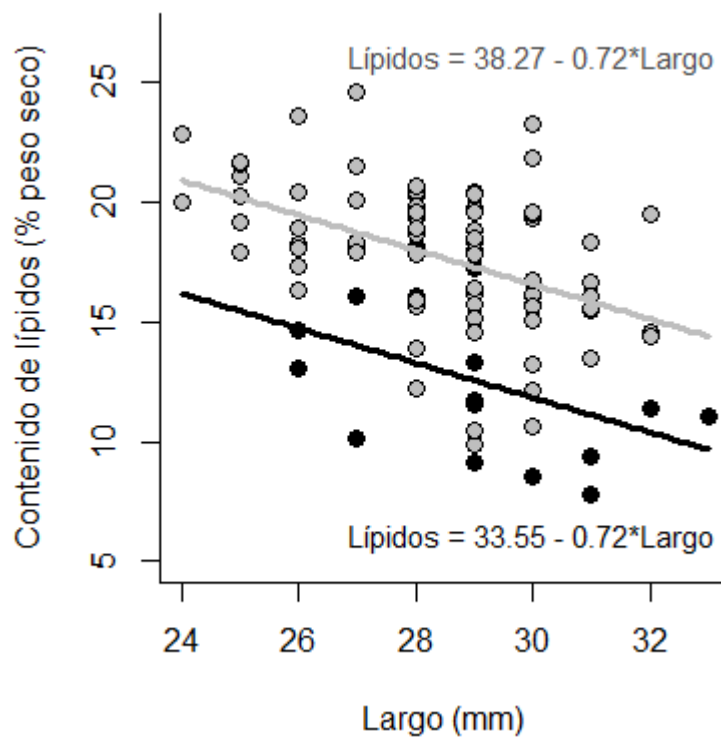


Figura 2.14 Gráfico de cajas para el contenido de lípidos para progenie anádroma “A”) y residente (“R”) (a) en el estadio fry y juvenil capturados en (b) Abril y (c) Junio.



**Figura 2.15 Contenido de lípidos en función del largo para la progenie anádroma (●) y residente (●). Las líneas representan las curvas estimadas para origen materno por regresión múltiple.**

## Discusión

Los resultados de este trabajo muestran que en la trucha arco iris del río Santa Cruz existe una fuerte influencia materna en rasgos fenotípicos asociados al crecimiento y a la talla a la edad desde etapas iniciales del desarrollo. En etapas tempranas los peces de origen anádromo emergieron de la grava con ventajas en largo a la edad y contenido energético. A pesar de que en estadios juveniles avanzados no se detectaron patrones divergentes en cuanto a la utilización de energía hacia la reserva de lípidos sí se detectaron diferencias en las tallas a la edad y en las trayectorias de crecimiento. Los peces de origen anádromo mantuvieron ventajas en relación a la talla a la edad durante el primer año de vida y el análisis de las trayectorias de crecimiento individual apoyó la hipótesis de que las ventajas en largo conferidas a la progenie anádroma se establecen en las primeras etapas de crecimiento. Estas diferencias se mantuvieron a lo largo del primer año y además se vieron acentuadas hacia el otoño.

Las ventajas conferidas por las hembras anádromas a su progenie en etapas tempranas del desarrollo, como las encontradas aquí, también han sido detectadas en otras poblaciones de salmónidos con migración parcial (*e.g.*, Jardine y Chernoff 2008; Chernoff y Curry 2007), y podrían ser atribuidas a efectos maternos sobre el tamaño y la calidad de los huevos. Por ejemplo, Einum y Fleming (1999) concluyeron acerca de la ocurrencia de efectos maternos al estudiar la relación entre el tamaño del huevo, la talla y la supervivencia de los peces, según lo cual los juveniles nacidos de huevos de mayor tamaño fueron más largos a la emergencia y presentaron mayor supervivencia que los juveniles eclosionados de huevos pequeños. Gilbey *et al.* (2005) también encontró que en el salmón del Atlántico el tamaño de los alevines durante la emergencia es influido por el tamaño del huevo y además por la fecha de eclosión, atribuyendo esta relación a efectos maternos. En trucha arco iris, Nagler *et al.* (2000) encontró una relación positiva entre la

supervivencia de los embriones y la calidad de los huevos. Por otro lado, también se ha detectado influencia fenotípica materna hasta etapas más avanzadas, por ejemplo, Hutchings (1991) mostró que la supervivencia de los juveniles de trucha de arroyo (*Salvelinus fontinalis*) estuvo relacionada al tamaño del huevo hasta 50 días luego del inicio de la alimentación exógena, lo que sugiere que el efecto materno puede propagarse por lo menos hasta el primer verano de desarrollo.

Por otro lado, no se puede descartar que la diferenciación entre progenie de ecotipos maternos alternativos sea resultado de herencia genética (Olsen y Vøllestad 2001; Perry *et al.* 2005; Vøllestad y Lillehammer 2000). Más aún, otros estudios que han encontrado evidencias similares en cuanto a ventajas sobre la progenie anádroma en estadios juveniles han concluido que las diferencias en estos rasgos pueden ser resultado de la combinación de la propagación de diferencias en las etapas tempranas reforzadas por factores genéticos que se expresan durante el desarrollo (Nichols *et al.* 2008; Páez *et al.* 2011; Thériault *et al.* 2007; Hecht *et al.* 2012). De todos modos, tanto la expresión fenotípica temprana asociada al efecto materno como a la heredabilidad de rasgos cuantitativos ha mostrado ser ampliamente variable bajo distintos escenarios ambientales. Mientras que en ambientes poco favorables el efecto materno ha mostrado mayor influencia sobre los rasgos de la descendencia, los rasgos hereditarios han mostrado menor heredabilidad en estas condiciones (Einum y Fleming 1999; Aubin Horth y Dodson 2004). Debido a que el río Santa Cruz presenta un ambiente poco productivo con poca disponibilidad de alimento (Miserendino 2001) es probable que el aporte materno inicial se sobreponga sobre los controles genéticos y sea uno de los factores más influyentes en el desarrollo juvenil.

Es necesario notar que la gran variabilidad observada en el crecimiento temprano y condición energética, particularmente, en la progenie anádroma, pone en evidencia que existen fuentes de variación que influyen sobre la condición fenotípica temprana de los individuos que no se han tenido en cuenta en este estudio. Por ejemplo, sería de esperar que el fenotipo temprano de los juveniles, además de estar influenciado por el ecotipo materno (ya sea por propagación de

efectos maternos tempranos, herencia genética o una combinación de ambos), podría encontrarse bajo el control de otros factores como ser la influencia paterna, el status de las madres y las condiciones ambientales experimentadas durante el desarrollo juvenil. Si bien la variación en los rasgos de la descendencia está fuertemente ligada a rasgos de las hembras, la herencia de caracteres de parte de los machos no puede ser desestimada. Por ejemplo, en salmón Chinook, Heath *et al.* (1999) encontró una reducción de los efectos maternos y un aumento de los efectos paternos luego de la emergencia de los fry, sugiriendo que la importancia relativa de la influencia materna y paterna puede variar a lo largo de la ontogenia. Por otro lado, debido al alto grado de iteroparidad y la longevidad de la trucha arco iris anádroma del río Santa Cruz es altamente probable que hembras de distintas edades afecten diferencialmente a su descendencia (revisado en Kamler 2005). Debido a la relación entre la talla de las hembras y el tamaño de los huevos (Fleming y Gross 1990), las hembras más jóvenes de menor tamaño posiblemente inviertan menor energía a través del tamaño de los huevos. Además, el desempeño en cuanto a la competencia por la elección de los sitios de desove y la elección de parejas reproductivas puede variar con la experiencia y la edad de las hembras (Fleming y Reynolds 2004).

Finalmente e independientemente de los mecanismos específicos involucrados, la evidencia en cuanto a la relación entre el crecimiento elevado y la adopción de la estrategia anádroma en esta y otras poblaciones (Heggenes y Metcalfe 1991; Metcalfe 1998; Páez *et al.* 2011; Riva Rossi 2004; Utrilla y Lobón-Cerviá 1999) permite hipotetizar que los individuos de mayor tamaño y crecimiento durante el primer año se encuentran bajo la trayectoria anádroma. Si las diferencias observadas durante el primer año de vida se mantienen o se exacerban durante el segundo año previo a la migración entonces el efecto materno podría estar actuando como mecanismo de auto perpetuación de la historia de vida.

En el Capítulo siguiente se evaluarán las trayectorias de desarrollo previo a la manifestación de la historia de vida con el fin de identificar aquellos patrones

conducentes a anadromía y residencia y establecer la importancia de la influencia materna sobre la adopción de la estrategia de vida de la descendencia.

## **CAPÍTULO 3**

### **Trayectorias y patrones de desarrollo juvenil conducentes a anadromía y residencia**

#### **Introducción**

En poblaciones de salmónidos con migración parcial, la manifestación de historias de vida alternativas (*e.g.*, anadromía o residencia) es el resultado de distintas trayectorias de desarrollo desencadenadas por la variación fenotípica en rasgos del desarrollo o condición fisiológica tempranos de los individuos en respuesta a la variación ambiental, a polimorfismos genéticos o a la combinación de ambos (Forseth *et al.* 1999; Morinville y Rasmussen 2003; Nieceza *et al.* 1991; Thorpe *et al.* 1998; ver capítulo anterior).

Las consideraciones próximas de la migración parcial en salmónidos han sido formalmente evaluadas mediante modelos mecanísticos conceptuales, los cuales establecen la conexión existente entre las trayectorias de desarrollo desencadenantes de la anadromía (smoltificación) y la residencia (maduración) y el estatus fisiológico



de los individuos en etapas tempranas de la ontogenia (formulado originalmente por Thorpe *et al.* (1998) para *Salmo salar*, adaptado por Rikardsen *et al.* (2004) para *Salvelinus alpinus*). Estos modelos además postulan que la modulación de estas trayectorias (o la “decisión” de la historia de vida) sólo es posible en determinados momentos del desarrollo. Estos momentos se definen como *developmental windows* o ventanas de decisión o evaluación, las cuales ocurren periódica y estacionalmente a lo largo de la ontogenia del individuo. Durante estas ventanas, los individuos inician o inhiben procesos fisiológicos asociados a la smoltificación o maduración en función de su estatus energético o condición actual en relación a un umbral definido genéticamente (Páez *et al.* 2011; Thorpe *et al.* 1998).

Desde la formulación original de este modelo, numerosos trabajos han aportado evidencia empírica acerca de la relación existente entre la condición temprana y la historia de vida en la fase adulta. Por ejemplo, se ha demostrado que el desarrollo de la maduración se asocia a la disponibilidad de reservas energéticas elevadas, baja tasa metabólica y crecimiento lento a partir del año previo al evento de maduración en sí mismo (*e.g.*, durante la primavera en *O. mykiss*, Satterthwaite *et al.* 2009), mientras que la migración se asocia a mayor crecimiento y tamaño corporal y tasas metabólicas elevadas durante los meses previos a la smoltificación (verano tardío/otoño en *O. mykiss*, Satterthwaite *et al.* 2009). En estos estudios la existencia de los umbrales y las ventanas de decisión ha sido asociada con la aparición de distintas modas en la distribución de tallas de la población en momentos previos a la manifestación de la historia de vida definitiva (Heggenes y Metcalfe 1991; Metcalfe 1998; Nieceza *et al.* 1991). Estos estudios han demostrado que si bien en circunstancias extraordinarias (*e.g.*, acceso a abundantes fuentes de alimentación y condiciones estables para el crecimiento) un mayor crecimiento desencadena la maduración temprana y la residencia (Nordeng 1983; Olsson y Greenberg 2011), en la mayor parte de los casos los peces de mayor crecimiento (aquellos en la moda superior) migran la primavera siguiente, mientras que los de crecimiento bajo (moda inferior) permanecen en agua

dulce como residentes (Hecht *et al.* 2012; Heggenes y Metcalfe 1991; Metcalfe 1998; Nieceza *et al.* 1991; Páez *et al.* 2011; Thorpe *et al.* 1998; Utrilla y Lobón-Cerviá 1999; Yamamoto y Nakano 1996).

La mayoría de estos trabajos se han enfocado en la condición de los individuos al momento de la manifestación de la historia de vida, cuando las diferencias de crecimiento entre los ecotipos constituyen probablemente la consecuencia de la trayectoria de historia de vida adoptada por un individuo y no su causa (*e.g.*, Forseth *et al.* 1999; McMillan *et al.* 2012; Morinville y Rasmussen 2003, 2008; Tucker y Rasmussen 1999). Sin embargo, a fin de dilucidar los mecanismos subyacentes, los patrones de desarrollo y los momentos críticos asociados al desarrollo de historias de vida alternativas es necesario estudiar la condición de los peces durante los momentos de la decisión, es decir estacionalmente a lo largo de la ontogenia.

En la trucha arco iris del río Santa Cruz las historias de vida alternativas son genéticamente indistinguibles y ambas son capaces de generar descendencia con el fenotipo propio y, en menor medida, el alternativo (Pascual *et al.* 2001; Riva Rossi *et al.* 2007), sugiriendo que la adopción de anadromía o residencia en esta población resulta en gran medida de la plasticidad fenotípica y no de un polimorfismo genético. En este río los individuos que desarrollan el comportamiento anádromo migran al mar al cabo de dos años en agua dulce, mientras que aquellos que adoptan la residencia permanecen en el río y desovan al cabo del tercer o cuarto año de vida (Riva Rossi *et al.* 2007). Un estudio previo del crecimiento temprano de los peces reveló que en esta población la expresión de la historia de vida anádroma se asocia a una tasa de crecimiento elevada durante los primeros años de vida, mientras que la expresión de residencia se asocia a crecimiento lento (Riva Rossi 2004). Finalmente los resultados del Capítulo 2 de esta tesis demuestran que la influencia materna genera importantes diferencias en el crecimiento inicial de la descendencia, las cuales, de mantenerse en el transcurso de la ontogenia juvenil podrían alterar drásticamente la condición de los individuos y ser determinantes de su decisión de historia de vida.

En este contexto, en esta sección se plantea a) investigar la progresión de la condición de los individuos a lo largo del segundo año de vida a fin de identificar patrones de la condición de los peces que puedan asociarse a las trayectorias de desarrollo conducentes a anadromía y residencia, b) identificar los momentos críticos y las ventanas de decisión asociados a la adopción de trayectorias divergentes, c) establecer la asociación entre estas últimas con las diferencias encontradas durante el primer año de vida y, a partir de esta información, d) evaluar la posible conexión de los efectos maternos sobre la adopción de la historia de vida futura.

## **Materiales y Métodos**

### **Muestreo y procesamiento de muestras**

Desde la primavera de 2008 hasta la primavera de 2010 se realizaron un total de siete campañas en las cuales se capturaron peces del primer año (0+), del segundo año (1+) y peces del tercer año (2+) en la primavera (previo a la migración) (Tabla 3.2). Las capturas se realizaron en siete localidades a lo largo del río Santa Cruz; tres localidades en la zona alta del río (Primer Laberinto, La Porteña y Condor Cliff), tres localidades en la zona media (Fortaleza, San Ramón y Los Plateados) y una localidad en la zona baja (Chikorik Aike) (Fig. 2.1). Las campañas se categorizaron como: fin de primavera, inicio de otoño, fin de otoño y fin de invierno al igual que en el Capítulo 2 (Tabla 3.2).

Los peces del primer año se capturaron mediante pesca eléctrica y los peces del segundo y tercer año se capturaron con redes agalleras de 30 y 40 mm de malla. La metodología de captura y el procesamiento de las muestras así como la determinación de la edad y la determinación del origen materno de los peces del primer año a través del análisis de estroncio/calcio en otolitos se detallan en el Capítulo 2.

## Variables fisiológicas

Se caracterizó a la población juvenil según cuatro variables que han demostrado una fuerte asociación con el desarrollo de las trayectorias alternativas conducentes a anadromía y residencia en trabajos previos y según el modelo conceptual de historias de vida en salmónidos. Por un lado se utilizaron el largo y el incremento marginal en las escamas como estimadores del crecimiento acumulado y reciente, respectivamente. Por otro lado, se utilizó el factor de condición y el contenido de lípidos como medidas del estatus energético de los individuos. El factor de condición expresa la relación volumétrica en función del peso y refleja el estado nutritivo de los peces y su estado de “delgadez” o “gordura”. De acuerdo a la utilización diferencial de la energía entre peces bajo distintas trayectorias de crecimiento, dónde los individuos bajo la trayectoria anádroma utilizan la energía para el crecimiento somático en detrimento de la acumulación de masa y los peces bajo la trayectoria residente realizan la asignación contraria (Thorpe *et al.* 2008), el factor de condición podría proveer un parámetro para la identificación de trayectorias divergentes a lo largo de la ontogenia.

Específicamente, para la determinación del crecimiento acumulado se utilizó la misma metodología de determinación del crecimiento descrita en el Capítulo 2. Además, se utilizó la información contenida en el margen de las escamas para estimar el crecimiento reciente, el cual refleja las condiciones actuales del crecimiento durante la estación del año al momento de la captura. Para ello se tomó la medida del radio de los últimos 4 circuli depositados correspondientes a 3-4 semanas según la estimación del patrón de depósito de circuli en esta población (ver sección Resultados “Verificación de supuestos” Capítulo 2). La determinación del contenido de lípidos (% en peso seco) se basó en el método de Zöllner y Kirsch (1962) adaptado para pequeñas alícuotas de muestra (Honkoop *et al.* 1999) tal como se describió en el Capítulo 2. Finalmente, el factor de condición de Fulton (Tesch 1971) se calculó como  $\text{peso (g) / largo (mm)}^3 \times 10^5$

## Análisis de datos

Con el fin de identificar patrones fisiológicos en la población de juveniles que puedan atribuirse a las trayectorias de desarrollo conducentes a anadromía y residencia e identificar los momentos críticos asociados a la decisión de la historia de vida se realizaron dos análisis complementarios.

Por un lado se investigó la progresión modal de las distribuciones de frecuencias de las variables bajo estudio mediante métodos estadísticos incorporados en el programa informático FISAT II (Versión 1.2.0) [programa desarrollado por el Servicio de Recursos Marinos de la FAO (Food and Agriculture Organization, Roma, Italia) y el ICLARM (International Center for Living Aquatic Resources Management, Manila, Filipinas)]. La identificación de modas poblacionales mediante este programa consiste en dos subrutinas, la primera utiliza el método de Battacharya (1967) para definir suposiciones iniciales acerca de la composición modal de la distribución y luego se aplica un método más riguroso, NORMSEP (Separation of the Normality distributed components), el cual basado en el método de máxima probabilidad de Hasselblad (1966), con un mínimo de 200 iteraciones, estima la conformación de la distribución polimodal en función de los valores iniciales. El índice de separación (IS) entre modas sucesivas provee una herramienta estadística para juzgar el ajuste de la distribución bimodal, valores  $>2$  corresponden a diferencias significativas entre modas ( $\alpha=0.05$ ).

En este trabajo se asume que la aparición de modas en la distribución de las variables fisiológicas en la población será indicativa de que los peces se encuentran en trayectorias de desarrollo divergentes y que las ventanas de decisión han ocurrido en algún momento previo a la detección de esta bimodalidad. El seguimiento estacional de la población permitirá establecer los momentos críticos en los que ocurren las ventanas de decisión.

Luego se utilizaron análisis de componentes principales (ACP) a fin de establecer la agrupación de los individuos en el plano multivariado que permita identificar asociaciones particulares de individuos con estados fisiológicos comunes indicativos de trayectorias divergentes. La dirección y magnitud del efecto de cada variable permite caracterizar cómo se relacionan las distintas variables de condición y establecer el predominio de cada una de ellas en las asociaciones detectadas. El ACP se interpreta mediante gráficos bivariados (*biplots*, Gabriel 1971), donde los individuos se representan mediante símbolos y las variables mediante flechas. El agrupamiento de los símbolos establece el agrupamiento de los individuos, el largo de las flechas indica el porcentaje de varianza explicada por cada variable y el ángulo entre ellas establece su grado de correlación. Si las líneas que representan dos variables apuntan en la misma dirección (ángulos menores a  $90^\circ$ ) las variables presentan alta correlación y si, por el contrario, presentan ángulos cercanos a los  $90^\circ$  la correlación es prácticamente nula. En el caso de que las flechas apunten en la misma dirección pero en sentido opuesto la correlación es negativa (Zuur *et al.* 2009).

Los componentes principales (CP) se construyeron a partir de matrices de correlación sobre las variables centradas (extracción de la media de cada variable en cada análisis) en R (versión 2.15.1, R Development Core Team 2012). Debido a que este tipo de análisis basados en estimaciones de varianzas, covarianzas y correlaciones son muy sensibles a la presencia de “outliers”, previo al ACP se extrajeron los individuos muy disímiles en cuanto a los valores de sus variables. En los casos en donde se observó una correlación entre variables se estimó el coeficiente de correlación de Pearson (Zar 1984), *Rho*  $\rho$ , para establecer la significancia estadística de las mismas. Para todos los casos de correlación se reporta el valor del estimador *r*.

Complementariamente al análisis anterior, este análisis permitirá caracterizar los perfiles fisiológicos asociados a cada trayectoria, mientras que la medida de correlación entre las variables (o la falta de ella) para cada período analizado permitirá establecer la ocurrencia de ventanas de decisión (la asociación entre

variables se refuerza luego de adoptar una determinada trayectoria durante las ventanas de decisión, Thorpe *et al.* 1998).

Finalmente, con el fin de investigar si existe una asociación entre el desarrollo temprano (primer año) y la variación en la condición de los individuos durante el segundo año (previo a la migración o maduración futura) y establecer las consecuencias del origen materno sobre la decisión de historia de vida se analizaron las medidas del primer y segundo radio de las escamas en los peces que completaron el segundo año de vida, como índices del crecimiento acumulado al primer y segundo año. La correlación entre el crecimiento del primer año y aquél acumulado hacia el final del segundo se estimó mediante el coeficiente de correlación de Pearson (Zar 1984). Correlaciones positivas indicarán que la mayoría de los peces de mayor tamaño al primer año se mantienen en los rangos de talla superiores también durante el segundo año.

En segunda instancia, mediante retro-cálculo se estimaron las tallas al primer año de los individuos que conformaron distribuciones bimodales durante el segundo año a fin de identificar los patrones de crecimiento temprano que resultan en patrones divergentes hacia momentos cercanos a la adopción de la historia de vida. El método de retro-cálculo consiste en estimar el largo que los peces tenían en edades pretéritas a partir de los radios correspondientes a cada anillo (annuli), los radios totales de las escamas y el largo del pez al momento de la captura (Campana 1990; Francis 1990). Se evaluaron cinco métodos de retro-cálculo: Dahl Lea, Fraser-Lee, Proporcional al tamaño de la escama (SPH por sus siglas en inglés “Scale Proportional Hypothesis”), Proporcional al tamaño del cuerpo (BPH por sus siglas en inglés “Body Proportional Hypothesis”) e Intercepto Biológico (IB) (Tabla 3.1). Con el fin de identificar el método de retro-cálculo con mejor ajuste se compararon las tallas estimadas por cada uno de los métodos con las tallas observadas en peces de un año de vida, capturados al momento del cierre del primer año (Septiembre).

**Tabla 3.1 Ecuaciones de los métodos de retro-cálculo evaluados en esta tesis**

Método de retro-cálculo	Ecuación
Dahl- Lea	$Li = \frac{Ri}{Rc} * Lc$
Fraser-Lee	$Li = \frac{Ri}{Rc'} (Lc - c) + c$
BPH (Proporcional al tamaño del cuerpo)	$Li = Lc \frac{c + Ri}{c + Rc}$
SPH (Proporcional al tamaño de la escama)	$Li = -\frac{a}{b} + \left( Lc + \frac{a}{b} \right) * \frac{Ri}{Rc}$
Intercepto Biológico	$Li = Lc + \frac{(Ri - Rc)}{(Rc - Ro)} (Lc - Lo)$

Dónde:  $Li$ = Largo a la edad pasada  $i$ ,  $Lc$ = Largo de captura,  $Ri$ = Radio escama a la edad  $i$ ,  $Rc$ = Radio escama al momento de captura,  $a$ = ordenada al origen de la regresión  $Rc$  en función de  $Lc$ ,  $b$ = pendiente de la regresión  $Rc$  en función de  $Lc$  y  $c$ = ordenada al origen de la regresión  $Lc$  en función de  $Rc$ .

## Resultados

Se capturaron un total de 523 individuos en las siete localidades de muestreo y en las cuatro estaciones a lo largo de los tres años de muestreo. A pesar de que el esfuerzo de pesca se mantuvo constante a lo largo de las campañas (número de redes caladas y cantidad de días de pesca por estación) las capturas fueron más abundantes durante el otoño y menos abundantes a fines de primavera (Tabla 3.2).



**Tabla 3.2 Número de peces capturados por estación del año y clase de edad. Se especifican los meses y años de captura que conforman cada categoría de estación del año.**

Año	Mes	Estación	Edad	Número de peces
2008/2009	Diciembre	Fin primavera	0+	106
			1+	11
			2+	16
2009/2010	Marzo-Abril	Inicio otoño	0+	46
			1+	118
2009	Junio	Fin otoño	0+	44
			1+	50
2009	Agosto-Septiembre		0+	53
2010	Septiembre*			
2009	Agosto-Septiembre		1+	23

\* Los individuos capturados en Septiembre 2010 determinados por origen materno en el Capítulo 2 solo son analizados en función de la variable de largo. Se toma el set de datos de Agosto-Septiembre 2009 para la evaluación de los ejes de crecimiento reciente, reserva energética y factor de condición

### Progresión Modal de Variables Fisiológicas

El análisis de la distribución de frecuencias de las cuatro variables fisiológicas analizadas permitió detectar la aparición de más de una moda, particularmente durante el otoño, lo cual sería representativo de las trayectorias de desarrollo alternativas conducentes a residencia (moda inferior de talla en este río) y anadromía (moda superior de talla). Es necesario aclarar que debido al bajo número de capturas durante fin de primavera el método de ajuste de distribuciones polimodales no presentó el poder suficiente para evaluar la aparición de más de una moda para las variables de Largo y Crecimiento reciente (Tabla 3.3). En la Tabla 3.3 se muestran los valores promedios y desviación estándar de las modas con respaldo estadístico

halladas para cada una de las variables de condición a lo largo de las distintas estaciones del año.

**Tabla 3.3 Promedio y desvío estándar de cada moda para las variables de condición en juveniles hasta la primavera de adopción de la historia de vida (0+, 1+ y primavera 2+). “ns” indica que el ajuste de la distribución bimodal no fue significativa (Índice de Separación < 2). Se indica con “x” cuando no se pudieron ajustar los modelos por bajo de tamaño muestral.**

Variable	Clase de edad	Moda	Fin primavera	Inicio otoño	Fin otoño	Fin invierno
Largo	0+	1	26.19 ± 2.4	39.99 ± 2.45	56.88 ± 6.31	63.47 ± 9.59
		2	ns	54.17 ± 8.57	75.87 ± 7.08	85.67 ± 4.82
	1+	1	x	129.12 ± 7.33	176.74 ± 19.95	187.72 ± 20.87
		2	x	179.80 ± 14.72	ns	ns
	2+	1	202.5 ± 26.34	-	-	-
	Crecimiento reciente	0+	1	x	73.80 ± 15.99	62.73 ± 9.95
2			x	ns	96.68 ± 2.50	101.13 ± 8.17
1+		1	109.5 ± 11.06	68.06 ± 3.07	60.63 ± 2.50	63.53 ± 11.39
		2	ns	88.10 ± 15.13	84.36 ± 16.22	89.99 ± 13.36
2+		1	118.57 ± 23.64	-	-	-
Contenido de lípidos		0+	1	10.13 ± 2.06	11.45 ± 3.60	13.48 ± 2.69
	2		17.17 ± 2.47	ns	ns	ns
	1+	1	11.9 ± 3.91	7.79 ± 3.44	7.87 ± 2.85	5.78 ± 1.58
		2	ns	ns	ns	ns
	2+	1	8.00 ± 2.60	-	-	-
	Factor de condición	0+	1	7.92 ± 1.10	10.59 ± 1.42	11.19 ± 1.29
2			ns	ns	ns	12.77 ± 12.43
1+		1	1.15 ± 0.08	1.15 ± 0.09	1.13 ± 0.09	1.12 ± 0.12
		2	ns	ns	ns	ns
2+		1	1.14 ± 0.12	-	-	-

Específicamente, a través del análisis de las distribuciones de talla se observó la presencia de dos modas desde el inicio del otoño del primer año de vida (Figs. 3.1, 3.2) mostrando mayor separación entre las modas hacia el inicio del otoño del segundo

año (Tabla 3.3, Fig. 3.2). A partir de este momento no se pudieron seguir detectando dos modas, probablemente debido a la migración de los individuos de la moda superior hacia otras zonas del río más que a la homogeneización de las tallas en la población (Fig. 3.2 c,d,e). Esto es consistente con lo observado en poblaciones nativas de *O. mykiss* con historia de vida similar a la forma anádroma del río Santa Cruz, donde los smolts (edad 1+, talla > 165 mm) se congregan en las zonas del río aledañas a la desembocadura o en el estuario ante la inminencia de la migración (Bond *et al.* 2008). Durante el primer año, en todas las estaciones analizadas, los peces de origen residente se vieron restringidos a la moda inferior de talla, mientras que los individuos de origen anádromo se ubicaron a lo largo de todo el rango, conformando casi exclusivamente las modas superiores (Fig. 3.1).

Respecto al crecimiento reciente, se observaron distribuciones bimodales significativas a partir del fin del otoño del primer año (Fig. 3.3 b,c; Fig. 3.4 b,c,d; Tabla 3.3), similar a lo observado con el largo, las modas se diferenciaron mejor hacia el segundo año (Tabla 3.3, Fig. 3.4 b,c,d). Durante la tercer primavera la distribución de los crecimientos parecería presentar más de una moda (Fig 3.4e); sin embargo, el modelo de distribuciones no se pudo ajustar por el bajo tamaño de la muestra en esta estación (Tablas 3.2, 3.3). Como es de esperar, el mayor crecimiento reciente ocurrió durante la primavera (Fig. 3.4 a,e). Los peces de origen alternativo se ubicaron equilibradamente a lo largo del rango de crecimiento durante el primer año evidenciando poca diferenciación entre ellos por esta variable (Fig. 3.3).

En relación con el contenido de lípidos, solo se observaron distribuciones bimodales significativas al inicio del desarrollo, ubicándose predominantemente los peces de origen residente en la moda inferior (Fig. 3.5 a) probablemente como resultado de diferencias iniciales en el contenido energético (Capítulo 2), y hacia el final del primer invierno probablemente como consecuencia de respuestas divergentes entre individuos ante las condiciones ambientales invernales muy severas. Si bien durante el segundo año se observó una gran dispersión para esta variable, la distribución

predominante fue unimodal. Finalmente, el factor de condición presentó evidencias de unimodalidad en la mayoría de las estaciones analizadas a excepción del final del primer invierno, al igual que para el contenido de lípidos por lo que probablemente también se deba a la condición de los individuos luego del invierno (Fig. 3.7 d).

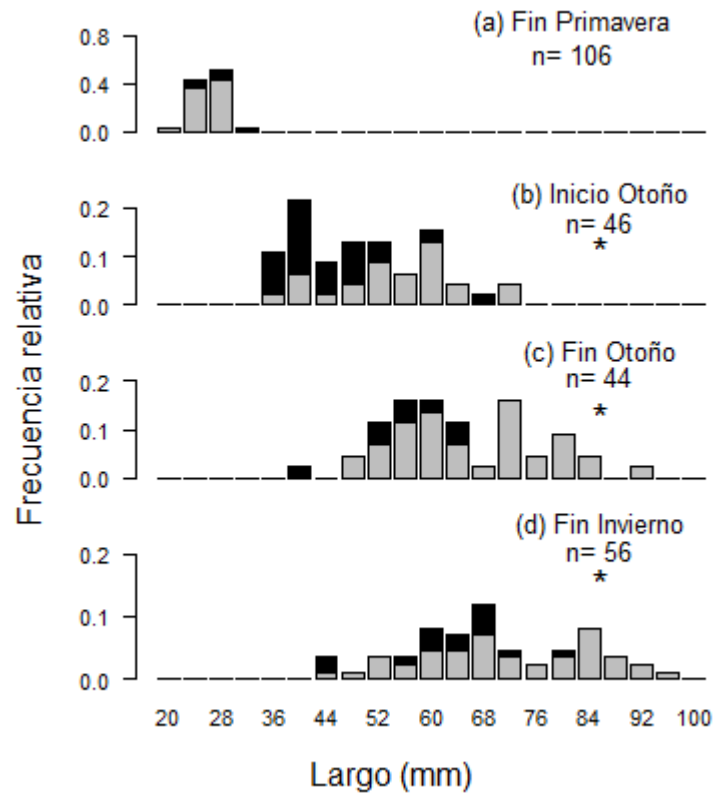


Figura 3.1 Progresión modal del largo en el primer año de vida para individuos de origen residente (barras negras) y anádromo (barras grises). Los asteriscos indican soporte a la distribución bimodal.

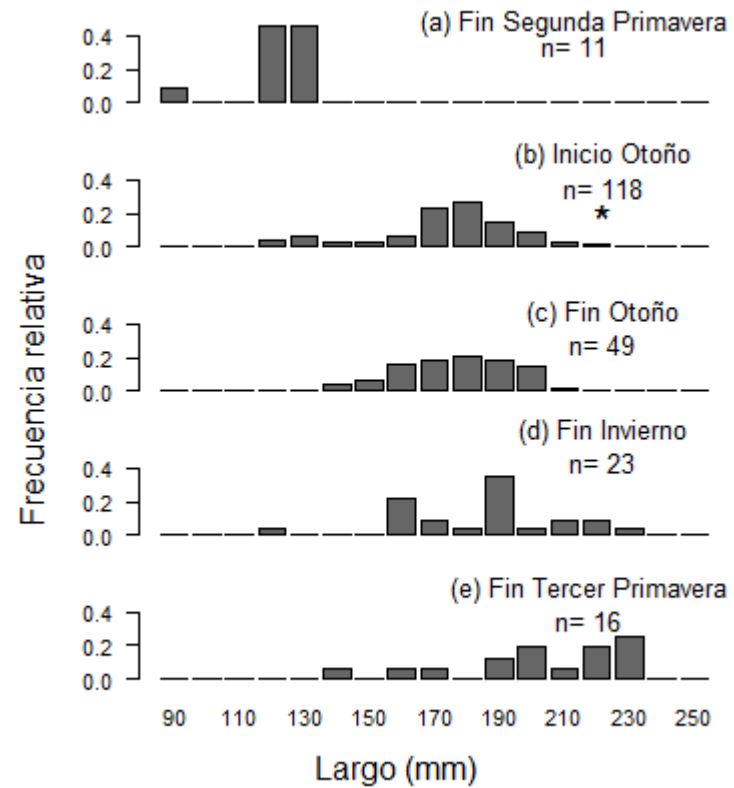


Figura 3.2 Progresión modal del largo en el segundo año de vida. Los asteriscos indican soporte a la distribución bimodal.

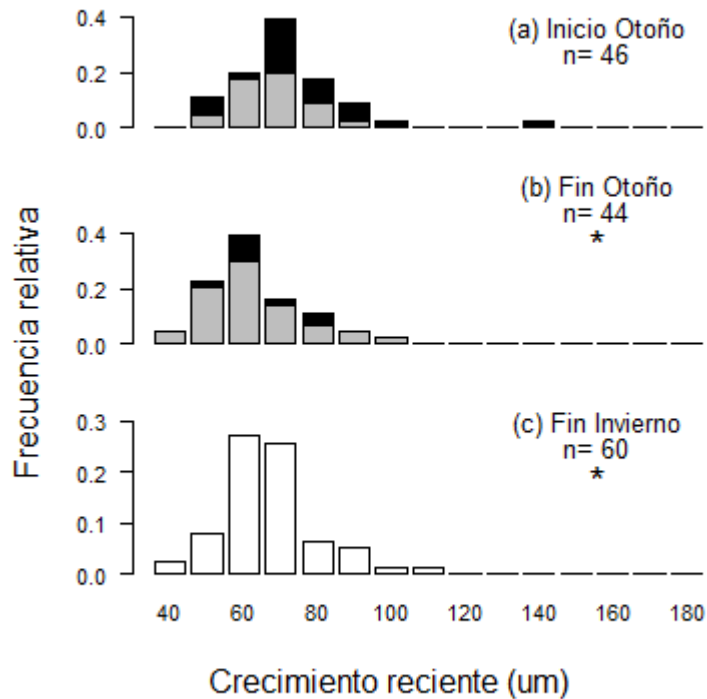


Figura 3.3 Progresión modal del crecimiento reciente en el primer año de vida para individuos de origen residente (barras negras), anádromo (barras grises) y desconocido (barras blancas). Los asteriscos indican soporte a la distribución bimodal.

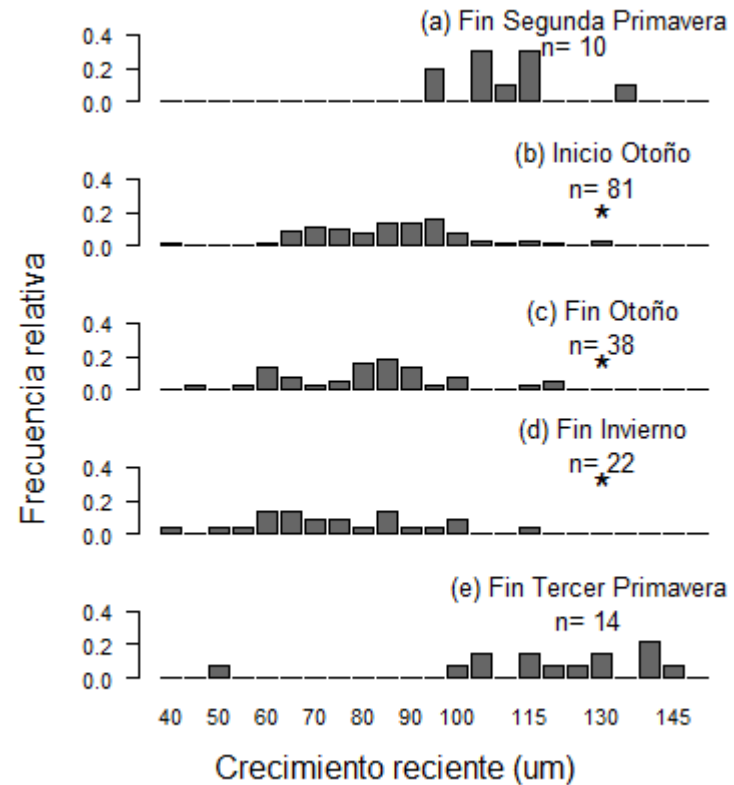


Figura 3.4 Progresión modal del crecimiento estacional en el segundo año. Los asteriscos indican soporte a la distribución bimodal.

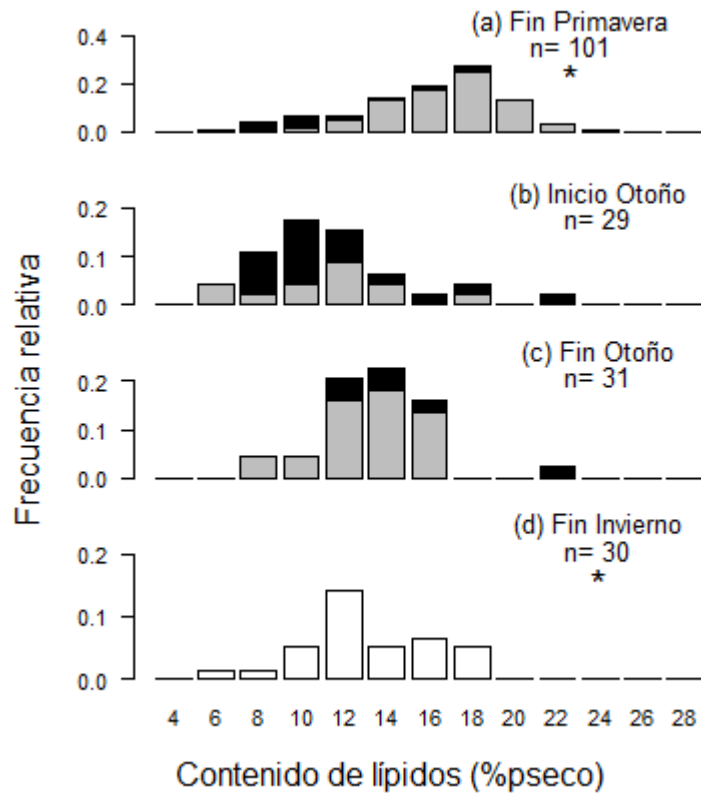


Figura 3.5 Progresión modal del contenido de lípidos en el primer año de vida para individuos de origen residente (barras negras), anádromo (barras grises) y desconocido (barras blancas). Los asteriscos indican soporte a la distribución bimodal.

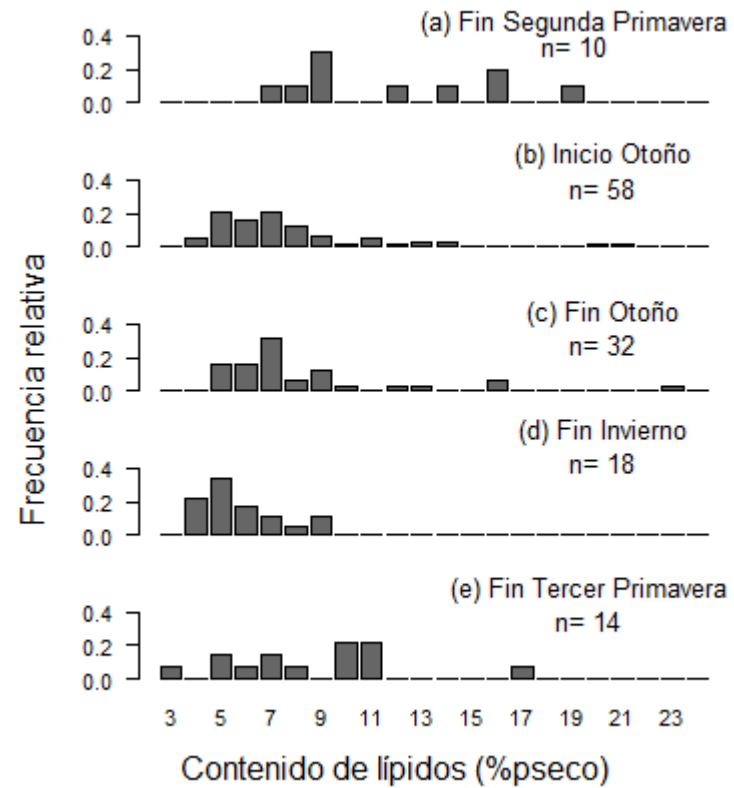


Figura 3.6 Progresión modal del contenido de lípidos en el segundo año de vida.

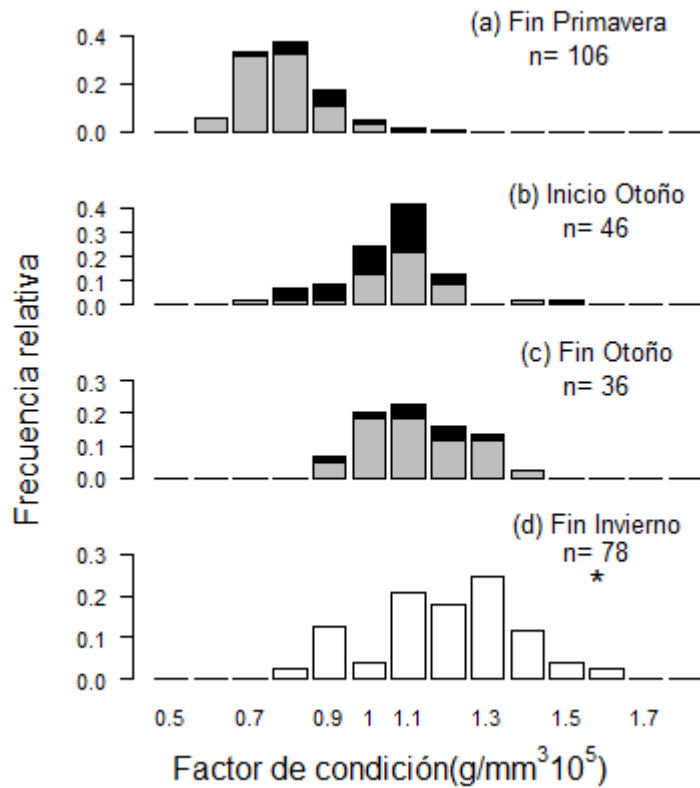


Figura 3.7 Progresión modal del factor de condición en el primer año de vida para individuos de origen residente (barras negras), anádromo (barras grises) y desconocido (barras blancas). Los astersicos indican soporte a la distribución bimodal.

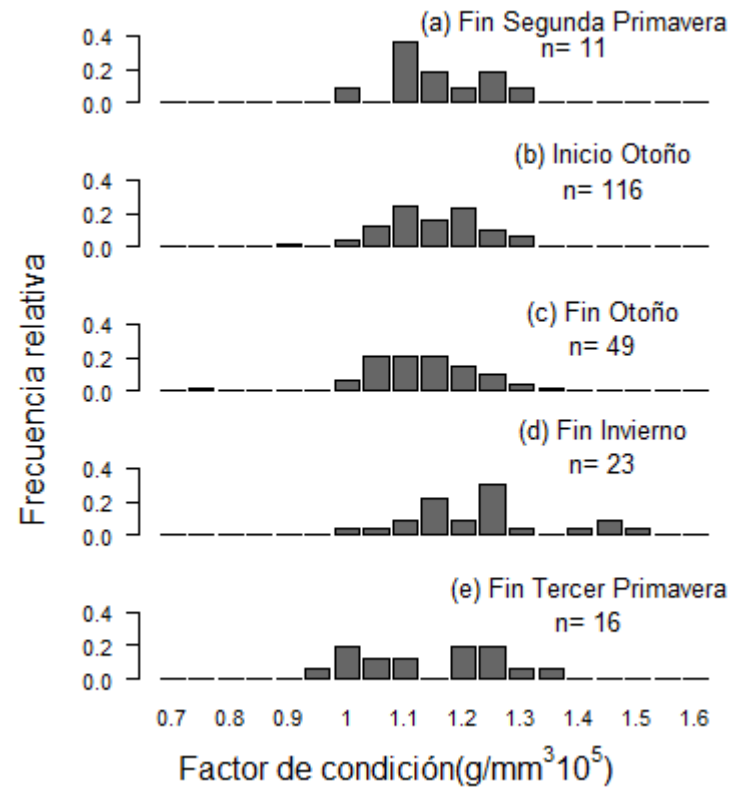


Figura 3.8 Progresión modal del factor de condición en el segundo año de vida.



## Análisis de Componentes Principales

La identificación de los patrones de desarrollo mediante Análisis de Componentes Principales (ACP) se llevó a cabo para las estaciones inicio y fin de otoño y fin del invierno (Tabla 3.4). Sin embargo, este análisis no pudo ser llevado a cabo hacia final de la primavera debido al bajo número de individuos capturados (Tabla 3.2).

Para los tres ACP realizados los dos primeros componentes explicaron entre el 64 y el 77 % de la varianza observada (Tabla 3.4). En todas las estaciones los individuos se ubicaron a lo largo de un gradiente de estados fisiológicos según la influencia del tamaño y el crecimiento, por un lado, y el contenido de lípidos, por el otro (Fig. 3.9).

Tanto el largo como el crecimiento estacional y el contenido de lípidos fueron variables importantes en la explicación de la variación a lo largo del primer año (Tabla 3.4, Fig. 3.9 a,b,c). En general se observó una correlación positiva entre el contenido de lípidos y el factor de condición (Fig. 3.9 a,b,c) que resultó significativa sólo hacia el final del invierno ( $P < 0.001$ ,  $r = 0.63$ , Tabla 3.5). Consistentemente con la detección de bimodalidades en el contenido de lípidos y el factor de condición hacia el final del primer invierno, éstas fueron las variables fisiológicas que más aportaron a la explicación de la varianza durante este período (Tabla 3.4, Fig. 3.9c), y además estuvieron correlacionadas positivamente (Tabla 3.5), contrastando individuos elongados (menor factor de condición) y con menor contenido de lípidos de individuos con mayor contenido de lípidos y mayor factor de condición. El patrón de los peces durante el primer año varió en cuanto a la relación entre crecimiento y largo, mientras que al inicio del otoño la correlación entre estas variables fue positiva, en las otras dos estaciones la tendencia fue contraria. Aunque muy débiles, las relaciones largo-crecimiento fueron significativas hacia el inicio del otoño ( $P < 0.05$ ,  $r = -0.2$ , Tabla 3.5) y al fin de esta estación ( $P < 0.01$ ,  $r = 0.41$ , Tabla 3.5), indicando que existe un grado de co-variación entre el largo y el crecimiento y que individuos más pequeños

crecieron más durante el verano, mientras que individuos más grandes crecieron más en otoño.

Durante el segundo año la variación en el desarrollo se vio principalmente reflejada en el tamaño de los individuos, ya que el largo fue la variable que mayor explicación aportó al primer componente principal 1 en todas las estaciones (Tabla 3.4, Fig. 3.9 d,e,f). La variación sobre el componente principal 2 estuvo explicada en su gran mayoría (del 79 al 91%) por el crecimiento estacional al inicio y fin del otoño, mientras que hacia finales del invierno la variable que más contribuyó a la variación en este eje fue el contenido de lípidos (Tabla 3.4). El contenido de lípidos también fue la variable que más contribuyó al componente principal 3 (20% de la varianza total) durante el otoño mientras que el factor de condición contribuyó más a la variación sobre este eje a fines del invierno (Tabla 3.4). Al igual que durante el primer año, la correlación entre el largo y el crecimiento estacional no se mantuvo constante a lo largo de las estaciones; siendo positiva y significativa sólo al final del invierno ( $r=0.6$ ,  $P<0.01$ , Tabla 3.5), indicando que los peces de mayor tamaño fueron los que mantuvieron mayores tasas de crecimiento en esta estación. Por otro lado, si bien se observó una relación negativa entre el contenido de lípidos y el tamaño de los individuos para todas las estaciones (Fig. 3.9 d,e,f; Tabla 3.4), ninguna de estas relaciones fue significativa ( $P>0.05$ , Tabla 3.5). Finalmente, el crecimiento estacional y el contenido de lípidos resultaron independientes en todas las estaciones analizadas ( $P>0.05$ , Tabla 3.5).

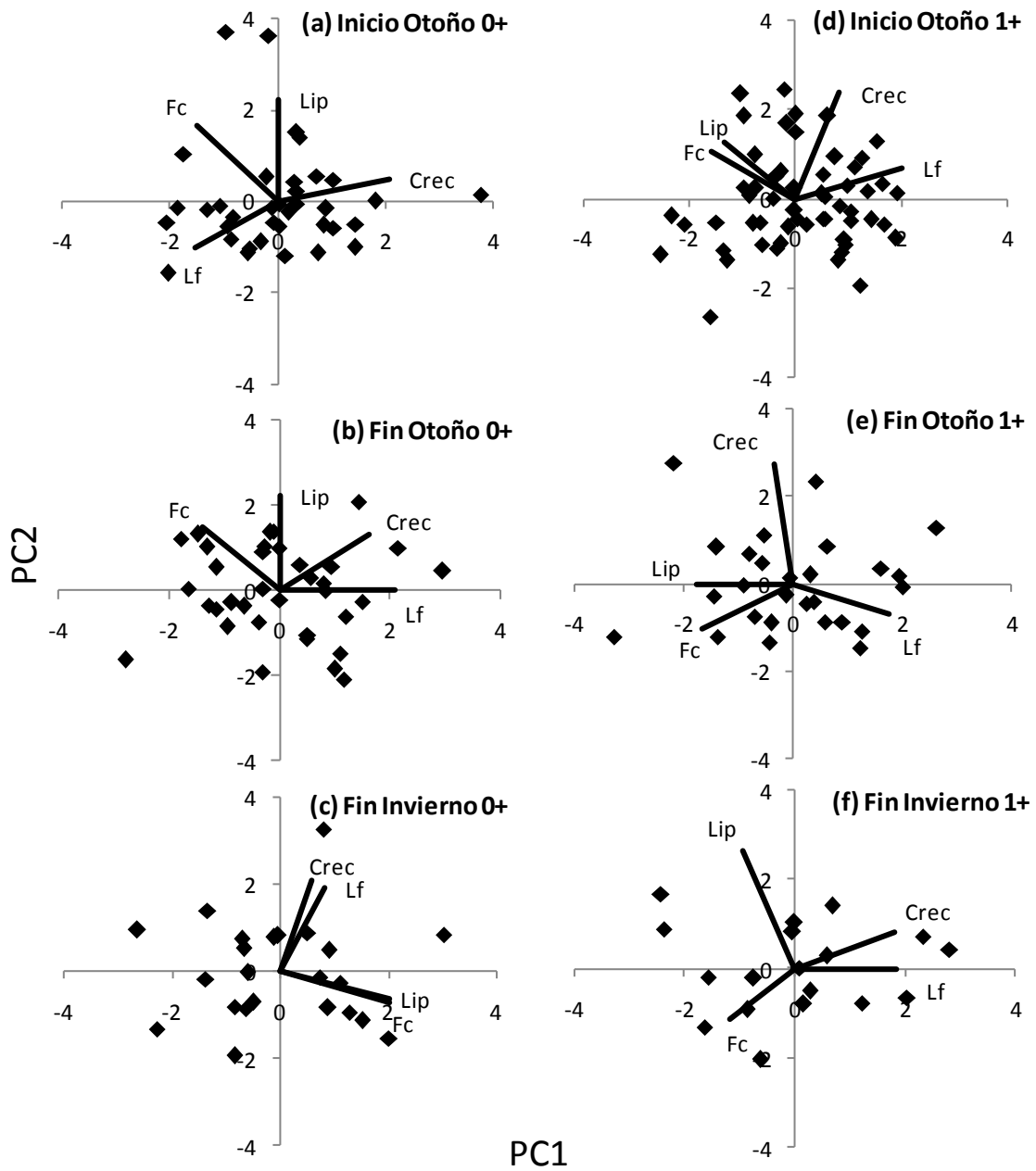


Figura 3.9 Componente principal 1 vs Componente principal 2 del ACP a lo largo del segundo año. Los símbolos representan los individuos y las flechas las variables fisiológicas. Lf: Largo, Crec: crecimiento estacional, Lip: Contenido de lípidos, Fc: Factor de condición.

**Tabla 3.4 Aporte de cada variable de condición a la varianza observada en componente principal por clase de edad y estación y varianza acumulada por CP. Se resaltan las variables de mayor aporte a cada componente principal.**

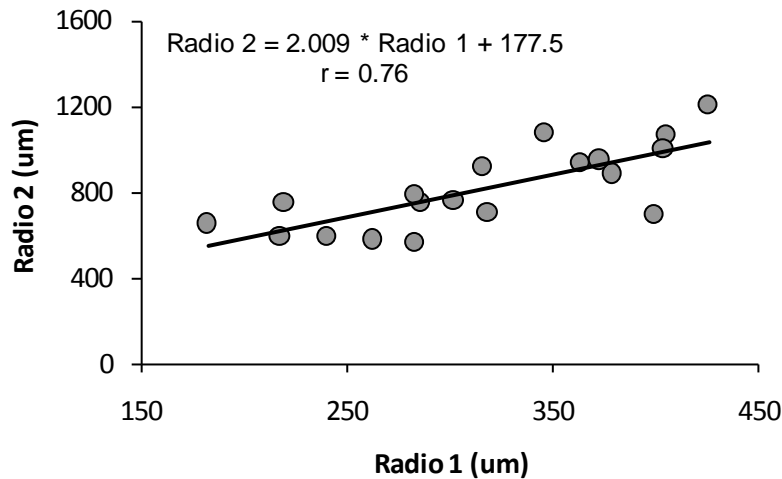
Clase de edad	Estación	Variable condición	CP1	CP2	CP3	
Primer año	Inicio otoño	Contenido lípidos		0.74	-0.44	
		Factor de condición	-0.51	0.56	0.26	
		Largo	-0.52	-0.33	-0.76	
		Crecimiento	0.69	0.17	-0.39	
	Var (%)			34	65	86
	Fin otoño	Contenido lípidos			0.75	0.65
		Factor de condición	-0.47	0.50	-0.59	
		Largo	0.69			
		Crecimiento	0.55	0.44	-0.46	
	Var (%)			36	64	85
	Fin invierno	Contenido lípidos	-0.67	-0.22	0.25	
		Factor de condición	-0.67	-0.24	-0.16	
Largo		0.27	0.64	-0.69		
Crecimiento		0.19	0.69	0.66		
Var (%)			44	77	94	
Segundo año	Inicio otoño	Contenido lípidos	-0.45	0.43	0.75	
		Factor de condición	-0.52	0.36	-0.65	
		Largo	0.67	0.24		
		Crecimiento	0.28	0.79	-0.12	
	Var (%)			37	65	85
	Fin otoño	Contenido lípidos	-0.58		0.80	
		Factor de condición	-0.56	-0.34	-0.53	
		Largo	0.59	-0.23	0.28	
		Crecimiento	-0.11	0.91		
	Var (%)			42	68	85
	Fin invierno	Contenido lípidos	-0.31	0.88	0.27	
		Factor de condición	-0.40	-0.37	0.83	
Largo		0.62		0.35		
Crecimiento		0.6	0.28	0.32		
Var (%)			53	76	96	

**Tabla 3.5** Tabla de correlaciones del ACP para cada variable de condición por clase de edad y estación. Se resaltan las correlaciones significativas mencionadas en el texto, de importancia para la evaluación de los patrones de desarrollo.

Clase de edad	Estación	Variable	Lípidos	Factor condición	Largo	Crecimiento reciente
Primer año	Inicio Otoño	Lípidos	1.00	0.26	-0.08	0.12
		Factor condición	0.26	1.00	0.03	-0.23
		Largo	-0.08	0.03	1.00	-0.25
		Crecimiento reciente	0.12	-0.23	-0.25	1.00
	Fin Otoño	Lípidos	1.00	0.06	-0.01	0.11
		Factor condición	0.06	1.00	-0.28	-0.03
		Largo	-0.01	-0.28	1.00	0.32
		Crecimiento reciente	0.11	-0.03	0.32	1.00
	Fin Invierno	Lípidos	1.00	0.72	0.05	0.11
		Factor condición	0.72	1.00	0.16	-0.03
		Largo	0.05	0.16	1.00	0.35
		Crecimiento reciente	0.11	-0.03	0.35	1.00
Segundo año	Inicio Otoño	Lípidos	1.00	0.17	-0.20	0.06
		Factor condición	0.17	1.00	-0.27	0.05
		Largo	-0.20	-0.27	1.00	0.27
		Crecimiento reciente	0.06	0.05	0.27	1.00
	Fin Otoño	Lípidos	1.00	0.34	-0.34	0.03
		Factor condición	0.34	1.00	-0.32	-0.07
		Largo	-0.34	-0.32	1.00	-0.17
		Crecimiento reciente	0.03	-0.07	-0.17	1.00
	Fin Invierno	Lípidos	1.00	0.13	-0.36	-0.12
		Factor condición	0.13	1.00	-0.28	-0.38
		Largo	-0.36	-0.28	1.00	0.78
		Crecimiento reciente	-0.12	-0.38	0.78	1.00

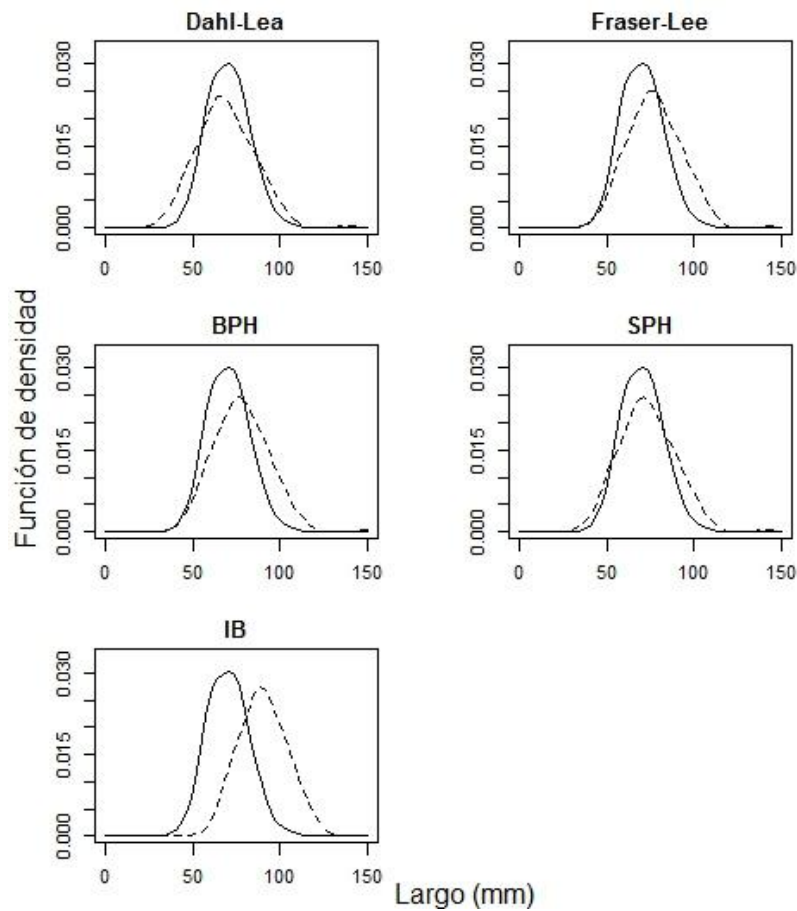
### Asociación entre los patrones de crecimiento del primer y segundo año

El crecimiento acumulado durante el primer año (radio de la escama al final del año 1) se correlacionó positivamente con el crecimiento acumulado hacia el segundo año (radio de la escama al final del año 2) (correlación  $P < 0.001$ ,  $r = 0.76$ , Fig. 3.10), indicando que los peces de mayor crecimiento acumulado o mayor largo al primer año mantienen un patrón de crecimiento elevado durante el segundo año, lo cual resulta en tallas mayores.



**Figura 3.10** Relación entre el Radio de la escama al año 1 (Radio 1) y el Radio de la escama al año 2 (Radio 2). La línea representa la regresión ajustada,  $n = 19$ ,  $P < 0.001$ .

La comparación de los distintos métodos de retro-cálculo analizados reveló que el método proporcional al tamaño de la escama (SPH) fue el que mejor ajustó a los datos de largo de los peces capturados al final del año 1 (Fig. 3.11, ver ecuación en Tabla 3.1). Este método presentó la menor diferencia entre los largos retro-calculados y los largos de captura, dado por el valor del estadístico “D” arrojado por la prueba de Kolmogorov-Smirnov ( $D = 0.03$ ,  $P = 0.81$ ).



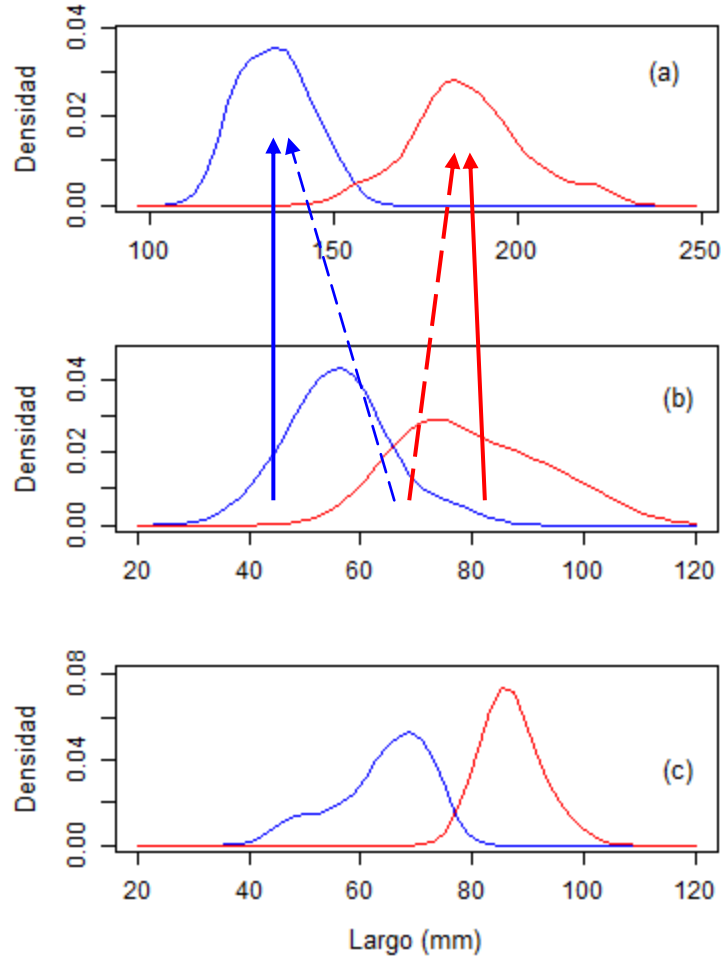
**Figura 3.11** Largos retrocalculados a la edad 1 de peces juveniles mayores al año por distintos métodos de retrocálculo. Las líneas continuas representan la distribución de largos retrocalculados y las líneas discontinuas las distribuciones de los largos observados hacia final del año 1 (peces capturados en Septiembre de 2009 y 2010).

De acuerdo al análisis de la progresión modal del largo durante el segundo año realizado en este capítulo, el mayor soporte a la distribución bimodal durante el segundo año se dio al inicio del otoño (Tabla 3.3, Fig. 3.2). Entonces se utilizó este conjunto de datos para retro-calcular los largos de los peces de las modas inferior ( $< 150$  mm) y superior ( $> 150$  mm) (Fig. 3.12 a) hacia el final de la primer primavera (Fig. 3.12 b). Según este análisis los largos de los peces de la moda inferior al año 1 variaron entre 41.3 y 75.4 mm (promedio 56.3 mm) mientras que aquellos de la moda superior variaron entre 56.2 y 110.8 mm (promedio 80 mm), siendo las modas

significativamente diferentes (Prueba de t,  $P < 0.001$ , Fig. 3.12b). Mientras que la moda inferior retro-calculada mostró rangos similares a la moda inferior observada (46 - 75 mm, promedio 63.5 mm, Tabla 3.3, Fig. 3.12 b,c), la moda superior retro-calculada mostró rangos mayores a los observados en la moda superior en Septiembre (80 - 98 mm, promedio 85.7 mm, Tabla 3.3, Fig. 3.12 b,c).

Conjuntamente estos dos últimos análisis ponen en evidencia que la mayoría de los individuos de progenie residente que se ubicaron en la moda inferior y la mayoría de los peces de origen anádromo que se ubicaron en la moda superior durante el primer año mantienen este patrón durante el segundo (flechas continuas en Fig. 3.12). Las alternativas recíprocas también se encuentran respaldadas por estos análisis: el solapamiento de las distribuciones indica que algunos peces de la moda superior al segundo año derivan de peces de la moda inferior al primer año, posiblemente de aquellos peces de origen anádromo de la moda inferior (flecha roja punteada en Fig. 3.12), aunque no se puede descartar que algunos deriven de peces de origen residente. Finalmente unos pocos peces de la moda inferior al segundo año podrían derivar de peces de la moda superior de origen anádromo (flecha roja punteada fina en Fig. 3.12).





**Figura 3.12** Distribución de talla para (a) los peces capturados al inicio del otoño durante el segundo año, (b) distribución de sus largos retro-calculados, en ambos paneles las líneas rojas representan la moda superior de largo (peces > 150 mm en otoño y sus respectivos retro-cálculos) y la línea azul la moda inferior (peces < 150mm y sus respectivos retro-cálculos) (c) distribución de largos observados hacia la primavera 0+, la línea roja representa los individuos de la moda superior y la azul los peces de la moda inferior (ver Tabla 3.3). Las flechas continuas representan las tendencias predominantes de mantener la pertenencia a la moda de talla y las discontinuas las trayectorias cruzadas (peces de la moda inferior en la primavera 0+ se ubican en la superior al inicio del otoño y peces de la moda superior en la primavera 0+ se ubican en la moda inferior al inicio del otoño en el segundo año)

## Discusión

En esta sección se analizó la variación fenotípica en rasgos asociados a las trayectorias de desarrollo anádroma y residente a lo largo de los dos primeros años de vida hasta el momento de la expresión de la historia de vida. Cabe destacar que la mayoría de los trabajos enfocados en el estudio de divergencias en las trayectorias de desarrollo juvenil en poblaciones de salmónidos con migración parcial se han restringido a la comparación de la condición fisiológica de los individuos al momento de la expresión de la historia de vida (*e.g.*, Forseth *et al.* 1999; Jonsson y Jonsson 1998; Morinville y Rasmussen 2003). En este contexto, este es uno de los pocos trabajos que ha demostrado la divergencia poblacional y propuesto los mecanismos involucrados en ella en estadios juveniles en una población en estado natural mediante el seguimiento de cohortes de peces previo a la adopción de la estrategia de vida (pero ver Nielsen *et al.* 2003 en *Salmo trutta* y Rikardsen y Elliott 2000 en *Salvelinus alpinus*).

En este trabajo se mostró que la variación en el eje fisiológico asociado a la trayectoria anádroma es la que predomina en esta población. La talla y el crecimiento mostraron la mayor variación en el análisis de la progresión modal, exhibiendo distribuciones bimodales desde el inicio del primer otoño y explicaron la mayor parte de la variación observada en los análisis multivariados, especialmente durante el segundo año.

Durante el primer año, las variables relacionadas con el estado energético (contenido de lípidos y factor de condición) mostraron mayor importancia al inicio del desarrollo, posiblemente respondiendo a las diferencias observadas en el contenido energético en el estadio de fry, y hacia el final del invierno indicando que algunos individuos permanecieron en buen estado luego del invierno mientras que otros presentaron un bajo desempeño. Por otro lado, se evidenció que la influencia materna se reflejó en la constitución de las modas poblacionales de talla tempranamente en la ontogenia, los peces de origen residente encontrándose casi exclusivamente en la moda inferior.

Durante el segundo año, el análisis de la progresión modal mostró soporte a las distribuciones bimodales para el largo a la edad y el crecimiento estacional en varios momentos del año. En conjunto, se observó que las diferencias entre las modas de talla se acentuaron a lo largo de la ontogenia observándose mayor reflejo de la bimodalidad durante el segundo otoño, indicando que este es un momento de importancia para la manifestación de las divergencias poblacionales en esta variable.

En poblaciones de salmónidos con migración parcial donde la estrategia anádroma se asocia al tamaño corporal y al crecimiento rápido también se han observado distribuciones de talla bimodales hacia el otoño previo a la migración (*e.g.*, Páez *et al.* 2011; Nicieza *et al.* 1991; Metcalfe *et al.* 1998). En estas poblaciones los peces ubicados en la moda superior migraron a la primavera siguiente mientras que los peces ubicados en la moda inferior o bien permanecieron en agua dulce por uno o varios años más o adoptaron la estrategia residente. Dentro de este marco, si bien en este trabajo no es posible asegurar la historia de vida futura de los juveniles bajo estudio, la similitud de los patrones de desarrollo observados entre éste y los estudios antes mencionados, permitiría suponer que en este río los peces de mayor tamaño hacia el segundo otoño y que mantienen altas tasas de crecimiento durante el segundo invierno serán más propensos a migrar en la primavera siguiente.

Finalmente, el análisis de la conexión entre el crecimiento en el primer y segundo año puso en evidencia que la tendencia a pertenecer a la moda de talla inferior o superior se establece en el primer año y que en la mayoría de los peces se mantiene durante el segundo. Los resultados de este capítulo y el anterior indican que los juveniles nacidos de hembras residentes nacen mas temprano en la temporada con desventajas en largo a la edad en relación a los juveniles nacidos de madres anádromas y que, en general, tienden a mantenerse luego en la moda inferior de talla a lo largo de la ontogenia.

Sobre la base de la información generada en este estudio, como así también en estudios previos de esta población, acerca de la asociación entre la talla y la adopción

de la estrategia anádroma, se pueden hipotetizar las trayectorias de crecimiento conducentes a historias de vida alternativas en este río e identificar ventanas de determinación de la trayectoria de desarrollo utilizando como referencia el modelo conceptual de historias de vida en salmónidos de Thorpe *et al.* (2008) (Fig. 3.13). Según el modelo aquí propuesto, la primer ventana de decisión ocurre al inicio del primer otoño, momento en el que se observó que los peces de mayor tamaño (moda superior) aceleraron el crecimiento durante el otoño encauzándose de este modo en una trayectoria de alto crecimiento (línea continua roja), mientras que en aquellos donde el crecimiento fue bajo durante el otoño formarán parte de la trayectoria de bajo crecimiento (línea continua azul). En este momento una desaceleración del crecimiento en los peces de la moda superior resultaría en un cambio hacia la trayectoria opuesta de menor crecimiento (línea azul punteada), mientras que la aceleración abrupta del crecimiento en los peces de la moda inferior conllevaría al salto a la trayectoria de mayor crecimiento (línea roja punteada). Esta ventana de decisión podría ser la causa de la primera bifurcación entre las modas hacia la primer primavera (Fig. 3.13). Sin embargo, en la primer oportunidad de migración los peces no adoptan aún esta estrategia (edad de migración en esta población 2+, Riva Rossi *et al.* 2007) posiblemente porque no alcanzan el umbral de talla para desarrollar los mecanismos de smoltificación y sobrevivir a la migración (Acolas *et al.* 2012; Páez *et al.* 2011). Durante el segundo año, la segunda ventana de decisión ocurre al final del otoño, momento en el que los peces de mayor talla (moda superior) aceleraron nuevamente el crecimiento y los de menor talla (moda inferior), por el contrario, lo desaceleraron. De este modo, las modas detectadas hacia el inicio del segundo otoño son por lo tanto una reactivación de las trayectorias iniciadas en momentos previos, en la cual los peces en la moda superior continúan en una trayectoria de crecimiento elevado con lo cual eventualmente superan un umbral de talla y migran en la siguiente primavera (línea roja: anadromía). Los peces de bajo crecimiento que desaceleran el crecimiento quedan por debajo del umbral crítico en la primavera y permanecen en el

río un año más (el 17% de las truchas anádromas del Santa Cruz migra a los 3 años) o adopta definitivamente la residencia (línea azul) (Fig. 3.13).

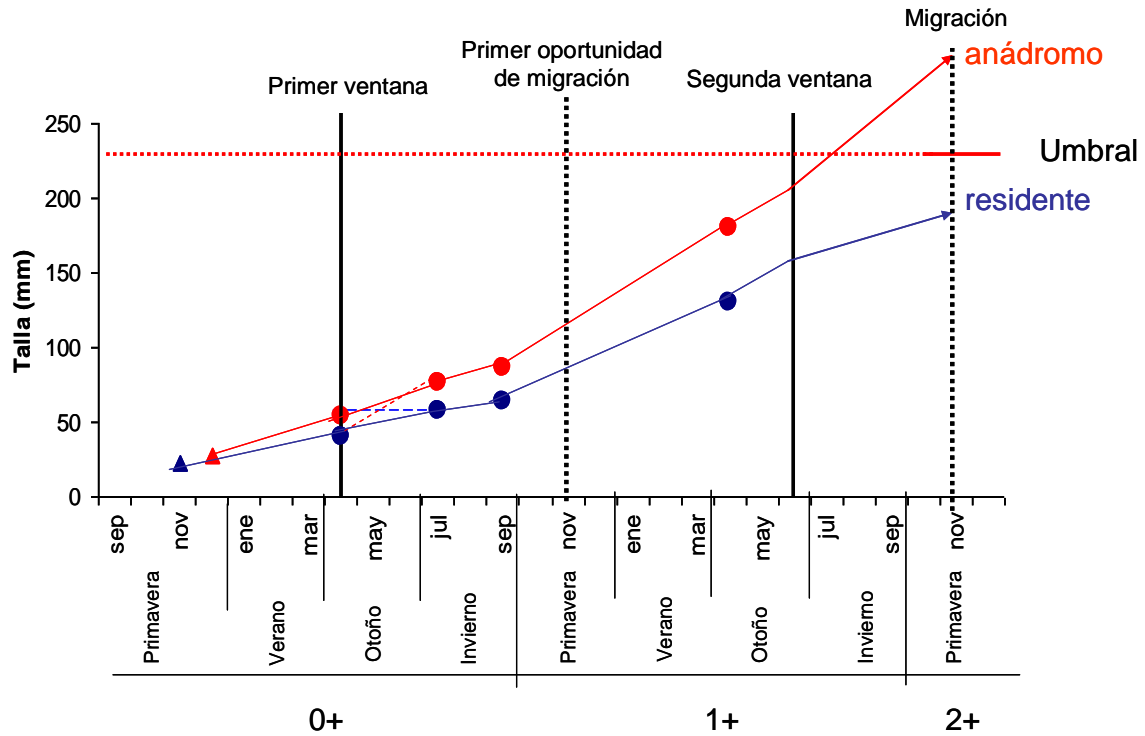


Figura 3.13 Modelo conceptual de las trayectorias predominantes de crecimiento juvenil conducentes a anadromía y residencia para la población de trucha arco iris del río Santa Cruz (adaptado de Thorpe *et al.* (1998) para *Salmo salar*). La trayectoria anádroma (roja) está compuesta en su mayoría por individuos de progenie anádroma que conforman la moda de talla superior al inicio del desarrollo, mientras que la trayectoria residente (azul) está compuesta en su mayoría por los individuos de progenie residente que forman parte de la moda de talla inferior desde el inicio. Se ejemplifica un cruce de trayectorias luego de la primer ventana de decisión donde peces de la moda superior pueden adoptar la trayectoria residente y peces de la moda inferior acelerar su crecimiento y adoptar la estrategia anádroma (líneas punteadas). Los triángulos representan el momento y la talla de emergencia para progenie anádroma y residente (capítulo 2) y los puntos corresponden a las medias de las modas identificadas en este capítulo, rojo para las modas superiores y azules para las inferiores. Se marcan las posibles ventanas de decisión o sensibilidad y las oportunidades de migración en la primavera.

En cuanto a la maduración en agua dulce, el patrón esperado de desaceleración del crecimiento acoplado con un aumento en las reservas energéticas necesario para la preparación de la maduración no fue observado en ninguno de los períodos analizados; a lo largo de la ontogenia el crecimiento y el contenido de lípidos variaron independientemente y sólo algunos individuos aislados presentaron mayor reserva energética. Teniendo en cuenta además que la edad de primera madurez en esta población se da en la cuarta primavera (edad 3+) es probable que la adopción de la estrategia residente se produzca en aquellos individuos que no alcanzan el umbral de talla para realizar la migración (Fig. 3.13) pero que alcanzan el umbral de reservas energéticas recién durante el tercer año de vida.

La predominancia de la moda superior de talla observada en esta población sugeriría que en este río la mayor parte de los juveniles tendría mayores probabilidades de adoptar la vida anádroma. Es por esto que en el modelo conceptual presentado en la Figura 3.13 se esquematizan las trayectorias de crecimiento predominantes en la población, en donde los individuos en la moda superior son hijos de madres anádromas y los individuos en la moda inferior son hijos de madres residentes. Si bien no se pudo determinar el origen materno de los individuos de dos años de edad para establecer la conexión entre el desarrollo al año 1 y al año 2 y de esta manera evaluar objetivamente la ocurrencia de trayectorias determinísticas (*e.g.*, anadromía genera anadromía y residencia genera residencia) y/o el cruzamiento de las mismas (anadromía genera residencia y viceversa), sobre la base de la relación entre el crecimiento y la determinación de la historia de vida planteada en numerosos estudios en salmónidos con migración parcial (Acolas *et al.* 2012; Páez *et al.* 2011; Thorpe *et al.* 1998), el análisis del retro-cálculo realizado en este estudio mostró que, aunque en menor proporción, algunos individuos que se encontraban en la moda superior durante el otoño al segundo año podrían haber formado parte de la moda inferior de talla durante el primer año (compuesta por peces de origen anádromo y

residente) y viceversa, lo cual indicaría cruzamientos en las trayectorias de crecimiento de los individuos a largo del crecimiento.

De hecho, un estudio previo del origen materno en este río reveló que en 20 adultos de historia de vida conocida el 39% de los adultos anádromos tuvieron madres residentes, mientras que el 44% de los individuos residentes tuvieron madres anádromas (Riva Rossi *et al.* 2007). La existencia de esta proporción menor de individuos con madre del fenotipo alternativo indica claramente que en esta población la herencia de la historia de vida no es absoluta, lo cual permite suponer que el fenotipo materno no determina enteramente el fenotipo futuro de la descendencia (ya sea por causas genéticas directas o indirectas), sino que éste también podría ser modulado por factores de naturaleza ambiental.

Por lo tanto, en el siguiente capítulo se analizará el efecto de las variables ambientales del río Santa Cruz sobre la condición de los juveniles a fin de establecer la influencia del ambiente sobre las trayectorias de desarrollo conducentes a anadromía y residencia.



# CAPÍTULO 4

## **Patrón geográfico y ambiental asociado a la incidencia y producción de ecotipos alternativos**

### **Introducción**

Los patrones geográficos y las condiciones ambientales influyen fuertemente en el desarrollo de los organismos. Si bien la condición individual se encuentra bajo control genético, la expresión fenotípica es ampliamente variable en función de la calidad del ambiente (Aubin-Horth y Dodson 2004; Olsson *et al.* 2006). Varios trabajos han mostrado evidencias de herencia en caracteres asociados a la adopción de historias de vida alternativas en salmónidos con migración parcial (Páez *et al.* 2011, Varian y Nichols 2010). Sin embargo, en muchas poblaciones donde los ecotipos anádromo y residente coexisten en simpatría, éstos son genéticamente indistinguibles y pueden generar descendencia con el ecotipo alternativo (peces residentes hijos de madres anádromas y viceversa) (Curry *et al.* 2010; Narum *et al.* 2004; Rikardsen *et al.* 2004; Riva Rossi *et al.* 2007), evidenciando la importancia de las condiciones ambientales sobre la manifestación de historias de vida alternativas.

En poblaciones de salmónidos el ambiente en el que se desarrollan los juveniles, por lo menos durante su primer año de vida, está determinado por la zona de reproducción de sus madres (Armstrong *et al.* 1994). Los individuos por lo tanto pueden experimentar condiciones ambientales variables de acuerdo al sitio donde nacieron. Las zonas del río pueden variar en sus características físicas de acuerdo a su ubicación en la cuenca, ya que factores como la disponibilidad de alimento, la concentración de sedimentos en el agua o la temperatura presentan en general patrones geográficos o gradientes a lo largo del río (Heino *et al.* 2005; Naiman *et al.* 1987; Vannote *et al.* 1980). Como consecuencia de esta variación ambiental a lo largo del río, el crecimiento y la condición de los juveniles nacidos en distintas zonas también pueden presentar diferencias. A su vez, debido a que la adopción de historias de vida alternativas está asociada a la condición individual, la variación ambiental puede afectar el patrón espacial de producción de anadromía y residencia resultando en zonas particulares del río más propicias para el desarrollo de una u otra estrategia de vida.

En etapas más avanzadas del desarrollo juvenil, los peces crecen y tienden a moverse y ocupar sitios donde el beneficio energético es mayor de acuerdo al balance entre el costo de mantener la posición en aguas corrientes y recibir el flujo de alimento necesario (Fausch 1984; Hill y Grossman 1993; Hughes y Dill 1990). A pesar de que el costo de natación es más alto en sitios de aguas más rápidas también el flujo de alimento es mayor, debido a la relación positiva entre velocidad y deriva de invertebrados (Hughes y Dill 1990). Si bien la velocidad de corriente es la variable que conecta directamente los costos y beneficios de los ambientes para un individuo, pueden existir complejas conexiones con otras variables a nivel de micro-hábitat, como ser entre la fracción de sustrato en el lecho del río y la profundidad. Por ejemplo, el sustrato actúa como barrera natural contra la corriente y la profundidad afecta la incidencia de luz lo que a su vez puede afectar la disponibilidad de alimento (Armstrong 2003).

En los últimos años varios estudios han mostrado evidencia de la conexión entre el uso de hábitat, los costos metabólicos y la adopción de historias de vida alternativas en salmónidos (Finlay *et al.* 2002; Morinville y Rasmussen 2003; 2006). Peces con altas tasas metabólicas se han asociado a ambientes energéticamente costosos (*i.e.*, aguas rápidas) y a la adopción de la estrategia anádroma; como estos peces poseen mayores tasas metabólicas los recursos alimenticios en el río les son insuficientes y por eso deben migrar al océano para continuar el crecimiento (Forseth *et al.* 1999; Gross 1987a). Sin embargo, aún no es claro si las altas tasas metabólicas asociadas a los peces que desarrollarán la estrategia anádroma se deben a las tasas metabólicas estándar intrínsecas de los individuos o, si por el contrario, son consecuencia del uso de hábitat (Thériault *et al.* 2007).

En el río Santa Cruz un experimento de radiotelemetría y muestreos previos de reproductores indican que las áreas de reproducción de truchas arco iris anádromas y residentes se encuentran principalmente en los tramos medio (km de río 200-220) y superior (km de río 40-70) del cauce principal (Riva Rossi *et al.* 2003), mientras que no se encontraron desovantes en el tramo inferior del río. Estos estudios además revelaron que la temporada reproductiva de la forma anádroma se extiende entre junio y octubre, con un pico a fines de septiembre. Por otro lado no se encontraron agregaciones reproductivas de la forma residente, sino que se capturaron individuos residentes sexualmente maduros en zonas de desove anádromas, representando sin embargo una fracción muy baja de los desovantes totales. Debido a ello, la contribución reproductiva de los ecotipos a lo largo del río, como así también el vínculo entre ellas o el patrón espacial o temporal de solapamiento reproductivo se desconocen. Por lo tanto, en esta sección se plantea investigar el patrón espacial de la contribución reproductiva de ambos ecotipos y, además, su asociación con la condición de los juveniles de distinto origen materno a lo largo del río. Esta información permitirá establecer el efecto de la elección de los sitios de desove por las hembras sobre el crecimiento de los juveniles (*i.e.*, efectos maternos indirectos) y a su

vez sobre la eventual expresión de la anadromía. Asimismo la identificación de los tipos de hábitat ocupados por juveniles de distinto origen materno y condición permitirá caracterizar las condiciones físicas (*e.g.*, velocidad de corriente, profundidad, fracción de sustrato, ancho del canal) más asociadas a cada historia de vida durante la fase juvenil.

## Métodos

### Muestreos

En esta sección se analizaron peces de la clase 0+ (primer año de vida) capturados en Abril (2010), Junio (2009) y Septiembre (2010) en siete localidades a lo largo del río (Fig. 2.1). La metodología de captura y el procesamiento de las muestras, así como la estimación de la estructura de tallas y la determinación del origen materno a través del análisis de estroncio/calcio en otolitos se detallan en el Capítulo 2.

### Caracterización ambiental del río Santa Cruz

En las tres campañas mencionadas se tomaron medidas de las variables ambientales/físicas en cada sitio de captura. En Abril y Junio el diseño de muestreo consistió en el relevamiento de sitios con características contrastantes (rápidos vs. lentos, profundos vs. someros) de manera de capturar la mayor variación ambiental. En cambio en Septiembre se muestrearon regularmente sitios cada 6 km a lo largo del río, de manera de caracterizar el gradiente longitudinal del río. En cada campaña los sitios de muestreo fueron delimitados de tal manera que constituyeran unidades homogéneas en cuanto a su velocidad, profundidad y composición de sustrato. Las variables físicas medidas fueron:

- Ancho del canal: se registró el ancho mojado hasta la margen de enfrente del río utilizando un dispositivo de medición láser (TruPulse 200, Laser Technology Inc., Colorado, USA).
- Profundidad promedio del sitio: promedio de tres mediciones a lo largo del sitio
- Velocidad promedio: promedio de tres medidas del tiempo que tardó un objeto flotante en recorrer 25 m lineales del sitio de captura, transformándose luego esta medición a unidades de metros por segundo (m/s).
- Composición del sustrato: siguiendo el método de Wolman (1954), se caracterizó el tamaño de sustrato dominante en cada sitio. Para ello, se tomaron 100 piezas de rodado del sustrato al azar a lo largo de una transecta que recorría al sitio en zig-zag y se registró el diámetro mayor de las mismas. Para este trabajo se analiza el valor promedio de las 100 piezas para cada sitio.

### Patrones espaciales y ambientales asociados a las zonas de producción de anádromía y residencia y a la cría temprana de juveniles

A partir de los datos de origen materno de los peces juveniles capturados en Junio y Septiembre se analizó la proporción de prole anádroma y residente a lo largo del río con el fin de determinar las zonas de reproducción de truchas anádromas y residentes. Para este análisis se evaluó la proporción de anadromía y residencia a lo largo del río en función de la distancia medida desde sus nacientes en el Lago Argentino hasta la zona aledaña a la desembocadura (50 km desde el océano). Se excluyó el muestreo de Abril de este análisis debido a que los sitios del tramo inferior del río no pudieron ser muestreados representativamente debido a complicaciones logísticas asociadas a inclemencias climáticas (Tabla 4.1).

Para este análisis se asume que los peces juveniles durante el primer año de vida se mantuvieron dentro de las localidades donde sus madres desovaron. Estimaciones de movilidad de juveniles en *Salmo salar*, *Salmo trutta* y *O. mykiss* mostraron que durante los primeros años de vida los salmónidos se mantienen restringidos a zonas determinadas del río presentando baja movilidad (Kennedy *et al.* 2002; O'Neal y Stanford 2011; Tattam 2006). Las distancias máximas recorridas registradas fueron de 20 km (Rasmussen *et al.* 2009). Dada la extensión de este río (~350 km) y la separación entre localidades en este estudio (35 a 55 km, salvo el Primer Laberinto y La Porteña separados por 13 km, Fig. 2.1) es válido suponer que los juveniles se mantuvieron dentro de las zonas donde nacieron.

A fin de identificar el uso de hábitat de los juveniles de distinto origen materno en función de las variables físicas que pudieran afectar su crecimiento se evaluó la asociación entre la proporción de progenie anádroma y residente y las distintas características ambientales medidas en los sitios de muestreo: velocidad de corriente, profundidad, ancho del canal y tamaño de sustrato. Éste análisis se realizó utilizando el mismo conjunto de datos que en la sección anterior.

### Patrones ambientales asociados a las trayectorias de crecimiento temprano

Con el fin de determinar la relación entre las variables físicas y la variación en las distribuciones de talla de la población de juveniles en el primer año, una vez que el origen materno se hubo tenido en cuenta, se analizó la relación entre el largo de los individuos, su ubicación en la cuenca y las variables ambientales velocidad de corriente, profundidad, ancho del canal y tamaño de sustrato. Siendo la talla la variable respuesta, resulta muy complejo discriminar el efecto de la ontogenia sobre la variación en la talla de los efectos del resto de las variables, por lo tanto para este análisis se incluyeron los muestreos realizados en otoño únicamente (peces de edad 0+) y no aquellos realizados en septiembre basados en la talla de peces de 1 año de

vida. Además, debido a que los datos recabados en los muestreos de Abril y Junio son los que abarcaron sitios con condiciones más contrastantes se espera que expliquen una fracción mayor de la variación en el crecimiento.

## Análisis de datos

La estimación de los patrones espaciales y ambientales que afectan las zonas de reproducción de formas anádromas y residentes y la cría temprana de los juveniles a lo largo del río se realizó utilizando el mismo modelo. La variable respuesta fue el ecotipo materno de cada individuo (anádromo/residente) y las variables explicativas fueron su ubicación en la cuenca, el mes de captura y las variables ambientales de los sitios dónde fueron capturados.

Este tipo de modelo se conoce como regresión logística y es un caso particular de Modelos Lineales Generalizados (GLM) que se utiliza en los casos donde la variable respuesta es binaria (*e.g.*, anádromo-residente en este estudio). La estimación corresponde a la probabilidad de encontrar el estado bajo estudio (anadromía en el ejemplo anterior) en función de las variables explicativas. Los datos binarios típicamente se relacionan de forma no lineal respecto de las variables explicativas, no presentan varianza constante y los errores no se ajustan a una distribución normal. Por lo tanto los métodos tradicionales de regresión, basados en tales supuestos, generalmente no pueden ser utilizados para analizar este tipo de datos. Los GLM son herramientas estadísticas flexibles que permiten el análisis de datos con estructura no lineal y con heterogeneidad de varianza (Hastie y Tibshirani 1990). Estos modelos utilizan una función de enlace paramétrico que, mediante un predictor, realizan una transformación lineal del valor medio de la variable respuesta. Los GLM proveen una técnica directa y robusta para evaluar la bondad de ajuste, cuyos resultados además son de interpretación sencilla (Guisan y Zimmermann 2000).

Por otro lado los modelos generalizados aditivos (GAM) son herramientas útiles y flexibles para la exploración de la forma general de la variable respuesta en función de las variables explicativas, ya que a diferencia de los GLM utilizan además de un componente paramétrico (*e.g.*, un polinomio) una función suavizante no paramétrica para representar las respuestas no lineales (Hastie y Tibshirani 1990).

En este Capítulo se siguieron dos etapas para el ajuste de los modelos, primero se ajustó un modelo no paramétrico (GAM) para explorar la forma de las variables respuesta y luego se reprodujeron las formas no lineales identificadas mediante funciones polinomiales, las cuales se evaluaron por GLM con métodos paramétricos.

El modelo de regresión logística ajustado en este capítulo se realizó en base a una estructura de error binomial utilizando la función de enlace *logit* (Hastie y Tibshirani 1990) implementado en el software R (versión 2.15.1)(R Development Core Team, 2012). Este proceso permitió modelar la incidencia de origen anádromo en relación con la incidencia de origen residente a lo largo del río y a lo largo de los gradientes ambientales. Se incluyó al momento de captura como co-variable para evaluar si la distribución en la fracción relativa entre progenie alternativa varió con la ontogenia.

Por otro lado, la evaluación de los patrones ambientales sobre las distribuciones de talla se realizó utilizando GLMs con estructura del error normal y función de enlace *identidad* (Hastie y Tibshirani 1990) implementados en R.

Con el fin de obtener los mejores modelos (*i.e.*, modelo mínimo posible dónde todos los parámetros son significativos) se siguió un procedimiento de ajuste substractivo ("backward"), eliminando variables de a una por vez partiendo de un modelo completo (todas las variables incluidas, M1 Tabla 4.2, 4.3). En cada caso se evaluó el aporte explicativo de cada variable mediante análisis de devianza ("deviance") basado en una prueba de  $\chi^2$  ( $\alpha=0.05$ ) con grados de libertad  $n - p - 1$  dónde  $n$ = número de observaciones y  $p$ = número de parámetros (Chambers y Hastie 1992). La devianza residual en GLM es equivalente a la suma de cuadrados residual de un

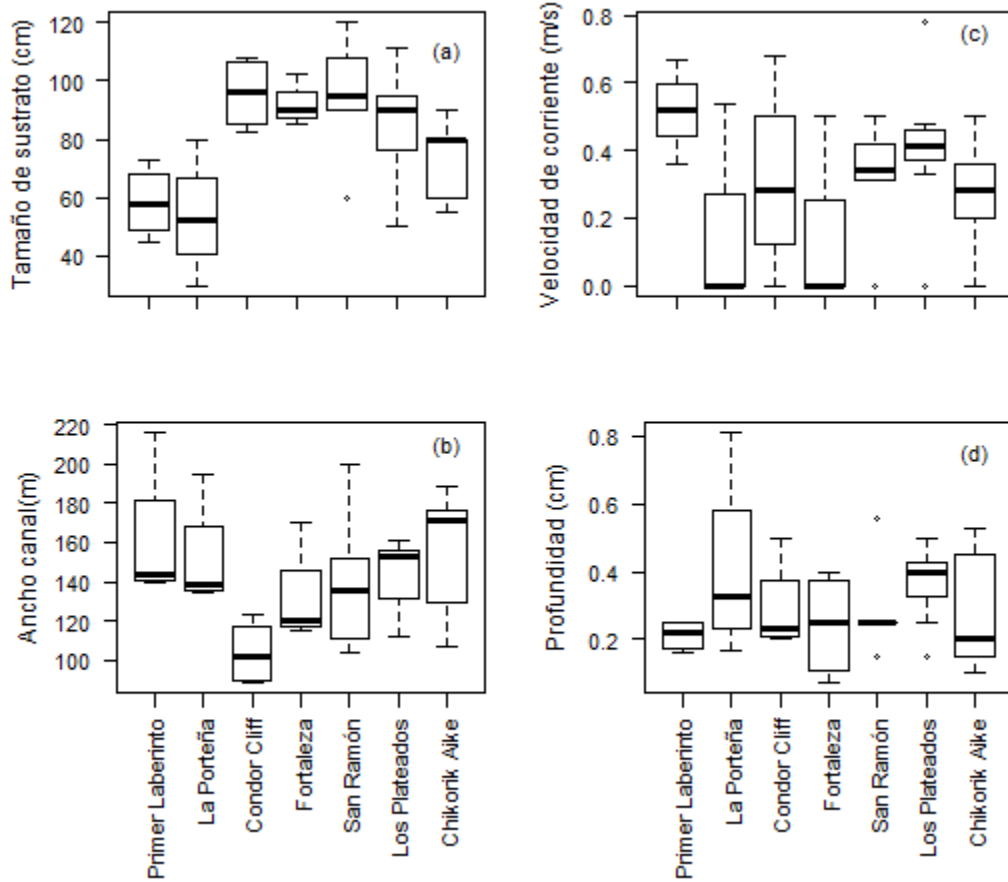


modelo lineal y consiste en la diferencia entre el coeficiente de verosimilitud del modelo saturado (tanta cantidad de parámetros como número de observaciones) y el coeficiente de verosimilitud del modelo ajustado, cuanto menor sea este valor mayor variación se encuentra explicada por el modelo.

## Resultados

### Variación ambiental en el río Santa Cruz

El río Santa Cruz presentó poca estructuración en función de las variables experimentadas por los juveniles a lo largo del río (Fig. 4.1). La composición del sustrato mostró diferencias entre las localidades (ANOVA,  $P < 0.001$ , Fig. 4.1a), con mínimos en las localidades de La Porteña y El Primer Laberinto en la zona alta y tamaños de sustrato máximos en las zonas medias del río, entre las localidades de Condor Cliff y San Ramón. El ancho de canal exhibió el patrón contrario, las medidas más angostas se observaron en la localidad Condor Cliff, donde el tamaño de sustrato fue máximo, a partir de donde exhibió una tendencia a aumentar hacia la boca (Fig. 4.1b), sin embargo estas diferencias no resultaron significativas (ANOVA,  $P > 0.05$ ). Por otro lado, las variables velocidad de corriente y profundidad no mostraron tendencias a lo largo del río (ANOVA,  $P > 0.05$ ) pero sí gran variabilidad entre y dentro de las localidades (Fig. 4.1 c,d).



**Figura 4.1 Variación ambiental del río Santa Cruz en función de las variables de físicas a lo largo de las localidades de estudio registradas Septiembre de 2010**

### Patrones espaciales asociados a la contribución reproductiva de anadromía y residencia

Se capturaron un total de 678 juveniles en las siete localidades de muestreo a lo largo del río en los dos muestreos incluidos en este análisis y se determinó el origen materno de 129 individuos (Tabla 4.1). De éstos, 80.0 (13.5) % [media (d.s)] fueron progenie anádroma, mientras que el 20.0% fue progenie residente, indicando claramente la predominancia del ecotipo anádromo en la población juvenil (Tabla 4.1). La progenie de ambos ecotipos se encontró presente a lo largo de todo el río,

pero siempre la progenie anádroma fue predominante, con una contribución reproductiva promedio entre 67 y 95 % a lo largo del río (Tabla 4.1, Fig. 4.3a). La incidencia más alta de progenie anádroma ocurrió en los primeros 225 km de río (77 y 95 %) y se observó una declinación a partir del km de río 220 (~65% en Los Plateados y Chikorik Aike) donde se observó una mayor incidencia del ecotipo residente (Tabla 4.1).

**Tabla 4.1 Contribución reproductiva del ecotipo anádromo y residente a la población juvenil en las siete localidades de estudio en dos meses de captura y número de individuos determinados de cada origen materno (“N anádromo” y “N residente”)**

Localidad	Mes	N anádromo	N residente	% anádromo	% residente	% Promedio anádromo	% Promedio residente																																																																				
Primer Laberinto	Jun	11	0	100.0	0.0	92.9	7.2																																																																				
	Sep	6	1	85.7	14.3			La Porteña	Jun	7	4	63.6	36.4	76.8	23.2	Sep	9	1	90.0	10.0	Condor Cliff	Sep	10	2	83.3	16.7	83.3	16.7	Fortaleza	Sep	18	1	94.7	5.3	94.7	5.3	San Ramón	Jun	10	2	83.3	16.7	80.1	19.9	Sep	10	3	76.9	23.1	Los Plateados	Sep	10	5	66.7	33.3	66.7	33.3	Chikorik Aike	Jun	8	2	80.0	20.0	67.8	32.2	Sep	5	4	55.6	44.4	Total		104	25	80.0
La Porteña	Jun	7	4	63.6	36.4	76.8	23.2																																																																				
	Sep	9	1	90.0	10.0			Condor Cliff	Sep	10	2	83.3	16.7	83.3	16.7	Fortaleza	Sep	18	1	94.7	5.3	94.7	5.3	San Ramón	Jun	10	2	83.3	16.7	80.1	19.9	Sep	10	3	76.9	23.1	Los Plateados	Sep	10	5	66.7	33.3	66.7	33.3	Chikorik Aike	Jun	8	2	80.0	20.0	67.8	32.2	Sep	5	4	55.6	44.4	Total		104	25	80.0	20.0												
Condor Cliff	Sep	10	2	83.3	16.7	83.3	16.7																																																																				
Fortaleza	Sep	18	1	94.7	5.3	94.7	5.3																																																																				
San Ramón	Jun	10	2	83.3	16.7	80.1	19.9																																																																				
	Sep	10	3	76.9	23.1			Los Plateados	Sep	10	5	66.7	33.3	66.7	33.3	Chikorik Aike	Jun	8	2	80.0	20.0	67.8	32.2	Sep	5	4	55.6	44.4	Total		104	25	80.0	20.0																																									
Los Plateados	Sep	10	5	66.7	33.3	66.7	33.3																																																																				
Chikorik Aike	Jun	8	2	80.0	20.0	67.8	32.2																																																																				
	Sep	5	4	55.6	44.4			Total		104	25	80.0	20.0																																																														
Total		104	25	80.0	20.0																																																																						

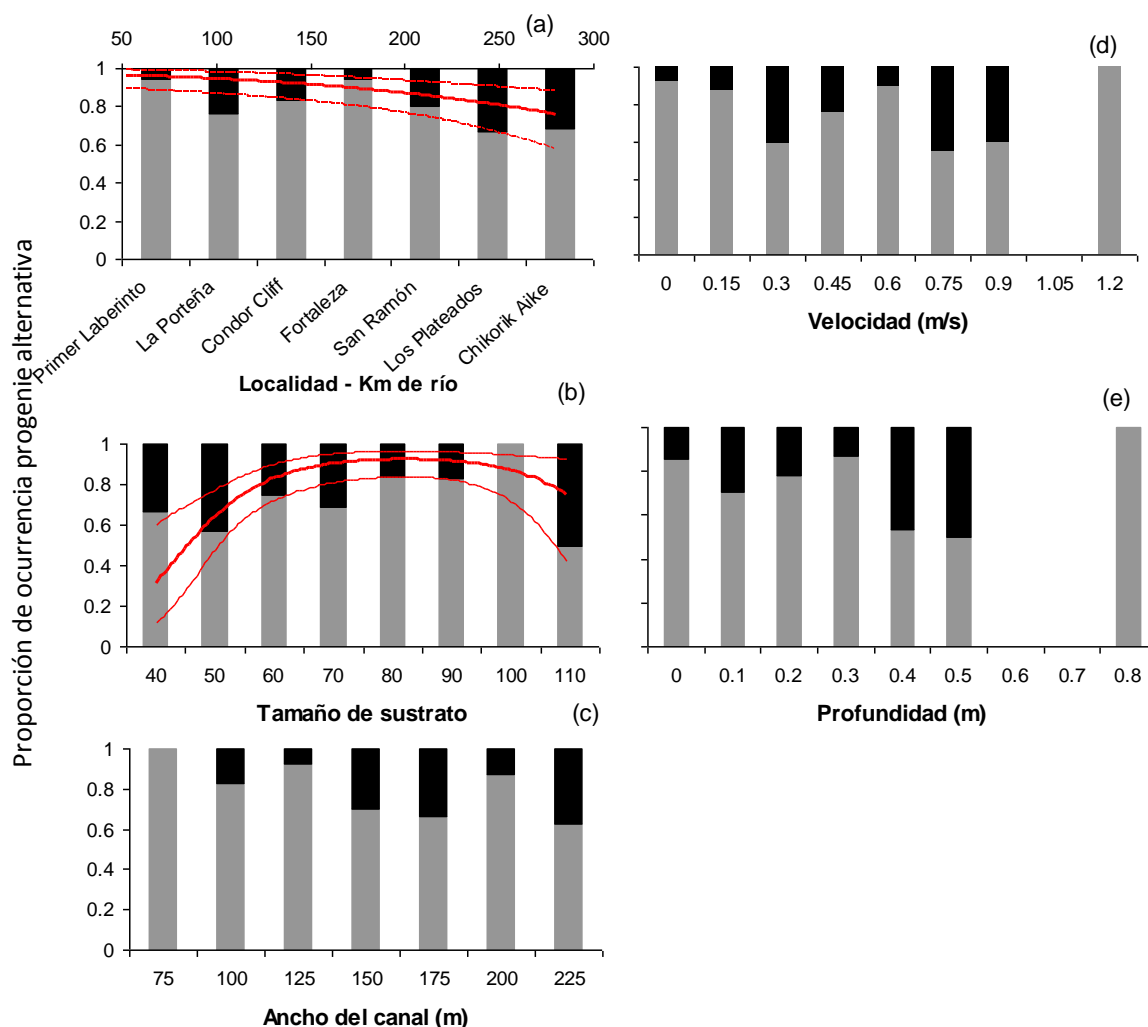
En cuanto a la asociación entre la incidencia relativa de anadromía vs. residencia y el patrón espacial y ambiental, los análisis realizados mediante GAM permitieron identificar la forma de la variable respuesta, origen anádromo/residente, para cada variable analizada. La variable que se alejó de la linealidad fue el tamaño de sustrato, mostrando una función con forma de domo la cual fue incluida en los GLM mediante una función polinomial de primer grado (Fig. 4.2b).

El modelo más complejo (M1, Tabla 4.2) incluyó las variables ubicación en la cuenca, mes de captura, velocidad de corriente, ancho de canal, profundidad y tamaño de sustrato. A partir del modelo complejo se extrajeron secuencialmente las variables menos significativas en el modelo: velocidad de corriente (la extracción resulta en el modelo M2), profundidad (M3), mes de captura (M4), ancho del canal (M5) y se seleccionó el modelo más simple posible donde todas las variables fueron significativas (M5, Tabla 4.2). Según este modelo la contribución reproductiva relativa de ambos ecotipos varía en función del km de río y del tamaño de sustrato. La probabilidad de encontrar progenie anádroma fue mayor en las zonas altas y medias del río y disminuyó hacia las zonas bajas donde la incidencia de la residencia aumentó (Fig. 4.2a). Por otro lado, la probabilidad de encontrar progenie anádroma fue mayor donde el sustrato fue de tamaño intermedio a grande, encontrándose las máximas probabilidades en sitios con sustrato de tamaño entre 80 y 90 cm (Fig. 4.2b). Por otro lado el modelo final estableció que la proporción de juveniles de ambos ecotipos se mantuvo constante a lo largo del rango ambiental determinado por las variables de ancho de canal, velocidad de corriente y profundidad (Fig. 4.2 c,d,e).

**Tabla 4.2 Selección de modelos para la estimación de la proporción de progenie anádroma y residente en función de la ubicación en la cuenca y de las variables ambientales. Se detalla la estructura, los grados de libertad (g.l.), el valor del Criterio de Información de Akaike (AIC) para cada modelo y el valor de probabilidad para las comparaciones de modelos mediante el análisis de Devianza. vel (velocidad promedio), prof (profundidad promedio), sus (tamaño de sustrato), ancho (ancho del canal), km (distancia de río desde naciente).**

Modelo	Estructura	g.l.	Deviance Residual	AIC	Comparación	P(> Chi )
1	km + sus + ancho + mes + prof + vel	114	98.79	114.8		
2	km + sus + ancho + mes + prof	115	98.08	112.8	1 vs 2	0.929
3	km + sus + ancho + mes	116	100.22	112.2	2 vs 3	0.233
4	km + sus + ancho	117	102.82	112.8	3 vs 4	0.107
5	km + sus	118	104.29	112.3	4 vs 5	0.224
6	Nulo*	121	123.7	125.7		

\* Modelo Nulo es aquel que solo tiene el efecto de una constante (ordenada al origen)



**Figura 4.2** Proporción de ocurrencia de la progenie anádroma (barras grises) y residente (barras negras) en función de (a) la ubicación de los individuos en el río y de las variables ambientales: (b) tamaño de sustrato, (c) ancho del canal, (d) velocidad de corriente y (e) profundidad. La línea roja en (a) y (b) representa la estimación del efecto las variables significativas en el modelo final (M5, Tabla 4.2) sobre la proporción de ocurrencia de la progenie anádroma cuando la otra variable se mantuvo constante en el valor promedio. Las líneas finas representan los intervalos de confianza del 95% del modelo.

## Patrones ambientales asociados a las trayectorias de crecimiento temprano

Por otro lado, con el fin de establecer si las distribuciones bimodales de talla (analizadas en el Capítulo 3) se encuentran asociadas a la ubicación de los peces en la cuenca y a sitios con características de hábitat particulares se exploró el efecto de las variables sobre la talla mediante GAM seguidos por GLM. Debido a que este análisis estableció que todas las variables mostraron un efecto lineal sobre la talla (Fig. 4.3) se procedió a la selección de modelos lineales generales simples. A partir del modelo más complejo (M1, Tabla 4.3) conteniendo las variables origen materno, velocidad de corriente, profundidad, tamaño de sustrato, ancho del canal y ubicación en la cuenca, se extrajeron secuencialmente las variables de menor significancia en el modelo. La extracción secuencial del efecto de la ubicación en la cuenca (km) (M2, Tabla 4.3) y del ancho de canal (M3, Tabla 4.3) no afectó significativamente el ajuste y la prueba de *devianza* no permitió rechazar el modelo más simple (M3, Tabla 4.3), indicando que estas variables no explican la variación observada en largo.

El mejor modelo (M3,  $r^2_{aj}=0.62$ ) fue aquel incluyendo las variables origen materno, velocidad de corriente, profundidad y tamaño del sustrato, indicando que los peces de mayor tamaño se encuentran en sitios con mayor velocidad de corriente, más profundos y de mayor tamaño de sustrato (Fig. 4.3, 4.4) independientemente de su ubicación en la cuenca (Tabla 4.3).

**Tabla 4.3 Selección de modelos para el efecto de las variables ambientales y el origen materno sobre el largo de los individuos. Se detalla la estructura, los grados de libertad (g.l.), el valor del Criterio de Información de Akaike (AIC) para cada modelo y el valor de probabilidad para las comparaciones de modelos mediante el análisis de Devianza. OM (origen materno), vel (velocidad promedio), prof (profundidad promedio), sus (tamaño de sustrato), ancho (ancho del canal), km (distancia desde nacimiento).**

Modelo	Estructura	g.l.	Devianza Residual	AIC	Comparación	P(> Chi )
1	OM + vel + prof + sus + ancho + km	52	3318.0	421.2		
2	OM + vel + prof + sus + ancho	53	3319.1	419.2	1 vs 2	0.893
3	OM + vel + prof + sus	54	3371.2	418.1	2 vs 3	0.361
4	Nulo	58	9594.9	471.8		

\* Modelo Nulo es aquel que solo tiene el efecto de una constante (ordenada al origen)



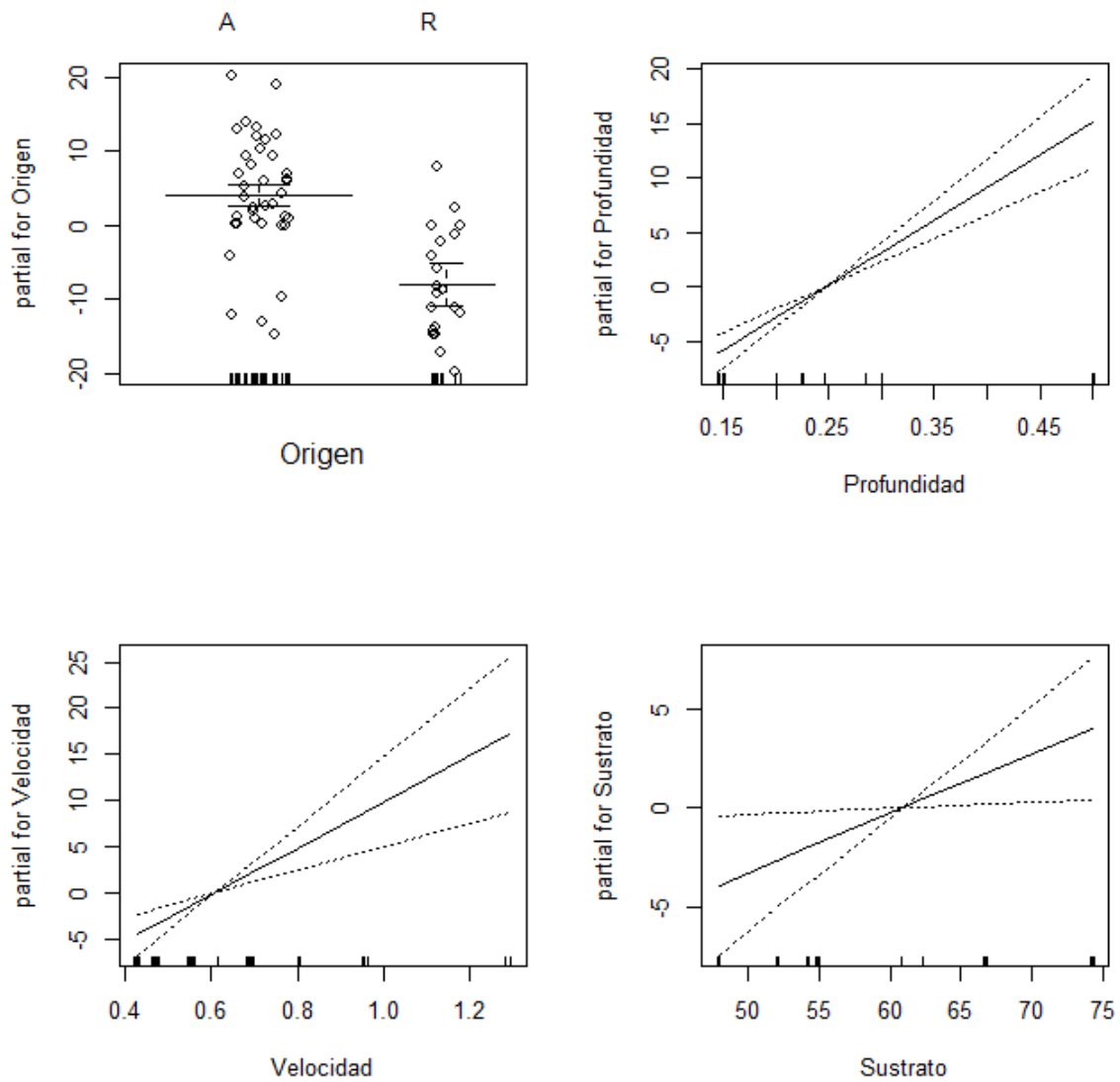


Figura 4.3 Efecto sobre el largo de los términos principales para cada variable incluida en el GLM (M3). Las líneas punteadas corresponden al intervalo de confianza del 95%.

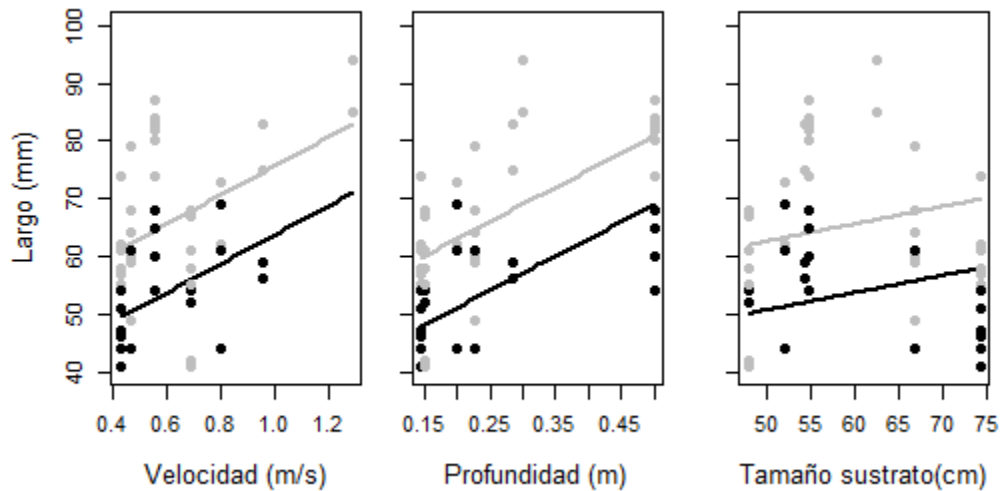


Figura 4.4 Modelo lineal generalizado para la relación entre el largo de los individuos y las variables físicas. Cada panel muestra el efecto de cada variable (líneas) para los peces de origen materno anádromo (gris) y residente (negro) cuando las otras dos variables se mantienen fijas en el valor promedio.

## Discusión

Los resultados de este capítulo revelaron el predominio del ecotipo anádromo en la población de trucha arco iris del río Santa Cruz (~80%) por sobre el ecotipo residente a lo largo de todo el río. Estos resultados son consistentes con las estimaciones obtenidas por el muestreo de desovantes durante las temporadas reproductivas de los años 2000, 2001 y 2004 realizadas por el Grupo de Estudios de Salmónidos Anádromos (GESA - CENPAT). Según estos datos, el 85% de las hembras maduras fueron anádromas mientras que el 15% restante estuvo representado por hembras residentes maduras (N hembras=74). La misma tendencia se observó en las capturas de los machos, el 73% de los machos maduros capturados fueron anádromos mientras que el 27% restante fueron machos residentes (N machos = 77). Si bien en este trabajo sólo se estimó la contribución reproductiva de las hembras (el núcleo del

otolito se forma con los nutrientes del huevo) estos datos reflejan el predominio de la forma anádroma para ambos sexos.

Los ecotipos mostraron solapamiento en las zonas de reproducción, encontrándose progenie de ambos fenotipos maternos en todas las localidades estudiadas, aunque las zonas alta y media del río parecerían ser más favorables para el desarrollo de la anadromía. Resulta interesante destacar que este patrón de descenso de la incidencia de anadromía hacia las zonas bajas se encontró asociado al patrón de abundancia de juveniles (P. Quiroga, tesis doctoral en marcha). Mientras que los picos de mayor densidad de juveniles se encontraron en los tramos medio y superior del río, las menores densidades se observaron a partir del km 220 (P. Quiroga, tesis doctoral en marcha). Esto demuestra que si bien la probabilidad de incidencia de la residencia aumenta hacia la zona baja, el aporte neto a la población juvenil es muy pequeño comparado con la contribución anádroma.

A través de la elección de las zonas con características óptimas para el desove, las hembras anádromas determinan a su vez las características físicas donde tendrá lugar el desarrollo de sus crías. Estas zonas se vieron asociadas a sustratos de tamaño intermedio a grande, lo cual es consistente con la selección de hábitat de desove reportada para este ecotipo ya que en poblaciones de *O. mykiss* que habitan en grandes ríos, las hembras anádromas seleccionan sitios de mayor profundidad y con sustrato más grande que las hembras residentes (Zimmerman y Reeves 2000). Estas características proporcionan el ambiente adecuado para la incubación de los huevos, los que deben permanecer protegidos de los desplazamientos del lecho del río, resguardados de los cambios bruscos de temperatura y de los depredadores. Se ha visto que en especies sin cuidado parental, la elección de zonas de desove por parte de las hembras está relacionada con la supervivencia de los individuos en etapas tempranas del desarrollo (Fleming y Reynolds 2004). El patrón de densidades de juveniles observadas a lo largo del río, donde los picos máximos coinciden con las

zonas de mayor tamaño de sustrato podría responder a este tipo comportamiento parental.

El análisis del crecimiento en función de las variables ambientales mostró que existe una asociación entre la talla de los individuos y las variables de profundidad, velocidad y tamaño de sustrato, pero no entre ésta y su ubicación en la cuenca, lo cual sugiere que si bien la producción de anadromía se concentra en los tramos medio y superior del río, los micro-ambientes con condiciones propicias para el crecimiento de los juveniles se distribuyen a lo largo de todo el río. Este resultado se ve respaldado por el patrón ambiental observado en el río, donde la composición del lecho del río (tamaño de sustrato) mostró un patrón longitudinal con tamaños de sustrato máximo en las zonas medias del río y, en cambio, las variables de profundidad y la velocidad de corriente presentaron gran variación dentro y entre localidades.

Estos resultados también permiten suponer que aunque los peces más largos de origen materno anádromo estén asociados a ambientes más costosos éstos mantienen siempre las ventajas en la eficiencia del crecimiento sobre los juveniles de origen residente. Por otro lado, los peces de menor tamaño, tanto hijos de madres anádromas como de madres residentes, mostraron solapamiento en el uso de hábitat encontrándose restringidos a sitios de aguas más lentas. Esto sugiere que en esta población la determinación temprana del crecimiento por parte de las madres establecería la capacidad de explotación de distintos ambientes por los juveniles y no lo contrario (*i.e.*, las condiciones del hábitat determinan el crecimiento).

Finalmente, las evidencias en trabajos anteriores acerca de la conexión entre el uso de hábitat, la talla y la adopción de historias de vida donde peces de mayor talla que habitan sitios más costosos energéticamente son más propensos a adoptar la historia de vida anádroma (Morinville y Rasmussen 2003, 2006; Nicieza *et al.* 1991; Páez *et al.* 2011) permiten inferir con mayor certeza que los peces de origen anádromo habitando sitios de aguas rápidas (de mayor talla) son los que adoptarán la vida

anádroma. Los peces más pequeños, tanto de origen anádromo como residente, que habitan sitios menos costosos energéticamente podrían continuar bajo esta trayectoria de bajo metabolismo conformando las modas de tallas inferiores y generando más adelante en la ontogenia el cruzamiento de las trayectorias de crecimiento planteadas en el Capítulo 3.

En resumen, los resultados de este Capítulo permiten inferir que existen efectos maternos indirectos a través de la elección de características físicas particulares de los sitios de desove por parte de las hembras que probablemente hayan afectado el desarrollo en etapas muy tempranas pero que este condicionamiento ambiental o efecto materno indirecto no alcanza para explicar las diferencias en largo observadas durante el primer otoño en los juveniles nacidos de madres anádromas y residentes. La modulación del ambiente en todo caso podría estar exacerbando las diferencias entre grupos (entre modas de tallas) ya que los peces de mayor tamaño pueden explotar mayor cantidad de ambientes, acceder a mejores fuentes de alimentación y hábitats que les son favorables energéticamente proveyendo las condiciones para continuar en la trayectoria de alto crecimiento conducente a anadromía.

## **DISCUSIÓN GENERAL**

La migración parcial en peces, cuando una fracción de la población migra desde el agua dulce al océano y la otra permanece como residente en agua dulce, es considerada como uno de los comportamientos más emblemáticos en los salmónidos (Jonsson y Jonsson 1993). Sorprendentemente a pesar del interés y la fascinación que ha despertado este fenómeno en el ámbito científico, son aún escasos los estudios que se enfocan en las causas que promueven la variación en este comportamiento o que evalúan sus posibles consecuencias. Los mecanismos próximos y últimos que subyacen a la migración parcial en los salmónidos no acaban aún de comprenderse y el conocimiento de las consecuencias ecológicas y evolutivas de la migración parcial es limitado (revisado por Chapman et al. 2012).

Dentro de este marco, en esta tesis se dilucidan algunos de los mecanismos y procesos ambientales y de desarrollo críticos que moldean la evolución y diversificación de historias de vida alternativas en salmónidos. Los resultados de este trabajo permiten identificar las características ecológicas y adaptativas que les confieren a los salmónidos su reconocida capacidad de resiliencia frente a cambios en las condiciones y de adaptarse a nuevos escenarios ambientales. Desde el punto de vista aplicado y regional, este conocimiento permite ponderar y predecir los impactos de la alteración a la que se verá enfrentado este sistema, hasta ahora prístino, ante la construcción inminente de dos represas hidroeléctricas que interrumpirán el cauce y alterarán el régimen hidrológico del río Santa Cruz.

En lo que se refiere a las causas próximas, los resultados de este estudio delimitan los principales mecanismos y factores causantes de las divergencias poblacionales durante el desarrollo que desencadenan la historia de vida durante la fase adulto y determinan el predominio de la historia de vida anádroma en esta población. Además de promover su desarrollo, estos mismos mecanismos probablemente hayan contribuido al establecimiento y la persistencia de la anadromía en este río.

El enfoque particular abordado en esta tesis, basado en el seguimiento temporal de la población juvenil, permitió identificar los momentos clave para la determinación de la historia de crecimiento (Capítulo 3) y los factores asociados a la misma (Capítulo 2 y 4). En primer lugar, la condición de los individuos durante el primer año de vida, en particular los primeros meses, definen en gran medida las trayectorias de desarrollo a lo largo de la ontogenia (Capítulo 3). A través de efectos maternos directos (*i.e.*, provisión de energía a través del huevo) e indirectos (*i.e.*, provisión de hábitat adecuado para el desarrollo temprano), las hembras anádromas confieren ventajas iniciales en el crecimiento y la condición de su descendencia, las que persisten a lo largo de la ontogenia (Capítulo 2), alterando así la historia de crecimiento y predeterminando la adopción de la historia de vida futura. Según este escenario, los efectos maternos proveen un mecanismo de auto-perpetuación de la historia de vida anádroma (Capítulo 3). Este mecanismo debe haber jugado un papel primordial en fases iniciales de la introducción de esta especie, fijando luego el comportamiento migratorio en la población.

Por otro lado, bajo este escenario, los juveniles nacidos de hembras residentes, carecen de las ventajas iniciales detentadas por los juveniles de la contraparte por lo que no llegarían a equiparar las condiciones fisiológicas de los juveniles de progenie anádroma, permaneciendo la gran mayoría por debajo de los umbrales de talla para la migración y por debajo de los umbrales de reserva de energía para la maduración en agua dulce, la cual se ha detectado solo en un poca cantidad de individuos de la fracción residente (Ver Capítulo 4).

A pesar de la fuerte predeterminación de la historia de crecimiento, los peces podrían adoptar, aunque en menor proporción, la trayectoria complementaria (*e.g.*, progenie anádroma de menor talla adoptando la trayectoria residente). Así como fue propuesto para esta especie por Satterthwaite *et al.* (2009), las ventanas de mayor sensibilidad se detectaron en otoño. Es en este momento dónde las trayectorias predeterminadas se refuerzan o dónde se podrían generar los cruzamientos entre trayectorias. Durante el primer año (primer ventana de decisión), la talla mostró una fuerte asociación con las variables ambientales a nivel del micro-sitio (profundidad, tamaño de sustrato y velocidad de corriente), indicando la importancia de la disponibilidad de hábitat para el desarrollo de los individuos de acuerdo a sus necesidades energéticas. Sin embargo, el hecho de que el cruzamiento entre trayectorias se produzca en menor proporción pone en evidencia que en esta población el ambiente no ejerce una presión fuerte sobre las trayectorias de desarrollo. Esta característica hace de éste un sistema muy particular, ya que en varias poblaciones se ha observado que los efectos maternos se diluyen luego de los primeros meses de vida (Heath *et al.* 1999; Gilbey *et al.* 2005) y el ambiente tiene la suficiente influencia en el desarrollo como para determinar la historia de vida futura (*e.g.*, *Salmo salar*: Aubin-Horth y Dodson 2004; *Salmo trutta*: Olsson *et al.* 2006).

En los últimos años se han realizado muchos avances en cuanto a la adopción de historias de vida especialmente en *Salmo trutta* (*e.g.*, Forseth *et al.* 1999), *Salmo salar* (*e.g.*, Thorpe *et al.* 1998) y *Salvelinus fontinalis* (*e.g.*, Morinville y Rasmussen 2003). En estas especies, así como en *O. mykiss*, los peces con tasas de crecimiento más altas se han asociado a la migración (Forseth *et al.* 1999; Olsson *et al.* 2006; Riva Rossi 2004; Thériault y Dodson 2003). Sin embargo, mientras que en la primer especie la migración se ha asociado a peces de menor tamaño (Forseth *et al.* 1999; Olsson *et al.* 2006, 2011) en las dos últimas, así como en *O. mykiss*, los peces de mayor tamaño son los que emprenden la migración (Metcalfé 1998; Riva Rossi 2004; Thériault y Dodson 2003). Jonson y Jonsson (2003) propuso que los peces permanecerán en un nicho hasta alcanzar el tamaño asintótico en ese ambiente (*i.e.*, hasta que se encuentran limitados en el crecimiento), momento en



el cual o bien maduran o cambian de nicho (*e.g.*, el océano). Es por esto que de acuerdo a la disponibilidad de alimento en el ambiente, el alcance de la talla límite puede estar asociada a la maduración (si hay suficiente alimento) o a la migración (si los recursos en el agua dulce no son suficientes). Bajo este marco, resulta evidente entonces que en este río los recursos alimenticios no son suficientes para desencadenar la maduración una vez que se ha llegado a la talla límite y, en cambio, la mayoría de la población debe cambiar de nicho para continuar creciendo. Esto también explica porqué el aporte materno inicial es tan importante para la determinación de las trayectorias de crecimiento y de la adopción de la historia de vida. Los peces de origen residente no encuentran los recursos alimenticios suficientes para equiparar en talla a su contraparte.

En relación con las causas últimas de la adopción de historias de vida, en esta tesis se estableció la predominancia numérica del ecotipo anádromo en la población, lo cual atestigua acerca de que las ventajas asociadas al cambio de hábitat de alimentación eclipsan los costos asociados a la migración y al retraso en la maduración. La baja productividad del río Santa Cruz (Miserendino 2001) acoplada con el acceso abierto a una fuente rica y abundante de alimento en el océano (Ciancio 2008) y con la ausencia de predadores naturales promueven una profunda alteración del trade-off entre supervivencia y reproducción en la forma anádroma de este río, la cual en respuesta a las bondades de este nuevo hábitat ha desarrollado un grado de iteroparidad extraordinario en asociación (y no a expensas) con crecimiento y fecundidad elevados, lo que resulta en un monopolio de los beneficios selectivos respecto a aquellos atributos asociados a la residencia [propuesto inicialmente por Riva Rossi (2004)]. Cabe preguntarse entonces por qué y a través de qué mecanismos una táctica con tan bajo éxito reproductivo, y como se vio más arriba, que parecería ser subóptima en términos de crecimiento y condición, es mantenida en la población.

En relación con este punto, una de las causas podría ser el origen reciente de esta población (~ 25 generaciones), según lo cual el mantenimiento del polimorfismo en la población refleja un estado transitorio en el que debido al cambio reciente de

hábitat las presiones selectivas se encuentran debilitadas (“relaxed selection”) y mantienen comportamientos en la población aún cuando estos son subóptimos (*e.g.*, Lahti *et al.* 2009). Por otro lado, considerando la gran capacidad de los salmónidos para generar respuestas rápidas a la selección, es posible que la población ya haya alcanzado el equilibrio y que el mantenimiento del polimorfismo responda a una “estrategia condicional” (Gross 1996; Gross y Repka 1998; Repka y Gross 1995). De acuerdo a esta teoría las tácticas alternativas están reguladas por la misma estrategia genética (cabe recordar que las truchas anádromas y residentes son genéticamente indistinguibles) y aunque los individuos compiten unos con otros adoptando distintas historias de vida, las tácticas en sí no compiten en el sentido evolutivo, ya que ambas pertenecen a la misma estrategia condicional. En este marco aun cuando una táctica presente menor rendimiento reproductivo y menor supervivencia, como es el caso de la fracción residente en esta población, ésta es mantenida por el mecanismo de estrategia condicional, la cual evoluciona de manera de maximizar el fitness de los individuos, esencialmente permitiendo a cada individuo maximizar su potencial adoptando la táctica que le es más beneficiosa.

Debido a que la adopción de tácticas alternativas dependen de la relación entre umbrales genéticos y las condiciones fisiológicas de los individuos que son controladas en parte por el ambiente (*i.e.*, plasticidad fenotípica, estrategia condicional), todos los peces tienen el potencial innato de desarrollar ambas trayectorias de desarrollo (Capítulo 3, Chapman *et al.* 2012). Esta plasticidad fenotípica les confiere a las poblaciones con migración parcial resiliencia frente a variaciones en el ambiente, pudiendo mantener la capacidad de producir ambos fenotipos aun cuando alguno de éstos no se exprese por algún período de tiempo (RSRP 2004; Thrower *et al.* 2004). Es por esto que en poblaciones del rango nativo dónde la fracción anádroma se encuentra seriamente afectada por los cambios antrópicos (*e.g.*, construcción de diques y represas) los esfuerzos de conservación se concentran en preservar saludables ambas formas en la población y no sólo la fracción anádroma (RSRP 2004; Kostow 2003).

En este contexto, en esta tesis se generó información acerca del rol de los efectos maternos sobre las trayectorias de desarrollo desencadenantes de anadromía y residencia, de las variables y el status fisiológico que se encuentran más asociadas a la expresión de la historia de vida, de los factores ambientales que modulan estas trayectorias y de los posibles momentos en los que éstas afectan la decisión de historia de vida, la cual resulta clave para el entendimiento de la relación ecológica y evolutiva entre las formas que conviven en simpatria y aporta información muy valiosa para la preservación de los mecanismos fisiológicos y procesos ecológicos que regulan la expresión y el mantenimiento de esta estrategia en el rango nativo. A escala regional, los resultados de esta tesis permiten realizar algunas predicciones acerca de cuál puede ser la respuesta de la población y de cada historia de vida luego del emplazamiento de dos megarepresas hidroeléctricas en el río Santa Cruz. Las mismas estarán ubicadas en las cercanías de la estancia Condor Cliff (localidad estudiada en esta tesis, km 118, Fig. 2.1) y La Barrancosa (ubicada entre las localidades de Fortaleza y San Ramón de esta tesis, km 185, Fig. 2.1) y resultarán en la inundación de dos tercios del río e interrumpirán el corredor migratorio (Pascual *et al.* 2005). En varios sistemas con emprendimientos similares, la reserva de agua por parte de las represas afecta la cantidad y la periodicidad de la descarga de caudal así como la conformación de las variables físicas del río como la velocidad de la corriente, la química del agua y la temperatura; además de inundar áreas de importancia para el desove y el crecimiento de los peces (NRC 1996). Según la información generada en esta tesis, este emprendimiento inundará las zonas más productivas para la población de trucha arco iris en general y para la forma anádroma en particular (río arriba del km 220, Capítulo 4) y dejará bajo agua las zonas con las características físicas identificadas en esta tesis como mediadoras del efecto materno indirecto que afectan las primeras fases del desarrollo juvenil (composición del lecho del río en cuanto al tamaño de sustrato entre las localidades de Condor Cliff y San Ramón, Capítulo 4). Las zonas remanentes serán entonces las secciones bajas del río donde la densidad de juveniles y la contribución del ecotipo anádromo son menores. La contribución de esta sección del río a la persistencia de la anadromía, es sin

embargo, incierta; debido a que el caudal y la temperatura afectan el desove en los adultos, a la emergencia de los fry y la migración de los smolts. Los cambios en estas variables debido al funcionamiento de la represa podría generar un desacople entre las señales ambientales y los mecanismos fisiológicos que disparan la anadromía, lo cual pondría en riesgo la persistencia de esta táctica en esta población.

En esta tesis se demostró que en el río Santa Cruz donde la productividad (disponibilidad de alimento) es baja, el aporte materno inicial es crucial para las oportunidades de crecimiento y supervivencia de los individuos y tiene importantes consecuencias sobre las historias de vida de la población. Particularmente, debido a que en esta población, como en otras con anadromía parcial, la adopción de la historia de vida se encuentra fuertemente ligada un crecimiento temprano elevado, en esta tesis se plantea que el efecto materno puede estar operando como un mecanismo de perpetuación de la estrategia anádroma, afectando positivamente las oportunidades de crecimiento de los individuos y de este modo facilitando la colonización original y la persistencia actual de una población saludable en una cuenca de otro modo inhóspita. Cabe esperar entonces que ante una posible extirpación de la forma anádroma del río Santa Cruz por efecto de las represas, la fracción remanente será capaz de volver a recrear las condiciones y comportamientos que promovieron la evolución de la anadromía en la instancia anterior, durante la introducción única y original de la especie en el río Santa Cruz.

Paradójicamente de esta situación desalentadora surgen nuevos desafíos académicos ya que la construcción de las represas proveerá un experimento natural que permitirá comprender en más detalle la relación entre las formas o tácticas, la capacidad de subsidiarse entre ellas y ponderar la importancia relativa de los efectos maternos y la variabilidad en la disponibilidad de hábitat para el desarrollo de las trayectorias de crecimiento conducentes a anadromía y residencia. El desafío a escala regional será responder a la inquietud de los

beneficiarios de la pesca recreativa y utilizar los resultados de este trabajo como base para mitigar los efectos de la construcción de las represas.

## **Agradecimientos**

Quisiera agradecer en primer lugar a mi país y al sistema de ciencia que me permitieron forjar mi vocación viviendo de ello mientras tanto.

Le agradezco profundamente a mis directores, Carla por todos estos años de trabajo ameno y apasionante, por contagiarme las ganas de entender, por dejarme ser y hacer y por no dejarme tanto y por acompañarme codo a codo en todo el proceso; Miguel por ser mi guía de la buena ciencia y el gurú de lo que está por venir. Ambos siempre presentes y dispuestos a escuchar, ayudar y criticar (constructivamente).

Agradezco a los integrantes del GESA, Julito, Javi, Pame, Marina, Caro y Martín por toda su colaboración en temas tan variados como las campañas, los análisis, los muestreos, sin ellos esto no hubiera sido lo que es. A Cynthia, que aunque corta su estancia, generó un ambiente de amistad, compañerismo y buena onda que dejará su marca en los recuerdos de los últimos años de mi doctorado.

Al CENPAT y su tan variada comunidad (personal de apoyo, becarios, investigadores, pasantes) que facilita enormemente el desarrollo de nuestras tesis y proyectos de investigación. Le agradezco especialmente a Fabián Quiroga por su colaboración, buen humor, predisposición y sobre todo asistencia durante las campañas.

A la Universidad Nacional de Córdoba y su personal por su organización, apoyo e impecable atención durante todos estos años y por permitirme realizar mi carrera doctoral desde la Patagonia árida.

A Marilyn Fogel (Carnegie Institution of Washington, Geophysical Laboratory, Washington D.C.) y Jessica Miller (Oregon State University, Oregon) por confiar en mí y abrirme las puertas a recursos que de otra manera me hubiera sido imposible conseguir. A la organización Conservation, Research and Education Opportunities

(CREO) por la beca de viaje otorgada que me permitió conocer otras realidades y gente muy valiosa.

También quisiera agradecer a los dueños, encargados y “ciudadanos” de las estancias San Ramón, Chikorik Aike, Los Plateados, La Porteña, La Martina y La Marina por su invaluable colaboración durante las campañas que me dejaron los recuerdos más bonitos de la vida en la naturaleza junto a este río magnífico. A Ruben Hudson y los trabajadores de la piscicultura de la Isla Pavón quienes siempre prestaron una mano (y sobre todo anestesia para los peces!).

Estos años de mi vida no hubieran sido tan gratificantes sin la presencia de mis amigos, Pitu corazón, Magda, Gastón, Cari, el Colo, Naty, y a la distancia Jenny, Anita, Eli, Iñaki, Luis, Marco, Fede y Omar. El hogar Harguinteguy y toda la tropa asociada. Les doy las gracias por estar siempre conmigo. Quisiera agradecer también a mis profesores de música, Facu y Carlos, mi cable al cielo en los momentos difíciles, por imprimir pasión en mis latidos y creatividad en mis dedos.

Mi familia siempre por sobre mi alma, cuidando y compartiendo mi vida; a mis papás les agradezco con todo lo que me es posible por apoyarme en todas las decisiones y permitirme migrar adónde me sentía más cómoda (como animal que soy no escapo a las reglas generales) y seguir acompañándome en el trayecto.

A Martín, mi compañía, mi contención, mi base, mi techo, mi abrigo. Gracias.

El presente trabajo fue financiado por el Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) y la Agencia Nacional para la Promoción de la Ciencia y la Tecnología (ANPCyT)

## Bibliografía

Acolas M. L., Labonne J., Baglinière J. L. y Roussel J. M. (2012) The role of body size versus growth on the decision to migrate: a case study with *Salmo trutta*. *Naturwissenschaften* **99**, 11-21.

Adis J. y Junk W. J. (2004) Terrestrial invertebrates inhabiting lowland river floodplains of Central Amazonia and Central Europe: a review. *Freshwater Biology* **47**, 711-31.

Akaike H. (1974) A new look at statistical model identification. *Transactions of Automatic Control* **AC-19**, 6.

Armstrong J. D. (2003) Habitat requirements of Atlantic salmon and brown trout in rivers and streams. *Fisheries Research* **62**, 143-70.

Armstrong J. D., Shackley P. E. y Gardiner. R. (1994) Redistribution of juvenile salmonid fishes after localized catastrophic depletion. *Journal of Fish Biology* **45**, 1027-39.

Aubin-Horth N. y Dodson J. J. (2002) Impact of differential energy allocation in Atlantic salmon (*Salmo salar*) precocious males on otolith- somatic size proportionality: a longitudinal approach. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **59**, 1575-83.

Aubin-Horth N. y Dodson J. J. (2004) Influence of individual body size and variable thresholds on the incidence of a sneaker male reproductive tactic in Atlantic salmon. *Evolution* **58**, 136-44.

Bagenal T. B. (1974) Ageing of fish. In: *Proceedings of International Symposium on Ageing of Fish*. The Gresham Press, Surrey.

Battacharya G. G. (1967) A simple method of resolution of distributions in Gaussian components. *Biometrics* **75**, 717-22.

Beckman R. y Dickhoff W. W. (1998) Plasticity of smolting in spring chinook salmon: relation to growth and insulin-like growth factor-IB. *Journal of Fish Biology* **53**, 808-26.



- Benton T. G., Plaistow S. J., Beckerman a. P., Lapsley C. T. y Littlejohns S. (2005) Changes in maternal investment in eggs can affect population dynamics. *Proceedings. Biological sciences / The Royal Society* **272**, 1351-6.
- Bernardo J. (1996) Maternal Effects in Animal Ecology. *American Zoologist* **36**, 83-105.
- Bilton H. T. (1985) The body-scale relationship for adult sockeye (*Oncorhynchus nerka*), pink (*O. gorbuscha*), chum salmon (*O. keta*) and chinook salmon (*O. tshawytscha*). p. 23. Canadian Technical Report of Fisheries and Aquatic Sciences.
- Block B. A., Teo S. L., Walli A., Boustany A., Stokesbury M. J., Farwell C. J., *et al.* (2005) Electronic tagging and population structure of Atlantic bluefin tuna. *Nature (London)* **434**, 1121-7.
- Bohlin T., Pettersson J. y Degerman E. (2001) Population density of migratory and resident brown trout *Salmo trutta* in relation to altitude: evidence for a migration cost. *Journal of Animal Ecology* **70**, 112-21.
- Bond M. H., Hayes S. A., Hanson C. V. y MacFarlane R. B. (2008) Marine survival of steelhead (*Oncorhynchus mykiss*) enhanced by a seasonally closed estuary. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **65**, 2242-52.
- Brower L. P. y Malcolm S. B. (1991) Animal migrations: endangered phenomena. *American Zoologist* **31**, 265-76.
- Campana S. E. (1983) Feeding periodicity and the production of daily growth increments in otoliths of steelhead (*Salmo gairdneri*) and starry flounder (*Platichthys stellatus*) *Canadian Journal of Zoology* **61**, 1591-7.
- Campana S. E. (1984) Lunar cycles of otolith growth in the juvenile starry flounder, *Platichthys stellatus*. *Marine Biology* **80**, 239±46.
- Campana S. E. (1990) How reliable are growth back-calculations based on otoliths?. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **47**, 2219 - 27.
- Ciancio J. E. (2008) Distribución oceánica, ecología trófica y potencial impacto de salmónidos exóticos en el litoral marítimo patagónico. In: *Universidad Nacional del Comahue*, Bariloche.
- Ciancio J. E., Pascual M. A., Botto F., Amaya Santi M., O'Neal S., Riva Rossi C. M., *et al.* (2008) Stable isotope profiles of partially migratory salmonid populations in Atlantic rivers of Patagonia. *Journal of Fish Biology* **72**, 1708-19.

- Cossette C. y Rodriguez M. A. (2004) Summer use of a small stream by fish and crayfish and exchanges with adjacent lentic macrohabitats. *Freshwater Biology* **49**, 931-44.
- Cross A. D., Beauchamp D. a., Myers K. W. y Moss J. H. (2008) Early Marine Growth of Pink Salmon in Prince William Sound and the Coastal Gulf of Alaska During Years of Low and High Survival. *Transactions of the American Fisheries Society* **137**, 927-39.
- Curry R. A. (2005) Assessing the reproductive contributions of sympatric anadromous and freshwater-resident brook trout. *Journal of Fish Biology* **66**, 741-57.
- Curry R. A., Bernatchez L., Whoriskey F. y Audet C. (2010) The origins and persistence of anadromy in brook charr. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* **20**, 557-70.
- Chambers J. y Hastie T. (1992) Statistical models. In: *S. wadsworth & Brooks/Cole Advance Book & Software*, California.
- Chapman B. B., Hulthén K., Brodersen J., Nilsson P. A., Skov C., Hansson L.-A., et al. (2012) Partial migration in fishes: causes and consequences. *Journal of Fish Biology* **81**, 456-78.
- Chernoff E. y Curry R. A. (2007) First summer growth predetermined in anadromous and resident brook charr. *Journal of Fish Biology* **70**, 334-46.
- Degens E. T., Deuser W. G. y Haedrich R. L. (1969) Molecular structure and composition of fish otoliths. *Marine Biology* **2**, 105 - 13.
- Dockx C., Brower L. P., Wassenaar L. I. y Hobson K. A. (2004) Do North American monarch butterflies travel to Cuba? - Stable isotope and chemical tracer techniques. *Ecological Applications* **14**, 1106-14.
- Doucett R. R., Hooper W. y Power G. (1999) Identification of anadromous and nonanadromous adult brook trout and their progeny in the Tabusintac River, New Brunswick, by means of multiple-stable-isotope analysis. *Transactions of the American Fisheries Society* **128**, 278-88.
- Ducharme L. J. (1969) Atlantic salmon returning for their fifth and sixth consecutive spawning trips. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada* **26**, 1661 - 4.
- Dyer B. (2000) Systematic review and biogeography of the freshwater fishes of Chile. *Estud. Oceanol* **19**, 77-98.

- Einum S. y Fleming I. A. (1999) Maternal effects of egg size in brown trout (*Salmo trutta*): norms of reaction to environmental quality. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* **266**, 2095-100.
- Fausch K. D. (1984) Profitable stream positions for salmonids: relating specific growth rate to net energy gain. *Canadian Journal of Zoology* **62**, 441-51.
- Finlay J. C., Khandwala S. y Power M. E. (2002) Spatial Scales of Carbon Flow in a River Food Web. *Ecology* **83**, 1845-59.
- Fisher J. P. y Pearcy W. G. (1990) Spacing of scale circulus versus growth rate in young coho salmon. *Fishery Bulletin* **88**, 637-43.
- Fleming I. A. y Gross M. R. (1990) Latitudinal clines: a trade-off between egg number and size in Pacific salmon. *Ecology* **71**, 1-11.
- Fleming I. A. y Reynolds J. D. (2004) Salmon breeding systems. In: *Evolution Illuminated, Salmon and Their Relatives* (eds A. P. Hendry and S. C. Stearns) pp. 264-94. Oxford University Press, New York.
- Forseth T., Naesje T. F., Jonsson B. y Harsaker K. (1999) Juvenile migration in brown trout: a consequence of energetic state. *Journal of Animal Ecology* **68**, 783-93.
- Fowler M. S. (2005) Interactions between maternal effects and dispersal. *Oikos* **110**, 81-90.
- Francis R. I. C. C. (1990) Back-calculation of fish length: a critical review. *Journal of Fish Biology* **36**, 883-902.
- Fukuwaka M. y Kaeriyama M. (1997) Scale analyses to estimate somatic growth in sockeye salmon, *Oncorhynchus nerka*. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **54**, 631-6.
- Gabriel K. R. (1971) The biplot graphic display of matrices with application to principal component analysis. *Biometrika* **58**, 453-67.
- Gauldie R. W. y Nelson D. G. A. (1988) Aragonite twinning and neuroprotein secretion are the cause of daily growth rings in fish otoliths. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A* **97**, 461 - 74.
- Geffen A. J. (1996) Effect of experimental manipulation of feeding conditions on the population structure of larval Cod (*Gadus morhua*) and Herring (*Clupea harengus*). *Marine and Freshwater Research* **47**, 291-300.

- Gilbey J., McLay A., Houlihan D. y Verspoor E. (2005) Individual-level analysis of pre- and post first-feed growth and development in Atlantic salmon. *Journal of Fish Biology* **44**, 1359-69.
- Gross M. R. (1987a) Evolution of diadromy in fishes. *American Fisheries Society Symposium* **1**, 14-25.
- Gross M. R. (1987b) Evolution of diadromy in fishes. In: *Common strategies of anadromous and catadromous fishes* (eds M. J. Dadswell, R. J. Klauda, C. M. Moffitt, R. L. Saunders, R. A. Rulifson and J. E. Cooper) pp. 14 - 25. American Fisheries Society Symposium, Bethesda.
- Gross M. R. (1996) Alternative reproductive strategies and tactics: diversity within sexes. *Trends in Ecology and Evolution* **11**, 92-8.
- Gross M. R. y Repka J. (1998) Stability with inheritance in the conditional strategy. *Journal of Theoretical Biology* **192**, 445-53.
- Guisan A. y Zimmermann N. (2000) Predictive habitat distribution models in ecology. *Ecological Modelling* **135**, 147-86.
- Hallock R. J., Van Woert W. F. y Shapovalov L. (1961) An evaluation of stocking hatchery-reared steelhead rainbow trout (*Salmo gairdneri gairdneri*) in the Sacramento River System. *Fishery Bulletin* **114**, 1-74.
- Hasselblad V. (1966) Estimation of parameters for a mixture of normal distributions. *Technometrics* **8**, 431-44.
- Hastie T. y Tibshirani R. (1990) *Generalized Additive Models*. Chapman & Hal. Chapman & Hal, London.
- Heath D. D., Fox C. W. y Heath J. W. (1999) Maternal effects on offspring size: variation through early development of chinook salmon. *Evolution* **53**, 1605-11.
- Hecht B. C., Thrower F. P., Hale M. C., Miller M. R. y Nichols K. M. (2012) Genetic architecture of migration-related traits in rainbow and steelhead trout, *Oncorhynchus mykiss*. *G3* **2**, 1113-27.
- Heggenes J. y Metcalfe N. B. (1991) Bimodal size distributions in wild juvenile Atlantic salmon populations and their relationship with age at smolt migration. *Journal of Fish Biology* **39**, 905-7.
- Heino J., Parviainen J., Paavola R., Jehle M., Louhi P. y Muotka T. (2005) Characterizing macroinvertebrate assemblage structure in relation to stream size and tributary position. *Hydrobiologia* **539**, 121-30.

- Hendry A. P., Bohlin T., Jonsson B. y Berg O. K. (2004) To sea or not to sea? Anadromy versus non-anadromy in salmonids. In: *Evolution Illuminated, Salmon and their relatives* (eds A. P. Hendry and S. C. Stearns) pp. 92 - 125. Oxford University Press, New York.
- Herremans M. (2004) Effects of drought on birds in the Kalahari, Botswana. *Ostrich* **75**, 217-27.
- Hill J. y Grossman G. D. (1993) An energetic model of microhabitat use for rainbow trout and rosyside dace. *Ecology* **74**, 685-98.
- Hirche H. G. (1996) Diapause in the marine copepod, *Calanus finmarchicus* - A review. *Ophelia* **44**, 129-43.
- Honkoop P. J. C., Van der Meer J., Beukema J. J. y Kwast D. (1999) Reproductive investment in the intertidal bivalve *Macoma balthica*. *Journal of Sea Research* **41**, 203-12.
- Houde A. L. S., Fraser D. J., Reilly P. O. y Hutchings J. A. (2011) Maternal and paternal effects on fitness correlates in outbred and inbred atlantic salmon (*Salmo salar*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **549**, 534-49.
- Hughes N. F. y Dill L. M. (1990) Position choice by drift-feeding salmonids: model and test for Arctic grayling (*Thymallus arcticus*) in subarctic mountain streams, interior Alaska. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **47**, 2039-48.
- Hutchings J. A. (1991) Fitness consequences of variation in egg size and food abundance in brook trout *Salvelinus fontinalis*. *Evolution* **45**, 1162-8.
- Jardine T., Chernoff E. y Curry R. (2008) Maternal transfer of carbon and nitrogen to progeny of sea-run and resident brook trout (*Salvelinus fontinalis*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **65**, 2201-10.
- Jonsson B. (1985) Life history patterns of freshwater resident and sea - run migrant brown trout in Norway. *Transactions of the American Fisheries Society* **114**, 182 - 94.
- Jonsson B. y Jonsson N. (1993) Partial migration: niche shift versus sexual maturation in fishes. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* **3**, 348-65.
- Jonsson N. y Jonsson B. (1998) Body composition and energy allocation in life-history stages of brown trout. *Journal of Fish Biology* **53**, 1306-16.
- Kalish J. M. (1990) Use of otolith microchemistry to distinguish the progeny of sympatric anadromous and non-anadromous salmonids. *Fishery Bulletin* **88**, 657-66.

- Kamler E. (2005) Parent–egg–progeny relationships in teleost fishes: An energetics perspective. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* **15**, 399-421.
- Karakiri M., Berghahan R. B. y Von Westernhagen H. (1989) Growth differences in 0-group plaice *Pleuronectes platessa* as revealed by otolith microstructure analysis. *Marine Ecology Progress Series* **55**, 15-22.
- Kennedy B. P., Klaue A., Blum J. D., Folt C. L. y Nislow K. H. (2002) Reconstructing the lives of fish using Sr isotopes in otoliths. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **59**, 925–9.
- Kostow K. (2003) Factors that Influence Evolutionarily Significant Unit Boundaries and Status Assessment in a Highly Polymorphic Species, *Oncorhynchus mykiss*, in the Columbia Basin. p. 122. Oregon Department of Fish and Wildlife, Seattle, WA.
- Kraus R. T. y Secor D. H. (2004) Incorporation of strontium into otoliths of an estuarine fish. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* **302**, 85– 106.
- Lahti D., Johnson N., Ajie B., Otto S., Hendry A., Blumstein D., *et al.* (2009) Relaxed selection in the wild. *Trends in Ecology and Evolution* **24**, 487-96.
- Liberoff A. L., Riva Rossi C. M., Ciancio J. E. y Pascual M. (2011) Plastic response to a novel environment by exotic anadromous rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). In: *2nd World Conference on Biological Invasions and Ecosystem Functioning*, Mar del Plata, Argentina.
- Malecki R. A., Batt B. D. G. y Sheaffer S. E. (2001) Spatial and temporal distribution of Atlantic population Canada geese. *Journal of Wildlife Management* **65**, 242-7.
- Mariotti A. (1983) Atmospheric nitrogen is a reliable standard for natural <sup>15</sup>N abundance measurements. *Nature (London)* **303**, 251–2.
- McMillan J. R., Dunham J. B., Reeves G. H., Mills J. S. y Jordan C. E. (2012) Individual condition and stream temperature influence early maturation of rainbow and steelhead trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Environmental Biology of Fishes* **93**, 343-55.
- Mehner T. y Kasprzak P. (2011) Partial diel vertical migrations in pelagic fish. *Journal of Animal Ecology* **80**, 761-70.
- Metcalf N. B. (1998) The interaction between behavior and physiology in determining life history patterns in atlantic salmon (*Salmo salar*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **55**, 93-103.
- Metcalf N. B. y Thorpe J. (1992) Early predictors of life-history events: the link between first feeding date, dominance and seaward migration in Atlantic salmon, *Salmo salar L.* *Journal of Fish Biology* **41**, 93-9.

- Miller J. M. y Kent A. J. R. (2009) The determination of maternal run time in juvenile Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) based on Sr/Ca and  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  within otolith cores. *Fisheries Research* **95**, 373-8.
- Miserendino M. L. (2001) Macroinvertebrate assemblages in Andean Patagonian rivers and streams: environmental relationships. *Hydrobiologia* **4444**, 147-58.
- Modin J., Fagerholm B., Gunnarsson B. y Pihl L. (1996) Changes in otolith microstructure at metamorphosis of plaice, *Pleuronectes platessa* L. *ICES Journal of Marine Research* **53**, 745-8.
- Morinville G. R. y Rasmussen J. B. (2003) Early juvenile bioenergetic differences between anadromous and resident brook trout (*Salvelinus fontinalis*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **60**, 401-10.
- Morinville G. R. y Rasmussen J. B. (2006) Does life-history variability in salmonids affect habitat use by juveniles? A comparison among streams open and closed to anadromy. *The Journal of animal ecology* **75**, 693-704.
- Morinville G. R. y Rasmussen J. B. (2008) Distinguishing between juvenile anadromous and resident brook trout (*Salvelinus fontinalis*) using morphology. *Environmental Biology of Fishes* **81**, 171-84.
- Morita K. (2001) Back-calculation of fork length of white-spotted charr from scales: a comparison between major and minor axes measurements. *Journal of Fish Biology* **59**, 1104-7.
- Morita K. y Takashima Y. (1998) Effect of female size on fecundity and egg size in white-spotted charr: comparison between sea-run and resident forms. *Journal of Fish Biology* **53**, 1140-2.
- Mugiya Y. (1987) Phase difference between calcification and organic matrix formation in the diurnal growth of otoliths in the rainbow trout, *Salmo gairdneri*. *Fishery Bulletin US* **85**, 395 - 401.
- Murchie K. J. y Power M. (2004) Growth- and feeding-related isotopic dilution and enrichment patterns in young-of-the-year yellow perch (*Perca flavescens*). *Freshwater Biology* **49**, 41-54.
- Nagler J. J., Parsons J. E. y Cloud J. G. (2000) Single pair mating indicates maternal effects on embryo survival in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture* **184**, 177-83.
- Naiman R. J., Melillo J. M., Lock M. A., Ford T. M. y Reice S. R. (1987) Longitudinal Patterns of Ecosystem Processes and Community Structure in a Subarctic River Continuum. *Ecology* **68**, 1139 - 56.

- Narum S. R., Contor C., Talbot A. y Powell M. S. (2004) Genetic divergence of sympatric resident and anadromous forms of *Oncorhynchus mykiss* in the Walla Walla River, U.S.A. *Journal of Fish Biology* **65**, 471-88.
- Neilson J., Geen G. y Bottom D. (1985) Estuarine growth of juvenile chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) as inferred from otolith microstructure. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **42**, 899-908.
- Nicieza A. G., Braña F. y Toledo M. M. (1991) Development of length-bimodality and smolting in wild stocks of Atlantic salmon, *Salmo salar* L., under different growth conditions. *Journal of Fish Biology* **38**, 509-23.
- Nichols K. M., Edo A. F., Wheeler P. a. y Thorgaard G. H. (2008) The genetic basis of smoltification-related traits in *Oncorhynchus mykiss*. *Genetics* **179**, 1559-75.
- Nielsen C., Aarestrup K., Nørum U. y Madsen S. S. (2003) Pre-migratory differentiation of wild brown trout into migrant and resident individuals. *Journal of Fish Biology* **63**, 1184-96.
- Nordeng H. (1983) Solution to "char problem" based on Arctic char (*Salvelinus alpinus*) in Norway. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **40**, 1372-87.
- NRC. (1996) *Upstream: salmon and society in the Pacific Northwest*. National Academy Press, Washington, D.C.
- O'Neal S. L. y Stanford J. A. (2011) Partial Migration in a Robust Brown Trout Population of a Patagonian River. *Transactions of the American Fisheries Society* **140**, 623-35.
- Olsen E. M. y Vøllestad L. A. (2001) Within-stream variation in early life-history traits in brown trout. *Journal of Fish Biology* **59**, 1579-88.
- Olsson I. C. y Greenberg L. A. (2011) Life history tactics in cohorts of a partial migratory brown trout (*Salmo trutta* L.) population. *ISRN Ecology* **2011**, 1-7.
- Olsson I. C., Greenberg L. A., Bergman E. y Wysujack K. (2006) Environmentally induced migration: the importance of food. *Ecology Letters* **9**, 645-51.
- Páez D. J., Brisson-Bonenfant C., Rossignol O., Guderley H. E., Bernatchez L. y Dodson J. J. (2011) Alternative developmental pathways and the propensity to migrate: a case study in the atlantic salmon. *Journal of Evolutionary Biology* **24**, 245-55.
- Pascual M., Riva Rossi C. M., García Asorey M. I. y Pellanda L. (2005) Un análisis preliminar de los potenciales impactos de la construcción de las represas "Cóndor



Cliff” y “La Barrancosa” sobre la fauna de peces del Río Santa Cruz. *Reporte Técnico GESA 01/05*, 30.

Pascual M. A., Bentzen P., Riva Rossi C. M., Mackey G., Kinnison M. y 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. y Ciancio J. E. (2007) Introduced anadromous salmonids in Patagonia: risks, uses, and a conservation paradox In: *Ecological and Genetic Implications of Aquaculture Activities* (ed T. M. Bert) pp. 333-53. Springer, New York.

Perry G. M. L., Audet C. y Bernatchez L. (2005) Maternal genetic effects on adaptive divergence between anadromous and resident brook charr during early life history. *Journal of Evolutionary Biology* **18**, 1348-61.

Peterson B. J. (1999) Stable isotopes as tracers of organic matter input and transfer in benthic food webs: a review. *Acta Oecologica* **20**, 479–87.

Pinheiro J. C., Bates D. J., DebRoy S., Sarkar D. y R Development Core Team. (2012) Linear and Nonlinear Mixed Effects Models. R package version 3.1-104.

Pinheiro J. C. y Bates D. M. (2000) *Mixed effects models in S and S-PLUS*. Springer-Verlag New York, Inc.

R Development Core Team. (2012) R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.

Rasmussen J. B., Trudeau V. y Morinville G. (2009) Estimating the scale of fish feeding movements in rivers using  $\delta^{13}\text{C}$  signature gradients. *Journal of Animal Ecology* **78**, 674–85.

Reeves R. R., Smith T. D., Josephson E. A., Clapham P. J. y Woolmer G. (2004) Historical observations of humpback and blue whales in the North Atlantic Oceans: Clues to migratory routes and possibly additional feeding grounds. *Mammal Science* **20**, 774-86.

Régnier T., Bolliet V., Labonne J. y Gaudin P. (2010) Assessing maternal effects on metabolic rate dynamics along early development in brown trout (*Salmo trutta*): an individual-based approach. *Journal of Comparative Physiology. Part B.* **180**, 25-31.

Repka J. y Gross M. R. (1995) The Evolutionarily Stable Strategy Under Individual Condition and Tactic Frequency. *Journal of Theoretical Biology* **176**, 27-31.

Ricker W. E. (1992) Back-calculation of fish length based on proportionality between scale and length increments. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **49**, 1018 – 26.

Rikardsen A. H. y Elliott J. M. (2000) Variation in juvenile growth, energy allocation and life-history strategies of two populations of Arctic charr in North Norway. *Journal of Fish Biology* **56**, 328-46.

Rikardsen A. H., Thorpe J. E. y Dempson J. B. (2004) Modelling the life history of Arctic charr. *Ecology of Freshwater Fish* **13**, 305-11.

Riva Rossi C. M. (2004) Origen y desarrollo de historias de vida alternativas en poblaciones introducidas de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) en Patagonia. In: *Centro Regional Universitario Bariloche* p. 200. Universidad Nacional del Comahue, Bariloche, Argentina.

Riva Rossi C. M., Arguimbau M. y Pascual M. A. (2003) The spawning migration of anadromous rainbow trout in the Santa Cruz River, Patagonia (Argentina) through radio - tracking. *Ecología Austral* **13**, 151-9.

Riva Rossi C. M., Lessa E. P. y Pascual M. A. (2004) Origins of introduced rainbow trout in the Santa Cruz River as inferred by mitochondrial DNA. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **61**, 1095–101.

Riva Rossi C. M., Pascual M., Babaluk J. A., Garcia Asorey M. I. y Halden N. M. (2007) Intrapopulation variation in anadromy and reproductive life span in rainbow trout introduced in the Santa Cruz River, Argentina. *Journal of Fish Biology* **70**, 1780-97.

RSRP. (2004) (Salmon Recovery Science Review Panel). Report for the meeting held December. p. 18. Southwest Fisheries Science Center, National Marine Fisheries Service, Santa Cruz, CA.

Satterthwaite W. H., Beakes M. P., Collins E. M., Swank D. R., Merz J. E., Titus R. G., *et al.* (2009) Steelhead Life History on California's Central Coast: Insights from a State-Dependent Model. *Transactions of the American Fisheries Society* **138**, 532-48.

SECAL (Sociedad Española para las Ciencias del Animal de Laboratorio). (1996) Recomendaciones para la Eutanasia de los Animales de Experimentación: Parte 1. pp. 293-316. Laboratory Animals. Disponible en [http://www.fcv.unl.edu.ar/media/institucional/comite\\_etica\\_seguridad/documentos/RecomendacionesparalaEutanasiaParteI.pdf](http://www.fcv.unl.edu.ar/media/institucional/comite_etica_seguridad/documentos/RecomendacionesparalaEutanasiaParteI.pdf).

Sirois P., Lecomte F. y Dodson J. (1998) An otolith-based back-calculation method to account for time-varying growth rate in rainbow smelt (*Osmerus mordax*) larvae. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **55**, 2662–71.

- Skov C., Brodersen J., Nilsson P. A., Hansson L.-A. y Brönmark C. (2008) Inter- and size-specific patterns of fish seasonal migration between a shallow lake and its streams. *Ecology of Freshwater Fish* **17**, 406-15.
- Smith S. (1957) Early development and hatching. In: *The physiology of fishes* (ed M. E. Brown). Academic Press Inc., New York.
- Tattam I. (2006) Seasonal Life History of *Oncorhynchus mykiss* in the South Fork John Day River Basin, Oregon. In: *Department of Fisheries and Wildlife*. Oregon State University.
- Tesch F. W. (1971) Age and growth. In: *Methods for assessment of fish production in fresh waters* (ed W. E. Ricker) pp. 97–130. International Biological Programme Blackwell Scientific Publications, Oxford, UK.
- Thériault V. y Dodson J. J. (2003) Body size and the adoption of a migratory tactic in brook charr. *Journal of Fish Biology* **63**, 1144–59.
- Thériault V., Garant D., Bernatchez L. y Dodson J. J. (2007) Heritability of life-history tactics and genetic correlation with body size in a natural population of brook charr (*Salvelinus fontinalis*). *Journal of Evolutionary Biology* **20**, 2266-77.
- Thorpe J. E. (1986) Age at first maturity in Atlantic salmon, *Salmo salar*: freshwater period influences and conflicts with smolting. *Canadian Special Publication of Fisheries and Aquatic Sciences* **89**, 7 - 14.
- Thorpe J. E. (1988) Salmon migration. *Science Progress Oxford* **72**, 345 - 70.
- Thorpe J. E. (1999) Flexible life-history strategies: a context for understanding migration in salmonids. *Bulletin of the Tohoku Natural Fisheries Resource Institute* **62**, 151-64.
- Thorpe J. E., Mangel M., Metcalfe N. B. y Huntingford F. A. (1998) Modelling the proximate basis of salmonid life-history variation, with application to atlantic salmon, *Salmo salar* L. *Evolutionary Ecology* **12**, 581 - 99.
- Thrower F. P., Hard, J.J. y Joyce J. E. (2004) Genetic architecture of growth and early life-history transitions in anadromous and derived freshwater populations of steelhead. *Journal of Fish Biology* **65**, 286–307.
- Tucker S. y Rasmussen J. B. (1999) Using <sup>137</sup>Cs to measure and compare bioenergetic budgets of juvenile Atlantic salmon (*Salmo salar*) and brook trout (*Salvelinus fontinalis*) in the field. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **56**, 875-87.

- Utrilla C. y Lobón-Cerviá J. (1999) Life-history patterns in a southern population of Atlantic salmon. *Journal of Fish Biology* **55**, 68-83.
- Vannote R. L., Minshall G. W., Cummins K. W., Sedell J. R. y Cushing C. E. (1980) The river continuum concept. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **37**, 130-7.
- Varian A. y Nichols K. M. (2010) Heritability of Morphology in Brook Trout with Variable Life Histories. *PLoS ONE* **5**, 1-12.
- Vøllestad L. A. y Lillehammer T. (2000) Individual variation in early life-history traits in brown trout. *Ecology of Freshwater Fish* **9**, 242-7.
- Whitehead H. (1996) Variation in the feeding success of sperm whales: Temporal scale, spatial scale and relationship to migrations. *Journal of Animal Ecology* **65**, 429-38.
- Wiegmann D. D., Angeloni L. M., Baylis J. R. y Newman S. P. (2004) Negative maternal effects on tactic inheritance under the conditional strategy. *Evolution* **58**, 1530-5.
- Wolman M. G. (1954) A method of sampling coarse river-bed material. *Transactions American Geophysical Union* **35**, 951-6.
- Yamamoto S. y Nakano S. (1996) Growth and development of a bimodal length - frequency distribution during smolting in a wild population of white-spotted charr in northern Japan. *Journal of Fish Biology* **48**, 68-79.
- Zar J. H. (1984) *Biostatistical Analysis*. Prentice Hall, Inc, New Jersey, U.S.
- Zimmerman C. E. y Reeves G. H. (2000) Population structure of sympatric anadromous and nonanadromous *Oncorhynchus mykiss*: evidence from spawning surveys and otolith microchemistry. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **57**, 2152-62.
- Zöllner N. y Kirsch K. Z. (1962) Über die quantitative bestimmung von Lipoiden (*Mikromethode*) mittels der vielen natürlichen Lipoiden (*allen bekannten Plasmalipoiden*) gemeinsamen Sulfophosphovanilin-Reaktion. *Zeitschrift für die gesamte Experimentelle Medizin* **135**, 545-61.
- Zuur A. F., Ieno E. N., Walker N. J., Saveliev A. A. y Smith G. M. (2009) *Mixed Effects Models and Extensions in Ecology with R*. Springer Science+Business Media, New York.