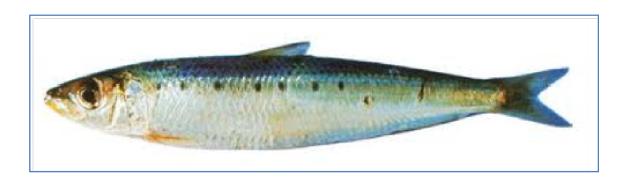
Criterios de Interpretación de la Edad en los Otolitos de la Sardina Atlántica Europea (Sardina pilchardus)



Begoña Villamor, Isabel Riveiro, Isabel Loureiro, María Sánchez,
Pablo Carrera, Carmen Hernández
Proyecto BIOPEL, Julio 2020



Versión 2, año 2020 (actualización del año 2016)

Formato recomendado con fines de citación:
Villamor, B., Riveiro, I., Loureiro, I., Sanchez, M., Carrera, P., Hernández, C. 2020. Criterios de Interpretación de la Edad en los Otolitos de la Sardina (Sardina pilchardus) Atlántica Europea. Instituto Español de Oceanografía, Proyecto BIOPEL. Versión 2, año 2020 (actualización del año 2016) Repositorio del IEO. http://hdl.handle.net/10508/10178
2

Contenido

1.	Introducción	5
2.	Breves notas biológicas	5
	Estructura típica de los otolitos de sardina y revisión de estudios de determinación de la dad	6
4.	Protocolo (ICES WKARAS 2011; 2019)	8
5.	Dificultades de interpretación	. 12
	5.1 Identificación del primer anillo anual	. 12
	5.2 Crecimiento estacional del otolito e identificación del tipo de borde	. 12
6.	Recomendaciones para la correcta interpretación del otolito y asignación de la edad	. 14
7.	Control de calidad de las lecturas de edad	. 15
8.	Colección de Referencia	. 16
	8.1 Golfo de cadiz (9.a sur)	. 17
	8.2 Costas portuguesas (sub-divisiones 9.a sur, Centro y norte)	. 20
	8.3 Mar Cantabrico (División 8.c)	. 26
	8.4 Sur del Golfo de Vizcaya (Division 8.b)	. 37
	8.5 Norte del Golfo de Vizcaya (Division 8.a)	. 44
8.	Referencias	. 50

1. Introducción

La determinación de la edad de los organismos marinos requiere un continuo proceso de mantenimiento de la consistencia del criterio de interpretación de cada lector de edad y de los lectores de edad de los diversos laboratorios entre sí (Panfili et al., 2002). El objetivo final de todo el trabajo de interpretación de la edad es establecer métodos que sean exactos, precisos y prácticos, de modo que puedan usarse rutinariamente en la interpretación de la edad de numerosas muestras necesarias para la evaluación de las especies marinas explotadas (Panfili et al., 2002).

Este manual tiene como objetivo describir los métodos para la determinación de la edad anual de la sardina (Sardina pilchardus, Walbaum, 1792). Las técnicas para la determinación de la edad en estructuras calcificadas de especies pelágicas y bentónicas (disección, preparación y métodos) en el área del ICES (aguas atlánticas europeas) se han descrito recientemente en un manual publicado tanto en inglés como en castellano (Villamor et al., 2015; 2016). Este nuevo manual que presentamos aquí se centra solo, pero en mayor profundidad, en los criterios utilizados y estandarizados a nivel europeo para la interpretación de los anillos de crecimiento anual en los otolitos (lectura de otolitos) de la sardina Atlántica Europea. Este manual tiene como finalidad servir de referencia para los lectores de edad de la sardina en los laboratorios del IEO y pretende también ser una guía para el entrenamiento de los nuevos participantes (lectores) en la determinación de la edad en los otolitos de sardina, para suplementar y complementar el entrenamiento que reciben del lector experto asignado para entrenarlos. También pretende ser una guía dinámica, que pueda cambiar a medida que sean introducidos nuevos criterios de interpretación tras ser evaluados y adoptados a nivel europeo. Este manual se basa en los últimos intercambios, talleres y publicaciones sobre la determinación de la edad de la sardina (ICES, 2005; 2011; 2019). También se hace referencia a la biología de la especie ya que es fundamental tener conocimiento de ella para poder interpretar los otolitos con mayor precisión.

2. Breves notas biológicas

La Sardina se distribuye en el Atlántico nororiental desde el Mar Céltico y el sur del Mar del Norte a Mauritania y Senegal, y también a través del Mar Mediterráneo occidental y septentrional (Parrish et al., 1989). Dentro de las aguas atlánticas europeas, la sardina se pesca principalmente en las aguas costeras de la Península Ibérica por los cerqueros españoles y portugueses, en el Golfo de Vizcaya por los cerqueros y arrastreros (ICES, 2007) y en el Canal de la Mancha por redes de deriva (Culley , 1971).

Para objetivos de gestión, se considera que la sardina de las aguas de la Península Ibérica (Divisiones 8.c y 9.a del ICES) es un stock separado de la sardina en las zonas más hacia el norte (áreas 7 y 8.a.b del ICES) (ICES, 2010).

La sardina es ponedora parcial y de fecundidad indeterminada (Ganias et al., 2007). El principal periodo de puesta es entre octubre y junio (pico de diciembre a marzo), con un gradiente

latitudinal en la duración y en el pico de puesta, i. e. en el Sur mayor duración y con el pico de puesta más temprano. En las aguas portuguesas, la duración de la época de puesta es de 5-7 meses y el pico varía entre diciembre y febrero (Nunes et al., 2011). Desde el oeste de la Península Ibérica hasta el norte de Francia, el pico de puesta se desplaza progresivamente hacia finales de primavera y en el Canal de la Mancha hay un doble pico claro, con los principales períodos de puesta en primavera / verano y de nuevo en el otoño (Southward et al., 1988; Solá et al., 1992; Stratoudakis et al., 2007).

El crecimiento es fuertemente estacional, ocurriendo principalmente fuera de la época de puesta. El crecimiento en longitud es mayor a finales de la primavera y en verano. La condición corporal y el contenido en grasa tienen sus mayores valores a principios de otoño (cuando el desove se reduce), y los valores más bajos se observan a finales de invierno / principios de la primavera cuando finaliza la puesta (Bandarra et al., 1997; Nunes et al., 2011). En la región Ibérica y Golfo de Vizcaya, la sardina crece desde 15.3 cm a la edad de 1 año hasta a 23.0 cm a la edad de 10 años. Los incrementos anuales del crecimiento disminuyen un 64% en cada edad sucesiva de tal manera que los individuos alcanzan el 67% y el 90% de su longitud máxima en las edades 1 y 4 años respectivamente (Silva et al., 2008).

Hay una disminución del crecimiento de norte a sur que resulta en una variación clinal en la longitud máxima y en la talla por edad (Andreu y Plaza, 1962; Silva et al, 2008). Estas variaciones geográficas son generalmente suaves, pero dan lugar a diferencias sustanciales cuando se comparan zonas distantes: por ejemplo, en las edades jóvenes, las sardinas procedentes de Francia son más grandes que las del norte de Portugal (2 cm), y estos últimos son más grandes que las del Golfo de Cádiz (1 cm). Hay trayectorias divergentes del crecimiento por sexos, sin embargo la diferencia en la talla es pequeña hasta los 6 años de edad (Silva et al., 2008).

3. Estructura típica de los otolitos de sardina y revisión de estudios de determinación de la edad

La estructura típica del otolito refleja el crecimiento somático de los peces (Figura 1); hay un amplio centro opaco, un primer anillo translúcido claro, seguido de una rápida disminución de la anchura de los anillos opacos y translúcidos.

Durante el período juvenil (longitud estándar ≈ 40 a 120 mm, edad ≈ 50-250 días), el otolito crece de forma no lineal y la relación entre el tamaño del otolito y el pez se adapta bien a un modelo de crecimiento Von Bertalanfy (Meneses, 2003). Hasta donde se sabe, no se ha investigado el crecimiento de los otolitos de sardinas adultas en la zona Ibérica; de la estructura de los otolitos, el principal eje de crecimiento del otolito se inclina hacia el área posterior dorsal como crecen los peces. La claridad de los otolitos de sardina disminuye en la aguas del Atlántico de norte a sur, debido a la disminución de contraste entre las zonas opacas y translúcidas y por la aparición de falsos anillos.

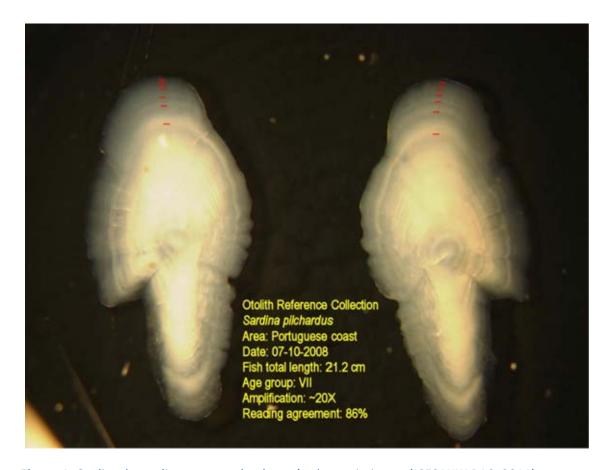


Figura 1. Otolito de sardina mostrando el patrón de crecimiento. (ICES WKARAS, 2011)

No se ha validado la edad absoluta basado en los anillos anuales de crecimiento en la mayoría de las áreas de la distribución de la sardina (ICES 2020). Sin embargo, la periodicidad de las zonas de crecimiento de otolitos ha demostrado ser anuales en el noroeste de España y Portugal a partir de estudios de la evolución mensual del borde del otolito (Jorge y Monteiro, 1980; Álvarez y Porteiro, 1981) o el análisis de frecuencia de tallas (Pertierra y Morales- Nin, 1989). Las edades relativas validadas con el análisis del incremento marginal fueron de 0-5 años de edad.

En el taller de lectura de edad 2011 (ICES, 2011), se estudió la estacionalidad del borde del otolito utilizando un modelo lineal generalizado (GLM). La proporción de los bordes hialinos se ajustaron utilizando el mes, el año y la edad como variables de los factores predictores. Los resultados indicaron que los patrones de crecimiento diferían en las zonas portuguesas y en el Golfo de Vizcaya. En las zonas portuguesas, la variación en la proporción de bordes hialinos fue gradual con la edad durante los meses del año y la formación del borde opaco también fue gradual con la edad; en general, la proporción mínima de los bordes hialinos se observaron alrededor de junio para los de 1 año de edad, julio para los des 2 años y agosto para los de 3 y 4 años. En la Golfo de Vizcaya, el patrón del borde era sustancialmente diferente para la edad 1 del resto de las edades; a la edad 1, la proporción del borde hialino disminuye abruptamente alrededor de mayo y permanece cerca de cero hasta septiembre, mientras que para las edades 2 a 4, la proporción del borde hialino permanece alta la mayor parte del año y alcanza valores

mínimos en julio-agosto. También en el taller de WKARAS 2011 se abordó el problema del primer anillo anual. Muestras utilizadas en el taller mostraron que el diámetro del primer anillo anual es directamente proporcional a la longitud del pez, para individuos de los grupos de edad 0 y 1 con una longitud entre 11 y 16 cm y los anillos tenían diámetros entre 2.0 y 2.9 mm (media = 2.4 mm), lo que indica que el primer anillo translúcido se forma a una distancia de alrededor de 1.1 mm del núcleo del otolito (correspondiente a un diámetro de alrededor de 2 mm). Estos resultados fueron corroborados con un estudio sobre la validación de edades 0 y 1 basado en anillos diarios de juveniles de sardina muestreados en octubre de 2008 y abril de 2009 en la costa norte de Portugal (6-12 cm largo total). La edad en años y la determinación de la cohorte fueron consistentes con la edad en días para la mayoría de los juveniles, proporcionando evidencia de que el primer anillo anual está correlacionado con la longitud de los peces en el momento de su formación.

La convención de la fecha de nacimiento (1 de Enero) coincide en la mitad de la época de puesta en las zonas desde el oeste hasta el sur de la Península Iberica, pero se observa un retraso de 3-5 meses en relación con el pico de puesta en las zonas del Atlántico norte (desde el Canal de la Mancha hasta el Mar Cantábrico) (Coombs et al, 2006; Stratoudakis et al, 2007).

4. Protocolo (ICES WKARAS 2011; 2019)

<u>Preparación</u>: Comúnmente, los otolitos extraídos del pez muestreado se lavan con agua dulce, se secan y se montan (con el surco hacia abajo) sobre placas de plástico negro con cavidades numeradas y se cubren los otolitos con una resina inerte. En algunos casos, los otolitos también se pueden observar en agua dulce sobre fondo negro. Sin embargo, en este caso, se recomienda un máximo de 2 minutos del otolito en agua.

<u>Observación</u>: lupa binocular. De forma rutinaria todas las lecturas se hacen con un micrométrico en un ocular de la lupa, para en caso de duda poder medir el radio del primer anillo y tomarlo como ayuda para su interpretación. También en algunos casos y para toma de medidas biométricas, la edad se estima de la lectura de imágenes digitales.

<u>Iluminación</u>: luz reflejada utilizando iluminadores de fibra óptica

<u>Aumentos</u>: 20X, las zonas opacas son visibles de color blanco y las zonas hialinas oscuras (Figura 1). Puede servir de ayuda el incrementar los aumentos cerca del borde del otolito para mejorar la discriminación de los anillos estrechos en los individuos de mayor edad. Cuando se hace esto hay que tener en cuenta que se está aumentando la imagen y puede confundir la aparición de anillos falsos al incrementar los aumentos.

<u>Eje de lectura</u>: Se cuentan los anillos translúcidos (hialinos), preferiblemente, en la parte posterior del otolito (*post-rostrum*), donde los anillos anuales son generalmente más claros y el crecimiento del otolito es mayor. (Figura 2)

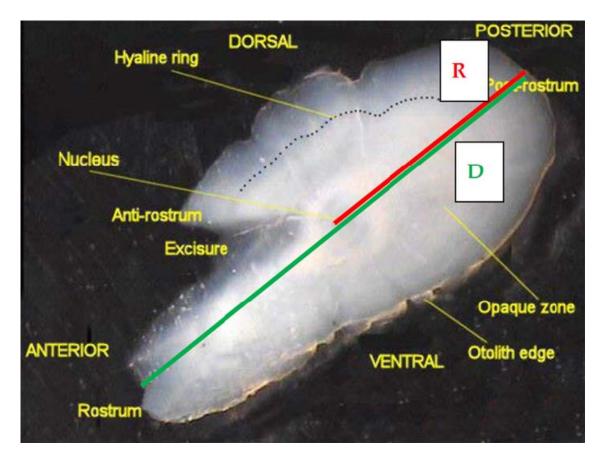


Figura 2. Principales estructuras del otolito de sardina (ICES WKARAS, 2005 y 2011).Las líneas muestran el eje de medida del Diámetro (D) y Radio (R) del otolito/anillo

<u>Criterios para la determinación de la edad anual</u>: Se siguen los recomendados en ICES, 2011 y 2019:

- La fecha del <u>cumpleaños</u> se considera el <u>1 de enero</u>.
- Se asume que esta especie <u>forma cada año una zona hialina y una zona opaca</u> (<u>annulus</u>). La formación de las dos zonas tiene lugar durante un año. En sardina se cuentan las zonas hialinas en el otolito (anillos hialinos de invierno).
- Un anillo hialino de invierno verdadero se debe seguir a lo largo de todo el contorno del otolito, tanto en el otolito entero como en el otolito cortado. Esta regla debe aplicarse especialmente durante los primeros tres años, en especímenes más viejos los anillos están muy juntos y son más difíciles de seguir.
- En general, <u>la anchura de zonas anuales consecutivas decrece con el incremento de la edad.</u>
- Para un pez capturado en la primera parte del año (previo al período de crecimiento, es decir, la formación de zona opaca), la edad corresponde al número de zonas hialinas

de invierno presentes en los otolitos (incluyendo el borde). Para un <u>pez capturado en la segunda parte del año</u> (después de la formación de zonas opacas) la edad corresponde al número de zonas hialinas de invierno completamente formadas (es decir, el borde hialino no se cuenta).

Sin embargo, hay que tener en cuenta que las <u>sardinas más jóvenes</u>, de 1 año de edad, <u>empiezan a formar el borde opaco antes que las sardinas mayores</u>, como ocurre en otros peces pelágicos. Así, si el borde opaco es ancho en la primera mitad del año habrá que dilucidar si se trata de un crecimiento del segundo año ya completo que apenas muestre el anillo hialino o simplemente una edad 1 con un crecimiento fuerte ya durante la primera mitad del año. Muchas veces por el borde se puede preferir la edad 1 en los meses de Mayo y Junio, salvo que el crecimiento sea enorme. También hay que tener en cuenta la anchura del borde translúcido y el patrón de crecimiento global del otolito.

• Teniendo en cuenta los estudios de validación de anillos diarios en larvas de sardina (Alemany & Alvarez, 1994) y de la corroboración de un falso anillo (check) formado antes del primer anillo de invierno, se recomienda medir el primer anillo translúcido y todos aquellos anillos que se encuentren desde el núcleo a una distancia menor de 1000 μm (1 mm) deben ser considerados como checks. Sin embargo, estas mediciones no hay que tomarlas como regla para identificar los checks, sino simplemente como información auxiliar en los casos en que el primer anillo hialino esté formado débilmente y los lectores tengan serias dudas sobre su confiabilidad como verdadero anillo de invierno.

Se utiliza un radio de referencia de ≈ 1 mm (diámetro ≈ 2 mm), que con un aumento de 20x corresponden a 20 unidades de micrométrico, para guiar la identificación del primer anillo anual. Esta referencia se debe utilizar de una manera flexible, ya que el radio del primer anillo anual es proporcional al crecimiento de los peces.

- Para cada otolito, se debe registrar el número de anillos hialinos de invierno verdaderos, el tipo de borde, la edad asignada y la credibilidad (ver sección 7 de este documento); también deben registrarse los anillos falsos y otras características relevantes del otolito (por ejemplo, otolitos cristalizados).
- El porcentaje de bordes opacos / hialinos podría calcularse para cada muestra recolectada durante el año (calcularlo mensualmente) para ayudar a determinar el período de deposición de los bordes opacos, ya que existe variabilidad de la formación de los bordes de los otolitos entre años.



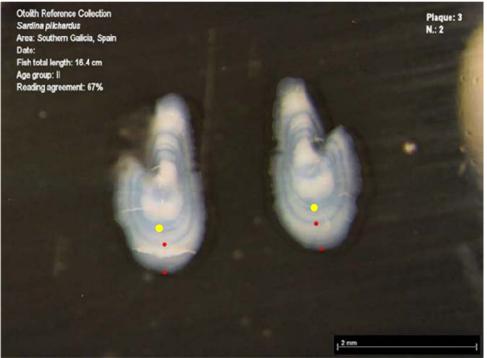


Figura 3. Ejemplos del primer anillo anual verdadero (rojo) y el primer anillo falso (amarillo).

5. Dificultades de interpretación

Las principales discrepancias en la determinación de la edad de la sardina son <u>la identificación</u> <u>del primer anillo anual y el tipo de borde del otolito</u>.

5.1 IDENTIFICACION DEL PRIMER ANILLO ANUAL

Los desacuerdos en la identificación del primer anillo anual son a menudo causados por la aparición de un primer anillo translucido, amplio y claramente marcado por todo el otolito (Figura 3). Este anillo aparece un poco más cerca del núcleo que lo normal, pero aparte de eso no viola sustancialmente el patrón de crecimiento esperado. Parte de los lectores consideraría este anillo un *check* (falso anillo) ya que utilizan un determinado diámetro (2 mm, a aumentos 20X) como una medida para ayudar a identificar el primer anillo. Otros lectores si no usan tal medida, considerarían este primer anillo como anual. Estos últimos lectores, por ejemplo podrían interpretar este anillo como un verdadero anillo de invierno para una sardina nacida en la época de desove de otoño.

Se han realizado diferentes estudios, y en general los resultados disponibles hasta ahora no aclaran totalmente la incertidumbre sobre el primer anillo anual (ICES WKARAS, 2011). Aunque, teniendo en cuenta los estudios de validación de anillos diarios en larvas de sardina (Alemany & Alvarez, 1994) y de la corroboración de un falso anillo (*check*) formado antes del primer anillo de invierno, se recomienda medir el radio del primer anillo translúcido y todos aquellos anillos que se encuentren a una distancia menor de 1000 µm (1mm/20 unidades de micrometico con un aumento de 20x) deben ser considerados como *checks*. Sin embargo, estas mediciones no hay que tomarlas como regla para identificar los *checks*, sino simplemente como información auxiliar en los casos en que el primer anillo hialino esté formado débilmente y los lectores tengan serias dudas sobre su confiabilidad como verdadero anillo de invierno.

Con un aumento de 20X ese anillo que se considera falso, y que aparece reiteradamente, estaría a unas 15 unidades de micrométrico (µm), medido desde el núcleo al post-rostrum (0.75 mm). Pero esta referencia no se debe tomar de forma rígida; a veces está entre 15-18 unidades de micrométrico y otras veces ese anillo muy marcado aparece por debajo de 15µm.

5.2 CRECIMIENTO ESTACIONAL DEL OTOLITO E IDENTIFICACIÓN DEL TIPO DE BORDE

En el taller WKARAS 1 (ICES, 2011) se discutieron dos problemas relacionados con el tipo de borde: 1) Dificultad para identificar el tipo de borde (hialino u opaco) 2) Variación en la estacionalidad del tipo de borde con la edad.

De acuerdo con el protocolo de la lectura de la edad, un borde hialino se cuenta como un anillo anual en el primer semestre pero no en el segundo semestre, es decir, en el primer semestre, el crecimiento hialino visible en el borde se supone que se depositó durante el invierno pasado, en el segundo semestre se supone que corresponden a la llegada del invierno lo que significa que el crecimiento opaco ya ha tenido lugar.

Los bordes opacos son difíciles de observar y la claridad del borde disminuye con la edad de la sardina. En las sardinas de mayor edad se forma el borde opaco en la última parte del año, al igual que en varios otros clupeidos (por ejemplo, el espadín del Báltico y el arenque, el ICES, 2008a, 2008b; Anchoa, ICES, 2009b). Es relativamente sencillo identificar el borde en la edad 0 y 1, pero la dificultad aumenta en las edades mayores debido a un estrechamiento drástico de los anillos, sobre todo de las bandas opacas que reflejan la desaceleración del crecimiento. Además, la claridad del borde varía entre años y áreas; los otolitos de las áreas del sur presentan mayores dificultades que los de las áreas del norte (por ejemplo, aguas portuguesas frente al Golfo de Vizcaya), lo que probablemente estén relacionadas con tasas de crecimiento más bajas en las áreas de Portugal.

Los patrones del borde difieren con la edad entre las zonas de Portugal y en el Golfo de Vizcaya (WKARAS, 2011). En las zonas portuguesas, en general, la variación en la proporción de bordes hialinos es gradual durante los meses para las diferentes edades y también es el retraso en la formación del borde opaco con la edad (a mayor edad empieza a formarse el borde opaco mas tarde). La proporción mínima de bordes hialinos tiene lugar alrededor de junio para los de edad 1, julio para los de edad 2 y agosto para los de las edades 3 y 4. En el Golfo de Vizcaya, el patrón del borde cambia sustancialmente entre la edad 1 y las edades restantes: para los de 1 año de edad, la proporción hialina declina abruptamente alrededor de mayo y se mantiene cerca de cero hasta septiembre, mientras que en las edades 2-4 años sigue siendo alta la mayor parte del año y alcanza valores mínimos en julio-agosto.

En el WKARAS1 (ICES, 2011) se consideró que la precisión de la lectura de la edad de la sardina podría mejorarse teniendo en cuenta las diferencias en la formación estacional del borde de los otolitos relacionadas con la edad.

Así, para la sardina se deben utilizar fechas diferentes, de acuerdo con la edad del pez, para guiar la transición de la primera a la segunda parte del año (es decir, cuando no tener en cuenta el borde hialino):

- a) 1º de junio para individuos de 0-1 años de edad;
- b) 1º de julio para individuos de dos años de edad;
- c) 1 º de agosto para individuos ≥ 3 años de edad.

Se debe considerar también el tamaño (anchura) del borde hialino para decidir sobre su formación, es decir, para decidir si se corresponde con el pasado invierno o con el próximo invierno. Además hay que considerar la anchura de la zona opaca previa a ese borde presuntamente hialino. Esto implica una aplicación flexible de la regla del "borde" Las fechas anteriores se deben utilizar de una manera flexible, teniendo también en cuenta la anchura del borde translúcido y el patrón de crecimiento global del otolito

6. Recomendaciones para la correcta interpretación del otolito y asignación de la edad.

Para la asignación de la edad de la sardina los criterios que deben tenerse en mente son fundamentalmente los siguientes:

1º Criterio de número de bandas completas y conformidad con el patrón de crecimiento anual.

- <u>Una banda completa se compone de un anillo opaco y un anillo hialino</u>. <u>La edad es igual al número de verdaderos anillos hialinos completos</u> que muestra el otolito en conformidad con el patrón normal de crecimiento de los otolitos (<u>progresivamente menor crecimiento a cada edad</u>, estabilizándose parcialmente desde la edad 4 y no siempre). En el caso de que no se corresponda con el patrón esperado del crecimiento del otolito habrá que sospechar de la presencia de anillos falsos o *checks*
- Generalmente, un <u>anillo hialino verdadero tiene</u> las siguientes características:
 - a) Ser continúo en todo el otolito;
 - b) sigue siendo claramente visible cambiando el foco;
- c) la distancia relativa entre los anillos adyacentes es proporcional al patrón de crecimiento esperado en los otolitos.
- **2º** Criterio de conformidad con el tipo borde esperado y la edad que se deriva del criterio anterior. Este criterio es muy importante sobre todo para diferenciar la edad 1 de las más viejas durante la primera mitad del año, y cuando el otolito es borroso y no marca bien los anillos.
- Los <u>bordes opacos estrechos y anchos son propios de la edad 1 en la primera mitad del año,</u> mientras que las <u>edades más viejas deberían tener un borde hialino incipiente</u>, fino o ancho.
- Si el <u>borde</u> opaco es ancho en la primera mitad del año habrá que dilucidar si se trata de un <u>crecimiento del segundo año ya completo que apenas muestre el anillo hialino o simplemente una edad 1 con un crecimiento fuerte ya durante la primera mitad del año. Muchas veces por el borde se puede preferir la edad 1 en los meses de Mayo y Junio, salvo que el crecimiento sea enorme.</u>
- La <u>intensidad de los anillos visibles puede ser indicación de si son o no checks, aunque por sí solo este criterio no baste.</u> También su conformidad con la posición esperada de los checks, etc. Los anillos invernales o verdaderos, frecuentemente marcan autenticas continuidades en la formación del otolito, mientras que los *checks* no lo hacen tanto, son más discontinuos, aunque esto habrá que cogerse con cuidado ya que no siempre es así.
- Cuando los <u>anillos hialinos están muy cerca entre sí formando un grupo</u> (dos o más anillos muy estrechos), <u>se les considera como un solo anillo</u>.

Otras claves más discutibles:

- Los otolitos también tienden a ser consistentes consigo mismos, de manera que si el primer anillo está bien marcado los demás también se espera que lo estén.
- Algunos ejemplares que ya han crecido fuertemente durante el primer año de vida a veces suelen crecer menos durante el segundo año de lo que se esperaría conforme al crecimiento estándar del otolito, probablemente por alcanzar sus límites de crecimiento máximos.

Por lo tanto, para la correcta interpretación de un otolito es importante seguir estos pasos antes de asignar la edad:

- Tratar de <u>no mirar la talla del pez</u>: primero ver la estructura del otolito y el patrón de crecimiento.
- A continuación, intentar interpretar el otolito: ¿Qué anillos hialinos de invierno se pueden reconocer y que resulte en un patrón de crecimiento coherente? ¿Cuánto ha crecido el borde del otolito durante todo el año hasta su captura? ¿El patrón de crecimiento anual resultante y la formación de borde coinciden con el conocido patrón de crecimiento de los otolitos de sardina y la estacionalidad de la formación del borde por edades?
- Si se logra una interpretación coherente, entonces aplicar la regla de asignación de edad correspondiente a la fecha de nacimiento adoptada para la población (en nuestro caso el 1 de enero). Si no se logra una interpretación coherente, intentar otra interpretación o descartar el otolito.
- Para la aplicación de las reglas de determinación de edad, es obligatorio utilizar el número de anillos translúcidos de invierno reconocidos (después de la interpretación), en lugar del número total de marcas hialinas visibles (que pueden incluir algunos falsos anillos o checks).

Para cada otolito, se recomienda registrar la siguiente información: número anillos de invierno hialinos verdaderos, tipo de borde, la edad asignada y la credibilidad (ver Sección 7 de este documento), así como también si se detectaron falsos anillos (*checks*) y si los otolitos están descalcificados. También y para estudios de corroboraciçon/validación se registra la medida del radio total del otolito y el del primer anillo.

7. Control de calidad de las lecturas de edad

La interpretación y contaje de los anillos de crecimiento (lectura de edad) en cada otolito se realiza dos veces, en ocasiones separadas. Las lecturas para un otolito dado se aceptan sólo si resultan coincidentes en las dos ocasiones. Si existen discrepancias entre las dos lecturas se realiza una tercera. Otolitos difíciles de interpretar se descartan.

Además de la edad estimada, también se asigna una calidad (o credibilidad) de la interpretación de la edad, de acuerdo al "3 point grading system" recomendado en WKNARC (ICES, 2011a y 2013). Se distinguen 3 posibles resultados de calidad de la interpretación (AQ):

- •AQ1. **Otolitos fáciles de leer**, cuya interpretación no resulta dudosa en una primera lectura. La edad estimada se considera como la edad final del individuo;
- •AQ2. Otolitos difíciles de leer, cuya interpretación resulta dudosa en una 1ª lectura y que hay examinarlos nuevamente. Si la edad estimada en la 2ª lectura es la misma que en la 1ª, se asigna dicha edad como edad final del individuo. Si persisten las dudas entre las dos edades, se lee una 3ª vez, asignándose la edad más frecuente de las tres o bien dejándose la edad con dos valores (ej. 5/4). De cara a la elaboración de las claves talla-edad, estos otolitos cuya interpretación presenta dudas entre dos edades, se asigna como perteneciente a la edad que presente una cierta mayor confianza (que es el valor situado en primer lugar de los dos, ej. 5 para la edad 5/4);
- •AQ3. Otolitos cuya interpretación es prácticamente imposible o muy dificultosa, con dudas entre 3 edades o más. Esos otolitos son excluidos de análisis posteriores.

8. Colección de Referencia

Desde 2011 existe una colección de otolitos de referencia de la sardina atlántica europea por áreas / stock, con asignación de edad acordada en el WKARAS 1 (ICES, 2011) y actualizada el el WKARAS2 (ICES, 2019). Esta colección está disponible en el sitio web del Foro de Lectores de Edad (https://community.ices.dk/ExternalSites/arf/default.aspx). Los otolitos físicamente de la colección de referencia del WKARAS1 están disponibles en el Centro Oceanográfico de Vigo.

A continuación se muestran imágenes de otolitos de referencia por áreas y edad, tomados de los últimos talleres de edad de sardina (ICES WKARAS1 y WKARAS2). Los otolitos que forman parte de la colección se han tenido en cuenta aquellos en los que el porcentaje de acuerdo entre los lectores expertos eran más del 80%.

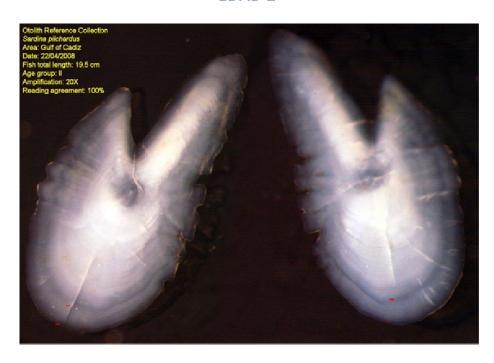
EDAD 0



EDAD 1



EDAD 2



EDAD 3



EDAD 4

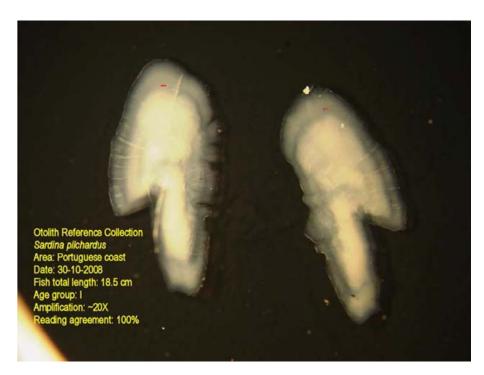


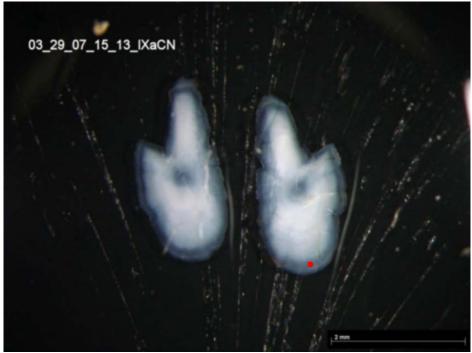




Date of Catch: 27-08-2015. TL=143 mm. Female. Age group 0.

EDAD 1



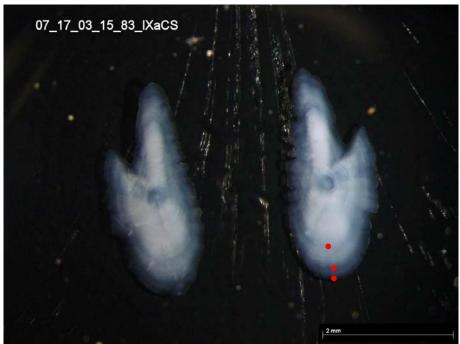


Date of Catch: 29-07-2015. TL=186 mm. Male. Age group 1.



EDAD 3



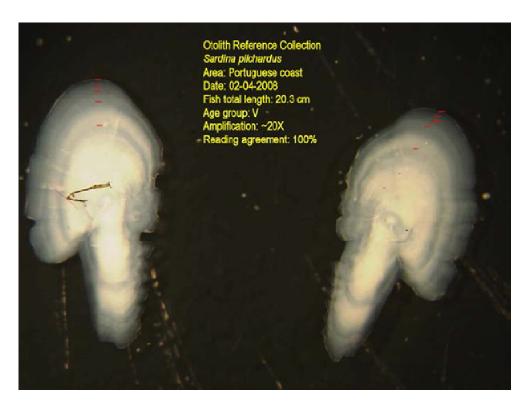


Date of Catch: 17-03-2015. TL=206 mm. Male. Age group 3

EDAD 4

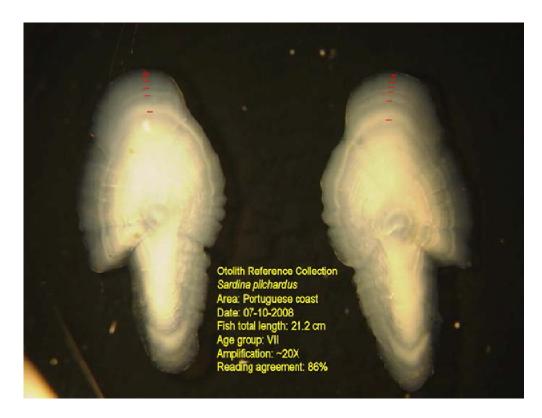


EDAD 5





EDAD 7

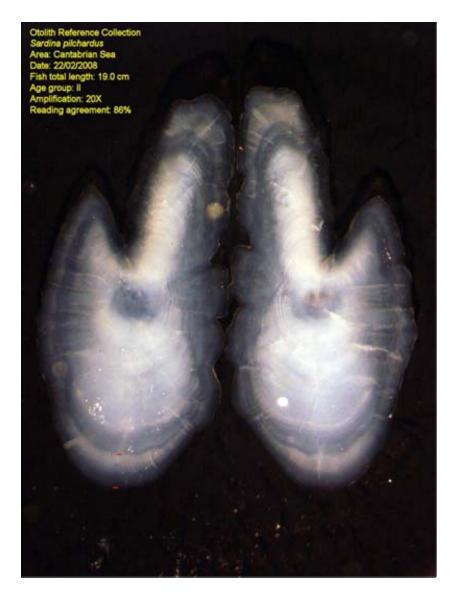




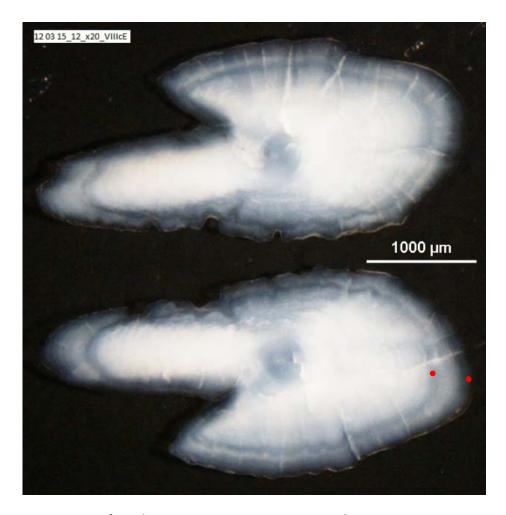
EDAD 1



EDAD 2

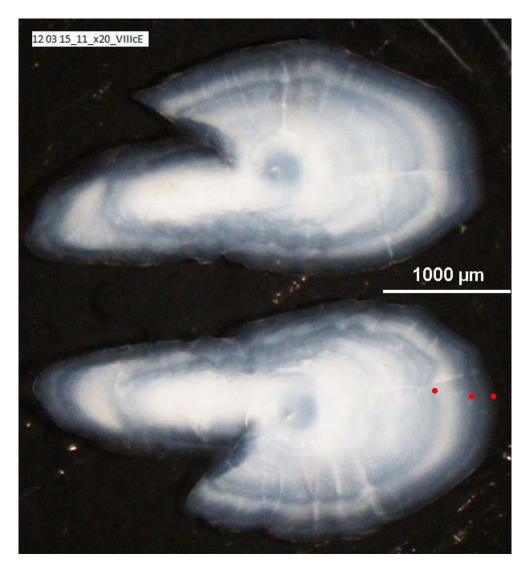


EDAD 2

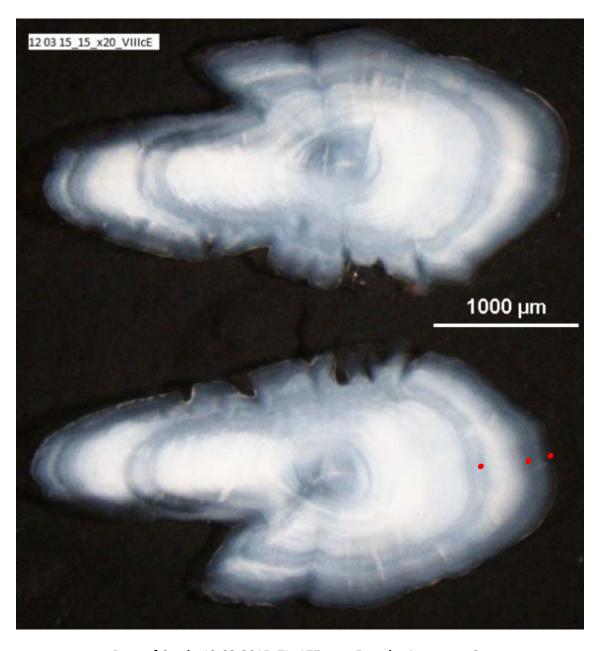


Date of Catch: 12-03-2015. TL=181 mm. Female. Age group 2.

EDAD 3

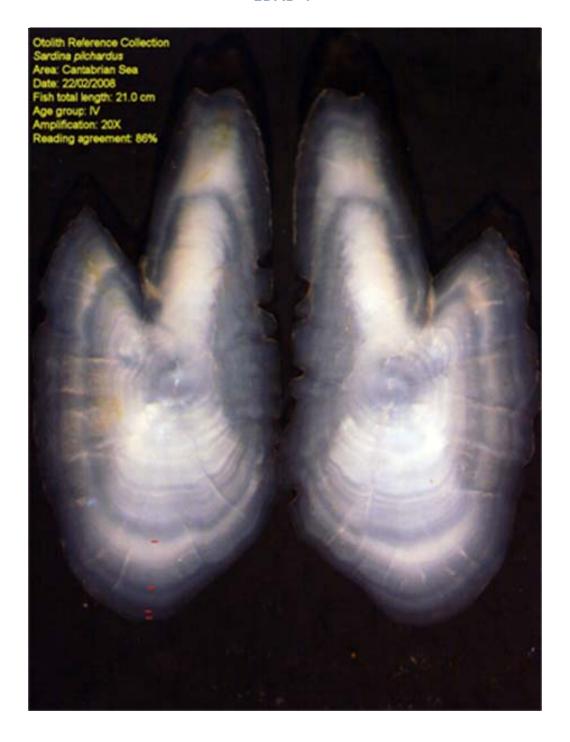


Date of Catch: 12-03-2015. TL=188 mm. Female. Age group 3



Date of Catch: 12-03-2015. TL=177 mm. Female. Age group 3.

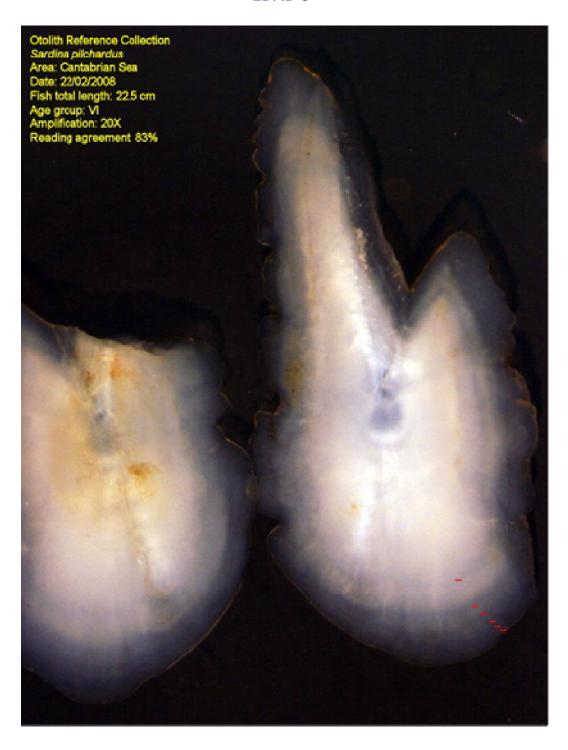
EDAD 4

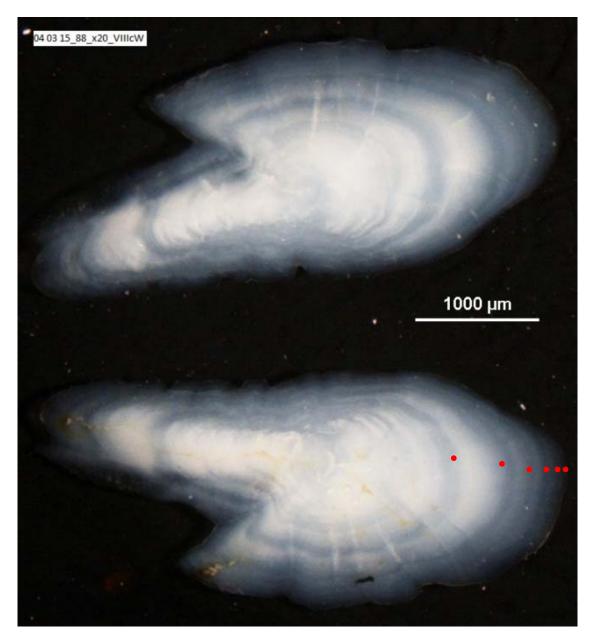


EDAD 5



EDAD 6





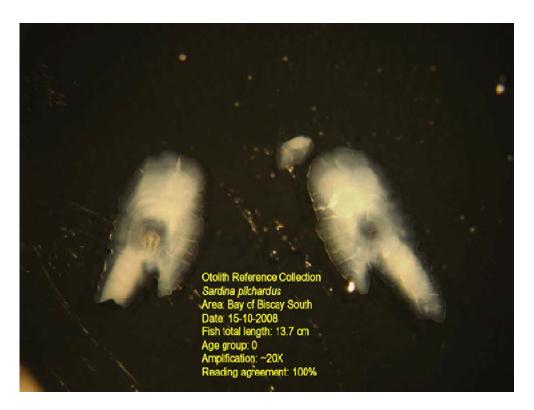
Date of Catch: 04-03-2015. TL=235 mm. Female. Age group 6.

EDAD 7

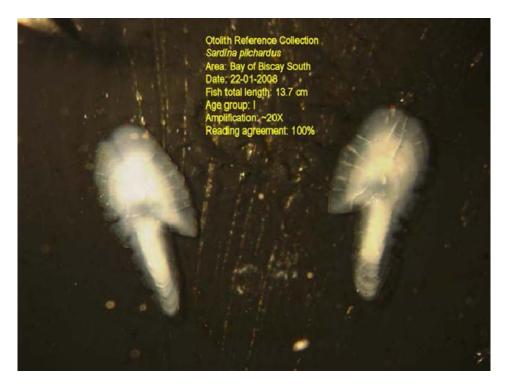


EDAD 8



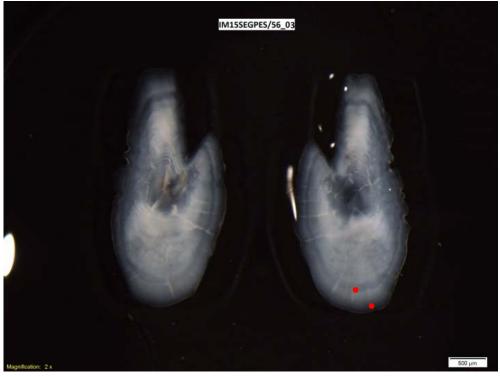


EDAD 1



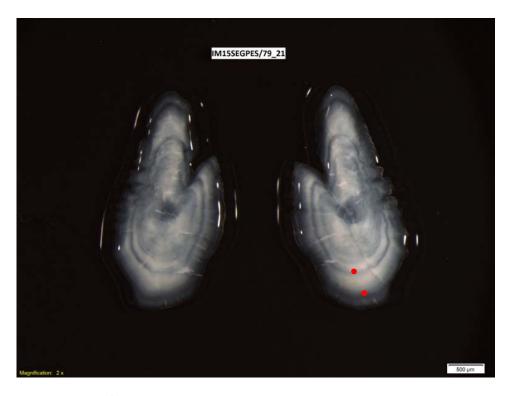
EDAD 2





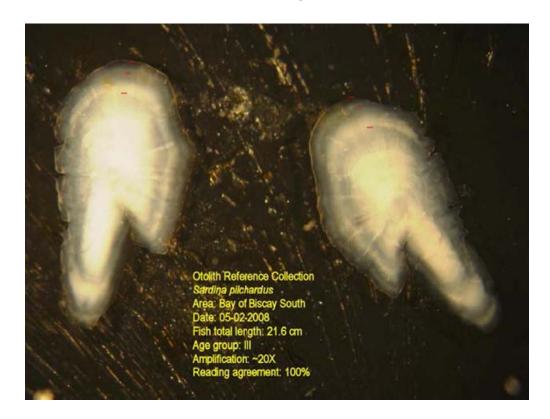
Date of Catch: 07-05-2015. TL=183 mm. Male. Age group 2.

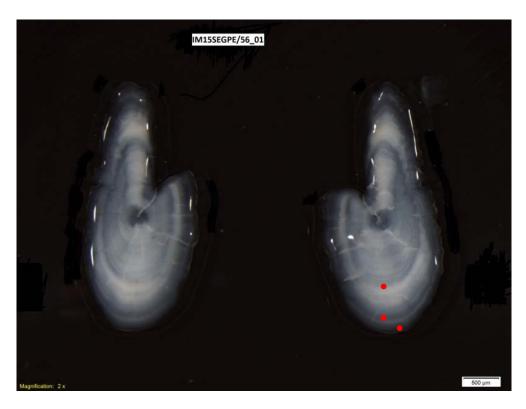
EDAD 2



Date of Catch: 06-10-2015. TL=189 mm. Female. Age group 2.

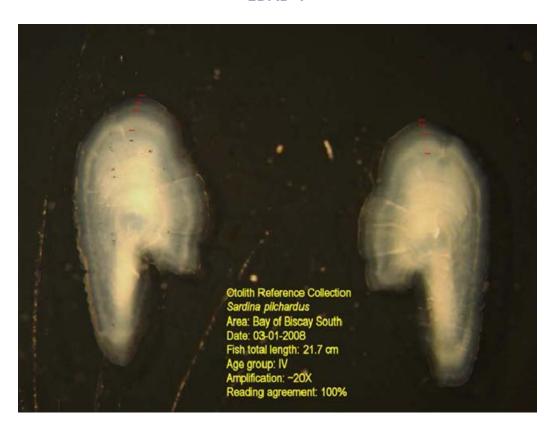
EDAD 3

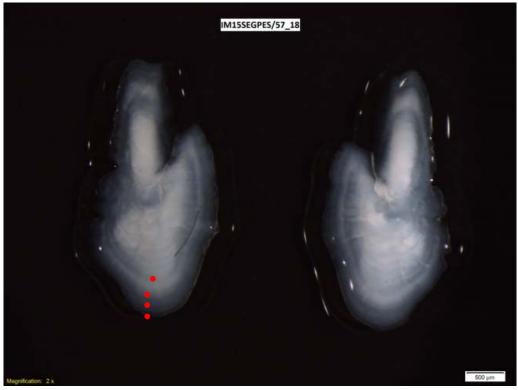




Date of Catch: 07-05-2015. TL=183 mm. Male. Age group 3.

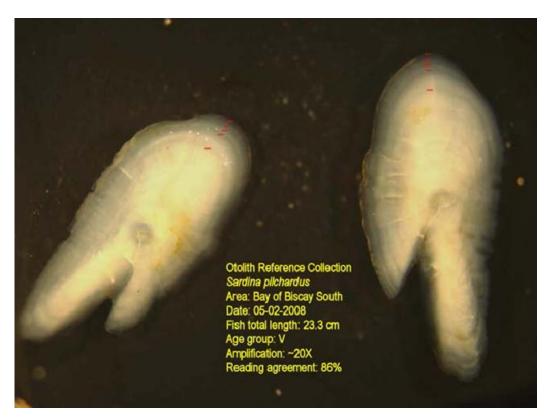
EDAD 4

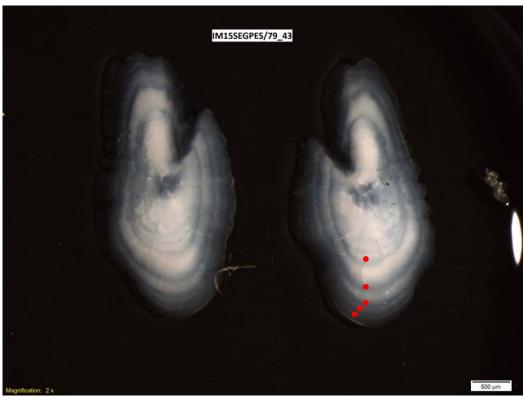




Date of Catch: 07-05-2015. TL=202 mm. Female. Age group 4

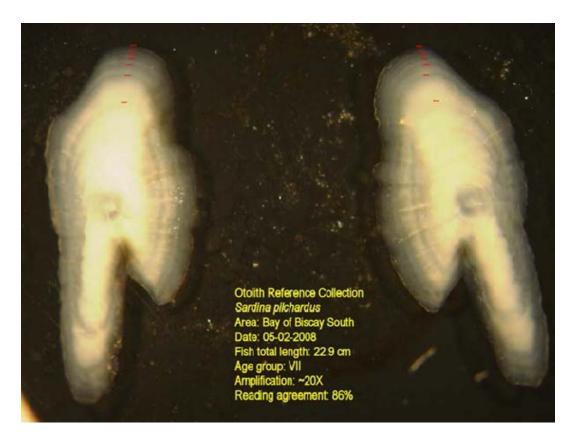
EDAD 5





Date of Catch: 06-10-2015. TL=236 mm. Female. Age group 5.

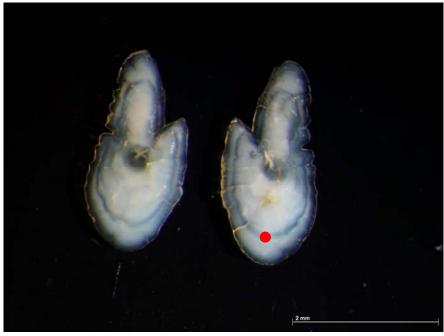
EDAD 7





EDAD 1

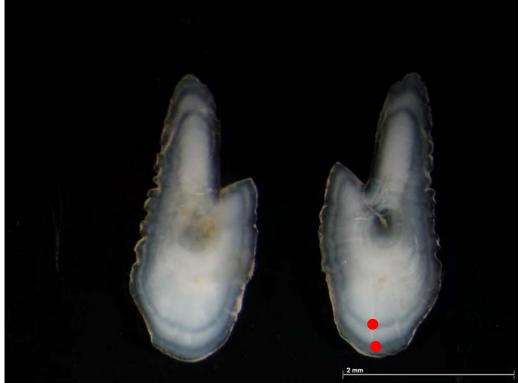




Date of Catch: 02-10-2014. TL=175 mm. Female. Age group 1.

EDAD 2



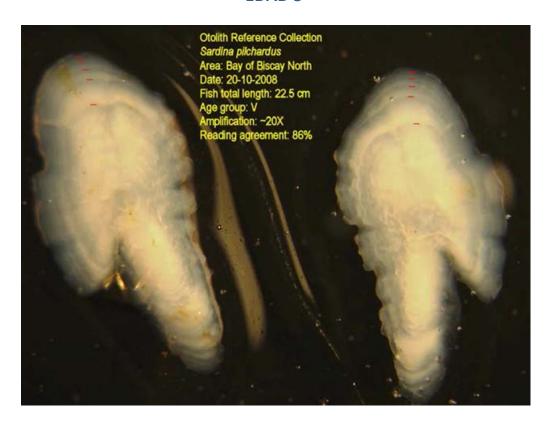


Date of Catch: 02-10-2014. TL=200 mm. Female. Age group 2.

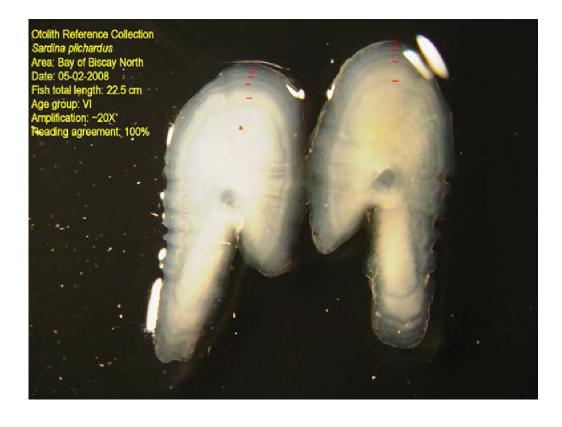


EDAD 4





EDAD 6



EDAD 7



8. Referencias

Alemany, F. and Álvarez, F. 1994. Formation of initial daily increments in sagital otoliths of reared and wild *Sardina pilchardus* yolk-sac larvae. Mar. Biol., 121: 35-39.

Álvarez, F., Porteiro, C., 1981. Growth studies of *Sardina pilchardus* (Walb.) in Galician waters (N.W. Spain). ICES C.M. 1981/H: 29. 9pp.

Andreu, B., Plaza, M. L. F., 1962. Estudio de la edad y crecimiento de la sardina (*Sardina pil-chardus* Walb.) del NW de España. Inv. Pesq., 21: 49-95.

Bandarra, N.M., Batista, I., Nunes, M.L., Empis, J.M., Christie, W.W., 1997. Seasonal changes in lipid composition of Sardine (*Sardina pilchardus*). J. Food Sci., 62: 40-42.

Coombs S.H., Smyth T.J., Conway, D.V.P., Halliday, N.C., Bernal, M., Stratoudakis, Y., Alvarez, P., 2006. Spawning season and temperature relationships for sardine (*Sardina pilchardus*) in the eastern North Atlantic. J. Mar. Biol. Ass. 86: 1245-1252.

Culley, M. 1971. The Pilchard—Biology and Exploitation. Pergamon Press, Oxford. 242pp. (ICES, 2010

Ganias, K., Somarakis, S., Koutsikopoulos, C., Machias, A., 2007. Factors affecting the spawning period of sardine in two highly oligotrophic Seas. Mar. Biol., 4: 1559-1569.

ICES. 2005. Workshop on sardine otolith age reading and biology. IPIMAR Lisbon, Portugal 27 June – 1 July, 2005

ICES. 2008a. Report of the Workshop on Age Reading on Baltic Sprat (WKARBS). 17-20 March 2008, Klaipeda, Lithuania. ICES CM 2008/ACOM: 37, 24pp.

ICES. 2008b. Report of the Workshop on Age Reading of Baltic Herring (WKARBH). 9–13 June 2008, Riga, Latvia. ICES CM 2008/ACOM: 36, 33pp

ICES. 2009. Report of the Workshop on Age Reading of European Anchovy (WKARA). 9-13 November 2009 Sicily, Italy. ICES, CM 2009/ACOM: 43, 118pp

ICES. 2011. Report of the Workshop on Age Reading of European Atlantic Sardine (WKARAS). ICES CM 2011/ACOM:42

ICES. 2011a. Report of the Workshop of National Age Readings Coordinators (WKNARC), 5-9 September 2011, Boulogne-sur-Mer, France. ICES CM 2011/ACOM:45. 175 pp.

ICES. 2013. Report of the Second Workshop of National Age Readings Coordinator (WKNARC-2). ICES CM 2013/ACOM: 52

ICES. 2019. Workshop on Age Reading of European Sardine (*Sardina Pilchardus*) (NE Atlantic and Mediterranean) (WKARAS2). ICES Scientific Reports. 1:70. 83 pp. http://doi.org/10.17895/ices.pub.5678

ICES. 2020. ICES Workshop on age validation studies of small pelagic species (WKVALPEL). ICES Scientific Reports. 2:15. 76 pp. http://doi.org/10.17895/ices.pub.5966

Jorge, I., Monteiro, C., 1980. Preliminary results on the age and growth of *Sardina pilchardus* (Walb.) in sub-area IXa. ICES, C.M. 1980/H:38, 11pp.

Meneses, I., 2003. Estimação de Factores que Condicionam a Variabilidade do Recrutamento dos Peixes na Costa Atlântica da Península Ibérica. PhD Thesis, INIAP/IPIMAR. 260 pp.

Nunes, C., Silva, A., Soares, E., Ganias, K., 2011. The use of hepatic and somatic indices and histological information to characterize the reproductive dynamics of sardine from the Portuguese coast. Marine and Coastal Fisheries: Dynamics, Management, and Ecosystem Science 3: 127–144.

Panfili, J., de Pontual, H., Troadec, H. and Wright, P.J. 2002. Manual of Fish Sclerochronology. IFREMER-IRD co-edition, Brest. 464 pp.

Parrish, R. H., Serra, R., Grant, W. S., 1989. The monotypic sardines, Sardina and Sardinops: their taxonomy, distribution, stock structure, and zoogeography. Can. J. Fish. Aquat. Sci., 46: 2019-2036. ICES, 2007

Pertierra, J. P., Morales-Nin, B., 1989. Sardine growth in the Catalan Sea (NW Mediterranean) determined by means of otolith interpretation and length frequency data. Sci. Mar., 53: 821-826.

Silva, A., Carrera, P., Massé, J., Uriarte, A. D., Santos, M. B., Oliveira, P. B., Soares, E., et al., 2008. Geographic variability of sardine growth across the northeastern Atlantic and the Mediterranean Sea. Fish. Res., 90: 56–69.

Solá, A., Franco, C., Lago de Lanzós, A., Motos, L., 1992. Temporal evolution of *Sardina pilchardus* (Walb.) spawning in the N-NW coast of the Iberian Peninsula. Bol. Inst. Esp. Oceanogr. 8(1): 97-114.

Southward, A.J., Boalch, G.T., Maddock, L., 1988. Fluctuations in the herring and pilchard fisheries of Devon and Cornwall linked to change in climate since the 16th century. J. Mar. Biol. Ass. 68: 423-445.

Stratoudakis, Y., Coombs, S., Lago de Lanzós, A., Halliday, N., Costas, G., Caneco, B., Franco, C., Conway, D., Santos, M. B., Silva, A., Bernal, M., 2007. Sardine (*Sardina pilchardus*) spawning seasonality in European waters of the northeast Atlantic. Mar. Biol., 152: 201-212.

Villamor, B., Landa, J., Antolínez, A., Barrado, J., Dueñas, C., Hernández, C., Meijide, M., Navarro, M.R., Riveiro, I. 2015. Age determination procedures for pelagic and benthic species from ICES area in Spanish Institute of Oceanography (IEO). IEO internal Document. Repositorio IEO http://hdl.handle.net/10508/9095

Villamor, B., Landa, J., Antolinez, A., Barrado, J., Dueñas, C., Hernandez, C., Meijide, M., Navarro, M.R., Riveiro, I. 2016. Manual de Determinación de la edad de especies pelágicas y bentónicas del área del ICES. Documento Interno del IEO. Repositorio IEO