

Lucía Cañas Ferreiro

**Identificación de stocks de rape (*Lophius piscatorius*) en
aguas del suroeste europeo**

Departamento de Biología Celular e Molecular
Facultade de Ciencias
Universidade da Coruña

Directores: Dra. M. Paz Sampedro Pastor e Dr. A. Celso Fariña Pérez

2012



Instituto Español
de Oceanografía



UNIVERSIDADE DA CORUÑA

Identificación de stocks de rape (*Lophius piscatorius*) en aguas del suroeste europeo

Memoria de tesis doctoral presentada por la Lcda. Lucía Cañas Ferreiro en el
Departamento de Biología Celular y Molecular de la Facultad de Ciencias de la
Universidade da Coruña, para optar al grado de Doctora.

Septiembre 2012



La Dra. M. Paz Sampedro Pastor y el Dr. A. Celso Fariña Pérez, Científicos Titulares del Instituto Español de Oceanografía en el Centro Oceanográfico de A Coruña, informan que la memoria de tesis doctoral titulada:

Identificación de stocks de rape (*Lophius piscatorius*) en aguas del suroeste europeo

presentada por la Lcda. Lucía Cañas Ferreiro para optar al grado de Doctora por la Universidade da Coruña, ha sido realizada bajo su dirección, cumpliendo las condiciones exigidas para su presentación, la cual autorizan.

Para que así conste y surta los efectos oportunos, firman la presente en A Coruña, a tres de septiembre de dos mil doce.



El Dr. Ramón J. Muiño Boedo, Profesor Contratado Doctor del Departamento de Biología Animal, Biología Vegetal y Ecología de la Universidade da Coruña, y Tutor de la presente memoria de tesis doctoral titulada

Identificación de stocks de rape (*Lophius piscatorius*) en aguas del suroeste europeo

de la que es autora la Lcda. Lucía Cañas Ferreiro, y que ha sido dirigida por la Dra. M. Paz Sampedro Pastor y el Dr. A. Celso Fariña Pérez, Científicos Titulares del Instituto Español de Oceanografía en el Centro Oceanográfico de A Coruña,

AUTORIZA su presentación en la Universidade da Coruña para su lectura y defensa.

Y para que así conste y surta los efectos oportunos, firma la presente en A Coruña, a tres de septiembre de dos mil doce.

*A mis padres...
a Pati y a Dani*

Agradecimientos

Agradezco al Instituto Español de Oceanografía (IEO) la concesión de una beca de Formación de Personal de Investigación durante el periodo 2008-2012, que me ha permitido realizar esta tesis. Este trabajo de investigación formó parte de los objetivos del Proyecto BIOBENTON (Biología de especies bentónicas en el área ICES), y contó con la financiación del Proyecto ERDEM (Evaluación de recursos demersales por métodos directos en el área ICES) y de otros Proyectos del Área de Pesca del IEO que facilitaron la recogida de muestras y proporcionaron información sobre la pesca de rape.

Mi más sincero agradecimiento a las dos personas clave en el desarrollo de esta tesis, Paz Sampedro y Celso Fariña, mis directores. Los profundos conocimientos estadísticos de Paz, la impecable redacción de Celso, y la infinita paciencia de ambos, hicieron posible que esta tesis se haya escrito. Gracias por todo el tiempo que me habéis dedicado. Me enseñasteis desde el análisis estadístico más simple y la estructura de un artículo científico, hasta cómo desarrollar y ponerle el lazo final a una tesis doctoral. Sois un buen equipo, y como he dicho en incontables ocasiones, me siento afortunada porque hayáis sido vosotros con quien compartí mis primeros años en el mundo de la investigación.

También quiero mencionar a los miembros más cercanos del Área de Pesca del Centro Oceanográfico (CO) de A Coruña: Begoña Castro, Urbano Autón, Armando Vázquez, Roberto Morlán, Isabel Herraiz, Lola Garabana, María Hermida, Susi Llevot y nuestra antigua compañera, Marian Torres. Ha sido un placer trabajar con vosotros, tanto a nivel profesional como personal. En especial les quiero dar las gracias a Bego y a Urbano, por iniciarme en los muestreos biológicos de distintas especies de peces comerciales, entre ellas el rape, además de ayudarme en el muestreo parasitológico del último. Susi, a ti te estoy agradecida por llegar cuando más lo necesitaba y echarme una mano con la extracción e identificación de los nematodos parásitos. Y Roberto, decirte que tus bromas siempre conseguían arrancarme una sonrisa y ponerme de mejor humor.

Agradezco el esfuerzo y trabajo duro que realizaron mis compañeros del CO de Santander (Jorge Landa y su equipo), y a las personas que han participado en las campañas oceanográficas *Demersales* y *Porcupine*, ayudándome en el muestreo biológico del rape que incluía un tedioso examen parasitológico y recogida de diferentes órganos y estructuras. Sin ellos, la toma de muestras analizadas para realizar esta tesis

no hubiera sido posible. Gracias también a los jefes de estas campañas, Francisco Velasco, Alberto Serrano y Antonio Punzón, por cedernos los datos de hidrología usados también en este trabajo.

Quisiera destacar la ayuda prestada por Pablo Abaunza en mis inicios en el campo de la parasitología. Su experiencia y consejos fueron esenciales para abrirme camino en esta área tan compleja. Gracias a Christoph Stransky y a su equipo (*Institute of Sea Fisheries*, Hamburgo, Alemania) por acogerme y compartir conmigo sus conocimientos sobre el uso del análisis morfométrico de otolitos en la identificación de stocks de peces marinos. Y también a Andrés Martínez y a su equipo (Departamento de Biología Celular y Molecular, Universidad de A Coruña) por enseñarme la metodología, y guiarme con diligencia, para realizar la caracterización genética de los nematodos parásitos estudiados en este trabajo.

Gracias a todos los compañeros del Centro Oceanográfico de A Coruña por conseguir que el ambiente de trabajo fuera inmejorable. Joaquín, Pablo, Antía, Alex, Marcos, María, Juan, Manuel, M^a Jesús, y demás personas con las que disfruté de esos cafés rodeados de todo tipo de dulces que hacían aflorar nuestros más escondidos instintos de repostería. También a Fernando, José Luis, Carmiña, Gelines, Fátima, Tere...por vuestra cercanía y compañerismo. En este apartado, tengo que destacar dos cosas. La primera es la gran amistad que me une a Carlota y a Luz. Carlota, fuiste mi primer contacto con el IEO, y desde nuestra primera conversación supe que de ahí iba a salir algo muy bueno...no me equivoqué. Luz, tu fuiste mi compañera de despacho, mi profesora particular en temas diversos como el inglés y L^AT_EX, y hemos compartido sonrisas y lágrimas... de ahí que fueses uno de mis grandes apoyos en esta aventura. La segunda cosa, es el gallinero, o despacho 0.0. Inés, Susi, Carmen y Ángel, no sabéis hasta qué punto, cada mañana me alegraba saber, que además de un duro día de trabajo, me esperaban bromas, risas y atenciones a nuestro pequeño huerto. Resumiendo, muchas gracias a todos por hacerme sentir como en casa y darme así una vía de escape en los momentos más difíciles. Me llevo grandes amistades, que después de soportar la presión y nervios generados por la tesis, espero que duren muchos años.

Me gustaría también nombrar a Susana, a la que tengo un profundo cariño, a Juan Carlos, amigo y compañero de andanzas, y a la gente que, sin saberlo, ha aportado su granito de arena, simplemente por estar a mi lado.

Dejo para el final las gracias a las personas, cuyo constante apoyo, me dio las fuerzas necesarias para acabar esta tesis. Gracias papá, mamá y Pati, por ser ese respaldo que te hace sentir segura, sabiendo que está ahí siempre, por muy mal que

se pongan las cosas. A Dani, no sólo por estar a mi lado incondicionalmente, calmándome y animándome en los malos momentos y disfrutando de los buenos ratos, sino también por darle el toque artístico a este trabajo. A Belén y a Pili, mis pequeñas meigas, a Noe, mi amiga de la infancia que me regaló una preciosa ahijada, a mi cuñado Ches, a Santi, Carlos, Adri, Nuria, Pla, Paloma, Paula, Pablo y Rita. En serio chicos, gracias por estar ahí, sois los mejores...sin vuestro *kit de supervivencia* no lo habría conseguido.

Resumo

A xuliana, *Lophius piscatorius*, é unha das especies de maior valor comercial das pesqueiras de fondo do suroeste de Europa. No Atlántico Nordeste considéranse 3 stocks definidos en función de criterios de avaliación e xestión. Nesta tese de doutoramento explórase se a actual estrutura de stock no suroeste de Europa posúe un fundamento biolóxico. No capítulo 1, expóñense as características biolóxicas da especie, a súa pesqueira e o proceso de avaliación e xestión deste recurso. No capítulo 2 detállanse os obxectivos do traballo e no capítulo 3 resúmese o material e métodos xerais empregados. Os capítulos 4 e 5 tratan sobre o uso da análise morfométrica de otólitos e dos parásitos como biomarcadores en estudos de identificación de stocks da xuliana. No capítulo 6 discútense os resultados obtidos de ambas as dúas técnicas de identificación de stocks, complementándoos con información procedente de estudos previos que aplicaron xenética, morfoloxía corporal e marcado-recaptura. No capítulo 7, mediante un exercicio práctico de avaliación, analízanse as implicacións de considerar un único stock sobre a percepción do estado de explotación da xuliana.

Resumen

El rape, *Lophius piscatorius*, es una de las especies de mayor valor comercial de las pesquerías de fondo del suroeste de Europa. En el Atlántico Nordeste se consideran 3 stocks definidos en función de criterios de evaluación y gestión. En esta tesis doctoral se explora si la actual estructura de stock en el suroeste de Europa posee un fundamento biológico. En el capítulo 1, se exponen las características biológicas del rape, su pesquería y el proceso de evaluación y gestión de este recurso. En el capítulo 2 se detallan los objetivos del trabajo y en el capítulo 3 se resume el material y métodos generales empleados. Los capítulos 4 y 5 tratan sobre el uso del análisis morfométrico de otolitos y de los parásitos como biomarcadores en estudios de identificación de stocks de rape. En el capítulo 6 se discuten los resultados obtenidos de ambas técnicas de identificación de stocks, complementándolos con información procedente de estudios previos que aplicaron genética, morfología corporal y marcado-recaptura. En el capítulo 7, mediante un ejercicio práctico de evaluación, se analizan las implicaciones de considerar un único stock sobre la percepción del estado de explotación de rape.

Abstract

Anglerfish, *Lophius piscatorius*, is one of the most valuable species of bottom fisheries of the Southwest of Europe. In the Northeast Atlantic, 3 stocks are considered, with boundaries that were established for assessment and management purposes. This Ph.D. Thesis explores whether the current stock structure in southwestern Europe has a biological support. Chapter 1 introduces the biological features of the anglerfish, its fishery and the assessment and management process of this resource. Chapter 2 outlines the objectives of this work and Chapter 3 explains the material and general methodologies employed. The Chapters 4 and 5 describe the use of the otolith shape analysis and the parasites as biological tags in stock identification studies of anglerfish. In Chapter 6, the results of both techniques were evaluated together with information from previous studies of genetic, body morphology and tagging-recapture. The implications of considering a single stock of anglerfish in the perception of the resource status are analysed in the Chapter 7.

Glosario de abreviaturas y siglas

A. Área del otolito.

Ab. Abundancia.

AbM. Abundancia media.

ACFM. *Advisory Committee on Fishery Management (ICES).*

ACOM. *Advisory Committee (ICES).*

ADG. *Advice Drafting Groups (ICES).*

ADNr. Ácido desoxirribonucleico ribosómico.

AIC. *Akaike information criterion.*

An. Anchura del otolito.

B. Biomasa.

B_{MSY} . Biomasa a la que se alcanza el rendimiento máximo sostenible.

BLAST. *Basic local alignment search tool.*

B/O. Buque oceanográfico.

C. Circularidad del otolito.

dICES. División ICES.

EFA. Análisis elíptico de Fourier (*elliptical Fourier analysis*).

F. Tasa de mortalidad por pesca.

F_{MSY} . Tasa de mortalidad por pesca a la que se alcanza el rendimiento máximo sostenible.

FAO. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (*Food and Agriculture Organization of the United Nations*).

FD. Coeficientes del análisis elíptico de Fourier (*Fourier descriptors*).

GAM. *Generalized additive models.*

GLM. *Generalized linear models.*

H. Profundidad.

I. Intensidad.

ICCAT. Comisión Internacional para la Conservación del Atún Atlántico (*International Commission for the Conservation of Atlantic Tunas*).

ICES. Consejo Internacional para la Exploración del Mar (*International Council for the Exploration of the Sea*).

IEO. Instituto Español de Oceanografía.

IM. Intensidad media.

ITCAAN. *Integrated tagging catch-age analysis*.

ITS1. *Internal transcribed spacer 1*.

ITS2. *Internal transcribed spacer 2*.

L. Longitud del otolito.

lat. Latitud.

LDA. Análisis discriminante lineal (*linear discriminant analysis*).

long. Longitud.

LPUE. Desembarcos por unidad de esfuerzo (*landings per unit effort*).

Lt. Longitud total del rape.

MAST. *Multi-stock age-structured tag-integrated assessment model*.

MDS. Escalamiento multidimensional (*multidimensional scaling*).

Modelo HKY. Modelo Hasegawa, Kishino y Yano.

MSY. Rendimiento máximo sostenible (*maximum sustainable yield*).

NAFO. Organización de Pesquerías del Atlántico Noroeste (*Northwest Atlantic Fisheries Organization*).

NCBI. *National Center for Biotechnology Information*.

nMDS. Escalamiento multidimensional no métrico (*non-metric multidimensional scaling*).

P. Prevalencia.

PCR. Reacción en cadena de la polimerasa (*polymerase chain reaction*).

Pe. Perímetro del otolito.

Po. Peso del otolito.

RAPD. *Random amplification of polymorphic DNA*.

RG. *Review Groups* (ICES).

SS3. *Stock synthesis 3*.

TAC. Total admisible de capturas.

WG. *Working Groups* (ICES).

WGCSE. *Working Group for the Celtic Seas Ecoregion (ICES).*

WG-FU. *Working Group on Fisheries Units in Sub-areas VII y VIII.*

WGHMM. *Working Group on the Assessment of Southern Shelf Stocks of Hake, Monk and Megrin (ICES).*

XSA. *Análisis extendido de los supervivientes (extended survivors analysis).*

ZAM. *Zero altered models.*

ZANB. *Negative binomial zero altered models.*

Índice general

1. Introducción	1
1.1. Características biológicas y stocks de rape en el Atlántico Nordeste . . .	5
1.2. Evaluación y gestión de los stocks de rape	9
2. Objetivos	13
2.1. Interés del estudio	15
2.2. Objetivos	15
3. Material y métodos general	17
3.1. Área de estudio	19
3.2. Muestreo de rape	20
4. Análisis morfométrico de otolitos	25
4.1. Introducción	27
4.2. Material y métodos	28
4.2.1. Toma de datos	30
4.2.2. Análisis de datos	35
4.3. Resultados	37
4.3.1. Análisis univariante	37
4.3.2. Análisis multivariante	41
5. Parásitos como marcadores biológicos	47
5.1. Parásitos biomarcadores de rape: selección y caracterización	51
5.1.1. Introducción	51
5.1.2. Material	56

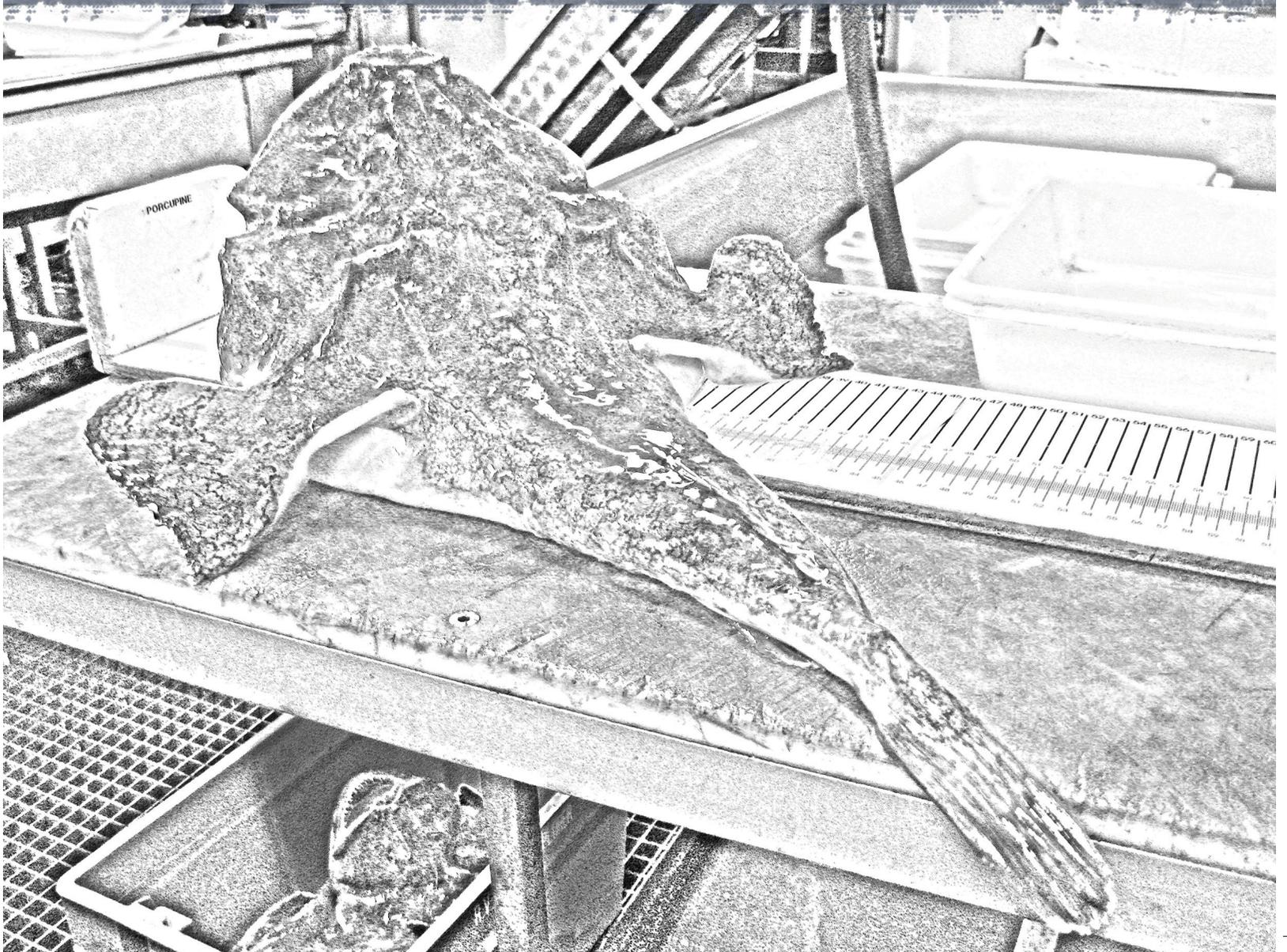
5.1.3.	Identificación morfológica de los nematodos seleccionados	57
5.1.4.	Caracterización genética de los nematodos seleccionados	62
5.1.5.	Valoración de resultados	68
5.2.	Distribución espacio-temporal de los parásitos seleccionados	73
5.2.1.	Introducción	73
5.2.2.	Material y métodos	73
5.2.2.1.	Muestreo y recolección	73
5.2.2.2.	Análisis de datos	77
5.2.3.	Resultados	87
5.2.3.1.	<i>Anisakis</i> Tipo I	87
5.2.3.2.	<i>Pseudoterranova decipiens</i> (s.l.)	109
5.2.3.3.	<i>Hysterothylacium rigidum</i>	117
5.2.3.4.	<i>Chondracanthus lophii</i>	125
5.2.3.5.	<i>Spraguea lophii</i>	147
5.3.	Análisis multivariante de los parásitos biomarcadores	161
5.3.1.	Introducción	161
5.3.2.	Material y métodos	162
5.3.3.	Resultados	164
6.	Discusión general	169
7.	Implicaciones de la estructura de stock de rape en su evaluación	199
7.1.	Evaluación en los stocks norte y sur de rapas	201
7.2.	Resumen sobre el estado de los stocks de rape <i>L. piscatorius</i>	203
7.3.	Evaluación de rape <i>L. piscatorius</i> como un único stock	204
7.4.	Implicaciones en la evaluación de rape <i>L. piscatorius</i>	216
8.	Conclusiones	221
	Bibliografía	227
	Anexos	257

A. Estudio genético de los nematodos parásitos	257
A.1. Métodos	257
A.2. Resultados en detalle del estudio genético	259
B. Salida <i>bootstrap</i> del modelo ASPIC	271

1



Introducción



Los recursos pesqueros han sido una fuente de alimento de gran relevancia para la población durante años. En el siglo pasado, principalmente después de la industrialización del sector pesquero, muchos recursos fueron explotados sin control, creyéndolos inagotables, hasta que se observaron los primeros síntomas de colapso de sus pesquerías. La biomasa de determinadas especies clave en la economía pesquera mundial (sardina californiana, anchoveta peruana, arenque europeo, etc.) disminuyó de forma alarmante, haciendo que su explotación no fuera rentable desde un punto de vista económico, además de poner en peligro la conservación de las poblaciones (MacCall 1976, Ulltang 1976, Csirke 1989). Fue entonces cuando se asumió la necesidad de crear normativas que regularan esta explotación. Así, en Europa, surgió la Política Pesquera Común, formada por un conjunto de reglas y mecanismos que regulan las actividades de explotación de los recursos vivos marinos, así como su transformación y comercialización. Además, la aparición e implantación del concepto de desarrollo sostenible en la gestión de recursos naturales ha modificado los objetivos de las políticas públicas (Comisión Europea 2006).

Para gestionar de forma eficaz las especies pesqueras explotadas había que comprender su biología. Para esto, se desarrollaron estudios sobre su comportamiento reproductivo, reclutamiento, migraciones y mortalidad, y en general, sobre los aspectos biológicos que repercuten en su tasa de renovación, lo que consecuentemente afectaría a su gestión (Castro 2011). Se establecieron instituciones internacionales, como ICES (*International Council for the Exploration of the Sea*) y NAFO (*Northwest Atlantic Fisheries Organization*) en el Atlántico Norte, para facilitar la recolección e interpretación de datos científicos y establecer límites espaciales de distribución de las diferentes especies explotadas para su evaluación y gestión.

Las actuales unidades de evaluación y gestión de los recursos pesqueros son los *stocks*. El término stock se ha definido de múltiples formas, sin llegar a un acuerdo unánime, a pesar de su relevancia en la evaluación y gestión de los recursos. Una de las definiciones más aceptadas es la propuesta por Ihssen et al. (1981) que considera un stock como “un grupo intraespecífico de individuos que se aparean de forma aleatoria y mantienen una integridad espacial o temporal”, aunque según Begg et al. (1999) el término esencialmente describe características de una unidad poblacional asumida homogénea para propósitos de gestión.

Las fronteras entre stocks se han determinado no sólo basándose en criterios biológicos, sino que aspectos políticos y económicos jugaron un papel destacable, en ocasiones superponiéndose a la biología de la especie. Los errores en la delimitación

de un stock, que impliquen una explotación pesquera descompensada sobre diferentes componentes de la población, pueden tener consecuencias drásticas, como ocurrió, por ejemplo, en la pesquería del bacalao de Canadá, que colapsó en la década de los 90 tras una sobreexplotación de la biomasa frezante (Smedbol & Stephenson 2001).

Por ello, la identificación de stocks, entendida como el campo interdisciplinar que implica el reconocimiento de componentes sostenibles dentro de poblaciones naturales, ha ganado relevancia en los años recientes. Sin embargo, como la estructura de stock y delimitación es incierta para muchas especies, la fiabilidad de la evaluación de stocks, y por lo tanto la gestión eficiente de las pesquerías, todavía sigue siendo limitada para muchos recursos pesqueros (Cadrin et al. 2005).

Actualmente, existe una preocupación creciente mundial sobre el estado de explotación de los diferentes stocks. El porcentaje de stocks sobreexplotados, en regresión o en recuperación, ascendió desde un 10 % en 1974 hasta un 30 % en 2009, los stocks subexplotados han descendido un 25 % en menos de 40 años, y los stocks explotados al máximo rendimiento, es decir, en los que se está extrayendo la máxima producción sin dañar el estado del stock, se han mantenido alrededor del 50 % en los últimos 40 años (FAO 2012). Si nos centramos en los stocks pesqueros del Atlántico Norte, la situación no mejora, puesto que se ha observado una importante disminución de la producción pesquera de especies demersales y pelágicas, principalmente en el oeste del Atlántico (FAO 2012). La sobrepesca reiterada que ha tenido lugar en las últimas décadas, además de causar el agotamiento de las poblaciones, también provocó un descenso de las capturas y un aumento del coste de conseguirlas, lo cual ha repercutido en la economía pesquera de los países implicados en la explotación de esas poblaciones.

Ante esta situación, y considerando el Nordeste Atlántico, la Unión Europea y sus Estados miembros establecieron en la Cumbre Mundial sobre el Desarrollo Sostenible, celebrada en Johannesburgo en 2002, un compromiso político internacional con el fin de restablecer o mantener, en su caso, las poblaciones de peces a niveles de biomasa que puedan producir un rendimiento máximo sostenible, entendiéndose éste por el rendimiento máximo que se puede obtener año tras año y que se caracteriza por un nivel de mortalidad por pesca que, en promedio, genera un tamaño de la población que lo produce (Comisión Europea 2006). Este nuevo enfoque de gestión no sólo beneficiaría al estado biológico de los stocks, sino que mejoraría el rendimiento económico del sector pesquero en Europa, acarrearía beneficios económicos para la industria pesquera al reducir los costes, mejorar las capturas, mejorar la rentabilidad

de la pesca y reducir los descartes. La tendencia de gestión del rendimiento máximo sostenible debe situarse asimismo en el contexto de la aplicación gradual del enfoque de la gestión basado en los ecosistemas (enfoque ecosistémico), que es un objetivo de la Política Pesquera Común (Comisión Europea 2006).

En general, se estima que la biomasa de las pesquerías industrializadas se reduce un 80% en los primeros 15 años de explotación (Myers & Worm 2003). Uno de los principales efectos de una sobreexplotación de los recursos pesqueros es el que podría tener en el ecosistema marino. Existen mecanismos de compensación de las poblaciones ante una extracción que se centra generalmente en las especies depredadoras que ocupan los niveles más altos de la cadena trófica, como por ejemplo: alteración en la composición de edades de la población, tallas y edades medias menores tanto en la población como para la primera maduración, aumento de la biomasa de las especies no explotadas comercialmente debido a un descenso de la depredación y la competencia entre especies y descenso del nivel trófico medio de las capturas (Pitcher & Hart 1982, Myers & Worm 2003). Otros efectos de la sobreexplotación sobre los recursos pesqueros son la extinción local y global de especies, principalmente aquellas que presentan una edad de primera maduración alta, y la extinción comercial, es decir, que la biomasa de una pesquería alcance niveles tan bajos que su explotación no sea rentable económicamente (Pitcher & Hart 1982).

Por lo tanto, para la sostenibilidad de los recursos marinos es necesario el conocimiento del recurso y de los factores con los que interactúa, que son la base científica para una correcta gestión. La escala espacial de las unidades de gestión no ha sido convenientemente considerada en la gestión de pesquerías y, a pesar de las potenciales implicaciones que la estructura de stock tiene en la gestión, el acoplamiento de la escala espacial de la gestión con la escala espacial de las unidades biológicas es todavía un tema sin resolver para muchos stocks (Stephenson 2002).

1.1. Características biológicas y stocks de rape en el Atlántico Nordeste

El rape, *Lophius piscatorius* (Linneo, 1758), especie objeto del presente estudio, pertenece al orden Lophiiformes, suborden Lophioidei, familia Lophiidae. Los miembros de esta familia se caracterizan por el aplastamiento dorso-ventral de su cabeza y cuerpo, boca ancha en una cabeza extremadamente grande y piel fina sin escamas. Carecen de vejiga gaseosa y el primer radio de su aleta dorsal está modificado en forma de apéndice (ilicio) y dotado de un lóbulo carnoso en su extremo que sirve

para atraer a las presas de las que se alimentan (Caruso 1983, 1986) (Figura 1.1). Esta morfología está fuertemente adaptada a su modo de vida bentónica, y por lo tanto, estrechamente ligada al fondo marino.

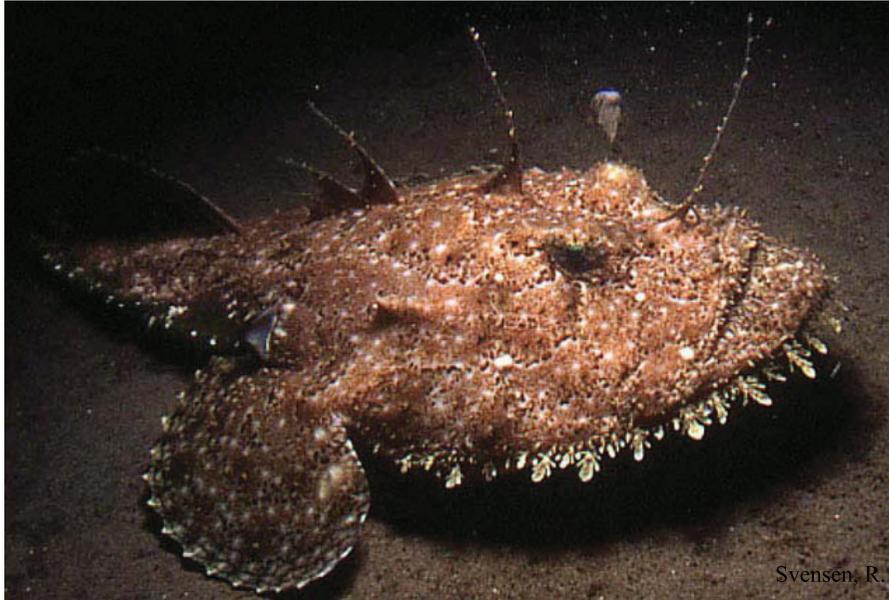


Figura 1.1: Vista lateral de *L. piscatorius*.

El género *Lophius* está formado por 7 especies presentes en el océano Pacífico, Atlántico e Índico (ver Fariña et al. 2008): *L. americanus*, *L. gastrophysus*, *L. vaillanti*, *L. vomerinus*, *L. litulon* y las dos especies de rapés europeas, el rape blanco *L. piscatorius* y el rape negro *L. budegassa* (Figura 1.2).

Lophius piscatorius habita en el Atlántico Nordeste desde Islandia y el suroeste del mar de Barents hasta el estrecho de Gibraltar, incluyendo el mar Mediterráneo y el mar Negro (Caruso 1986, Solmundsson et al. 2010, Froese & Pauly 2012) (Figura 1.2). El rape puede encontrarse sobre fango o arena en un amplio rango batimétrico (desde aguas someras hasta profundidades de 1000 m) (Caruso 1986, Froese & Pauly 2012). Se han observado grandes desplazamientos dentro de su área de distribución (Pereda & Landa 1997, Laurenson et al. 2005, Landa et al. 2008a) indicativos de mezcla de individuos de diversas zonas geográficas, lo que podría evitar la formación de subpoblaciones diferenciadas genéticamente. Sin embargo, se desconoce la tasa de intercambio, y si constituye o no una única población en el Atlántico Nordeste.

El rape es una especie oportunista, cuya estrategia principal de alimentación es el acecho, usando el ilicio como señuelo para atraer a sus presas, aunque también

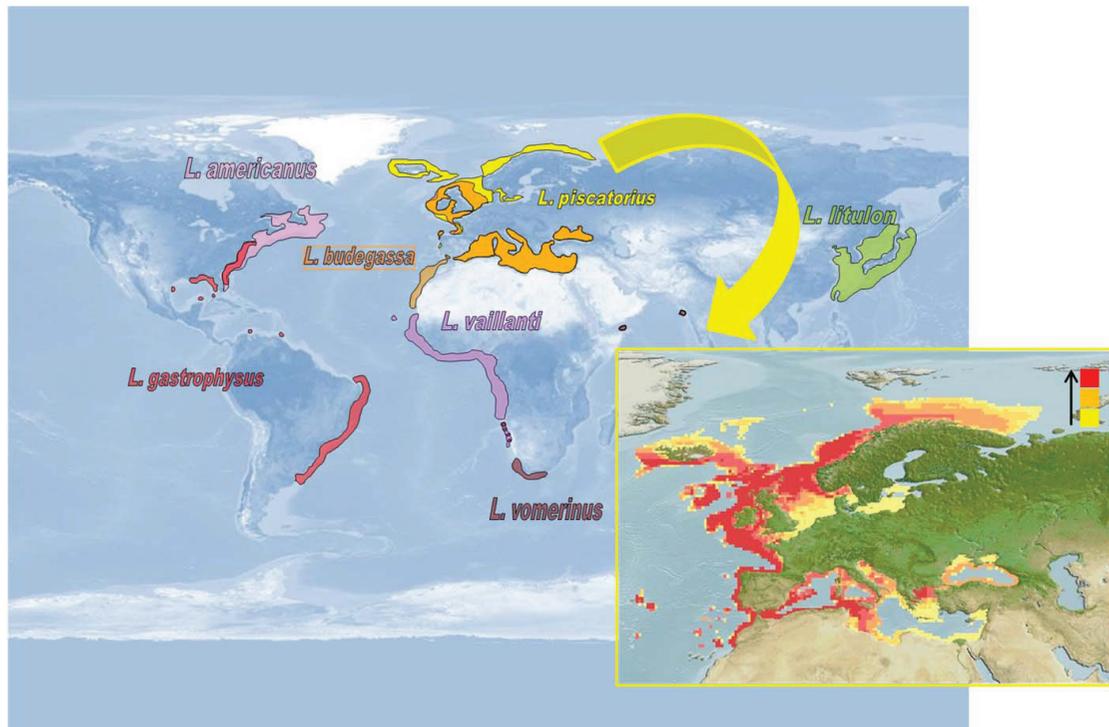


Figura 1.2: Distribución geográfica de las 7 especies del género *Lophius*, destacando la distribución de *L. piscatorius* (Froese & Pauly 2012).

se describió un comportamiento depredador activo (Laurenson et al. 2004). Su dieta se compone mayoritariamente de peces y en menor proporción de crustáceos y cefalópodos; la mayor parte de las presas de los juveniles son invertebrados y peces bentónicos de pequeño tamaño, mientras que, en juveniles desarrollados y adultos, el consumo de invertebrados disminuye y sus principales presas son peces de mayor tamaño, sobre todo gádidos (merluza *Merluccius merluccius*, bertorella *Phycis blennoides*, lirio *Micromesistius poutassou*, etc.) (Crozier 1985, Laurenson & Priede 2005). Este cambio de alimentación asociado al desarrollo de los individuos y su poca selectividad para elegir sus presas, son factores que influyen en gran medida en su fauna parásita.

Con relación a la reproducción, el rape presenta una morfología de la gónada peculiar; en hembras maduras, el ovario puede medir más de 10 m de largo y 60 cm de ancho, representando hasta un 35 - 50 % de su peso total, lo cual indica el gran gasto energético que esta especie invierte en la reproducción (Afonso-Dias & Hislop 1996). El huevo y la larva del rape son pelágicos y el conocimiento que hay sobre estos estadios es limitado; Hislop et al. (2001) sugirió que la transición de la fase pelágica a la bentónica

podría realizarse en aguas de poca profundidad, en ocasiones a cientos de kilómetros de la zona de puesta, lo que favorecería la mezcla entre poblaciones, mientras que Swan et al. (2004) documentó una segregación espacial de las larvas que fomentaría la aparición de subpoblaciones. Existen aún grandes lagunas de conocimiento en cuanto al comportamiento reproductivo de los rapas, en especial de las hembras; las hembras maduras aparecen muy escasamente en las capturas, de aquí que resulte difícil estudiar los hábitos reproductivos, las áreas y épocas de puesta y la talla de madurez (Fariña et al. 2008).

Otro aspecto de la biología del rape, aún en controversia, es la determinación de su edad y crecimiento. Para determinar los años de vida de un individuo se han usado principalmente dos estructuras calcáreas: el otolito y el ilicio (Tsimenidis & Ondrias 1980, Dupouy et al. 1986, Crozier 1989, Duarte et al. 1997, Landa et al. 2001). Independientemente de la estructura usada, todos los autores concuerdan en las dificultades para la interpretación de la edad, debido principalmente a la localización del primer anillo de crecimiento y a por la existencia de falsos anillos (Fariña et al. 2008). Wright et al. (2002) y Landa et al. (2008b), entre otros, han sugerido que la técnica actual empleada para determinar la edad del rape, en la cual se utilizan los ilicios, puede estimar un crecimiento más lento que el que realmente posee.

Basándose en criterios de evaluación y gestión, el ICES ¹ considera que el rape en el Atlántico Nordeste está estructurado en tres stocks (Figura 1.3); el stock de la plataforma norte, que se extiende en las divisiones ICES IIa, IIIa y subáreas IV y VI, el stock norte en las divisiones VIIb-k y VIIIabd y el stock sur en las divisiones VIIIc y IXa, estos dos últimos separados por el cañón de Cap Bretón (ICES 2009, 2012a).

El rape es una de las especies de mayor valor comercial de las pesquerías mixtas de fondo del suroeste de Europa. En el stock norte es explotado principalmente por flotas de arrastre de Francia y España, que capturan más del 75 % de los desembarcos totales (unas 20500 t, promedio del período 1986 - 2010), siendo el 25 % restante capturado por barcos de arrastre y enmalle de Reino Unido, Irlanda y Bélgica (ICES 2012a). El rape del stock sur es capturado por las flotas de España y Portugal, mediante arrastre de fondo (61 % de los desembarcos) y diferentes artes de pesca artesanales de enmalle

¹El ICES es una organización científica intergubernamental que coordina y promueve la investigación marina en los campos de la oceanografía, medio ambiente, ecosistemas y recursos vivos marinos del Atlántico Norte. Tanto para fines de estadística pesquera como para establecer las unidades de gestión o stocks de las especies explotadas en esas aguas, el ICES considera áreas estadísticas divididas en subáreas y divisiones.

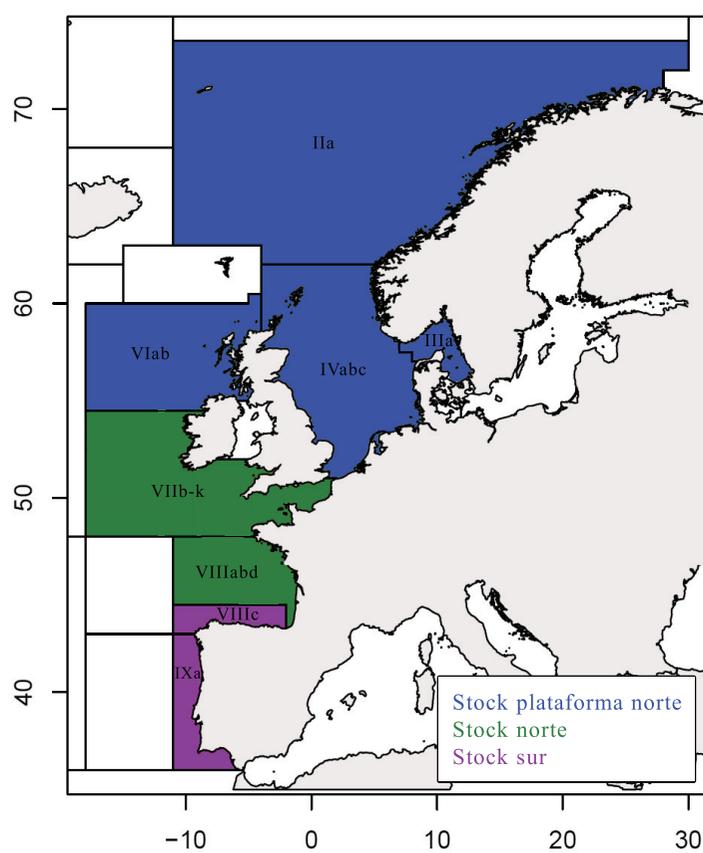


Figura 1.3: Mapa de los stocks de rape considerados por el ICES, en el Atlántico Nordeste, para evaluación y gestión.

(39% de los desembarcos). Se desembarcan unas 3000 t (promedio 1986 - 2010) de rape del stock sur (ICES 2012a).

1.2. Evaluación y gestión de los stocks de rape

Ciertos organismos tienen un papel decisivo en la elaboración del consejo para la gestión de muchas de las especies explotadas comercialmente. En el ICES se realiza la evaluación analítica y elabora el consejo de gestión para los stocks de especies demersales y pequeños pelágicos en el Atlántico Nordeste. Los stocks de rape del Atlántico Nordeste son evaluados periódicamente por dos *Grupos de Trabajo* del ICES: WGCSE (*Working Group for the Celtic Seas Ecoregion*) que se encarga del stock de la plataforma norte y WGHMM (*Working Group on the Assessment of Southern Shelf Stocks of Hake, Monk and Megrin*) que evalúa los stocks norte y sur (ver www.ices.dk). Representantes de los países implicados en la explotación de los stocks participan en estos *Grupos de Trabajo* aportando los datos biológicos y

pesqueros necesarios para la evaluación (Figura 1.4). Sus resultados son revisados posteriormente en comités (*Review Groups*, *Advice Drafting Groups*) y finalmente por el *Advisory Committee* que proporciona el consejo de gestión de cada stock a los responsables de elaborar las políticas de gestión.

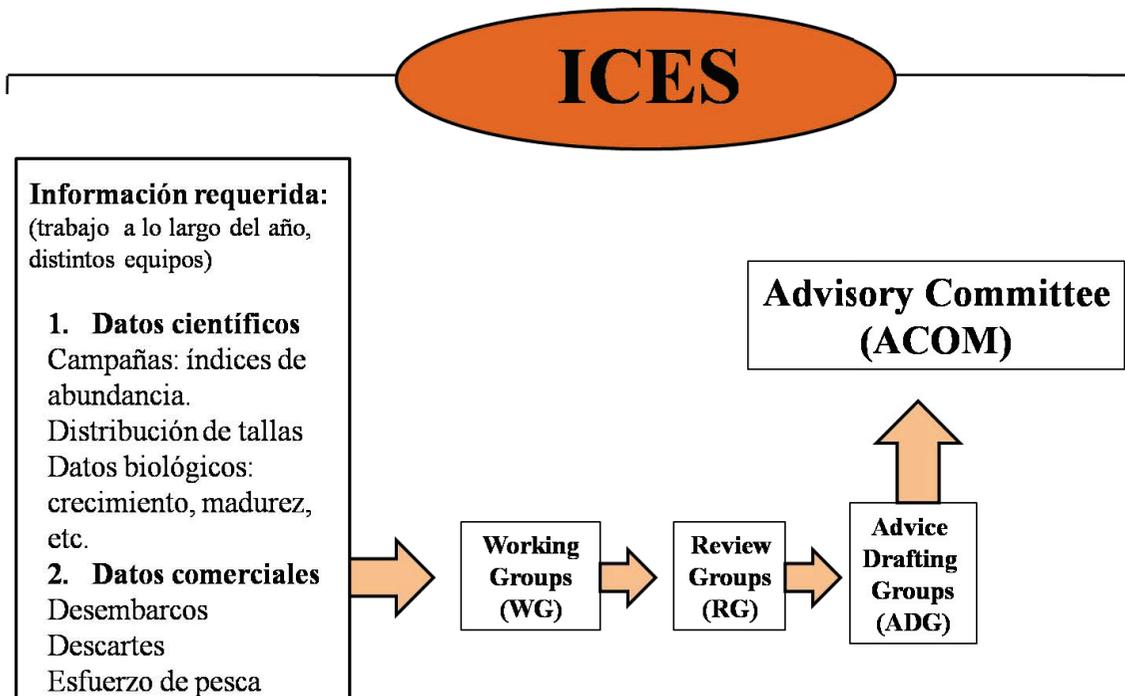


Figura 1.4: Esquema del proceso de evaluación y consejos para la gestión de recursos en ICES.

En la elaboración del consejo de gestión, el ICES sigue principalmente la actual política pesquera de la Unión Europea (Comisión Europea 2006) por la que los stocks y pesquerías deberían estar gestionados de acuerdo con el *rendimiento máximo sostenible* (MSY) en el 2015, considerando, al mismo tiempo, los criterios de los denominados *enfoque de precaución y aproximación al ecosistema*.

Aunque la evaluación de los rapes se realiza por especie, la gestión se realiza por género, incluyendo las especies *L. piscatorius* y *L. budegassa*. Se establecen límites sobre la extracción mediante un sistema de capturas totales admisibles (TAC), una de las medidas más empleadas en la gestión de los recursos pesqueros. La Comisión propone los TAC basándose en el consejo científico del estado de los stocks, y éstos se deciden en el Consejo de Ministros de Pesca. La principal ventaja del sistema de TAC es que facilita su reparto mediante cuotas entre Estados miembros. El modo de

distribución de los recursos pesqueros se establece mediante el *principio de estabilidad relativa* que garantiza a cada Estado miembro un porcentaje específico del TAC de cada stock, el cual se establece en función de las capturas históricas de un período de referencia previamente acordado (Castro 2011).

Actualmente, el stock norte de rape se evalúa en función de las tendencias de los desembarcos por unidad de esfuerzo (LPUE) y los datos de campañas de prospección (índices de abundancia y biomasa, y distribución de tallas) (ICES 2012a). El stock sur se evalúa aplicando un modelo estructurado por tallas implementado en *stock synthesis 3* (SS3) (Methot 2000), aunque hasta 2011 se usó un modelo de producción en no equilibrio (ASPIC, Prager 1994). El estado del stock norte, desde un punto de vista cuantitativo, es *desconocido*, pues no se realiza una evaluación analítica (ICES 2012a). Sin embargo, del análisis cualitativo se deduce que la biomasa está decreciendo desde 2008, aunque al haber evidencias de buenos reclutamientos en 2008-2010 se espera un aumento en los próximos años (ICES 2011a). El stock sur en 2010 fue explotado a niveles inferiores a la mortalidad por pesca de máximo rendimiento sostenible, y la biomasa actual representa un 29 % de la correspondiente al máximo rendimiento sostenible. El TAC acordado para las dos especies de rape para 2011 fue 40945 t y 1571 t, en el stock norte y sur respectivamente (Comisión Europea 2011a). En el stock norte, se propuso una reducción del 5 % del TAC para 2012, basándose en los nuevos criterios de aplicación a stocks evaluados sin suficientes datos para realizar una evaluación analítica (Comisión Europea 2011b, 2012).

2



Objetivos



2.1. Interés del estudio

El rape constituye uno de los recursos pesqueros de mayor importancia comercial en las pesquerías de fondo del suroeste de Europa. Para desarrollar una gestión más eficiente de este recurso es necesario definir correctamente los límites espaciales de los stocks o unidades de gestión, sobre los que inciden las distintas flotas pesqueras.

Existen estudios previos que examinaron la correspondencia de las unidades de gestión del rape establecidas por el ICES y su estructura poblacional (Fariña 2002, Fariña et al. 2004). Éstos no han logrado resultados definitivos, aún empleando diferentes métodos: estrategia vital, genética, morfología corporal, merística y comportamiento migratorio. En este trabajo, se abordan 2 técnicas metodológicas, ampliamente usadas en los estudios de identificación de stocks de peces, pero desarrolladas por primera vez para el rape: morfología de los otolitos sagita y características parasitológicas.

Integrando, por un lado, los conocimientos previos derivados de la aplicación de las técnicas de identificación de stocks de rape citadas anteriormente, y por otro, los resultados que se presentan en este trabajo, se pretende caracterizar la estructura poblacional de rape en aguas del suroeste europeo, lo que redundaría en el establecimiento de bases biológicas para una gestión sostenible de este recurso. Esta posible mejora es de interés para España porque posee una de las principales flotas comerciales que explotan este recurso, y además tiene implicaciones internacionales, ya que el rape es una especie explotada por diferentes países de la Unión Europea.

2.2. Objetivos

El objetivo principal de este trabajo es determinar la estructura poblacional de rape *L. piscatorius* en las aguas del suroeste europeo, su correspondencia con los stocks establecidos, y su potencial influencia en la evaluación de las pesquerías. Para ello, se establecieron los siguientes objetivos parciales:

1. Identificación de stocks de rape mediante parásitos biomarcadores, el cual constó de 3 etapas:
 - a) caracterización morfológica y genética de los parásitos biomarcadores.
 - b) identificación de los factores que determinan la intensidad y prevalencia de los parásitos, escogidos entre un conjunto de variables biológicas del hospedador y variables abióticas (espaciales y temporales).

- c) análisis de las diferencias de la abundancia de los parásitos estudiados entre stocks.
- 2. Identificación de stocks de rape utilizando el análisis morfométrico de los otolitos sagita.
- 3. Determinar la estructura de stock de rape a partir del estudio integrado de los resultados obtenidos en este trabajo (mediante parásitos y morfometría de otolitos) con los resultados de estudios previos realizados con otras metodologías.
- 4. Implicación de la estructura de stock así determinada en la percepción del estado de explotación de rape.

3

Material y métodos general



3.1. Área de estudio

El área geográfica que comprende este estudio es la plataforma sur de Atlántico Nordeste, en la que se distribuyen los stocks norte y sur de rape. Las áreas de muestreo se sitúan entre los límites 42° - 54°N y 1° - 18°O (Figura 3.1), e incluyen el suroeste de Irlanda y oeste de Francia (divisiones ICES VIIbcjk y VIIIa) y el mar Cantábrico y noroeste de la península ibérica (divisiones ICES VIIIc y IXa). Para los análisis se consideraron las áreas este (E) y oeste (O) de la VIIIc y norte (N) de la IXa.

El área muestreada se considera que representa bien el área de distribución de cada stock. A pesar de las dificultades intrínsecas para la toma de muestras en un estudio de este tipo, se utilizaron favorablemente las oportunidades que constituyeron las campañas anuales de prospección pesquera, y la red de información y muestreo de los desembarcos, ambas desarrolladas por el IEO (Instituto Español de Oceanografía).

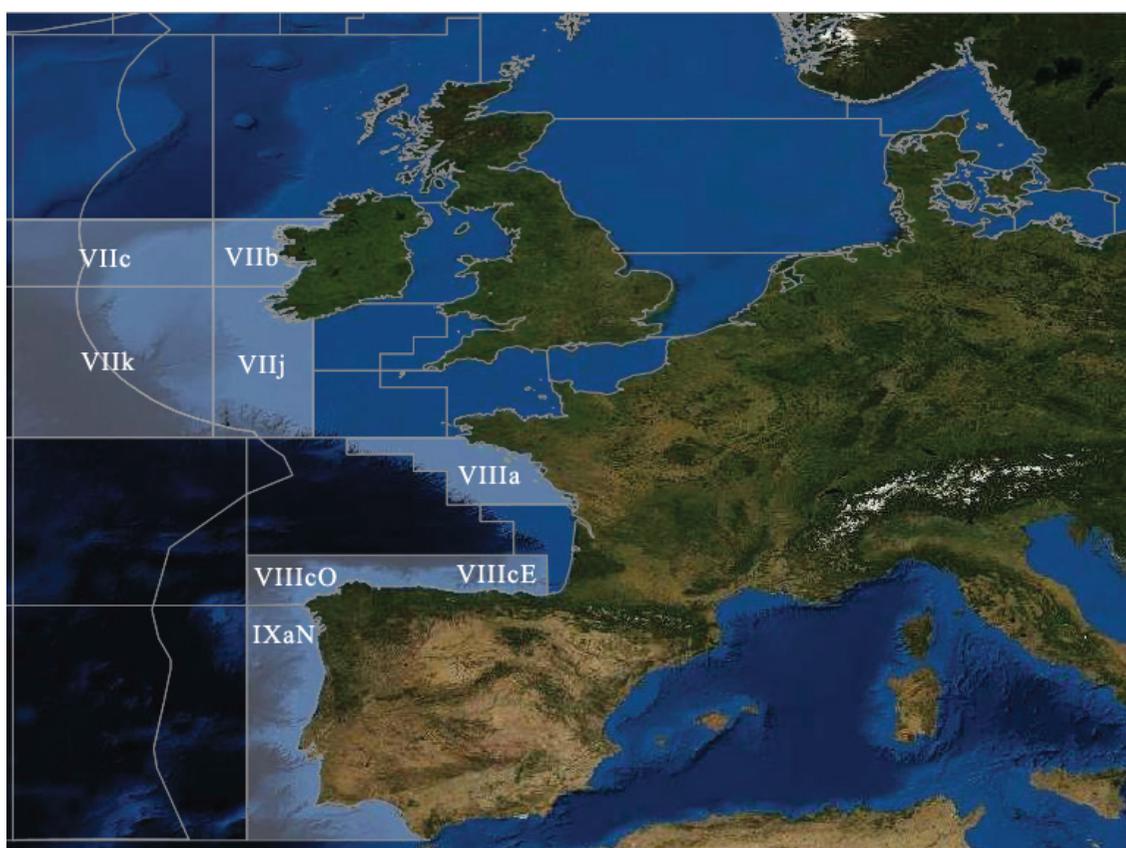


Figura 3.1: Área de estudio destacando las divisiones ICES muestreadas (fuente, www.ices.dk).

3.2. Muestreo de rape

Los rapas examinados se capturaron en septiembre y octubre de 2008 y 2009 en las campañas de las series *Porcupine* y *Demersales* (ICES 2010a), que prospectan el banco de Porcupine (divisiones ICES VIIbck) y el norte y noroeste de la península ibérica (divisiones ICES VIIIc y IXaN), respectivamente (Figura 3.2). Además, se muestrearon rapas capturados por las flotas de arrastre en uno y otro stock (incluidas las divisiones ICES VIIj y VIIIa), entre 2007 y 2009. En la Tabla 3.1 se indica el número de individuos de rape que se muestrearon.

El objetivo esencial de las campañas *Porcupine* y *Demersales* es la obtención de los patrones de distribución espacial e índices de abundancia de las especies principales para las flotas españolas en las áreas correspondientes, como son: merluza, rapas (*Lophius piscatorius* y *L. budegassa*), gallos (*Lepidorhombus boscii* y *L. whiffiagonis*) y cigala (*Nephrops norvegicus*). Las campañas se realizan anualmente entre septiembre y octubre con el B/O Vizconde de Eza (*Porcupine*) y B/O Cornide de Saavedra (*Demersales*). La metodología de muestreo está estandarizada en cada una de ellas, y sigue un muestreo estratificado y aleatorio, mediante lances de pesca de 30 minutos, con una red de arrastre de fondo de tipo “baca” con 20 mm de luz de malla en el copo (ICES 2010a). En *Porcupine* la distribución de los lances se realizó según 5 estratos, determinados por la combinación de 3 límites de profundidad (≤ 300 m, 301 - 450 m y 451 - 800 m) y 2 sectores geográficos (norte y sur) (Figura 3.2 A). En *Demersales* se hizo según 15 estratos, determinados por la combinación de 3 límites de profundidad (70 - 120 m, 121 - 200 m y 201 - 500 m) y 5 sectores geográficos (MF: del río Miño al cabo Finisterre; FE: del cabo Finisterre al cabo Estaca de Bares; EP: del cabo Estaca de Bares al cabo de Peñas; PA: del cabo de Peñas al cabo de Ajo; AB: del cabo de Ajo a la desembocadura del río Bidasoa) (Figura 3.2 B) (más detalles sobre la metodología de muestreo en ICES 2010a).

Tabla 3.1: Número de rapas examinados de los stocks norte y sur, capturados en campañas de prospección pesquera y por buques comerciales, en 2007, 2008 y 2009.

	Stock norte				Stock sur				Total
	2007	2008	2009	Total	2007	2008	2009	Total	
Campañas	0	132	158	290	152	40	197	389	679
Comerciales	303	99	127	529	155	92	107	354	883

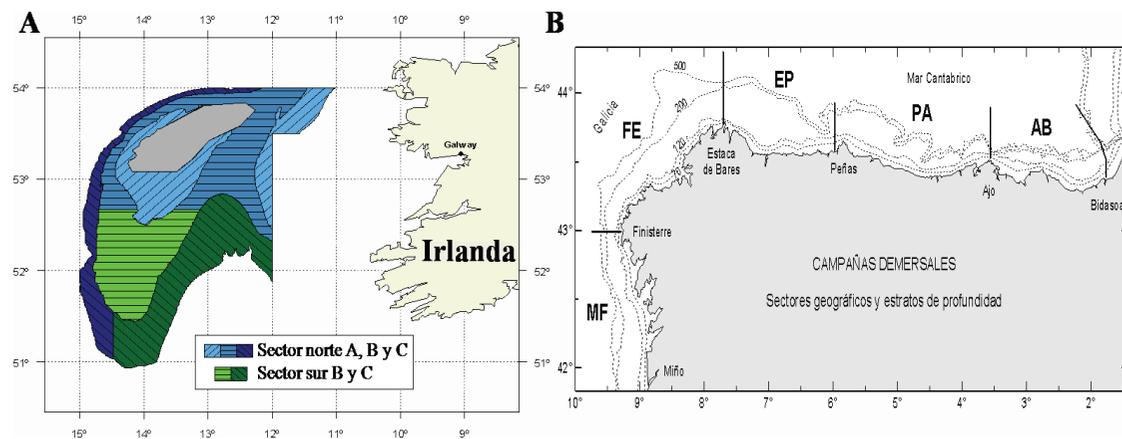


Figura 3.2: Mapa del área prospectada en las campañas *Porcupine* (estratos de profundidad: A = ≤ 300 m, B = 301 - 450 m y C = 451 - 800 m) (A) y *Demersales* (B) (fuente, programas de las campañas *Porcupine* 2009 y *Demersales* 2009).

Los rapas capturados en cada lance de pesca, se midieron al centímetro inferior, desde el extremo de la mandíbula inferior hasta el extremo de la aleta caudal, se determinó el sexo, se tomaron otros datos biológicos (algunos de ellos no relevantes en este estudio) y se diseccionaron a continuación. Se siguieron los mismos procedimientos de muestreo para los rapas procedentes de pescas comerciales.

Para realizar la disección de los rapas, se practicó un corte en la parte ventral, desde la abertura anal hasta la boca (Figura 3.3). Se extrajo el hígado, estómago, intestino y mesenterio, que se guardaron en bolsas de plástico y se conservaron a -20°C para un análisis posterior de su infestación parasitaria. Se extrajeron los otolitos, se limpiaron con papel absorbente para eliminar restos de materia orgánica y se guardaron en seco en viales o sobres. Las muestras fueron identificadas con el código individual del pez de procedencia, día de muestreo, área de pesca, talla y sexo. También se anotó el lance, en las muestras obtenidas en las campañas, pues se hace corresponder con los datos de posicionamiento geográfico (latitud y longitud) y profundidad a los que fueron capturados los rapas.

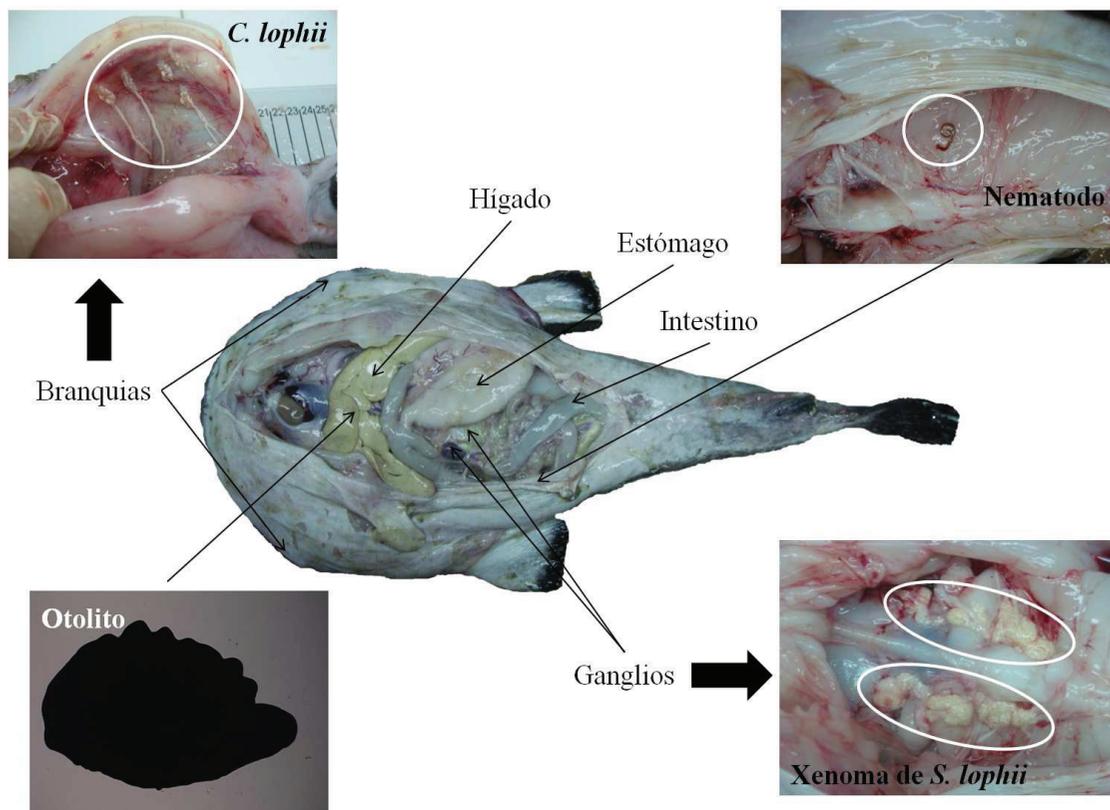


Figura 3.3: Rape diseccionado ventralmente indicando los órganos examinados para localizar parásitos y la situación de los otolitos.

Examen parasitológico

Los órganos externos e internos de los rapes fueron macroscópicamente examinados para la recolección de muestras de parásitos:

- Se examinó la cavidad branquial de los rapes para la anotación de la presencia o no del copépodo parásito *Chondracanthus lophii*. Para ello, se practicó un corte desde el opérculo hacia la boca de modo que la cavidad branquial quedase al descubierto. En caso de presencia, los copépodos se extrajeron cuidadosamente, se lavaron en una placa Petri con solución salina al 0.9% y se conservaron en alcohol al 70%. Se identificaron bajo una lupa estereoscópica, de acuerdo con Kabata (1992).
- Se examinaron los nervios de la cavidad visceral, visibles después de extraer

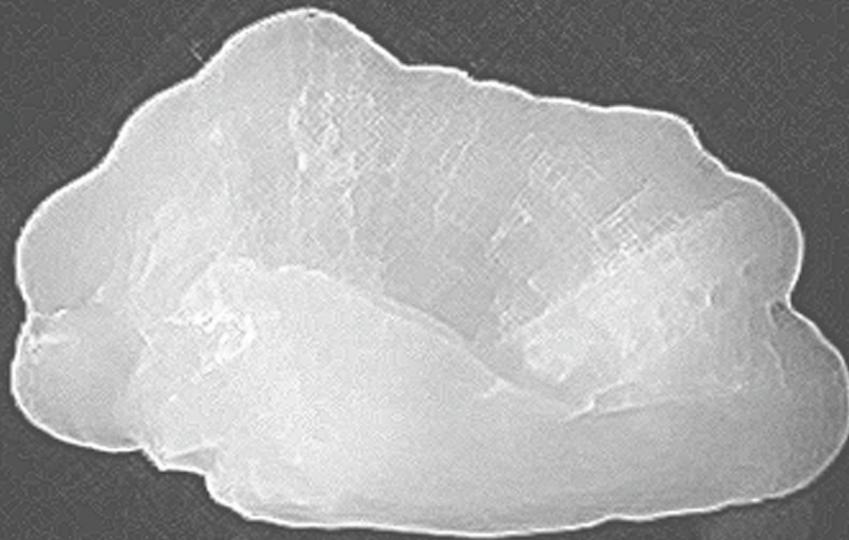
las vísceras, para la observación y anotación de la presencia o ausencia de los xenomas de *Spraguea lophii* (conjunto del parásito desarrollado y la célula del hospedador (Lom & Nilsen 2003)).

- La metodología de extracción de los 3 taxones de nematodos fue la siguiente. Para el estudio de los nematodos parásitos en piel y músculo se exploró el peritoneo, la piel interna de la cavidad branquial, la zona de inserción de las aletas pélvicas y la superficie del músculo de la cola visible. En el caso del tracto gastrointestinal, se separó el estómago y el intestino, y se colocaron en sendas bandejas, humedeciéndolos con solución salina al 0.9%, para evitar la desecación de los parásitos. A continuación se realizó su examen bajo la lupa. El hígado se examinó cortando finas secciones de entre 2.5 y 5 cm de espesor. Los nematodos encontrados se colocaron inicialmente en una placa Petri con solución salina al 0.9% para eliminar residuos que estuviesen adheridos a su cutícula y se identificaron inmediatamente después de su extracción mediante la observación a la lupa estereoscópica y al microscopio óptico, de acuerdo con Punt (1941), Kreis (1952), Grainger (1959), Berland (1961) y Hartwich (1974).

4



Análisis morfométrico de otolitos



4.1. Introducción

Los otolitos de los peces son cuerpos calcáreos situados en el interior del oído interno cuya función se relaciona con el equilibrio y la audición. En los peces teleósteos existen 3 pares de otolitos y cada uno de ellos se diferencia en su localización, función, tamaño, forma y ultraestructura (*lapillus*, *sagitta* y *asteriscus*).

Los otolitos sagita son los de mayor tamaño y los más utilizados para estudios de microestructura, morfometría, y, fundamentalmente, para la determinación de la edad y el crecimiento de los peces teleósteos, mediante el recuento de los anillos de crecimiento que en ellos se forman. En los años últimos, se ha incrementado el interés en el uso de estas estructuras en estudios de identificación de stocks de peces marinos, mediante el análisis de su composición química y variación morfológica (Campana & Casselman 1993, Campana et al. 2000).

La descripción cuantitativa de la forma de un objeto es conocida como morfometría (Lestrel 1997), y consiste en introducir la información visual dentro de una representación matemática. El análisis morfométrico de otolitos permite una descripción cuantitativa del contorno del otolito creando imágenes bidimensionales que pueden ser comparadas estadísticamente (Lestrel 1997). Para ello existen diferentes enfoques, como por ejemplo, el enfoque métrico convencional o morfometría multivariante y los métodos que estudian contornos (análisis convencional y elíptico de Fourier).

Actualmente se asume que la forma del otolito presenta una regulación doble (Vignon & Morat 2010, Vignon 2012). En términos generales, podría decirse que la forma del otolito está regulada genéticamente, pero se ha observado una fuerte variabilidad en relación con factores ambientales. Variables ambientales locales como la profundidad, temperatura del agua y el tipo de sustrato en el que vive el pez, además del sexo, edad, clase de edad y tasa de crecimiento de los individuos (Castonguay et al. 1991, Campana & Casselman 1993, Lombarte & Lleonart 1993, Cardinale et al. 2004, Swain et al. 2005, Schulz-Mirbach et al. 2008), podrían afectar a la forma del otolito. Ésto permitiría diferenciar subpoblaciones de peces que tienen comportamientos diferentes, pero entre las cuales todavía existe un flujo genético, presentándose como una ventaja sobre otros métodos de identificación de stocks como la genética.

El análisis morfométrico de otolitos ha sido ampliamente usado en estudios de identificación de stocks de diferentes especies de peces marinos como el bacalao (*Gadus*

morhua), gallineta (*Sebastes* spp.), lenguado (*Solea solea*), arenque (*Clupea harengus*), jurel (*Trachurus trachurus*) y pez sable (*Aphanopus carbo*) (Campana & Casselman 1993, Cadrin & Friedland 2005, Stransky & MacLellan 2005, Mérigot et al. 2007, Burke et al. 2008, Stransky et al. 2008a, 2008b, Farias et al. 2009), pero no se ha usado hasta ahora para la identificación de stocks de rape.

El objetivo principal de este estudio fue examinar si existían diferencias del contorno de los otolitos entre individuos de *L. piscatorius* procedentes del stock norte y sur, y examinar la contribución de esta técnica para la definición de los stocks de rape en la plataforma sur del Atlántico Nordeste.

Con el fin de examinar el desarrollo ontogénico de los otolitos, se llevó a cabo un análisis de los cambios de su morfología con la talla de rape.

4.2. Material y métodos

Se recogieron otolitos de individuos de rape capturados en el suroeste de Irlanda (peces del stock norte; divisiones ICES VIIbcjk) y en el mar Cantábrico y noroeste de la península ibérica (stock sur; divisiones ICES VIIIc y IXa) (Figura 4.1), durante 2008 y 2009. Para los análisis se consideraron las áreas este (E) y oeste (O) de la VIIIc y norte (N) de la IXa. El rango de profundidades de las capturas fue 189 - 746 m en *Porcupine* y 37 - 689 m en *Demersales* (Tabla 4.1). Además también se obtuvieron muestras del stock de la plataforma norte (divisiones ICES IVa y IIa) que se usaron como grupo externo en los análisis estadísticos multivariantes.

Se analizaron un total de 629 otolitos sagita (izquierdo y derecho) extraídos de rapas de 12 a 90 cm de longitud total (Lt) (Tabla 4.1). Tan solo se usó para los análisis 1 de los 2 otolitos recogidos por cada individuo. Como norma se utilizó el otolito izquierdo, aunque en el caso de rotura o malformación de éste, se usó la imagen especular del otolito derecho. Del grupo externo, se examinaron 88 otolitos sagita de rapas de 23 a 90 cm de Lt procedentes de la pesquería comercial. Estas muestras forman parte de la colección de material biológico de rape que poseen las instituciones *Institute of Marine Research* (Noruega) y *Marine Scotland* (Escocia).

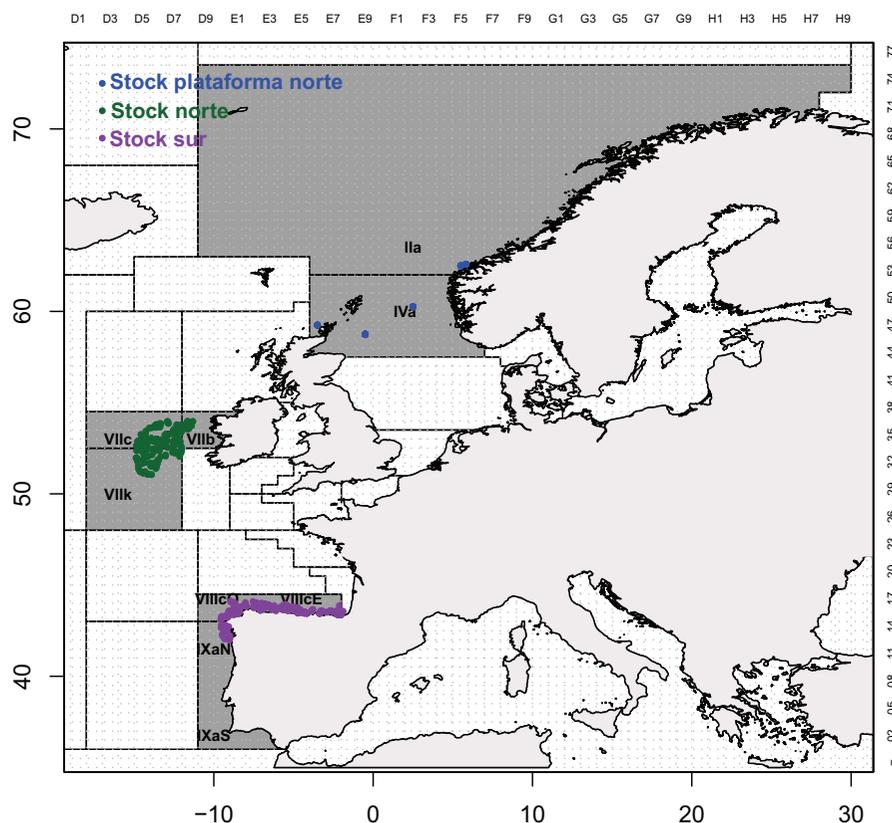


Figura 4.1: Posiciones donde se realizaron las capturas de rape, muestreados para recoger los otolitos, en los 3 stocks establecidos por el ICES en el Atlántico Nordeste.

Tabla 4.1: Número de muestras de otolitos de rape del stock norte, stock sur y stock de la plataforma norte, recogidas en buques comerciales y campañas de prospección pesquera, empleadas para el análisis morfométrico.

Origen	Stock plataforma norte	Stock norte	Stock sur	Total
Comerciales	88	0	47	135
Campañas	0	265	317	582
Total	88	265	364	717
Rango de profundidad (m)	-	189-746	37-689	

En la Figura 4.1 se indican los puntos donde se realizaron las capturas de rape. Para las pescas comerciales, se determinó el punto medio de la división ICES/cuadrícula en la que se realizó la marea de pesca, para graficar el lugar de la captura de los rapés examinados, debido a la imposibilidad de conocer la posición exacta (VIIIcE: 44°N - 4.75°O; Ila (46E9: 58.75°N - 0.5°O, 47E6: 59.25°N - 3.5°O, 49F2: 60.25°N - 2.5°E)).

4.2.1. Toma de datos

Para obtener los datos morfológicos de los otolitos sagita, se digitalizó primero la imagen de cada uno de ellos. Posteriormente, se realizó un conjunto de medidas univariantes y se calcularon los coeficientes del análisis elíptico de Fourier (FD), que serán las variables que se analizarán.

Captura de imagen

Para capturar la imagen de los otolitos se usó un sistema de análisis constituido por una vídeo cámara de alta resolución Leica DFC 420, montada sobre un microscopio estereoscópico Leica M80, conectado a un ordenador (Figura 4.2).



Figura 4.2: Sistema de análisis óptico usado para fotografiar los otolitos de *L. piscatorius*.

El aumento con el que se tomaron las fotos se ajustó al tamaño de los otolitos para asegurar la mayor resolución posible, variando entre 12.5x y 16x. Los otolitos se colocaron horizontalmente sobre la plataforma del microscopio con el *sulcus acusticus* hacia arriba y el rostro hacia la derecha. Se utilizó luz transmitida, por lo que se generaron imágenes de contraste, con el fondo claro y el otolito oscuro. Para el análisis de las imágenes capturadas se utilizó el programa ImageJ (v.1.44i) (Abramoff et al. 2004). Para la digitalización de la forma de los otolitos, se muestrearon 1000 puntos equidistantes sobre el contorno de cada uno de ellos. Las coordenadas

del contorno se exportaron ejecutando un *plugin ad hoc* del programa ImageJ, desarrollado en el *Institute for Sea Fisheries* (Hamburgo, Alemania).

Medidas univariantes

De cada otolito se realizaron 5 medidas directamente sobre la imagen fotográfica capturada (longitud, anchura, peso, perímetro y área del otolito) (Figura 4.3) y 3 índices de forma (circularidad, ratio entre el perímetro y el área del otolito y ratio entre la longitud y la anchura del otolito). Fue necesaria una calibración previa en el programa ImageJ para la transformación de píxeles a milímetros, en función de la magnitud con la que se tomaron las fotos. Las medidas e índices se definieron de la forma siguiente:

- Longitud (L), en mm. Mayor longitud entre 2 puntos del contorno del otolito en el eje de abscisas.
- Anchura (An), en mm. Mayor longitud entre 2 puntos del contorno del otolito en el eje de ordenadas.
- Peso (Po). Peso de los otolitos con una precisión de 0.001 mg. Antes de pesarlos, los otolitos se limpiaron con agua destilada para eliminar restos de materia orgánica y se mantuvieron 24 horas en un desecador a temperatura ambiente.
- Perímetro (Pe), en mm. Longitud del contorno del otolito.
- Área (A), en mm^2 . Superficie limitada por el perímetro del otolito.
- Circularidad (C). Parámetro adimensional que indica la semejanza del contorno del otolito a un círculo perfecto.

$$C = 4\pi * \text{área}/\text{perímetro}^2$$

Un valor de 1 indica un círculo perfecto y un valor tendiendo a 0 indica una forma cada vez más alargada.

- Ratio perímetro-área (Pe/A). Relación que informa acerca de la complejidad del contorno del otolito. Cuanto mayor es este valor, mayor complejidad.

$$Pe/A = \text{perímetro}^2/\text{área}$$

- Ratio longitud-anchura (L/An). Relación que indica el grado de elongación en el eje principal del otolito. Cuanto mayor es este valor, mayor elongación.

$$L/An = longitud/anchura$$

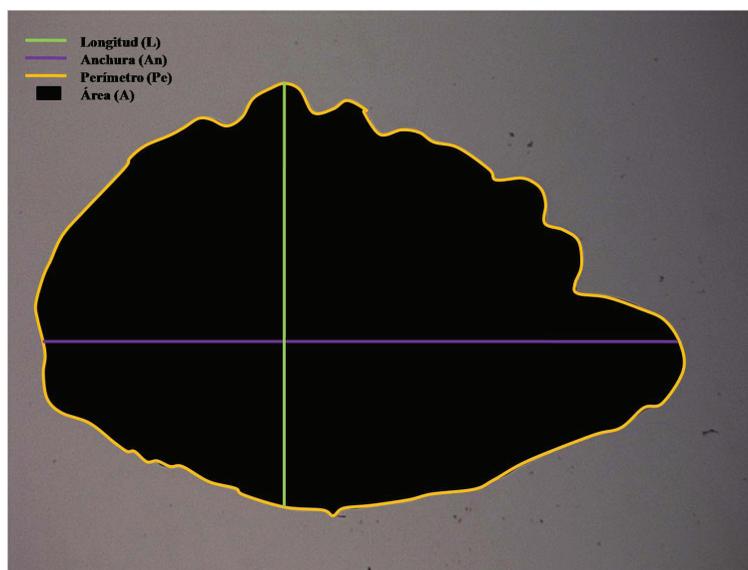


Figura 4.3: Otolito izquierdo de rape en el que se indican las medidas univariantes realizadas.

Análisis elíptico de Fourier

El análisis convencional de Fourier y el análisis elíptico de Fourier (EFA) son métodos usados para modelar el contorno de un objeto, ambos basados en las series de Fourier (Lestrel 1989, 1997) (para más detalle acerca del desarrollo matemático de las series de Fourier ver Tolstov (1962)). Éstos son especialmente útiles cuando la disponibilidad de puntos homólogos es reducida o nula y son esenciales si el contorno del objeto es el objetivo del estudio (Lestrel 1997). La importancia de estos modelos reside en la asunción de que gran parte de la información relevante acerca de la forma de un objeto se localiza en su contorno, y no tiene por qué estar restringida a puntos de referencia (ya sean homólogos o no) a diferencia de la morfometría multivariante (uno de los métodos más antiguos usados en el estudio de la forma de objetos), que se basa en el análisis de distancias lineales, ángulos y ratios.

En el ámbito de la biología, el análisis convencional de Fourier, también conocido como análisis armónico o análisis espectral, consiste en la transformación de un dominio espacial a un dominio de frecuencias (Lestrel 1997, Smith 1997). El dominio espacial está formado por un conjunto de datos que determinan el contorno de un objeto, mientras que el dominio de frecuencias está definido por los armónicos que son calculados a partir de los FD. El dominio de frecuencias es definido normalmente en términos de la relación entre amplitud y fase. Éstos, a su vez, son calculados a partir de la aproximación de una función continua definida por tramos arbitrarios $f(x)$, usando una cantidad finita compuesta por senos y cosenos, de ahí el nombre de análisis armónico. Las series de Fourier son a menudo representadas por la ecuación:

$$f(x) = a_0 + \sum_{n=1}^N a_n \cos(nx) + \sum_{n=1}^N b_n \sin(nx)$$

donde n representa el n -ésimo armónico, N es el número máximo de armónicos y a_n , b_n son los coeficientes de Fourier en el n -ésimo armónico (Lestrel 1997). Cuantos más salientes y entrantes (o asimetrías) presente una figura, más armónicos se requerirán para representarla.

El análisis convencional de Fourier presenta ciertas limitaciones que impiden el estudio de formas complejas. Khul & Giardina (1982) desarrollaron las funciones elípticas de Fourier, que derivan del análisis convencional de Fourier como una formulación paramétrica, es decir, como un par de ecuaciones que representan las variaciones de las coordenadas x e y en función de una tercera variable t a lo largo del contorno del otolito. Las funciones elípticas de Fourier solventaron 3 restricciones que habían limitado el análisis convencional de Fourier. Éstas son: dependencia de un sistema de coordenadas, presencia de formas con contornos que se curven sobre sí mismos, y divisiones iguales sobre el intervalo o período (Lestrel 1989, 1997).

Las funciones paramétricas de Khul & Giardina (1982) son definidas en $x(t)$ como:

$$x(t) = A_0 + \sum_{n=1}^N a_n \cos(nt) + \sum_{n=1}^N b_n \sin(nt)$$

y en $y(t)$ como:

$$y(t) = C_0 + \sum_{n=1}^N c_n \cos(nt) + \sum_{n=1}^N d_n \sin(nt)$$

donde n representa al n -ésimo armónico, N es igual al número máximo de armónicos incluidos en el análisis y a_n , b_n , c_n y d_n son los coeficientes elípticos de Fourier del n -ésimo armónico. El nombre del método, análisis elíptico de Fourier, proviene del primer término de la serie, que describe una elipse; los términos siguientes miden las desviaciones de dicha elipse.

En este estudio, la digitalización del contorno de los otolitos se llevó a cabo a través de un EFA basado en los algoritmos de Ferson et al. (1985), programados en Java como un *plugin* del programa ImageJ. Durante el EFA se normalizaron los 4 FD para cada armónico respecto al primer armónico, con el fin de hacerlos invariantes a cambios de tamaño, posición, rotaciones y punto de inicio. Después de la transformación, 3 FD son constantes ($a_1 = 1$; $b_1 = 0$; $c_1 = 0$), y se ignoran, mientras que el último coeficiente del primer armónico (d_1) representa la excentricidad de la elipse.

Para determinar el número de armónicos que se incluirían en el análisis estadístico, se calculó la influencia o peso que cada armónico tenía sobre la forma de los otolitos, mediante el cálculo de su varianza (S_n^2) con fórmula:

$$S_n^2 = \frac{a_n^2 + b_n^2}{2}$$

donde, a_n son los coeficientes que preceden a los términos coseno y b_n los que preceden a los términos seno (Lestrel 1997). Para saber qué porcentaje del total explicaba cada armónico se aplicó la siguiente fórmula:

$$\%explicado = \frac{S_n^2}{S_T^2}$$

donde, S_n^2 es la varianza explicada por el n -ésimo armónico y S_T^2 es la varianza total de todos los términos (Lestrel 1997).

Se utilizaron los 7 primeros armónicos, que explicaron el 99% de la varianza total de la forma de los otolitos. En el análisis estadístico multivariante se contó con 25

variables, es decir, 25 FD (4 FD por armónico, menos 3 del primer armónico).

4.2.2. Análisis de datos

Medidas univariantes

En el estudio univariante se usaron las muestras de otolitos de rape del stock norte y sur. No se tuvo en cuenta el stock de la plataforma norte, que se restringió al análisis multivariante como grupo externo. Para comprobar si los datos seguían una distribución normal y cumplían con la homocedasticidad, se usaron métodos gráficos y se aplicó el test de Kolmogorov-Smirnov y el test de Levene, respectivamente. Se concluyó que ninguna de las variables estudiadas presentaba una distribución normal ($p < 0.05$) y eran heterocedásticas ($p < 0.05$). Puesto que la normalidad no se alcanzó mediante la transformación de los datos, se emplearon las siguientes técnicas no paramétricas en los análisis estadísticos:

- ANCOVA no paramétrico (test de igualdad), para estudiar el efecto del stock de origen sobre las medidas univariantes (variable dependiente: medidas univariantes; variable independiente: stock; covariable: longitud total del rape). También se usó para determinar el efecto del año sobre las variables univariantes.
- Coeficiente de correlación de Spearman (r_s), para examinar la relación (positiva o negativa) de las medidas univariantes, entre ellas y con respecto a la talla del rape. Los cálculos se realizaron para los datos de cada uno de los stocks.

Análisis elíptico de Fourier

La relación entre los FD y la longitud total del rape se examinó usando el coeficiente de correlación de Pearson. Para eliminar el efecto de la longitud total del rape sobre los FD, y de esta forma evitar un sesgo en los resultados del estudio discriminante entre stocks, se realizó una regresión lineal (variable dependiente: FD; variable independiente: longitud total de rape) extrayendo los residuos para usarlos como variables independientes en los análisis estadísticos multivariantes (Reist 1985).

Una vez eliminado el efecto del tamaño del rape sobre los FD, se analizó su normalidad y homocedasticidad mediante métodos gráficos y aplicando el test de

Kolmogorov-Smirnov y el test de Levene, respectivamente. Los FD presentaron una distribución normal y homocedasticidad, lo cual permitió el uso de las siguientes técnicas paramétricas en el estudio de discriminación de stocks:

- Escalamiento multidimensional (MDS), técnica de representación espacial que trata de visualizar sobre un mapa un conjunto de *objetos* cuya posición relativa se desea analizar. El propósito principal del MDS es transformar un conjunto de medidas que describen un *objeto* en distancias que pueden ser representadas en un espacio multidimensional, de tal forma que la distancia entre aquellos *objetos* que más se parezcan sea más pequeña que la distancia entre cualquier otro par de *objetos*. Existen 2 modelos básicos de MDS: el modelo de escalamiento métrico (Kruskal & Wish 1978) y el modelo de escalamiento no métrico (nMDS) (Kruskal 1964). En el primero de ellos se considera que los datos están medidos en escala de razón o en escala de intervalo y en el segundo, en escala ordinal.

En este estudio se realizó un MDS métrico como método de ordenación, basado en una matriz de distancias euclídeas, utilizando como medidas descriptivas los FD corregidos. El objetivo fue explorar la posible existencia de agrupaciones entre los individuos estudiados, no necesariamente coincidente con los stocks de rape establecidos en el Atlántico Nordeste. Para determinar la bondad de ajuste se usó el factor de *stress*, que toma valores entre 0 y 1, indicando valores próximos a 0 un mejor ajuste (Kruskal & Wish 1978).

- Análisis discriminante lineal (LDA), técnica estadística multivariante cuya finalidad es analizar si existen diferencias significativas entre 2 o más grupos de *objetos* respecto a un conjunto de variables (Klecka 1980), permitiendo conocer qué variables son más discriminantes. En el caso de que existan diferencias entre los grupos analizados, el LDA proporciona procedimientos de clasificación sistemática de nuevas observaciones de origen desconocido en uno de los grupos analizados.

Se utilizó el LDA para determinar si existían diferencias significativas entre stocks y años (variable dependiente: stock/año; variables independientes: FD corregidos). Como método de validación de los resultados discriminantes se usó el *jackknife* (método desarrollado en etapas, que consiste en eliminar en cada etapa un dato de los n observados y calcular el valor del estimador utilizando lo $n-1$ restantes) y para determinar la precisión de la clasificación, se calculó el estadístico λ de Wilks. Valores próximos a 0 indican que los grupos están bien

separados y valores próximos a 1, que no hay discriminación entre grupos. Para examinar si el sexo presentaba un efecto significativo sobre la morfología del otolito, se realizó un LDA para machos y hembras por separado y conjuntamente, incluyendo tan sólo las muestras procedentes del stock norte y sur.

Complementario al LDA de stocks, se examinaron los cambios ontogénicos del otolito, en rapes de los stocks norte y sur. Para ello se establecieron 3 grupos de talla, en función de las características de la estrategia de vida del rape: 0 - 30 cm (reclutas de 0 y 1 año (Wright et al. 2002), que habitan aguas menos profundas), 31 - 67 cm (juveniles inmaduros, la talla de maduración en el Atlántico Norte se consideró 68 cm para sexos combinados (Quincoces 2002)) y 68 - 90 cm (adultos). El número de muestras examinadas en cada stock por grupo de talla se indica en la Tabla 4.2.

Tabla 4.2: Número de otolitos de rape examinados de los stocks norte y sur, según los grupos de talla considerados.

Rango de talla	Stock norte	Stock sur
0-30 cm	24	163
31-67 cm	120	123
68-90 cm	121	78

Para visualizar las diferencias morfológicas entre otolitos de rape de los stocks norte y sur, y la evolución de la forma del otolito en relación con el tamaño del rape, se representó la forma promediada para cada grupo de talla y stock, usando los contornos ajustados mediante un promedio de los FD obtenidos en el EFA dentro de cada grupo establecido.

Los análisis expuestos en el apartado de medidas univariantes y EFA se realizaron utilizando de forma combinada 3 programas estadísticos: R (v.2.10.0) (R Development Core Team 2009) (se empleó el paquete *sm* para realizar el ANCOVA no paramétrico), SPSS (v.11.5.1) y SYSTAT (v.9.0) (SPSS Inc. 1999). Los test se realizaron con un nivel de significación de 0.05.

4.3. Resultados

4.3.1. Análisis univariante

En esta sección se presentan los resultados del estudio comparativo entre stocks, y los del examen de las relaciones entre las variables univariantes, y de éstas con

respecto a la longitud total de *L. piscatorius*.

Estudio comparativo entre stocks

Las variables univariantes no presentaron diferencias significativas entre años ($p > 0.05$), lo que permitió utilizar de forma conjunta los datos de 2008 y 2009 en el estudio comparativo entre stocks. En la Tabla 4.3 se muestran los resultados del test de igualdad del ANCOVA no paramétrico, usando como covariable la longitud total de rape, con el que se determina si existen diferencias significativas de las variables univariantes entre stocks. Las variables que resultaron significativamente diferentes entre stocks fueron los índices de forma ($p < 0.05$). Los ajustes de la evolución de estos índices con respecto a la longitud total de rape, para el stock norte y el stock sur, indican que la C es superior en el stock norte, mientras que el Pe/A y el L/An son superiores en el stock sur, prácticamente en todo el rango de talla estudiado (Figura 4.4). Esto indica que, en el stock sur, el otolito de rape presenta una forma más compleja, es decir, posee un contorno más irregular, con entrantes y salientes, y es más alargado.

Tabla 4.3: Resultados del test de igualdad del ANCOVA no paramétrico para las variables univariantes entre stocks, usando como covariable la longitud total de rape. El significado de los códigos se puede ver en la sección 4.2.1 (* = $p < 0.05$).

	L	An	Po	Pe	A	C	Pe/A	L/An
<i>p</i>	0.1170	0.6944	0.8235	0.2595	0.4908	0.0185*	0.0132*	0.0435*

Relaciones entre variables univariantes

En ambos stocks se observó una alta correlación entre la longitud total de *L. piscatorius* (Lt) y la longitud del otolito (L) ($p < 0.05$) (Tabla 4.4). En el stock sur el coeficiente de correlación fue mayor que en el stock norte ($r_s = 0.9653$; $r_s = 0.7117$, respectivamente).

La comparación de la Lt y la L con las medidas directas e índices de forma del otolito permitió conocer cómo varía su forma con respecto al tamaño del rape. Se tomó como variable de referencia la L del otolito por presentar coeficientes de

correlación con las variables univariantes mayores que la Lt (Tabla 4.4).

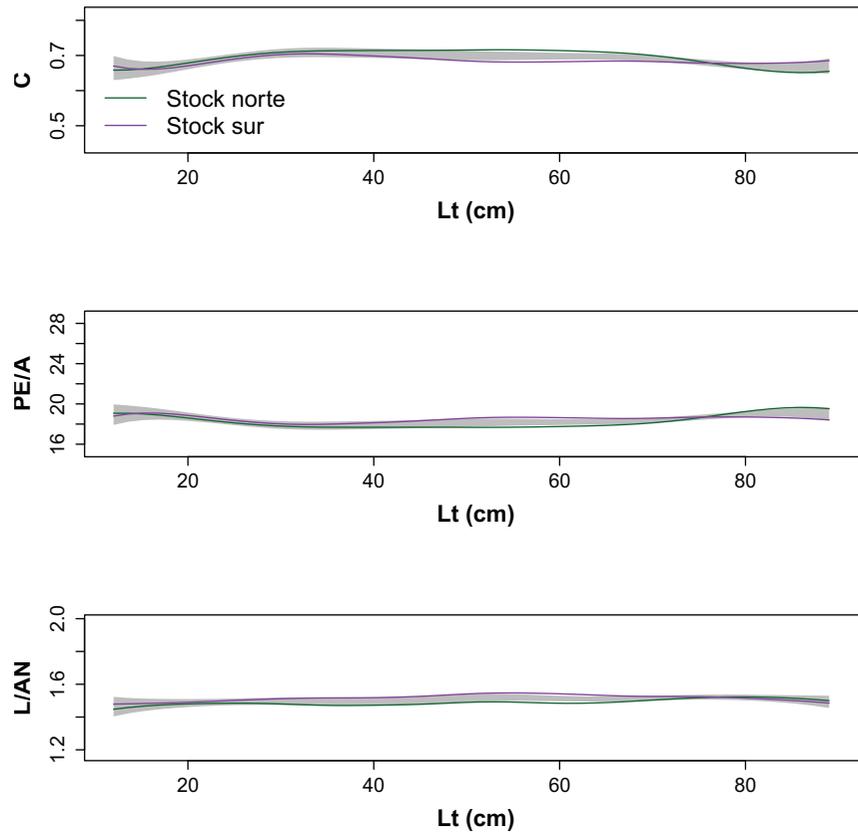


Figura 4.4: Comparación, entre el stock norte y el stock sur, de los valores ajustados de circularidad (C), ratio perímetro-área (Pe/A) y ratio longitud-anchura (L/An) del otolito con respecto a la longitud total de rape (Lt). La banda sombreada indica la banda de referencia de la hipótesis nula de igualdad entre stocks.

Con el incremento de la L se observó un aumento significativo ($p < 0.05$) de la anchura del otolito (An), peso (Po), perímetro (Pe) y área (A), con un grado de correlación elevado (nunca inferior a $r_s = 0.7738$) (Tabla 4.4). Con los índices de forma, la relación no fue tan evidente. En el stock norte, la L presentó una correlación negativa significativa con la circularidad (C) ($r_s = -0.4297$; $p < 0.05$), mientras que con el ratio perímetro-área (Pe/A) fue positiva significativa ($r_s = 0.4294$; $p < 0.05$). En el stock sur, la relación de la L con la C y el Pe/A no fue significativa ($p > 0.05$) y la pendiente resultó inversa a la encontrada en el stock norte. El ratio longitud del otolito-anchura (L/An) aumentó significativamente al aumentar la L ($p < 0.05$) en el stock norte, es decir, el otolito tiende a alargarse al aumentar el tamaño del rape. En

el stock sur también se aprecia esta relación, aunque de forma menos acentuada ($r_s = 0.4625$; $r_s = 0.2982$, stock norte y sur respectivamente).

Tabla 4.4: Coeficientes de correlación de Spearman (r_s) entre las variables univariantes del otolito y la longitud total del rape (Lt). Sobre la diagonal se muestran los resultados para el stock norte y bajo la diagonal para el stock sur. El significado de los códigos se puede ver en la sección 4.2.1 (* = $p < 0.05$).

	Lt	L	An	Po	Pe	A	C	Pe/A	L/An
Lt	1	0.7117*	0.6789*	0.7870*	0.7127*	0.7556*	-0.1677*	0.1680*	0.1502*
L	0.9653*	1	0.7738*	0.8719*	0.9371*	0.9226*	-0.4297*	0.4294*	0.4625*
An	0.9774*	0.9687*	1	0.8810*	0.8745*	0.9251*	-0.2542*	0.2541*	-0.1281*
Po	0.9783*	0.9840*	0.9878*	1	0.8758*	0.9520*	-0.2156*	0.2154*	0.1455*
Pe	0.9705*	0.9908*	0.9819*	0.9887*	1	0.9435*	-0.5302*	0.5300*	0.2533*
A	0.9794*	0.9892*	0.9901*	0.9950*	0.9930*	1	-0.3012*	0.3011*	0.1718*
C	0.1131*	0.024	0.095	0.078	-0.010	0.071	1	-0.9999*	-0.3609*
Pe/A	-0.1133*	-0.025	-0.095	-0.078	0.010	-0.071	-0.9999*	1	0.3609*
L/An	0.1345*	0.2982*	0.069	0.1673*	0.2201*	0.1806*	-0.3160*	0.3157*	1

En la Figura 4.5 se muestran las relaciones de L con las medidas directas y los índices de forma de los otolitos observadas en cada stock. Gráficamente no se detectaron entre ambos stocks distintos patrones de las relaciones entre las medidas univariantes.

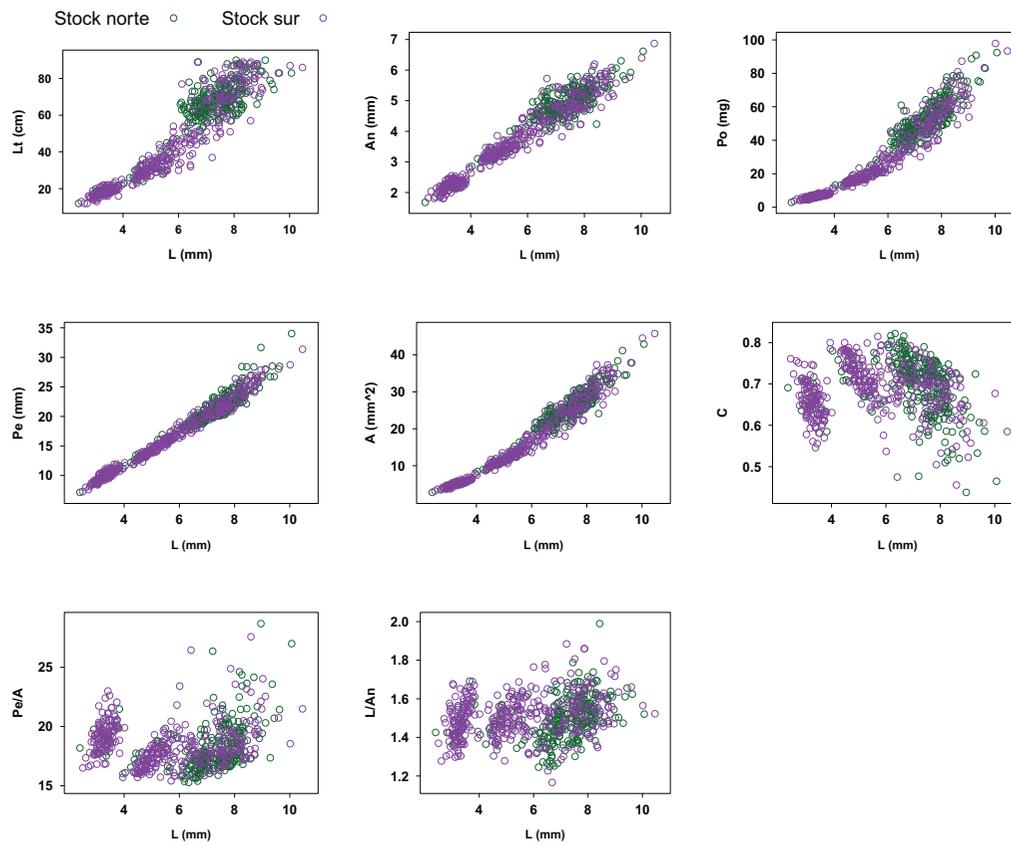


Figura 4.5: Relaciones entre la longitud del otolito y la talla del rape, las medidas directas y los índices de forma, en cada stock.

4.3.2. Análisis multivariante

En esta sección se presentan los resultados del estudio discriminante de stocks, tanto los obtenidos en el escalamiento multidimensional como en el análisis discriminante lineal, así como la evolución morfológica del otolito en los 3 grupos de tallas considerados.

Discriminación de stocks

El efecto de la longitud total del rape sobre los FD fue eliminado extrayendo los residuos de la regresión lineal. Antes de la corrección de talla, la correlación de Pearson fue significativa en 18 de los 25 FD, mientras que después de la corrección, ningún FD estaba significativamente correlacionado con la talla. Los FD corregidos no presentaron diferencias significativas entre años (λ -Wilks = 0.960; $p > 0.05$). El sexo no

tiene un efecto destacado sobre la morfología del otolito, pues los resultados obtenidos en el LDA para machos, hembras y los 2 sexos en conjunto fueron similares. Por lo tanto, en el análisis discriminante entre stocks se agruparon los datos de ambos años y sexos.

En el escalamiento multidimensional de los FD corregidos no se encontró ningún patrón de agrupación definido, distinguiéndose solamente un único grupo que contiene todas las muestras analizadas de los 3 stocks (factor de *stress* = 0.18) (Figura 4.6).

Del análisis discriminante de los FD corregidos entre stocks se muestra el gráfico de dispersión de las puntuaciones de las 2 funciones discriminantes usadas en el análisis (Figura 4.7), la matriz de clasificación (Tabla 4.5) y el λ de Wilks para determinar la significación estadística del poder discriminatorio del modelo. Ambas funciones discriminantes fueron significativas, explicando la primera un 15 % de la varianza total, y la segunda un 7 %. Gráficamente no hay evidencias de diferencias entre stocks (Figura 4.7). Los datos se agrupan en una única nube de puntos y los centroides correspondientes a cada stock están muy próximos. La matriz de clasificación fue interpretada en 2 sentidos: observando primero el porcentaje de peces correctamente clasificados en su grupo de procedencia, y después, el porcentaje de peces de un grupo dado que fue incluido en otro grupo. De esta forma, se pudieron examinar qué grupos están mejor definidos y qué grupos son más parecidos. En total, se clasificaron correctamente un 45 % de los casos agrupados validados mediante *jackknife*. El stock norte es el que presenta un mayor porcentaje de peces correctamente clasificados (48 %) y el stock sur el que presenta el porcentaje más bajo (42 %) (Tabla 4.5). En función de los porcentajes de individuos incorrectamente clasificados, los stocks que muestran una mayor semejanza son el stock norte y el stock sur, mientras que el stock de la plataforma norte se asemeja más al stock norte. A pesar de que los resultados del análisis discriminante mostraron diferencias significativas entre stocks, el λ de Wilks resultó próximo a 1 (λ -Wilks = 0.813). Teniendo en cuenta lo observado en la Figura 4.7 y la matriz de clasificación, los stocks de rape establecidos en el Atlántico Nordeste no pueden ser discriminados en función de la morfología del contorno de los otolitos.

La forma promediada del otolito del rape para cada stock obtenida mediante los contornos ajustados no reveló diferencias morfológicas apreciables entre ellos (Figura 4.8).

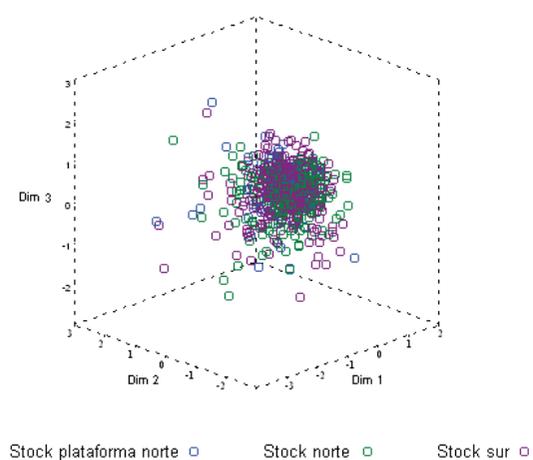


Figura 4.6: Gráfico tridimensional de ordenación de las distancias euclídeas entre los FD de los otolitos analizados de los 3 stocks de rape establecidos en el Atlántico Nordeste.

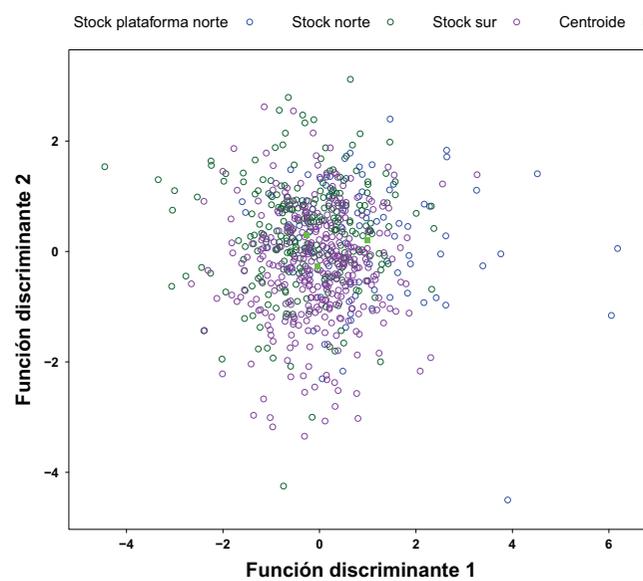


Figura 4.7: Puntuaciones de las funciones discriminantes de los FD de los otolitos de los 3 stocks establecidos en el Atlántico Nordeste.

Tabla 4.5: Matriz de clasificación, validada mediante el método *jackknife*, del análisis discriminante entre stocks de los FD para los otolitos de rape. Se muestran los porcentajes de individuos clasificados en cada stock y el tamaño de la muestra (entre paréntesis). La diagonal de la matriz representa los individuos correctamente clasificados.

	Stock plataforma norte	Stock norte	Stock sur
Stock plataforma norte	45.5 (40)	29.5 (26)	25 (22)
Stock norte	24.5 (65)	47.9 (127)	27.5 (73)
Stock sur	23.1 (84)	34.6 (126)	42.3 (154)

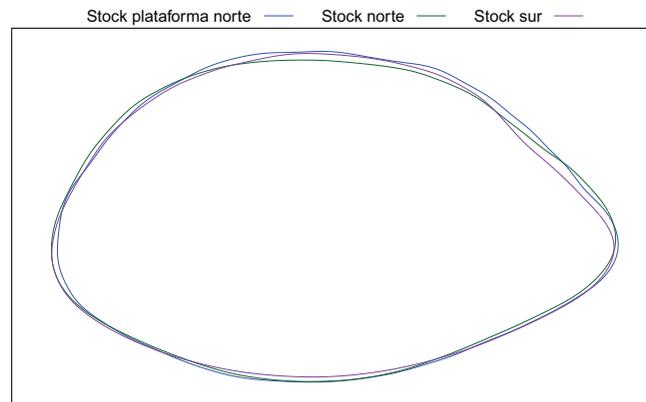


Figura 4.8: Contornos de los otolitos ajustados para cada stock.

Cambios ontogénicos en la morfología del otolito

El patrón de crecimiento del otolito de rape, observado mediante la forma promedio del contorno de los otolitos obtenida del EFA, en cada rango de talla de rape, fue similar en el stock norte y sur; el otolito se hace más alargado en apariencia a medida que aumenta el tamaño del rape, a la vez que su anchura disminuye y su rostro se vuelve más evidente y alargado (Figura 4.9).

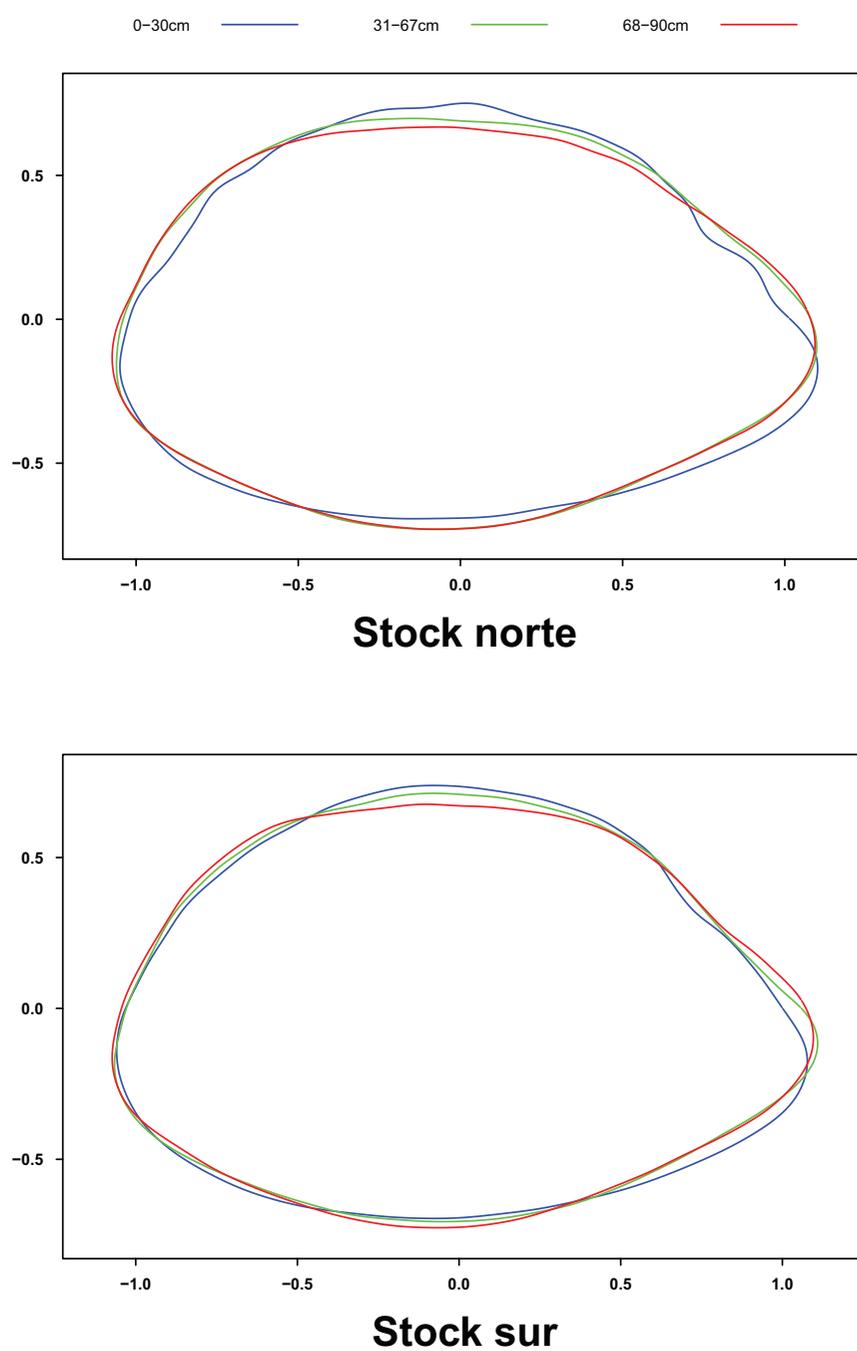
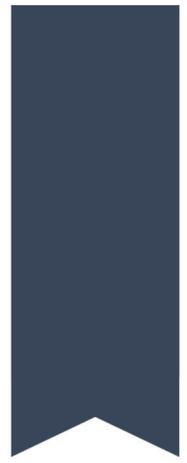


Figura 4.9: Contornos de los otolitos ajustados para cada grupo de talla y stock.

5



Parásitos como marcadores biológicos



Parásitos biomarcadores de rape: selección y caracterización

5.1. Parásitos biomarcadores de rape: selección y caracterización

5.1.1. Introducción

Los parásitos están muy extendidos en los peces marinos. Como tales, viven a expensas del hospedador, en sus órganos internos (endoparásitos) o adheridos a su superficie externa (ectoparásitos). Los que desarrollan su ciclo de vida en un único hospedador se denominan monoxenos, y pasan de un hospedador definitivo (en el que alcanzan la madurez sexual y se reproducen) a otro, sin necesidad de hospedadores intermediarios. Los parásitos heteroxenos, por el contrario, poseen un ciclo de vida indirecto en el que intervienen necesariamente uno o más hospedadores intermediarios, y en algunas ocasiones, hospedadores paraténicos, los cuales no son imprescindibles para completar su ciclo de vida sino que entran en él de una forma accidental, y pueden llegar a convertirse en verdaderos almacenes de parásitos (Baer 1971, Cordero del Campillo & Rojo 2007).

La mayoría de los grupos taxonómicos (desde protozoos a vertebrados) tienen representantes parásitos de los peces marinos (Baer 1971, Canning & Lom 1986, Williams & Jones 1994, Cordero del Campillo & Rojo 2007). Entre los más abundantes destacan: 1) los helmintos, que presentan su mayor diversidad en peces, siendo éstos hospedadores de 3 de sus principales grupos: platelmintos (digeneos y cestodos entre otros), nematodos y acantocéfalos, 2) los artrópodos, siendo los copépodos y los cirrípedos los más frecuentes en organismos marinos y 3) los protozoos, que son los menos conocidos.

El estudio de la fauna parásita de los peces marinos tiene además de su propio interés uno añadido en los ámbitos de salud pública (por la posible ingestión accidental de parásitos vivos al comer pescado crudo o poco cocinado) y acuicultura (actividad que ha experimentado un gran apogeo en los años últimos y en donde los parásitos constituyen un grave riesgo para las especies cultivadas). Así mismo, el sistema hospedador-parásito es empleado como indicador de polución (MacKenzie et al. 1995) y en los estudios de identificación de stocks de peces explotados se utilizan los parásitos como biomarcadores (Abaunza 2008).

MacKenzie & Abaunza (1998, 2005) establecieron las principales directrices para usar los parásitos como biomarcadores. El principio básico es que un individuo estará infectado con un parásito sólo si proviene del área endémica de ese parásito, entendiéndose por ésta la región geográfica en la que las condiciones son adecuadas

para su transmisión. Si los peces infectados son encontrados fuera de esta área, se puede inferir que han estado en esa zona en algún momento de su vida.

De acuerdo con MacKenzie & Abaunza (1998, 2005) las principales características que debe poseer un parásito para ser un buen marcador biológico en estudios de identificación de stocks, basándose en los criterios de selección sugeridos por Kabata (1963), Sindermann (1983), MacKenzie (1983, 1987) y Williams et al. (1992) son:

- Presentar diferencias significativas en los niveles de infección entre hospedadores presentes en distintas áreas de la zona de estudio.
- El parásito debe permanecer en el hospedador un tiempo mínimo, que viene determinado por la naturaleza del estudio. De acuerdo con Lester (1990), esta característica es el criterio principal para un uso eficiente de los parásitos como biomarcadores.
- Que el ciclo de vida del parásito sea directo o tener conocimiento acerca de los factores abióticos y bióticos que afectan a su transmisión entre hospedadores.
- Los niveles de infección deben permanecer relativamente constantes de año en año.
- Los parásitos deben de ser fácilmente detectados e identificados.
- Se deben descartar los organismos patógenos que provocan la muerte del hospedador.

Con el fin de determinar cuáles de entre los parásitos de rape (*L. piscatorius*) resultarían más adecuados para utilizar como biomarcadores se realizó un estudio preliminar sobre 46 individuos de rape del stock norte (de entre 43 - 108 cm de talla) capturados durante el primer y segundo trimestre de 2007. Se examinaron los riñones, el corazón, las branquias, el hígado, el tracto digestivo y la cavidad corporal. Basándose en las características expuestas anteriormente que deben presentar los parásitos biomarcadores y tras el examen de los órganos recogidos, se seleccionaron los siguientes parásitos: 3 nematodos anisákidos encontrados en el hígado, estómago, intestino y músculo (*Anisakis* Tipo I, *Pseudoterranova decipiens* (s.l.) e *Hysterothylacium rigidum*), un crustáceo de la cavidad branquial (*Chondracanthus lophii*) y un protozoo intracelular del sistema nervioso (*Spraguea lophii*).

Estudios filogenéticos recientes, basados en técnicas genéticas (alozimas y ADN) consideran que el género *Anisakis* Dujardin, 1845 (Ascaridoidea: Anisakidae) está formado por 9 especies, que se agrupan en 2 clados: uno engloba a las especies con el estado larvario conocido como *Anisakis* Tipo I (*sensu* Berland 1961) y el segundo comparte la morfología larvaria de *Anisakis* Tipo II (*sensu* Berland 1961). El primer clado incluye a *A. simplex* complex (*A. simplex* (*s.s.*), *A. pegreffii* y *A. simplex* C), *A. ziphidarum*, *A. typica* y *Anisakis* sp. El segundo incluye las especies *A. physeteris*, *A. brevispiculata* y *A. paggiae* (ver entre otros, Paggi et al. 1998, Mattiucci et al. 2005, Mattiucci & Nascetti 2006, Valentini et al. 2006, Mattiucci & Nascetti 2008). *P. decipiens* (*s.l.*) (Krabbe, 1878) (Ascaridoidea: Anisakidae) es un taxón complejo que incluye 6 especies genéticamente diferenciadas: *P. decipiens* (*s.s.*), *P. krabbei*, *P. bulbosa*, *P. azarasi*, *P. decipiens* E y *P. cattani* (ver entre otros, McClelland 2002, Mattiucci & Nascetti 2008).

Las especies del género *Anisakis* poseen una amplia distribución geográfica. Es un género cosmopolita presente en todos los mares del mundo (Mattiucci & Nascetti 2008). En las aguas del suroeste de Irlanda la única especie descrita es *A. simplex* (*s.s.*), y la costa atlántica de España y Portugal es un área simpátrica de *A. simplex* (*s.s.*) y *A. pegreffii*. Con respecto al género *Pseudoterranova*, tan sólo se han notificado datos de *P. decipiens* (*s.s.*) y *P. krabbei* en las aguas del suroeste europeo (McClelland 2002, Mattiucci & Nascetti 2008). *H. rigidum* (Rudolphi, 1809) (Ascaridoidea: Anisakidae) está citada en las costas gallegas (Sanmartín 1994), en las islas Feroe (Køie 1993a) y aguas del norte de Europa (Petter & Cabaret 1995).

Los nematodos seleccionados presentan un ciclo de vida heteroxeno y se transmiten a través de la cadena trófica; cuando un hospedador infectado es ingerido por otro organismo, las larvas atraviesan las paredes del tracto digestivo del reciente hospedador y se encapsulan en su cavidad corporal (músculo y órganos), abandonando solamente el cuerpo de éste cuando es depredado (Anderson 1992). En el ciclo de vida de las especies del género *Anisakis* y *Pseudoterranova* intervienen distintas especies de crustáceos planctónicos, macroinvertebrados bentónicos, peces teleósteos y cefalópodos como hospedadores intermediarios o paraténicos, y cetáceos y pinnípedos como hospedadores definitivos (Smith 1983, Anderson 1992, Klimpel et al. 2004, McClelland 2002). El estado adulto de las especies del género *Hysterothylacium* se encuentra normalmente en las vísceras de grandes peces teleósteos (Anderson 1992, Køie 1993b), por lo que los mamíferos marinos no forman parte de su ciclo de vida.

El copépodo *Chondracanthus lophii* (Johnston, 1836) (Poecilostomatoida: Chon-

dracanthidae) es un parásito común de la cavidad branquial del rape. La distribución de este parásito abarca el mar del Norte, aguas británicas, suroeste europeo y mar Mediterráneo (Kabata 1979, 1992). Las especies de la familia Chondracanthidae presentan dimorfismo sexual: las hembras son ectoparásitos sésiles que se fijan en la cavidad branquial del rape. Los machos son enanos y viven unidos a la región genital de la hembra, donde completan su desarrollo y permanecen hasta que mueren (Kabata 1979, 1992, Østergaard & Boxshall 2004). El conocimiento actual sobre la biología de *C. lophii* es escaso (Østergaard 2004). Su ciclo de vida no ha sido descrito, pero podría ser parecido al de otras especies pertenecientes a la familia Chondracanthidae (ya que esta familia es muy homogénea): ciclo de vida directo con larvas de vida libre que cuando se desarrollan lo suficiente y entran en contacto con un hospedador adecuado, lo parasitan (Kabata 1979, 1992, Izawa 1986). En la Figura 5.1 se muestran imágenes de *C. lophii* donde se puede observar la situación de este parásito en el rape y sus características morfológicas más relevantes.

Las especies del género *Spraguea* Sprague and Vávra, 1976 (Microsporida: Spraguidae) son protozoos parásitos intracelulares del sistema nervioso del género *Lophius*. El número de especies incluidas en este género todavía no está claro (Lom & Nilsen 2003, Freeman et al. 2004). En las 2 especies de rape del Atlántico Nordeste (*L. piscatorius* y *L. budegassa*) se describió la especie *S. lophii* (Doflein, 1898) (Amigó et al. 1993) (Figura 5.2). El ciclo de vida de *S. lophii* aun no está descrito; en general, los microsporidios presentan un ciclo de vida monoxeno que implica transmisiones directas entre peces (Lom & Nilsen 2003). El estado infectivo de *S. lophii* tampoco se conoce y su forma de transmisión todavía está sujeta a controversia. Canning & Lom (1986) propusieron que la infección del género *Spraguea* tiene lugar a través de la alimentación, mientras que Weidner & King (1998) y Freeman et al. (2004) sugirieron que la infección en *L. americanus* y *L. litulon* se realiza a través de las glándulas mucosas de la piel, alcanzando finalmente las células del sistema nervioso del hospedador.

En esta sección se presenta la caracterización morfológica (con microscopía óptica y electrónica) y genética realizada para corroborar la identificación taxonómica de los nematodos seleccionados. Esto se realizó porque *Anisakis* Tipo I y *P. decipiens* (*s.l.*) son taxones complejos, es decir, integrados por diferentes especies genéticamente diferentes pero muy semejantes a nivel morfológico, y por la dificultad de identificación de *H. rigidum* usando sólo microscopía óptica.

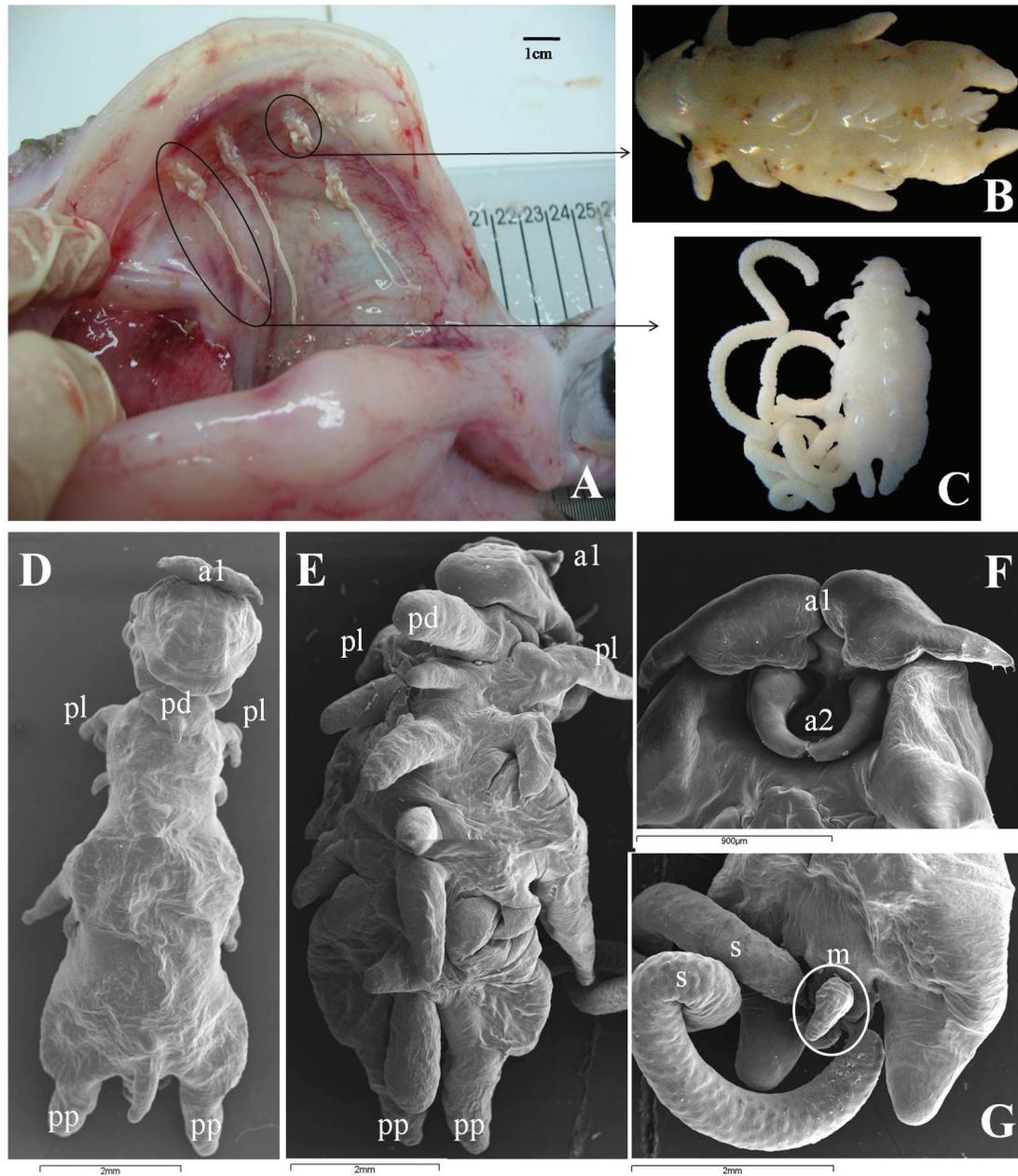


Figura 5.1: Cavidad branquial de *L. piscatorius* infestado con *C. lophii* (A). Hembra madura de *C. lophii* sin puesta (B). Hembra madura ovada de *C. lophii* (C). Vista dorsal de una hembra de *C. lophii* en proceso de metamorfosis (D) (a1 = primeras antenas; pd = protuberancias dorsales; pl = protuberancias laterales; pp = protuberancias posteriores). Vista dorsal de una hembra de *C. lophii* al final de la metamorfosis (E). Región ventral anterior de una hembra de *C. lophii* (F) (a2 = segundas antenas). Región ventral posterior de una hembra de *C. lophii* (G) (m = macho de *C. lophii*; s = saco de huevos). D-G microscopía electrónica a 20x (D, E), 65x (F) y 30x (G).

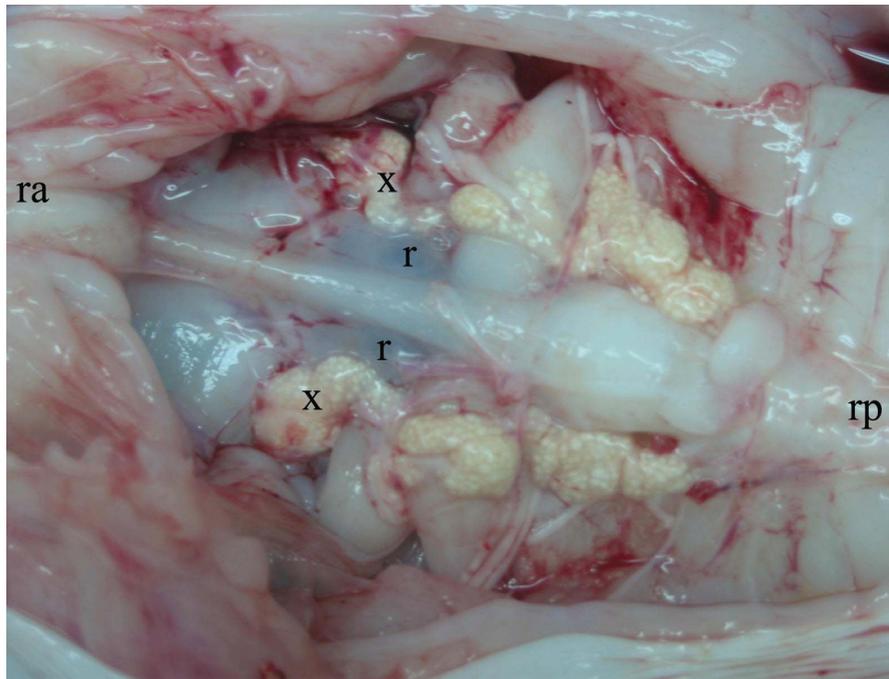


Figura 5.2: *L. piscatorius* mostrando una infección avanzada de *S. lophii* (ra = parte anterior del rape; rp = parte posterior; r = riñón; x = xenoma de *S. lophii*).

5.1.2. Material

Las muestras usadas para la caracterización de los 3 morfotipos de nematodos estudiados se extrajeron del mesenterio e hígado de rapas capturados en el suroeste de Irlanda (ver capítulo 3) y se colocaron en una placa Petri con solución salina al 0.9% para eliminar residuos que estuviesen adheridos a su cutícula. Se seleccionaron 4 individuos de cada morfotipo: *Anisakis* M. 1 - 4, *Pseudoterranova* M. 1 - 4 e *Hysterothylacium* M. 1 - 4. Cada individuo se dividió en 3 partes: anterior (incluyendo la región cefálica y la región somática), central y posterior (incluyendo la región caudal). De la parte central se extrajo el ADN ribosómico (ADNr) para el estudio genético y la región anterior y posterior se examinaron morfológicamente con el microscopio óptico y electrónico.

5.1.3. Identificación morfológica de los nematodos seleccionados

Métodos

- Microscopía óptica

Los nematodos seleccionados se estudiaron inmediatamente después de su extracción usando un microscopio estereoscópico Nikon SMZ800. Para su identificación se examinaron las regiones anterior y posterior atendiendo tanto a las características externas (morfología de la región cefálica y de la región caudal) como internas visibles al microscopio estereoscópico (presencia/ausencia, y en su caso, morfología del ventrículo, ciego intestinal, apéndice ventricular y relación de tamaños entre estructuras internas). Para fotografiar cada una de las regiones observadas se utilizó una cámara digital Leica DFC420C.

- Microscopía electrónica de barrido

Para completar la información proporcionada por la microscopía óptica, las regiones anterior y posterior del cuerpo de los nematodos seleccionados se estudiaron mediante microscopía electrónica de barrido. Para la observación de las muestras en el microscopio electrónico se realizó el siguiente proceso:

1. Fijación en formol al 4 % durante 4 días.
2. Deshidratación mediante pasos sucesivos por alcohol de 25, 50, 70, 90 y 100 % de 30 minutos cada uno. Se hicieron 3 pasos en alcohol de 100 %.
3. Secado por punto crítico.
4. Metalización con oro.
5. Montaje en portaobjetos cilíndrico metálico.
6. Observación al microscopio electrónico de barrido.

***Anisakis* larva Tipo I**

A continuación se presenta un resumen de la descripción morfológica de *Anisakis* larva Tipo I de acuerdo con Punt (1941), Grainger (1959), Berland (1961) y Sanmartín (1994): “Longitud variable entre 15 - 30 mm, con extremo anterior más estrecho. Cutícula con estriaciones transversales, más notables en los extremos. Boca triangular rodeada de 3 protuberancias labiales, 1 dorsal bilobulada y 2 subventrales, las cuales poseen un esbozo de papilas y un diente que se proyecta anteroventralmente respecto a la boca. El poro excretor se encuentra entre las protuberancias labiales subventrales, debajo del diente. El conducto excretor recorre el cuerpo desde el poro excretor hasta alrededor de 4 mm por detrás del ventrículo. El anillo nervioso está situado en la octava parte anterior del esófago. Carece de apéndices esofágicos e intestinales. El ventrículo, más largo que ancho, presenta un margen posterior oblicuo. Cola cónica provista de mucrón. Recto rodeado por 3 glándulas rectales, 2 dorsales y 1 ventral”.

En la Figura 5.3 se observan las imágenes al microscopio óptico de las regiones anterior y posterior de una de las muestras de *Anisakis* larva Tipo I estudiadas. En ella se pueden observar algunas de las características que definen a este taxón: diente apical, anillo nervioso, mucrón y la morfología del ventrículo que caracteriza a *Anisakis* larva Tipo I. En la Figura 5.4 se muestra la región cefálica y caudal al microscopio electrónico y se pueden observar las estrías transversales, las protuberancias labiales dorsal y subventral, el diente apical en la región ventral y abriéndose por debajo de éste el poro excretor, el mucrón y la abertura anal. Las características observadas en las muestras examinadas coinciden con lo expuesto por Punt (1941), Grainger (1959), Berland (1961) y Sanmartín (1994) confirmando que este morfotipo pertenece al taxón *Anisakis* Tipo I.

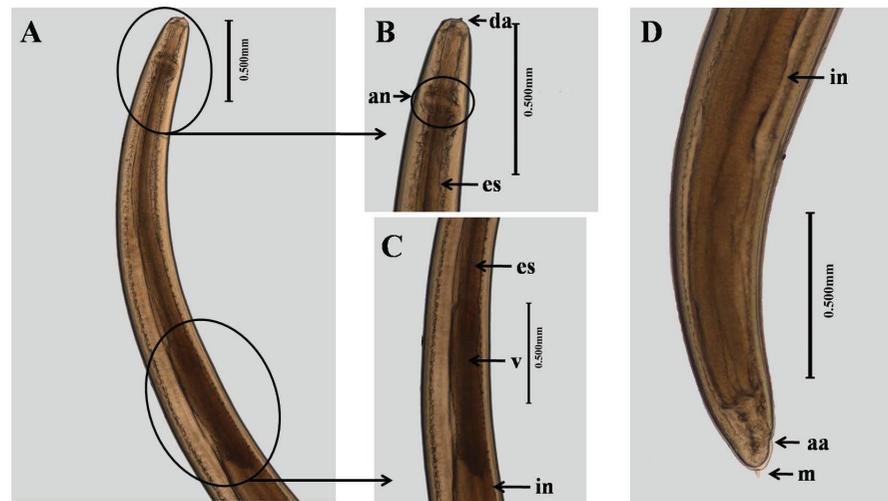


Figura 5.3: *Anisakis* larva Tipo I (M. 1). (A) Región anterior. (B) Región cefálica (da = diente apical; an = anillo nervioso; es = esófago). (C) Región central (v = ventrículo; in = intestino). (D) Región caudal (aa = abertura anal; m = mucrón).

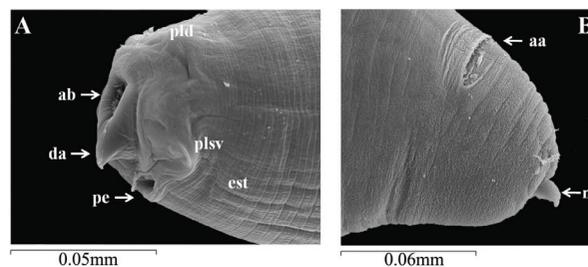


Figura 5.4: *Anisakis* larva Tipo I (M. 1). (A) Región cefálica (ab = abertura bucal; da = diente apical; pe = poro excretor; pld = protuberancia labial dorsal; plsv = protuberancia labial subventral; est = estrías transversales). (B) Región caudal (aa = abertura anal; m = mucrón).

Larva de *Pseudoterranova decipiens* (s.l.)

A continuación se presenta una breve descripción morfológica de la larva de *P. decipiens* (s.l.) de acuerdo con Kreis (1952), Grainger (1959) y Berland (1961): “Cuerpo robusto de color rojizo. Cutícula con estriación transversal fina. Presencia de 3 protuberancias labiales, 1 dorsal con 2 papilas simples y 2 subventrales con 1 papila doble cada una de ellas. Pequeño diente apical entre los labios subventrales bajo el cual se abre el poro excretor. Anillo nervioso en la parte anterior del esófago, aunque más fino que el que presenta *Anisakis* larva Tipo I. Ventrículo más largo que ancho

y ciego intestinal. Cola cónica provista de un pequeño mucrón. Recto rodeado por 3 glándulas rectales”.

En las imágenes al microscopio óptico de las regiones anterior y posterior de una de las muestras de *P. decipiens* (*s.l.*) examinadas (Figura 5.5) se pueden observar algunas de las características que definen a este taxón: diente apical, mucrón y anillo nervioso más pequeños que los observados en *Anisakis* larva Tipo I (Figura 5.3). La morfología del ventrículo y la presencia del ciego intestinal que caracteriza a *P. decipiens* (*s.l.*) se aprecian claramente. En la Figura 5.6 se muestra la región cefálica y caudal al microscopio electrónico, en donde se pueden observar la fina estriación transversal, las protuberancias labiales dorsal y subventral, el diente apical en la región ventral y abriéndose por debajo de éste el poro excretor, el mucrón y la abertura anal. Las características observadas en las muestras examinadas coinciden con lo expuesto por Kreis (1952), Grainger (1959) y Berland (1961) confirmando que este morfotipo pertenece al taxón *P. decipiens* (*s.l.*).

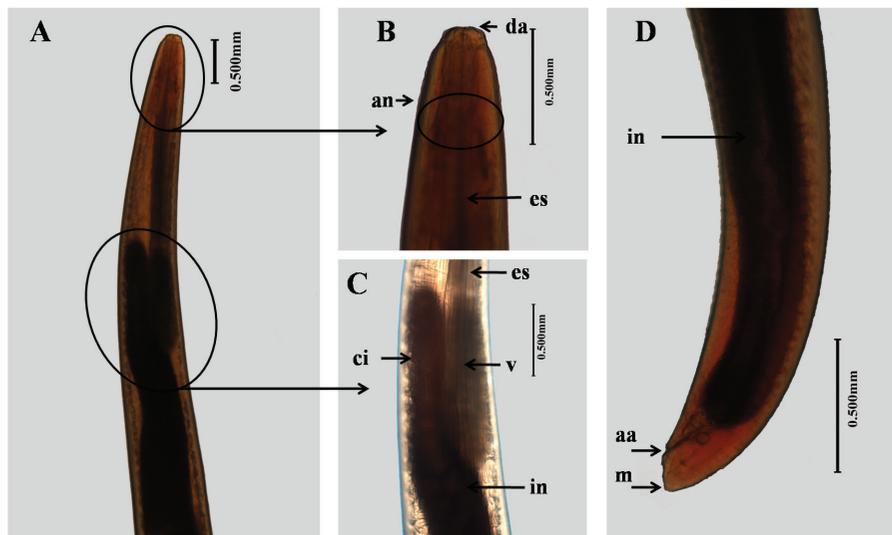


Figura 5.5: Larva de *Pseudoterranova decipiens* (M. 1). (A) Región anterior. (B) Región cefálica (da = diente apical; an = anillo nervioso; es = esófago). (C) Región central (v = ventrículo; ci = ciego intestinal; in = intestino). (D) Región caudal (aa = abertura anal; m = mucrón).

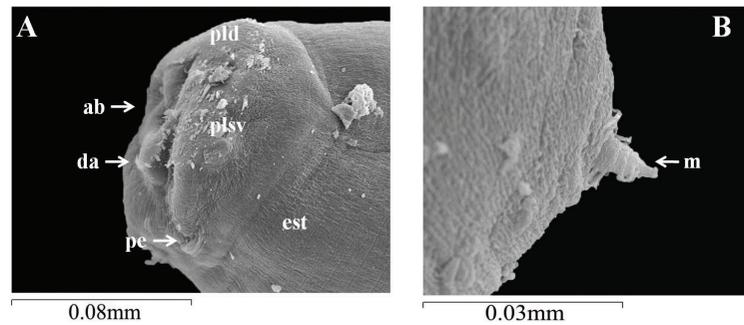


Figura 5.6: Larva de *Pseudoterranova decipiens* (M. 1). (A) Región cefálica (ab = abertura bucal; da = diente apical; pe = poro excretor; pld = protuberancia labial dorsal; plsv = protuberancia labial subventral; est = estriás transversales). (B) Región caudal (m = mucrón).

Adulto de *Hysterothylacium rigidum*

Sanmartín (1994) hizo una descripción detallada de la hembra adulta de *H. rigidum*, cuyo resumen es el siguiente: “nematodo cilíndrico rojizo, provisto de estriación transversal fina y 2 crestas longitudinales laterales. Cabeza más estrecha que el resto del cuerpo, formada por 3 labios, 1 dorsal portador de 2 papilas dobles laterales, y 2 subventrales provistos de 1 papila doble casi ventral, 1 papila simple y 1 anfidio lateral. Los labios se unen al cuello mediante un estrecho pedúnculo, del tamaño del interlabio. Presentan sus bordes posteriores profundamente lobulados, de modo que encajan perfectamente en el hueco originado entre ellos y el interlabio. El esófago alcanza un 10 % de la longitud corporal. El apéndice ventricular es mayor que el ciego intestinal, guardando una proporción aproximada de 3:1. El poro excretor se abre a la altura del anillo nervioso. La vulva se localiza aproximadamente en la mitad del cuerpo. La cola está provista de numerosas espinas diminutas”. Punt (1941) además indica que *H. rigidum* posee alrededor de 18 pares de papilas preanales y 5 pares de papilas postanales.

En la Figura 5.7 se muestran las imágenes al microscopio óptico de las regiones anterior y posterior de una de las muestras de *H. rigidum* estudiadas. Lo más destacable es que se puede observar el apéndice ventricular y el ciego intestinal guardando una proporción aproximada de 3:1. El individuo examinado es un macho, ya que presenta en su región caudal un par de espículas, órgano copulador masculino. En la región anterior y posterior del macho adulto de *H. rigidum* vista al microscopio

electrónico (Figura 5.8) se pueden observar las crestas laterales y la posición del poro excretor, los 3 labios que constituyen la cabeza con una papila cefálica doble, un interlabio y la estriación transversal de la cutícula. También se observan en la región caudal del parásito las papilas post y preanales, las espículas y el mucrón. Las características observadas en las muestras examinadas coinciden con lo expuesto por Punt (1941) y Sanmartín (1994) confirmando que este morfotipo pertenece a la especie de *H. rigidum*.

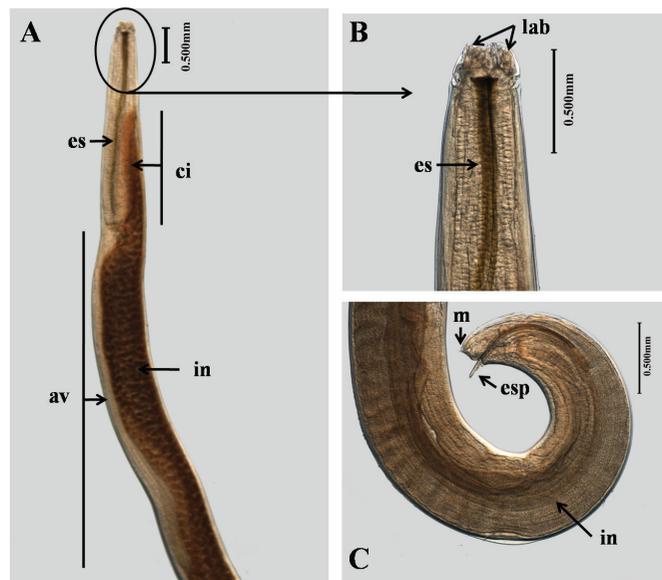


Figura 5.7: Macho adulto de *Hysterothylacium rigidum* (M. 1). (A) Región anterior (es = esófago; ci = ciego intestinal; av = apéndice ventricular; in = intestino). (B) Región cefálica (lab = labios). (C) Región caudal (m = mucrón; esp = espículas).

5.1.4. Caracterización genética de los nematodos seleccionados

La identificación genética de las muestras de nematodos se llevó a cabo utilizando como marcador genético la región de ADN ribosómico (ADNr) comprendida entre el extremo 3' del gen ADNr 18S y el extremo 5' del gen ADNr 28S. Esta región incluye: ITS1 (*internal transcribed spacer 1*), ITS2 (*internal transcribed spacer 2*), y el gen ADNr 5.8S. El uso de este marcador genético es una herramienta útil en la identificación de especies de ascarídidos ya que muestran altos niveles de diferenciación interespecífica en presencia de bajos niveles de variación intraespecífica (D'Amelio et al. 2000). Varios estudios han demostrado que con este marcador genético se obtuvieron identificaciones precisas de nematodos parásitos (Zhu et al. 1998, 2002, 2007, D'Amelio et al. 2000, Nadler et al. 2005).

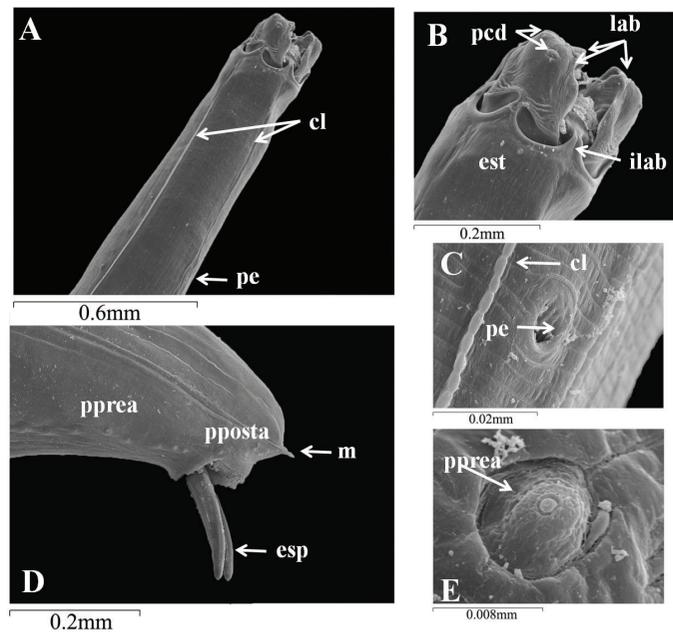


Figura 5.8: Macho adulto de *Hysterothylacium rigidum* (M. 1). (A) Región anterior (cl = crestas laterales; pe = poro excretor). (B) Región cefálica (lab = labios; pcd = papila cefálica doble; ilab = interlabio; est = estrías transversales). (C) Área ampliada de la región anterior. (D) Región caudal (pprea = papilas preanales; pposta = papilas postanales; m = mucrón; esp = espículas). (E) Papila preanal.

Métodos

La metodología empleada para la extracción, amplificación (PCR) y secuenciación del ADNr de las muestras y el análisis de las secuencias obtenidas para conocer su similitud con las secuencias depositadas en la página web del NCBI (*National Center for Biotechnology Information*) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) y así determinar el género y especie con el que presentan mayor coincidencia, se explica detalladamente en el Anexo A, sección A.1.

Se realizaron 3 alineamientos de las secuencias estudiadas y las extraídas del GenBank (ITS1, ITS2 e ITS1-5.8S-ITS2) debido a la baja disponibilidad de secuencias encontradas de la región de ADNr que incluyera el fragmento de estudio ITS1-5.8S-ITS2. Para llevar a cabo los 3 alineamientos de forma independiente, las secuencias completas se dividieron a la altura de la parte media del gen 5.8S. Tanto en el alineamiento de ITS1 como de ITS2 se introdujeron secuencias pertenecientes a los géneros *Anisakis*, *Pseudoterranova*, *Hysterothylacium* y *Contracaecum* (Tabla A.7),

mientras que para la región ITS1-5.8S-ITS2 sólo se introdujeron secuencias del género *Anisakis*, permitiendo hacer un estudio genético más detallado. Debido a la similitud encontrada entre las secuencias completas pertenecientes al género *Anisakis* sólo se usaron entre 2 y 4 secuencias de cada especie en los alineamientos de ITS1 e ITS2, evitando una ralentización en el proceso de cálculo filogenético. En el caso de *Hysterothylacium*, la determinación de especie se complicó debido a que el número de secuencias de especies diferentes encontradas dentro de este género fue muy reducida.

Para examinar la variación genética de las muestras en relación al género y especie, se estimaron las distancias genéticas según el modelo de máxima verosimilitud, tanto entre grupos como dentro de los mismos, para ITS1 e ITS2.

El análisis filogenético, basado en el criterio de máxima verosimilitud, se realizó asumiendo el modelo HKY, en donde se trató de buscar e identificar la topología que presentara la mayor probabilidad para explicar los cambios nucleotídicos observados entre las diferentes secuencias analizadas.

La robustez de cada clado filogenético fue determinada por *bootstrap* (Felsenstein 1985).

Resultados

Los resultados obtenidos para el género fueron claros; *Anisakis* M. 1 - 4 pertenecen al género *Anisakis*, *Pseudoterranova* M. 1 - 4 pertenecen al género *Pseudoterranova* e *Hysterothylacium* M. 1 - 4 pertenecen al género *Hysterothylacium*. Para la especie no se llegó a un resultado concluyente, aunque las menores distancias genéticas se obtuvieron entre *Anisakis* M. 1 - 4 y las especies gemelas *A. pegreffii*, *A. simplex* (*s.s.*) y *A. simplex* C, mientras que la especie más similar a *Pseudoterranova* M. 1 - 4 fue *P. krabbei*. Los resultados de este análisis se presentan con más detalle en el Anexo A, sección A.2.

El árbol filogenético obtenido para ITS1 de las secuencias analizadas y las secuencias del GenBank (Figura 5.9), muestra 4 *clusters* con valores de *bootstrap* superiores a 98 %: género *Anisakis*, género *Pseudoterranova*, género *Hysterothylacium* y género *Contracaecum*. *Anisakis* M. 1 - 4 están incluidas en el primer *cluster*, *Pseudoterranova* M. 1 - 4 en el segundo e *Hysterothylacium* M. 1 - 4 en el tercero. Debido a que los resultados para ITS2 presentan la misma agrupación, tan sólo se muestra el árbol filogenético de máxima verosimilitud para ITS1.

En el estudio pormenorizado incluyendo todo el fragmento de estudio (ITS1-5.8S-ITS2) del género *Anisakis*, se distinguen 2 *clusters* con valores de *bootstrap* superiores a 98%: *Anisakis* Tipo I y *Anisakis* Tipo II (*sensu* Berland 1961). Las muestras analizadas están situadas dentro del morfotipo Tipo I asociadas a las especies gemelas *A. pegreffii*, *A. simplex* (*s.s.*) y *A. simplex C* (Figura 5.10).

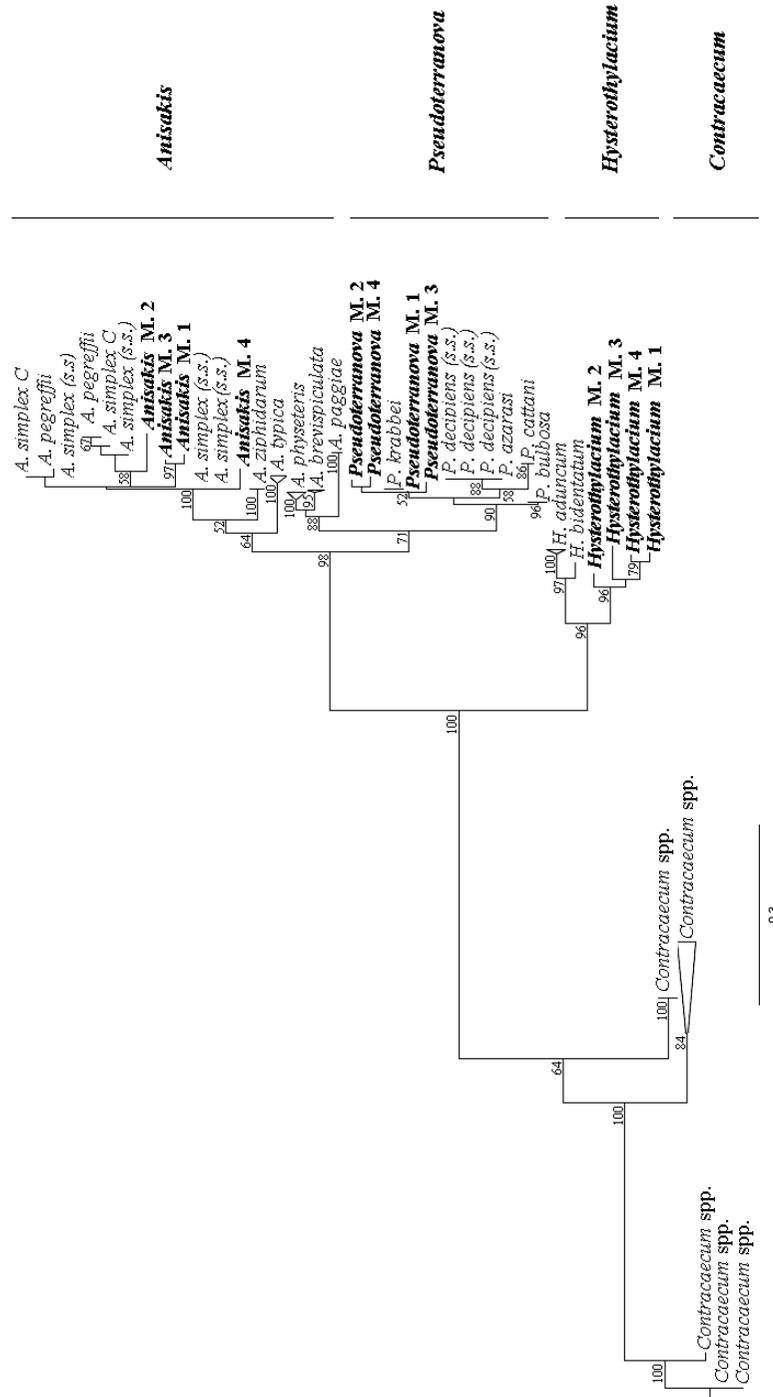


Figura 5.9: Árbol filogenético inferido mediante el criterio de máxima verosimilitud para ITS1 de las especies de los géneros *Anisakis*, *Pseudoterranova*, *Hysterothylacium* y *Contracaecum* presentes en el GenBank, y las muestras *Anisakis* M. 1 - 4, *Pseudoterranova* M. 1 - 4 e *Hysterothylacium* M. 1 - 4. Los valores de *bootstrap* $\geq 50\%$ se señalan en los nodos. (M. = Muestra).

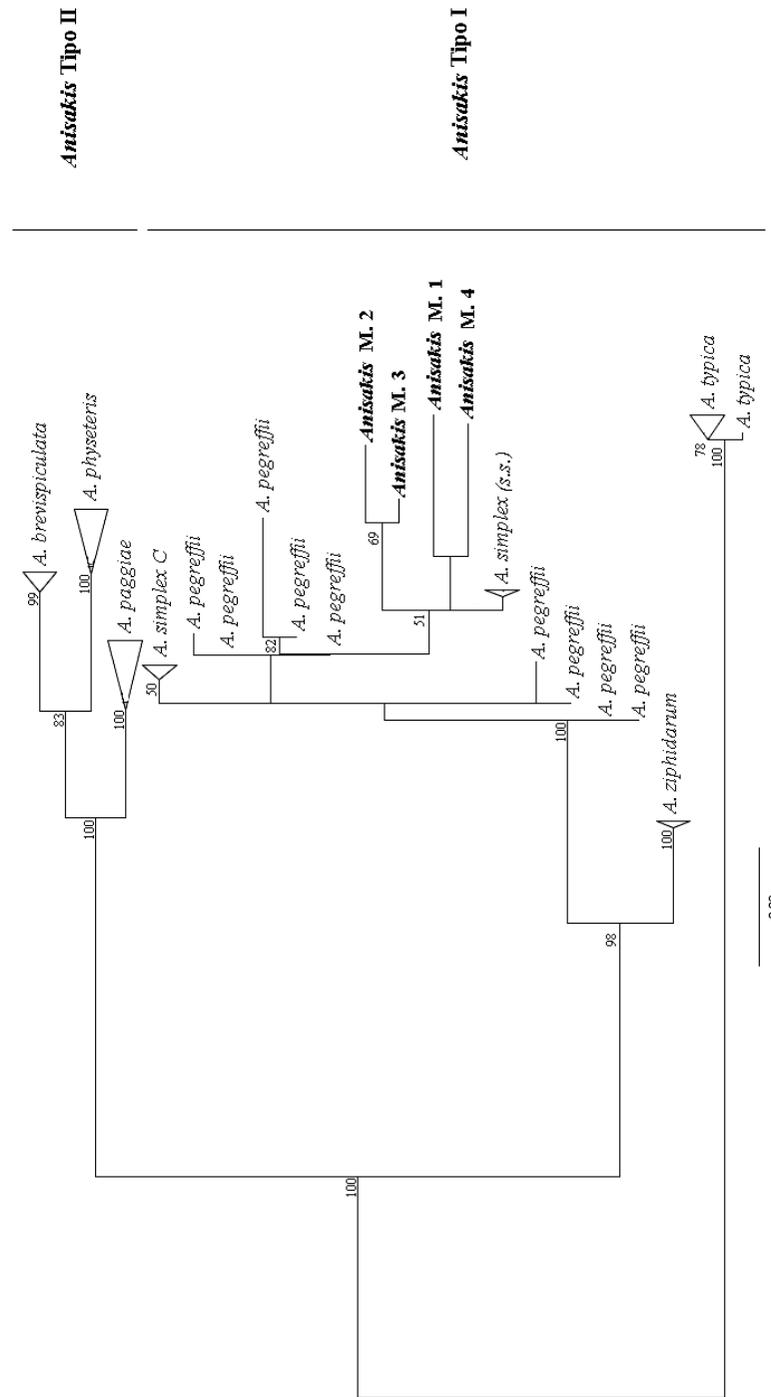


Figura 5.10: Árbol filogenético inferido mediante el criterio de máxima verosimilitud para ITS1-5.8S-ITS2 de las especies del género *Anisakis* presentes en el GenBank, y las muestras *Anisakis* M. 1 - 4. Los valores de *bootstrap* $\geq 50\%$ se señalan en los nodos. (M. = Muestra).

5.1.5. Valoración de resultados

Valorando conjuntamente los resultados obtenidos del estudio morfológico y genético, se concluye que:

- *Anisakis* M. 1 - 4 pertenecen a *Anisakis* larva Tipo I (*sensu* Berland 1961) siendo más cercano a las especies gemelas *A. pegreffii*, *A. simplex* (*s.s.*) y *A. simplex* C. Este resultado es coherente si tenemos en cuenta la distribución de las especies del género *Anisakis* (ver sección 5.1.1) y el origen de las muestras analizadas, el suroeste de Irlanda. La única especie de este género descrita en el sur y oeste de Irlanda es *A. simplex* (*s.s.*). La península ibérica es considerada como área simpátrica para esta especie y *A. pegreffii*. *A. simplex* C no está descrito en esta área. La proporción de *A. simplex* (*s.s.*) y *A. pegreffii* encontrada en otra especie demersal, merluza, procedente de las costas gallegas, el golfo de Vizcaya y el banco del Gran Sol, fue de 8:2 (Mattiucci et al. 2004). Abollo et al. (2001) realizó un estudio parasitológico de *L. piscatorius*, entre otras especies de peces marinos, en las costas gallegas y todas las larvas de *Anisakis* encontradas pertenecían a la especie *A. simplex* (*s.s.*). Por lo tanto, se asume que las larvas pertenecen a *Anisakis* larva Tipo I (*sensu* Berland 1961), predominantemente a la especie *A. simplex* (*s.s.*).
- *Pseudoterranova* M. 1 - 4 pertenecen al género *Pseudoterranova*. Debido a la baja disponibilidad de secuencias completas (ITS1-5.8S-ITS2) de las especies de este género en el GenBank, no se pudo llegar a una conclusión definitiva en el estudio de especie. Considerando los valores de distancias genéticas y la distribución de las especies del género *Pseudoterranova* en el Atlántico Nordeste (ver sección 5.1.1), pueden tratarse de *P. krabbei* o *P. decipiens* (*s.s.*) o ambas, ya que se han encontrado a menudo infecciones mixtas de estas especies (Mattiucci & Nascetti 2008). En el suroeste de Irlanda no se ha citado la presencia de las especies que forman *P. decipiens* complex, pero hay datos de *P. decipiens* (*s.s.*) y *P. krabbei* en Escocia e islas Feroes, zonas próximas al área de estudio (McClelland 2002, Mattiucci & Nascetti 2008). *P. bulbosa* también se halló en el Atlántico Nordeste, pero en áreas más septentrionales (mar de Barents y Noruega).
- *Hysterothylacium* M. 1 - 4 se identificaron morfológicamente como *H. rigidum* ya que en el estudio de microscopía óptica y electrónica se observaron las características que definen a esta especie. Los resultados genéticos apoyan

la pertenencia al género *Hysterothylacium*, pero no fue posible obtener una identificación específica debido a que en el GenBank tan sólo había disponibles secuencias de 2 de las más de 60 especies definidas para este género (Li et al. 2007).

Este estudio facilita por primera vez la secuencia de ADNr de *H. rigidum* comprendida entre el extremo 3' del gen ADNr 18S y el extremo 5' del gen ADNr 28S la cual incluye: ITS1, ITS2 y el gen ADNr 5.8S.

Distribución espacio-temporal de los parásitos biomarcadores

5.2. Distribución espacio-temporal de los parásitos seleccionados

5.2.1. Introducción

Los estudios previos sobre la fauna parásita de rape *L. piscatorius* en el Atlántico Nordeste abarcan sobre todo aspectos cualitativos. Se han realizado estudios completos de la fauna parásita (Quinteiro 1990, K ie 1993a, Afonso-Dias & MacKenzie 2004) y específicos, para especies determinadas o grupos taxonómicos: en el rape del norte de España Landa et al. (2005) realizaron un estudio cuantitativo de la infestación del hirud neo específico *Calliobdella lophii* y Canning & Lom (1986) estudiaron el protozoo parásito del sistema nervioso de rape *Spraguea lophii*. Otros grupos examinados fueron digeneos (Quinteiro et al. 1993, Bartoli et al. 2006), nematodos (Quinteiro 1990, K ie 1993a, Abollo et al. 2001, Cañas et al. 2010) y en menor grado, cestodos (Orts et al. 1988), copépodos (Kabata 1979, Cañas et al. 2010) y mixosporidios (Afonso-Dias et al. 2007).

En este capítulo se presenta el estudio de distribución espacio-temporal de los parásitos de rape seleccionados: *Anisakis* Tipo I, *P. decipiens* (*s.l.*), *H. rigidum*, *C. lophii* y *S. lophii*. Existe abundante información sobre la infestación por nematodos anisákidos en especies demersales como el bacalao o la merluza (por ejemplo, Boily & Marcogliese 1995, Mattiucci et al. 2004) aunque los estudios que versan sobre el copépodo *C. lophii* y el protozoo *S. lophii* son escasos.

El objetivo de este estudio es identificar cuáles de los parásitos seleccionados son más aptos para ser usados como biomarcadores en la discriminación de los stocks norte y sur de rape, y cuáles son las variables (biológicas, espaciales y temporales) que pueden tener un efecto significativo sobre los niveles de infestación de estos parásitos, para tenerlas en cuenta en el estudio de identificación de stocks del rape en aguas del suroeste europeo (sección 5.3).

5.2.2. Material y métodos

5.2.2.1. Muestreo y recolección

Se recogieron los taxones de parásitos *Anisakis* Tipo I, *P. decipiens* (*s.l.*), *H. rigidum*, *C. lophii* y *S. lophii* de individuos de rape capturados en el suroeste de Irlanda (peces del stock norte; divisiones ICES VIIbcjk y VIIIa) y en el mar Cantábrico y noroeste de la península ibérica (stock sur; divisiones ICES VIIIc y IXa) (Figura 5.11).

Para los análisis se consideraron las áreas este (E) y oeste (O) de la VIIIc y norte (N) de la IXa. Las capturas se realizaron durante las campañas de prospección pesquera *Demersales* y *Porcupine* y en operaciones de pesca comercial de la flota española de arrastre, entre 2007 y 2009. El rango de profundidades de las capturas fue 189 - 746 m en *Porcupine* y 42 - 696 m en *Demersales*.

En la Figura 5.11 se indican los puntos donde se realizaron las capturas de rape en las campañas. Para las pescas comerciales, se determinó el punto medio de la división o subdivisión ICES en la que se realizó la marea de pesca, para graficar el lugar de la captura de los rapas examinados, debido a la imposibilidad de conocer la posición exacta (VIIb: 53.5°N - 11°O; VIIj: 50.25°N - 10.5°O; VIIk: 50.25°N - 15°O; VIIIa: 47°N - 3.5°O; VIIIcE: 44°N - 4.75°O).

El número de rapas examinados fue distinto, según los grupos o especies de parásitos. Para el estudio de los nematodos se analizaron 502 rapas, entre 12 y 89 cm de longitud total (Lt), capturados en 2008 y 2009. En el caso de *C. lophii* y *S. lophii*, se examinaron 1297 y 1562 rapas, respectivamente, entre 12 y 157 cm de Lt, que fueron capturados en 2007, 2008 y 2009 (Tabla 5.1).

La mediana de la longitud total de los rapas examinados del stock norte fue mayor que la de los rapas del stock sur (Figura 5.12). Esto será tenido en cuenta al analizar los efectos de las variables sobre los niveles de infestación.

La metodología empleada para el examen parasitológico se explicó en detalle en el capítulo 3, sección 3.2.

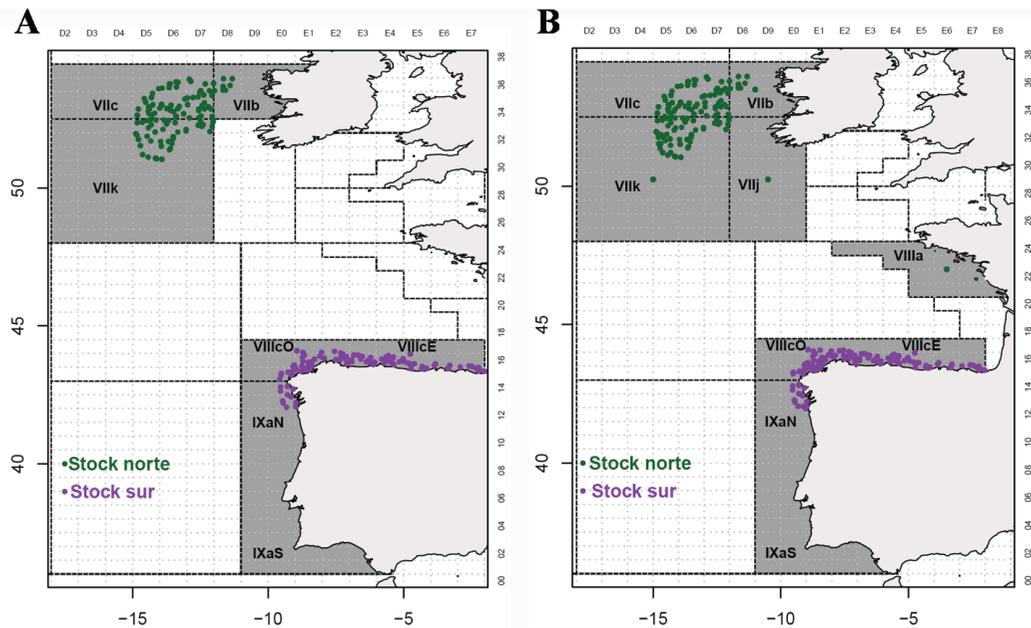


Figura 5.11: Localización de las capturas muestreadas de rape de los stocks norte y sur, para el estudio de la distribución espacial de los nematodos *Anisakis* Tipo I, *P. decipiens* (*s.l.*), *H. rigidum* (A) y de *C. lophii* y *S. lophii* (B).

Tabla 5.1: Número de individuos de rape examinados en el estudio de distribución espacio-temporal de los parásitos biomarcadores por stock, división ICES y año de muestreo.

Área	Nematodos			<i>Chondracanthus lophii</i>				<i>Spraguea lophii</i>			
	2008	2009	Total	2007	2008	2009	Total	2007	2008	2009	Total
<u>Stock norte</u>	122	130	252	303	230	286	819	303	231	285	819
VIIb	4	7	11	35	4	8	47	35	4	8	47
VIIc	77	78	155	0	81	87	168	0	81	86	167
VIIj	0	0	0	97	61	27	185	97	61	27	185
VIIk	41	45	86	159	84	164	407	159	85	164	408
VIIIa	0	0	0	12	0	0	12	12	0	0	12
<u>Stock sur</u>	40	210	250	152	64	262	478	307	132	304	743
VIIIcE	0	174	174	39	24	224	287	194	92	266	552
VIIIcO	30	32	62	110	30	33	173	110	30	33	173
IXaN	10	4	14	3	10	5	18	3	10	5	18
Total	162	340	502	455	294	548	1297	610	363	589	1562

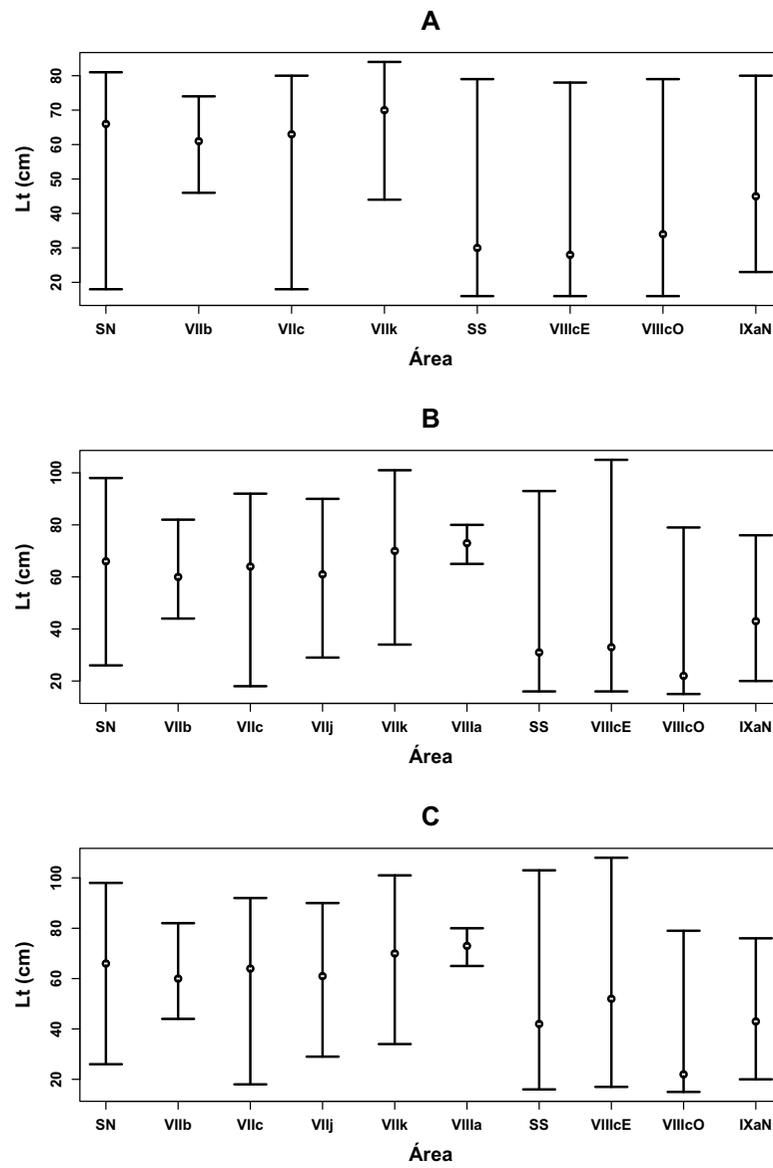


Figura 5.12: Talla mediana de los rapes examinados por stock (SN = stock norte, SS = stock sur), división ICES y biomarcador (A: nematodos, B: *C. lophii* y C: *S. lophii*). Los puntos indican la mediana y las barras el intervalo de confianza del 95%.

5.2.2.2. Análisis de datos

A. Parámetros epidemiológicos y variables

Se han determinado los siguientes parámetros epidemiológicos, según las definiciones dadas por Bush et al. (1997).

- Prevalencia (P) = (Número de hospedadores parasitados por una especie / Número de hospedadores examinados) x 100.
- Intensidad (I) = Número de individuos de una especie parásita en cada hospedador infectado.
- Intensidad media (IM) = Número de ejemplares de una especie parásita determinada / Número de hospedadores parasitados por esa especie.
- Abundancia (Ab) = Número de individuos de una especie parásita en cada hospedador infectado o no infectado.
- Abundancia media (AbM) = Número de ejemplares de una especie parásita determinada / Número de hospedadores examinados.

En el caso de *S. lophii* sólo se calculó la prevalencia por la imposibilidad de cuantificar el número de individuos agrupados en los xenomas y la abundancia y abundancia media sólo se calcularon en el estudio de *C. lophii*.

Se estudiaron las siguientes variables biológicas, espaciales y temporales, con relación al grado de parasitación:

- Tamaño o talla del rape (Lt). Longitud total medida desde la mandíbula inferior al extremo de la aleta caudal.
- Sexo del rape. Esta variable tan sólo se incluyó en los estudios de *P. decipiens* (*s.l.*) e *H. rigidum*. Para los otros parásitos, su efecto no es relevante sobre los niveles de infestación (Cañas et al. 2010).
- Stock. Stock norte y stock sur de la plataforma sur del Atlántico Nordeste establecidos por el ICES.

- División ICES (dICES). Áreas geográficas establecidas por el ICES en el Atlántico Norte. Para los nematodos se muestrearon las divisiones ICES: VIIbck, VIIIc (E y O) y IXa (N), y para los otros parásitos (*C. lophii* y *S. lophii*), se muestrearon además las divisiones VIIj y VIIIa.
- Profundidad (H). Profundidad del punto de captura de los rapés examinados.
- Latitud (lat). Latitud geográfica del punto de captura de los rapés examinados.
- Longitud (long). Longitud geográfica del punto de captura de los rapés examinados.
- Año. Años muestreados (2007 y 2008 en el caso de los nematodos y 2007, 2008 y 2009 en el de *C. lophii* y *S. lophii*).
- Estación. Estaciones anuales: invierno, primavera, verano y otoño.
- Interacciones entre variables. En el estudio de *Anisakis* Tipo I, *C. lophii* y *S. lophii* se tuvieron en cuenta las interacciones entre las siguientes variables: Lt^*stock , Lt^*dICES , Lt^*H y $Lt^*año$ (exceptuando las 2 últimas para *C. lophii*). En el estudio de *C. lophii* y *S. lophii*, también se incluyó $Lt^*estación$. Lt^*lat y Lt^*long tan sólo se tuvieron en cuenta en el estudio de *S. lophii*.

Para observar la relación de la prevalencia con las variables continuas se calculó la prevalencia media en intervalos de 1 cm de Lt , 1 m de H y 0.1° de lat y $long$.

B. Análisis exploratorios

Se hizo un análisis exploratorio de los datos, examinando la normalidad de las variables continuas (test de Shapiro-Wilk), la homocedasticidad (mediante el test de Levene) y la presencia de datos atípicos. Se concluyó que ninguna de las variables estudiadas presentaba una distribución normal ($p < 0.05$) y eran heterocedásticas ($p < 0.05$). Puesto que no se alcanzó la normalidad mediante la transformación de los datos, fue necesario utilizar técnicas no paramétricas en los análisis posteriores. Se detectó la presencia de un dato atípico en el estudio de *Anisakis* Tipo I y *C. lophii*, que fueron eliminados para realizar los análisis estadísticos. También se encontró un dato extremo en el estudio de *H. rigidum* y 2 en el de *P. decipiens* (*s.l.*), pero estos fueron incluidos en los análisis.

Se calcularon los parámetros epidemiológicos de cada parásito por stock, división ICES y año usando el programa Quantitative Parasitology (Rózsa et al. 2000). Para los conjuntos de muestras con un tamaño mínimo de 5 individuos se calcularon los intervalos de confianza para la prevalencia, intensidad media y abundancia media usando el método exacto de Sterne (Reiczigel 2003) para el primero de estos parámetros y el *bootstrap* no paramétrico (Efron & Tibshirani 1993) para los otros 2.

En el análisis exploratorio también se examinó la relación de los niveles de infestación con las distintas variables consideradas, y las interacciones entre éstas.

Los resultados obtenidos del examen exploratorio sirvieron para determinar el tipo de análisis que mejor se ajustaba a los datos y la distribución más adecuada para la variable respuesta (P, I y Ab).

C. Otros análisis y modelos

Todos los análisis estadísticos se realizaron usando los programas: STATISTICA (v.6) y R (v.2.10.0) (R Development Core Team 2009) (librería *mgcv* para los GAM, *stats* para los GLM y *pscl* y *lmtest* para los ZAM). Para todos los análisis estadísticos se estableció un nivel de significación de 0.05.

C.1. *Anisakis* Tipo I

Métodos para analizar la influencia del área geográfica (stock y división ICES) sobre la prevalencia e intensidad

Para examinar el efecto de las variables longitud del hospedador, stock, división ICES y año sobre los niveles de infestación (P e I) de *Anisakis* Tipo I, se empleó una combinación de modelos GLM (*generalized linear models*): un GLM binomial y un GLM binomial negativo. Se usaron los GLM porque se detectó una relación lineal entre la intensidad y la longitud total del hospedador. Se introdujeron 3 variables independientes en los modelos: Lt (variable continua), stock o dICES y año (variables categóricas). Se asumió una distribución binomial del error con una función de enlace *logit* cuando la variable dependiente fue la prevalencia y una distribución binomial negativa del error con una función de enlace logarítmica para la intensidad. También se incluyeron en los modelos las interacciones entre la Lt y las covariables categóricas.

La selección de los modelos se llevó a cabo mediante un proceso paso a paso descendente y ascendente (*stepwise backward y forward*) y utilizando como criterio de selección el AIC (*akaike information criterion*).

Se examinaron los gráficos de los residuos de *deviance* y Pearson frente a los valores ajustados y a las variables exploratorias continuas, para buscar patrones o tendencias que pudieran invalidar los modelos finales. En ningún caso se detectaron patrones por lo que los modelos quedaron validados.

Los modelos finales adoptados para la prevalencia e intensidad de *Anisakis* Tipo I (A1) en función del área geográfica (stock y división ICES) fueron los siguientes:

$$\begin{aligned}
 P_{A1} &= Lt + stock + error; & P_{A1} &= Lt + dICES + error \\
 I_{A1} &= Lt + stock + Lt*stock + error; & I_{A1} &= Lt + dICES + año + error
 \end{aligned}$$

Métodos para analizar la variación espacial y batimétrica de la prevalencia e intensidad

Para determinar la influencia de la profundidad, latitud, longitud, año y longitud total de rape sobre la variabilidad de los niveles de infestación (P e I) de *Anisakis* Tipo I se realizó un análisis para cada stock empleando una combinación de GAM (*generalized additive models*): un GAM binomial y un GAM binomial negativo. Los GAM son extensiones de los GLM en las que una función enlace describe la varianza total explicada como una suma de las covariables (Hastie & Tibshirani 1990). Los GAM son herramientas para identificar relaciones no lineales incorporando términos no paramétricos dentro del modelo (Chambers & Hastie 1993). Se usaron en este análisis porque resulta poco probable que las relaciones entre la presencia e intensidad de parásitos y las condiciones ambientales sean lineales (Bigelow et al. 1999), lo cual se pudo observar en el análisis exploratorio previo. Se introdujeron 5 variables independientes en los modelos: año, Lt, H, lat y long, siendo la primera categórica y el resto continuas. Las interacciones entre la Lt y año, lat y long, tanto en el stock norte como en el sur, no se incluyeron en el modelo por errores de ajuste. La $Lt*H$ sí se tuvo en cuenta en análisis desarrollado en el stock sur.

Las asunciones de las distribuciones del error, la selección del modelo más adecuado a los datos (mediante un proceso paso a paso ascendente (*stepwise forward*)), y la validación de los modelos finales, se hicieron de la misma manera que la descrita en

el apartado anterior.

Para cada stock, la prevalencia fue modelada de forma independiente para cada una de las covariables de la forma:

$$P_{A1} = Vi + error$$

donde Vi es igual a Lt, H, lat, long y año.

Los modelos finales validados para la intensidad de *Anisakis* Tipo I en los stocks norte y sur fueron los siguientes:

$$I_{A1} = Lt + H + lat + long + año + error \quad (\text{Stock norte})$$

$$I_{A1} = Lt + lat + long + Lt*H + error \quad (\text{Stock sur})$$

C.2. *Pseudoterranova decipiens* (s.l.) e *Hysterothylacium rigidum*

Se aplicaron los siguientes análisis para determinar el efecto de las variables, longitud total y sexo del rape, stock, división ICES, profundidad, latitud, longitud y año, sobre los niveles de infestación (prevalencia e intensidad) de *P. decipiens* (s.l.) e *H. rigidum*:

- Coeficiente de correlación de Spearman (r_s), para comprobar el grado de correlación entre P e I y las variables continuas Lt, H, lat y long.
- Test exacto de Fisher (F) (que se usa para tamaños muestrales pequeños) y análisis Chi-cuadrado (X^2) para determinar la independencia de la presencia o ausencia de los parásitos con el sexo del hospedador, año, stock y division ICES.
- Prueba de Kruskal-Wallis, para comprobar si existen diferencias significativas de la intensidad de parasitación entre las divisiones ICES estudiadas. Tan sólo se tuvieron en cuenta las divisiones ICES en donde el tamaño muestral fue igual o superior a 5, por lo que se excluyeron del análisis las áreas IXaN y VIIIcO para *P. decipiens* (s.l.), y IXaN y VIIb para *H. rigidum*.
- Prueba U de Mann-Whitney (U), para estimar si existen diferencias significativas entre la intensidad de parasitación y el sexo del hospedador, año y stock.

Para estudiar el efecto de las variables continuas (Lt, H, lat y long), sexo y año sobre la prevalencia e intensidad de *P. decipiens* (*s.l.*) tan sólo se usaron las muestras procedentes del stock norte debido al reducido número de rapas infectados en el stock sur ($n = 9$). En el caso de *H. rigidum* se realizó un análisis independiente para cada stock.

C.3. *Chondracanthus lophii*

Métodos para analizar la influencia del área geográfica (stock y división ICES) sobre la abundancia

Para examinar el efecto de las variables, longitud del hospedador, stock, división ICES, año y estación, sobre la abundancia de *C. lophii*, se emplearon los ZAM (*zero altered models*) debido a que en nuestros datos el número de rapas no parasitadas fue elevado (75 %). Los ZAM realizan 2 análisis independientes, el primero, logístico, modela la asociación entre la presencia y ausencia de una especie y las covariables introducidas y el segundo, numérico, ajusta la relación entre los datos superiores a 0 y las covariables. Debido a la sobredispersión encontrada en los datos mayores que 0, se usó un ZANB (*negative binomial zero altered models*) para evaluar el efecto de las variables sobre la abundancia de *C. lophii*. Los datos relativos a las divisiones ICES IXaN y VIIIa no fueron incluidos en los modelos por el reducido número de muestras recogidas en ambas divisiones (Tabla 5.1). Se introdujeron 4 variables independientes en los modelos: Lt (variable continua), stock o dICES, año y estación (variables categóricas). También se incluyeron en los modelos las interacciones entre Lt y las covariables categóricas stock, dICES y estación. La interacción Lt y año no se introdujo porque la mediana de la Lt fue semejante en 2007, 2008 y 2009.

La selección de los modelos se llevó a cabo mediante un proceso paso a paso descendente (*stepwise backward*) utilizando como criterio de selección del mejor modelo en cada caso, el test de razón de verosimilitud (*likelihood ratio test*). Los modelos se validaron examinando los residuos como se describió anteriormente para los GLM y los GAM.

Los modelos finales adoptados para la abundancia de *C. lophii*, en función del área geográfica (stock y división ICES), fueron los siguientes:

$$Ab_{C.lophii}(\text{logístico}) = Lt + \text{stock} + \text{año} + \text{estación} + Lt * \text{estación} + \text{error}$$

$$Ab_{C.lophii}(\text{numérico}) = Lt + \text{stock} + \text{estación} + Lt * \text{stock} + \text{error}$$

$$Ab_{C.lophii}(\text{logístico}) = Lt + dICES + \text{año} + Lt * dICES + \text{error}$$

$$Ab_{C.lophii}(\text{numérico}) = Lt + dICES + \text{estación} + \text{error}$$

Métodos para analizar la variación espacial y batimétrica de la prevalencia e intensidad

En los análisis llevados a cabo para cada stock se realizó una combinación de GAM, un GAM binomial y un GAM binomial negativo. Se introdujeron 5 variables independientes en los modelos: año, Lt, H, lat y long siendo la primera categórica y el resto continuas. Las interacciones entre la Lt y año, H, lat y long, tanto en el stock norte como en el sur, no se incluyeron en el modelo por errores de ajuste.

Las asunciones de las distribuciones del error, la selección del modelo más adecuado y la validación de los modelos finales se realizaron al igual que en el GAM desarrollado en el estudio de *Anisakis* Tipo I.

Los modelos para la prevalencia de *C. lophii* en los stocks norte y sur se configuran de la forma:

$$P_{C.lophii} = Lt + H + \text{lat} + \text{long} + \text{error}$$

y para la intensidad:

$$I_{C.lophii} = Lt + H + \text{lat} + \text{long} + \text{error} \quad (\text{Stock norte})$$

$$I_{C.lophii} = Lt + \text{lat} + \text{año} + \text{error} \quad (\text{Stock sur})$$

C.4. *Spraguea lophii*

Métodos para analizar la influencia del área geográfica (stock y división ICES) sobre la prevalencia

Para examinar el efecto de las variables, longitud del hospedador, stock, división

ICES, año y estación sobre la prevalencia de *S. lophii*, se empleó un GLM binomial. Los datos de las divisiones ICES IXaN y VIIIa no fueron incluidos en los modelos debido al bajo número de muestras recogidas en ambas divisiones (Tabla 5.1). Se introdujeron 4 variables independientes en los modelos: Lt (variable continua), stock o dICES, año y estación (variables categóricas), además de las interacciones entre éstas. Se asumió una distribución binomial del error con una función de enlace *logit* para la variable dependiente prevalencia.

La selección y validación de los modelos finales se realizaron al igual que en el GLM desarrollado en el estudio de *Anisakis* Tipo I.

Los modelos finales adoptados para la prevalencia de *S. lophii* en función del área geográfica (stock y división ICES) fueron los siguientes:

$$P_{S.lophii} = Lt + stock + estación + Lt*stock + Lt*estación + error$$

$$P_{S.lophii} = Lt + dICES + año + Lt*dICES + Lt * año + error$$

Métodos para analizar la variación espacial y batimétrica de la prevalencia

En el análisis llevado a cabo para cada stock se desarrolló un GLM binomial. Se introdujeron 5 variables independientes en los modelos: año, Lt, H, lat y long siendo la primera categórica y el resto continuas. Para la variable dependiente prevalencia, se asumió una distribución binomial del error con una función de enlace *logit*. También se incluyeron en los modelos las interacciones entre las 5 variables del modelo.

La selección y validación de los modelos finales se realizaron al igual que en el GLM desarrollado en el estudio de *Anisakis* Tipo I.

Los modelos finales ajustados para la prevalencia de *S. lophii* fueron:

$$P_{S.lophii} = Lt + H + lat + long + Lt*H + Lt*lat + Lt*long + error \quad (\text{Stock norte})$$

$$P_{S.lophii} = Lt + H + año + Lt*H + Lt*año + error \quad (\text{Stock sur})$$

Anisakis Tipo I

5.2.3. Resultados

5.2.3.1. *Anisakis* Tipo I

Influencia del área geográfica (stock y división ICES) sobre la prevalencia e intensidad

1. Análisis exploratorio

Se observó un aumento de la prevalencia de *Anisakis* Tipo I con la talla de rape, siendo la prevalencia del 100% a partir de 43 cm (Figura 5.13). *Anisakis* Tipo I apareció en toda el área de estudio, aunque la prevalencia fue superior en el stock norte. La VIIIcE presentó la prevalencia más baja y la VIIb la más elevada. En lo que respecta al año, la prevalencia fue mayor en el 2008 que en 2009. La longitud total de rape parece ser la variable que más incide en la prevalencia ya que a una talla media mayor, corresponde una prevalencia más elevada (Tabla 5.2 y Figura 5.13).

La interpretación de la influencia de las variables sobre la intensidad es similar al caso de la prevalencia (Figura 5.14). Se observó un incremento de la intensidad de *Anisakis* Tipo I con la talla de rape, tanto en el gráfico que relaciona ambas variables (Figura 5.14 A), como en el de intensidad media por clase de talla (Figura 5.14 B). En el stock norte se encontró una mayor intensidad, si bien es la división IXaN la que presenta un mayor nivel de infestación. Como para la prevalencia, la talla del rape es la variable que mayor influencia tiene en la intensidad (Tabla 5.2 y Figura 5.14).

2. Modelado de la prevalencia e intensidad en función del stock

La *deviance* (dev) explicada por el modelo final de prevalencia fue 63% y por el de la intensidad 48%. Los análisis indicaron que la talla del rape, Lt, es la variable que más efecto tiene sobre la prevalencia e intensidad de *Anisakis* Tipo I ($p < 0.05$; % dev = 50 y 44, respectivamente) (Tabla 5.3). El stock también fue significativo para la prevalencia ($p < 0.05$), aunque el porcentaje de *deviance* explicada (% dev = 14) fue menor. En cuanto a la intensidad, tanto el stock como la interacción entre la talla de rape y stock fueron significativas ($p < 0.05$), aunque la *deviance* explicada fue baja (% dev = 3 y 1 para stock y Lt*stock,

respectivamente) (Tabla 5.3). Que la interacción fuese significativa indica una relación diferente entre la intensidad de *Anisakis* Tipo I y la talla de rape en ambos stocks estudiados.

En la Figura 5.15 se muestran los valores ajustados de prevalencia e intensidad para los stocks norte y sur, con respecto a la longitud total del rape. En ambos stocks, se observó un aumento de la prevalencia de *Anisakis* Tipo I con la Lt, siendo mayor en el stock sur, donde, además, la parasitación es más temprana (aparece en rapes más pequeños). En cuanto a la intensidad (Figura 5.15), se observó que en ambos stocks había una correlación positiva de la intensidad con la talla del hospedador, y el ajuste del modelo proporcionó mayor intensidad con la talla en el stock sur.

3. Modelado de la prevalencia e intensidad en función de la división ICES

La *deviance* explicada por el modelo final de prevalencia fue 64 % y por el de la intensidad 49 %. Los análisis indicaron que la talla del rape, es la variable que más efecto tiene sobre la prevalencia e intensidad de *Anisakis* Tipo I ($p < 0.05$; % dev = 50 y 44, respectivamente) (Tabla 5.3). La división ICES también fue significativa ($p < 0.05$), aunque el porcentaje de *deviance* explicado fue menor (% dev = 14 y 5, para prevalencia e intensidad, respectivamente). En el modelo de prevalencia, las divisiones ICES VIIc y VIIk resultaron significativamente diferentes de la IXaN, que se tomó como referencia, y en el modelo de la intensidad fueron las divisiones ICES VIIb y VIIk las que presentaron diferencias significativas (Tabla 5.4). En función de estos resultados, cabe destacar que las divisiones ICES, entre las cuales se encontraron diferencias significativas para ambas variables dependientes (prevalencia e intensidad), pertenecen a distintos stocks.

El modelado de la prevalencia en función de la división ICES, indicó que, de forma general, en todas las áreas, la prevalencia aumenta con la talla del rape (Figura 5.16). *Anisakis* Tipo I apareció en individuos de rape más pequeños, en las divisiones ICES VIIIcO, VIIIcE y IXaN (stock sur) y su presencia en función de la talla de rape aumentó con mayor rapidez que en las divisiones ICES VIIc y VIIk (stock norte). El modelo GLM no ajustó los valores de prevalencia para la división ICES VIIb porque en todos los individuos de rape examinados se detectó la presencia del parásito (Tabla 5.2). En cuanto a la intensidad (Figura 5.16), se observó que en todas las divisiones ICES había una correlación positiva

de la intensidad de *Anisakis* Tipo I y la talla del hospedador, y se ajustaron niveles de infestación mayores en las divisiones del stock sur que en las del stock norte.

Variación espacial y batimétrica de la prevalencia e intensidad

Stock norte

1. Análisis exploratorio

Se observó un aumento de la prevalencia con la talla de rape, siendo del 100 % a partir de 43 cm (Figura 5.17). Los individuos no parasitados se capturaron principalmente a profundidades menores de 400 m, y en el rango espacial comprendido entre 52 - 54°N de latitud y 13 - 15°O de longitud. Con respecto al año, se observó una prevalencia superior en 2008, aunque poco significativa, puesto que los intervalos de confianza de los años estudiados se solapan. Por lo tanto, aunque se encontraron diferencias de prevalencia para todas las variables estudiadas, la Lt parece ser la de mayor influencia.

Con respecto a la intensidad, también se observó una clara relación de esta variable dependiente con la Lt (Figura 5.18), encontrándose intensidades superiores a 150 en rapes mayores de 60 cm. Se apreció una aparente tendencia de aumento de la intensidad con la latitud y la longitud, y de disminución con la profundidad (Figura 5.18). Los individuos con un valor de intensidad superior a 150 se capturaron, sobre todo, en áreas con coordenadas superiores a 52°N y 13°O, y a profundidades menores de 400 m, mientras que aquellos que presentaron valores inferiores a 150, se encontraron en toda el área de estudio. Se observó una mayor intensidad media en 2008 (Figura 5.18).

2. Modelado

La prevalencia se modeló para cada variable de forma independiente debido al número tan bajo de individuos no parasitados (12 %). La longitud total de rape, la profundidad y la longitud geográfica presentaron un efecto significativo sobre la prevalencia ($p < 0.05$) (Tabla 5.5), siendo Lt la variable más explicativa de *deviance* (91 %), es decir, la que presentó mayor efecto sobre la variable

dependiente. El efecto de la latitud ($p > 0.05$) y el año, que explicó el menor porcentaje de *deviance* (2%) sobre la prevalencia fue bajo. La Lt y la H muestran un claro efecto positivo sobre la prevalencia (Figura 5.19), mientras que la variación de ésta con respecto a las 2 variables geográficas es menos evidente. Hay que tener en cuenta que el efecto significativo observado para la profundidad puede ser resultado de una distribución heterogénea de las tallas de rape en el rango de profundidad muestreado, agrupándose los individuos no parasitados (de menor tamaño) a profundidades menores de 400 m (Figura 5.17), ya que, en el modelo GAM en el que se incluye como covariable la profundidad, no se tiene en cuenta la longitud total del rape.

En el modelado de la intensidad, todas las variables resultaron significativas, excepto la profundidad (Tabla 5.6). La Lt se modeló con un claro efecto positivo sobre la intensidad, mientras que las covariables geográficas mostraron valores próximos a 0, indicando que su efecto, a pesar de ser significativo estadísticamente, no parece relevante (Figura 5.20).

Stock sur

1. Análisis exploratorio

En la Figura 5.21 se observa un aumento de la prevalencia de *Anisakis* Tipo I con la talla de rape, siendo la prevalencia del 100% a partir de 35 cm. Los individuos no parasitados se capturaron principalmente a profundidades menores de 300 m y entre las latitudes 43.5 - 44°N. La longitud geográfica no parece afectar a la prevalencia, pues se encontraron individuos no parasitados en todo el rango de longitud estudiado (2 - 9.6°O). La prevalencia fue superior en 2008 que en 2009, pero los intervalos de confianza de ambos años se solapan. En resumen, se encontraron diferencias de prevalencia para la mayoría de variables estudiadas, y la Lt de rape parece ser la que tiene mayor relevancia.

La intensidad se relacionó también positivamente con la talla del rape (Figura 5.22). Al igual que en el stock norte, intensidades mayores a 150 sólo se encontraron en individuos de más de 60 cm, pero en el stock sur, el aumento de la intensidad con la talla es más progresivo, probablemente debido al mayor número de individuos de pequeño tamaño ($Lt < 30$ cm) muestreados. Se apreció una

relación de la intensidad con la profundidad y, así, los individuos con intensidades mayores de 150 se encontraron en todo el rango de profundidad estudiado, mientras que aquellos que presentaron valores de intensidad más bajos, se capturaron principalmente entre 50 y 300 m. Se observó una mayor intensidad media en 2008. No se apreció una relación evidente de la intensidad con la latitud ni con la longitud.

2. Modelado

La prevalencia de *Anisakis* Tipo I se modeló para cada variable de forma independiente porque la proporción de rapés no parasitados fue relativamente baja (23%). La talla y la longitud geográfica presentaron un efecto significativo sobre la prevalencia ($p < 0.05$) (Tabla 5.5), siendo la talla la variable que explicó mayor proporción de la *deviance* (42%), y por tanto, la que presentó un mayor efecto sobre la variable dependiente. La profundidad, latitud y año no fueron significativas ($p > 0.05$) y tuvieron poca incidencia en la explicación de la *deviance* (Tabla 5.5), por lo que su efecto sobre la prevalencia resultó bajo.

En el modelo ajustado, la talla tiene un claro efecto positivo sobre la prevalencia (Figura 5.23) y se observa un aumento de ésta con la profundidad y una disminución con la latitud aunque estas covariables no fueron estadísticamente significativas. Esto podría explicarse por la distribución heterogénea de rapés de distinto tamaño, agrupándose los individuos no parasitados ($Lt \leq 35$ cm) a menos de 300 m y al norte de 43° de latitud (Figura 5.21), ya que en los modelos GAM en el que se incluyen como covariables la profundidad y la latitud no se tiene en cuenta la talla. El efecto de la longitud sobre la prevalencia fue variable y no se apreció ninguna tendencia clara.

Todas las covariables incluidas en el GAM final de la intensidad fueron significativas (Tabla 5.6). En el modelo, se observa un claro efecto positivo de la talla sobre la intensidad, mientras que el efecto de las covariables geográficas (con valores próximos a 0) no resulta relevante (Figura 5.24). La interacción entre Lt y H indica cambios en la distribución del parásito con la profundidad dependientes de la talla de rape y, gráficamente, se observan altas intensidades de *Anisakis* Tipo I en tallas grandes (>70 cm) y profundidades entre 200 y 300 m (Figura 5.24 D).

En función de los resultados obtenidos en el stock norte y en el stock sur, la variable con mayor efecto sobre la prevalencia e intensidad de *Anisakis* Tipo I

fue la longitud total de rape. El año, profundidad, latitud y longitud no afectaron claramente a los niveles de infestación, aunque en algunos análisis, presentaron un efecto estadísticamente significativo.

Tabla 5.2: *Anisakis* Tipo I, valores de prevalencia (P) e intensidad media (IM) por stock, división ICES y año de muestreo. Entre paréntesis se indica el intervalo de confianza del 95%.

Área geográfica		Año		Total
		2008	2009	
<u>Stock norte</u>	P	92.6 (86.6-96.3)	84.6 (77.4-90.1)	88.5 (84.0-91.9)
	IM	75.6 (63.2-93.1)	58.5 (47.6-75.0)	67.1 (58.2-78.5)
VIIb	P	100.0	100.0 (62.3-100.0)	100.0 (73.6-100.0)
	IM	67.5	24.0 (14.4-35.6)	39.8 (19.8-106.4)
VIIc	P	90.9 (82.0-95.7)	75.6 (64.8-84.1)	83.2 (76.5-88.5)
	IM	77.4 (61.2-100.6)	59.0 (43.1-84.4)	69.0 (57.3-84.4)
VIIk	P	95.1 (83.3-99.1)	97.8 (88.2-99.9)	96.5 (90.3-99.0)
	IM	73.2 (54.8-111.2)	63.2 (49.0-96.6)	67.9 (55.2-89.0)
<u>Stock sur</u>	P	87.5 (73.9-94.9)	74.8 (68.4-80.3)	76.8 (71.0-81.7)
	IM	70.3 (46.3-113.2)	43.5 (34.3-56.0)	48.4 (39.4-61.0)
VIIIcE	P	-	73.0(65.8-79.1)	73.0 (65.8-79.1)
	IM	-	45.2 (34.9-58.7)	45.2 (34.9-58.7)
VIIIcO	P	86.7 (70.2-95.3)	81.3 (64.2-91.5)	83.4 (72.7-91.4)
	IM	69.8 (44.3-99.2)	12.2 (6.2-26.0)	41.0 (27.1-61.6)
IXaN	P	90.0 (55.4-99.5)	100.0	92.9 (68.3-99.6)
	IM	72.2	181.0	105.0 (49.6-210.1)
Total	P	91.4 (85.9-94.9)	78.5 (73.9-82.7)	
	IM	74.4 (62.3-90.0)	49.6 (42.0-59.7)	

Tabla 5.3: *Anisakis* Tipo I, resultados de los GLM finales para la prevalencia e intensidad, en función del área geográfica: valores de porcentaje de *deviance* explicada (% dev) y nivel de significación observado (p-valor) de las variables (gl = grados de libertad, Dev.res. = *deviance* residual, Dev. = cambio de *deviance*, “-” = variables excluidas del análisis, * = p-valor<0.05).

Variables	Prevalencia					Intensidad				
	gl	Dev.res.	Dev.	% dev	p-valor	gl	Dev.res.	Dev.	% dev	p-valor
Análisis stocks										
Nulo		462.55					865.65			
Longitud total (Lt)	1	232.28	230.27	49.78	<0.0001*	1	483.77	381.88	44.12	<0.0001*
Stock	1	169.84	62.44	13.50	<0.0001*	1	460.22	23.55	2.72	<0.0001*
Lt*stock	-	-	-	-	-	1	451.44	8.78	1.01	0.0030*
Análisis división ICES										
Nulo		462.55					885.09			
Longitud total (Lt)	1	232.28	230.27	49.78	<0.0001*	1	494.48	390.61	44.13	<0.0001*
División ICES	5	166.35	65.93	14.25	<0.0001*	5	453.65	40.83	4.61	<0.0001*
Año	-	-	-	-	-	1	449.87	3.77	0.43	0.0520

Tabla 5.4: *Anisakis* Tipo I, resultados de los GLM finales para prevalencia e intensidad, en función de la división ICES: parámetros estimados (Estimación), error estándar (ES) y nivel de significación observado (p-valor) de las variables. Se tomó de referencia la división ICES IXaN y el año 2008 (* = p-valor<0.05).

Variables	Prevalencia				Intensidad			
	Estimación	ES	z	p-valor	Estimación	ES	z	p-valor
Intersección	-7.150	1.867	-3.830	<0.0001*	0.719	0.298	2.414	0.0158*
Longitud total	0.298	0.042	7.044	<0.0001*	0.062	0.003	20.403	<0.0001*
Año								
2008	Referencia							
2009	-	-	-	-	-0.201	0.103	-1.955	0.0506
División ICES								
IXaN	Referencia							
VIIb	9.074	1008.927	0.009	0.9928	-0.783	0.361	-2.167	0.0302*
VIIc	-3.730	1.680	-2.221	0.0264*	-0.511	0.263	-1.947	0.0515
VIIk	-6.407	2.402	-2.667	0.0077*	-0.763	0.272	-2.806	0.0050*
VIIIcE	1.213	1.549	0.783	0.4337	0.182	0.270	0.673	0.5010
VIIIcO	1.516	1.596	0.950	0.3423	-0.430	0.279	-1.542	0.1231

Tabla 5.5: *Anisakis* Tipo I, resultados de los GAM finales para la prevalencia en los stocks norte y sur: valores de porcentaje de *deviance* explicada (% dev) y nivel de significación observado (p-valor) de las variables en los modelos (gle = grados de libertad estimados, X^2 = valores del test Chi-cuadrado, AIC = *akaike information criterion*, * = p-valor<0.05).

Modelos/Variabes	Stock norte					Stock sur				
	gle	X^2	p-valor	AIC	% dev	gle	X^2	p-valor	AIC	% dev
Longitud total	1.00	11.76	0.0006*	20.17	91	1.00	36.52	<0.0001*	157.32	42
Profundidad	2.57	22.77	<0.0001*	159.68	15	2.17	4.67	0.1120	263.34	3
Latitud	5.56	6.54	0.3160	159.42	18	1.75	1.42	0.4300	266.00	1
Longitud	2.44	10.47	0.0087*	167.82	11	4.63	19.11	0.0013*	252.96	8
Año	1.00	3.81	0.0511	179.87	2	1.00	3.25	0.0715	263.92	2

Tabla 5.6: *Anisakis* Tipo I, resultados de los GAM finales para la intensidad en los stocks norte y sur: nivel de significación observado (p-valor) de las variables en cada modelo final (gle = grados de libertad estimados, X^2 = valores del test Chi-cuadrado, “-” = variables excluidas del análisis, * = p-valor<0.05). El porcentaje de *deviance* explicado por los modelos GAM fue 33% y 81% para el stock norte y el sur, respectivamente.

Variables	Stock norte			Stock sur		
	gle	X^2	p-valor	gle	X^2	p-valor
Longitud total (Lt)	4.25	56.72	<0.0001*	4.34	47.80	<0.0001*
Profundidad	2.32	6.02	0.0661	-	-	-
Latitud	6.47	15.56	0.0218*	5.63	21.19	0.0013*
Longitud	3.45	15.02	0.0028*	5.20	12.33	0.0347*
Año	1.00	13.36	0.0003*	-	-	-
Lt*profundidad	-	-	-	5.90	19.05	0.0038*

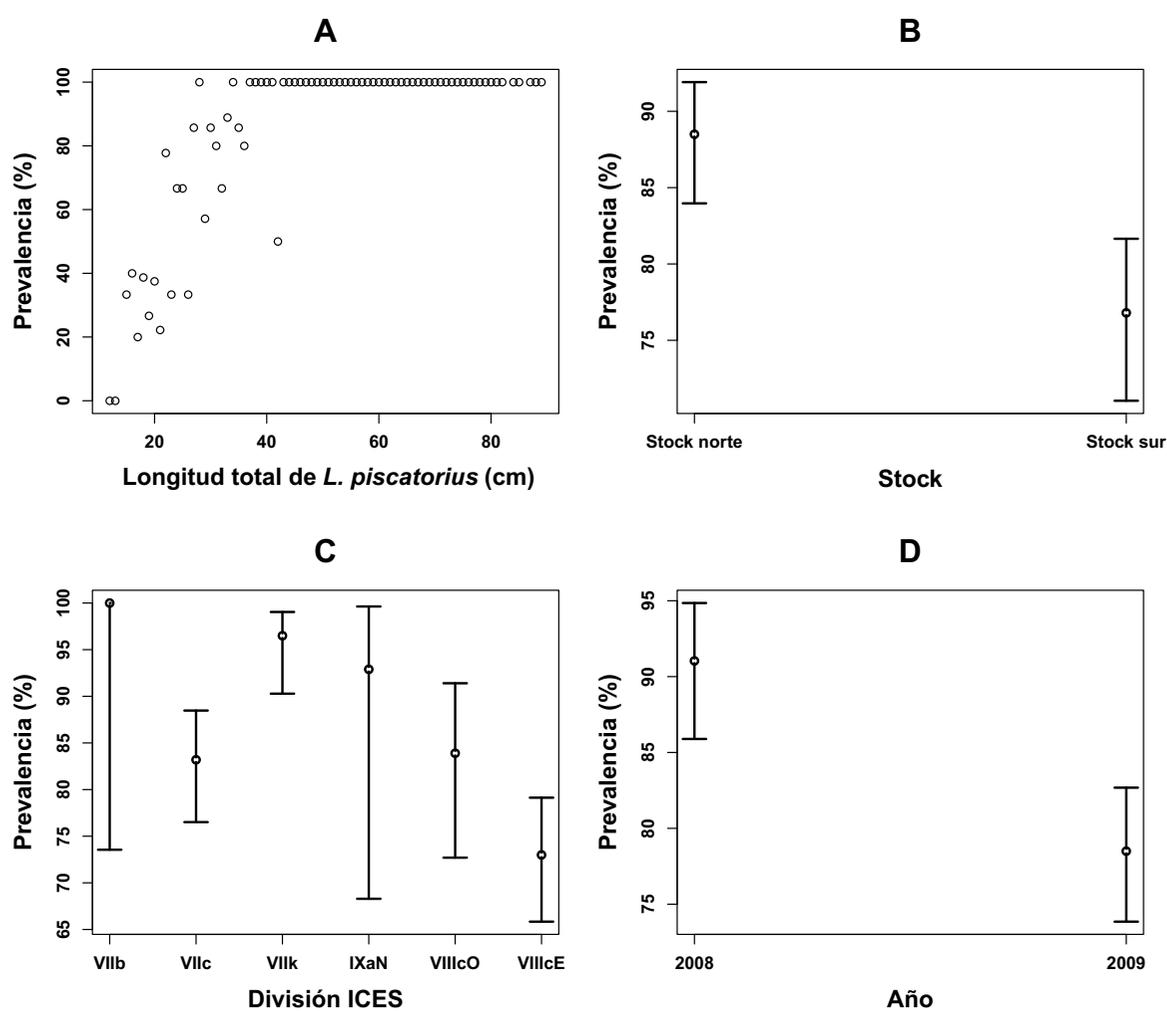


Figura 5.13: *Anisakis* Tipo I, exploratorio de la prevalencia, en función del área geográfica: gráficos según la longitud total de rape (A), stock (B), división ICES (C) y año (D). En B, C y D las barras representan el intervalo de confianza del 95%.

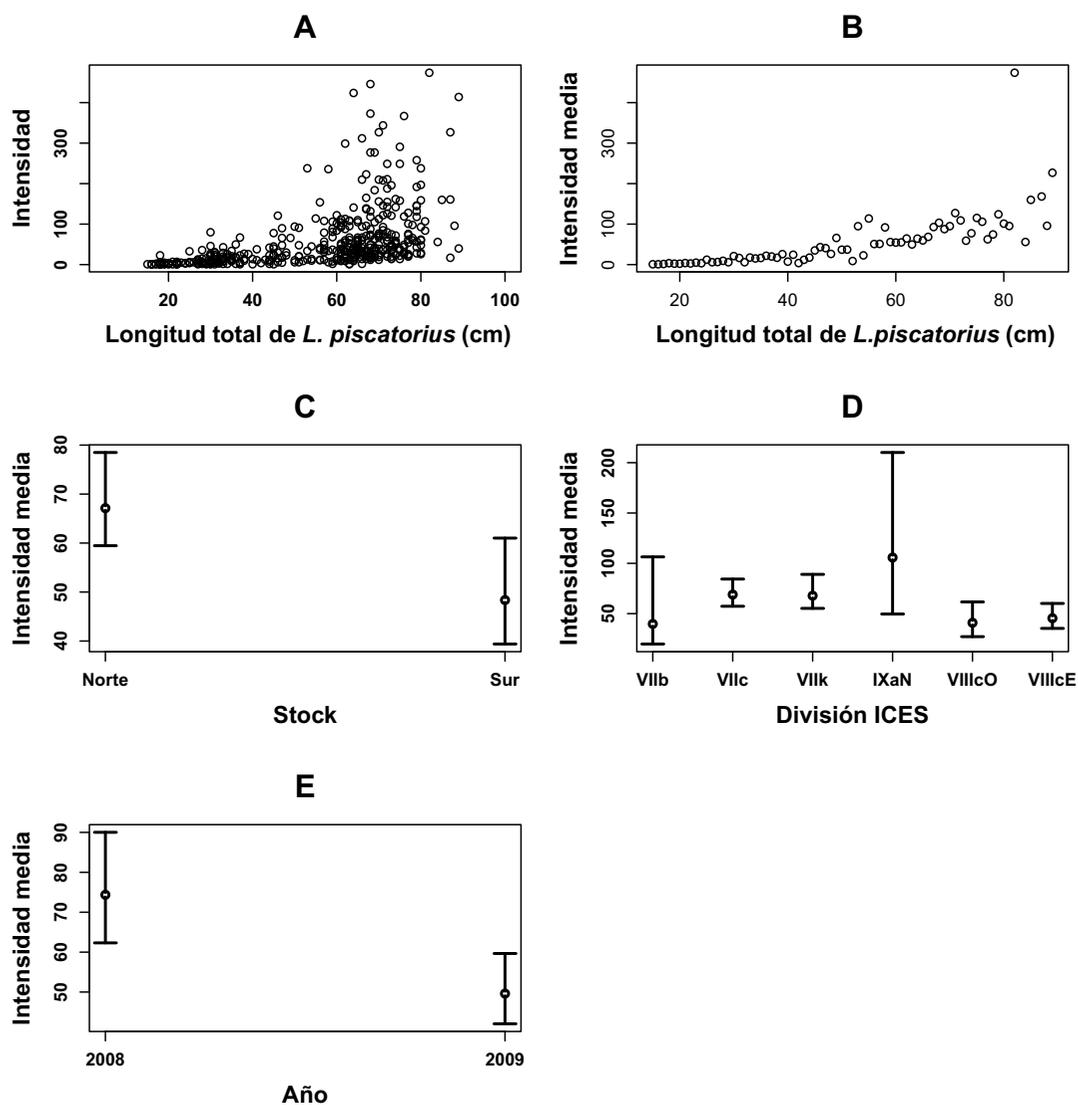


Figura 5.14: *Anisakis* Tipo I, exploratorio de la intensidad, en función del área geográfica: gráficos según la longitud total de rape (A), intensidad media por clase de talla (B), stock (C), división ICES (D) y año (E). En C, D y E las barras representan el intervalo de confianza del 95%.

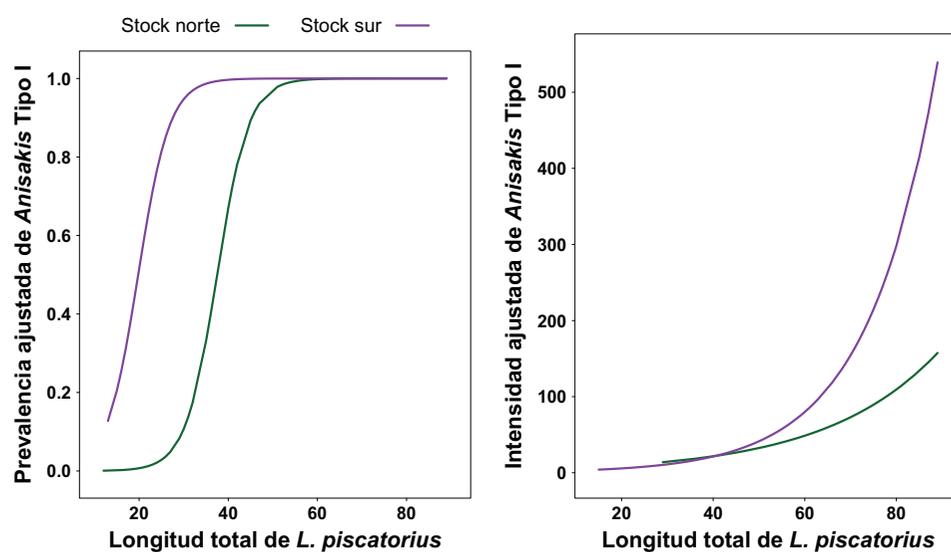


Figura 5.15: *Anisakis* Tipo I, modelado de la prevalencia e intensidad para cada stock: curvas ajustadas según el modelo GLM seleccionado para prevalencia (izquierda) e intensidad (derecha) en función de la longitud total de rape.

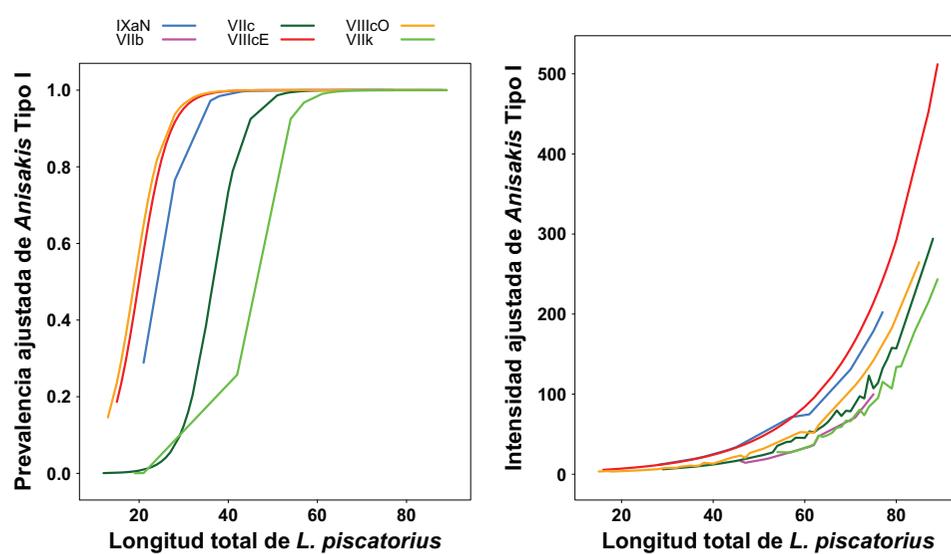


Figura 5.16: *Anisakis* Tipo I, modelado de la prevalencia e intensidad para las divisiones ICES: curvas ajustadas según el modelo GLM seleccionado para prevalencia (izquierda) e intensidad (derecha) en función de la longitud total de rape.

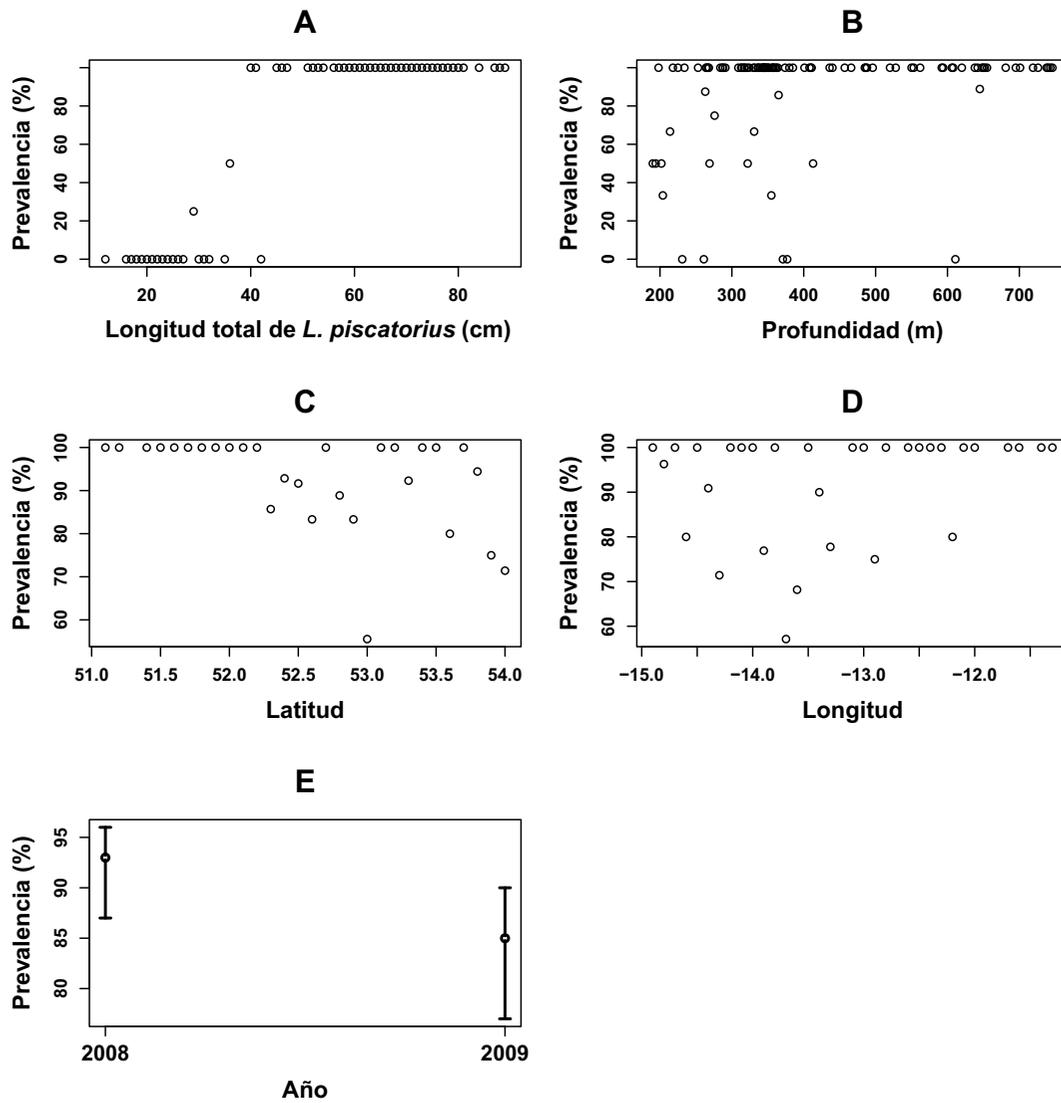


Figura 5.17: *Anisakis* Tipo I, exploratorio de la prevalencia en el stock norte: gráficos en función de la longitud total de rape (A), profundidad (B), latitud (C), longitud (D) y año (E). En E las barras representan el intervalo de confianza del 95 %.

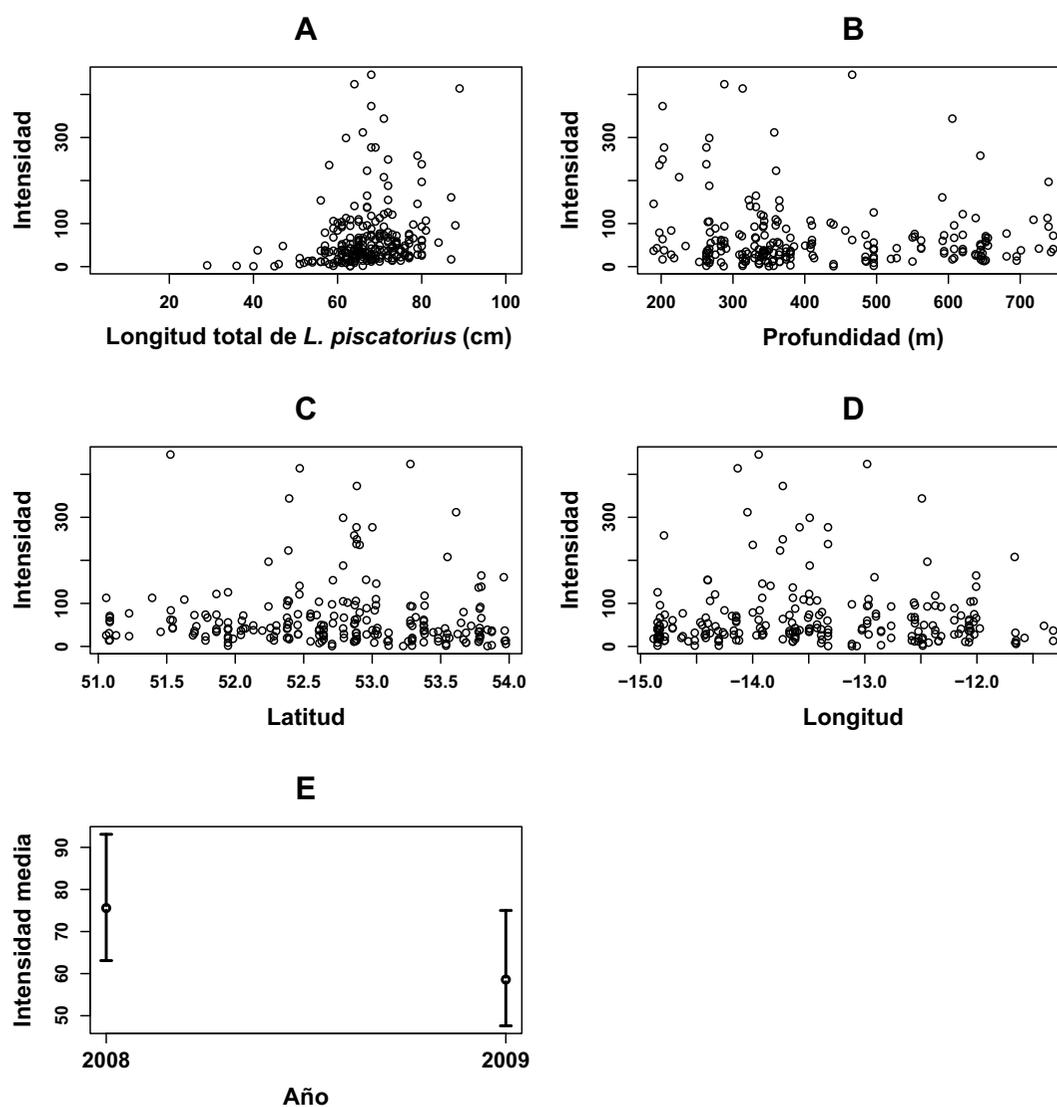


Figura 5.18: *Anisakis* Tipo I, exploratorio de la intensidad en el stock norte: gráficos en función de la longitud total de rape (A), profundidad (B), latitud (C), longitud (D) y año (E). En E las barras representan el intervalo de confianza del 95 %.

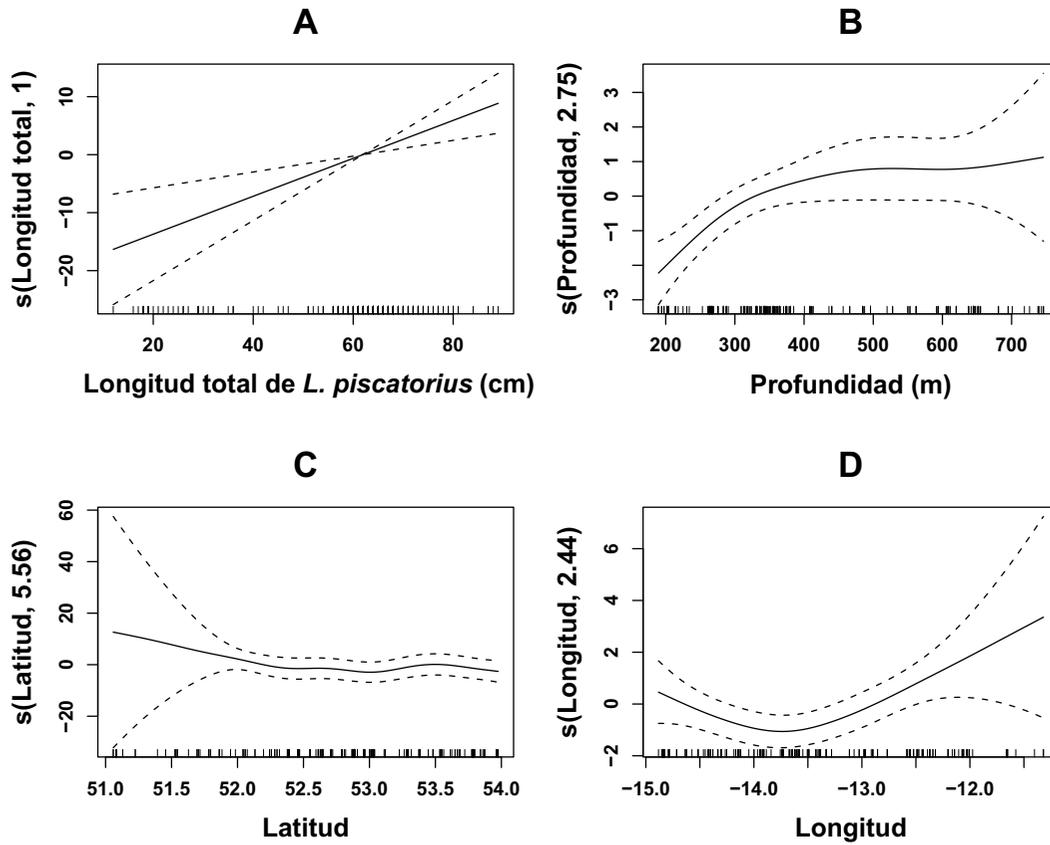


Figura 5.19: *Anisakis* Tipo I, modelado (GAM) de la prevalencia en el stock norte: efectos aditivos de la longitud total de rape (A), profundidad (B), latitud (C) y longitud (D). La línea sólida representa el efecto de la covariable y las líneas discontinuas representan el intervalo de confianza del 95%. El eje-y está escalado a 0 y representa la importancia relativa de la covariable; las barras en el eje-x muestran el número de observaciones.

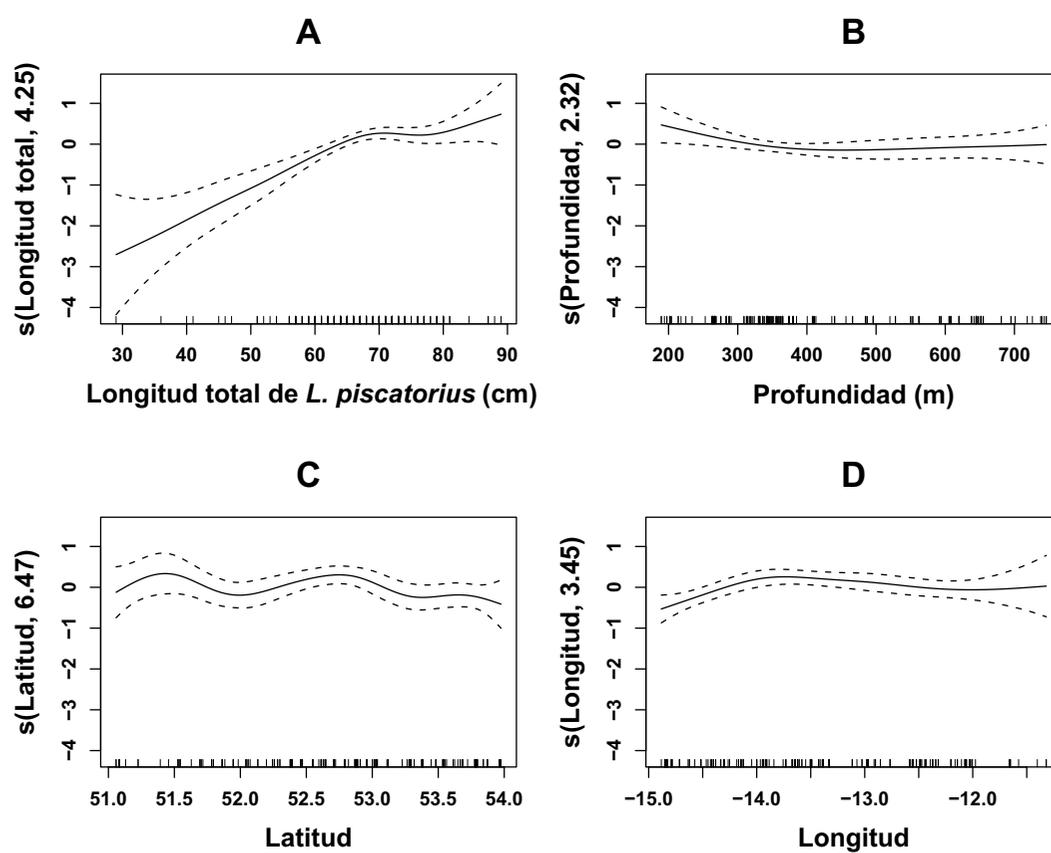


Figura 5.20: *Anisakis* Tipo I, modelado (GAM) de la intensidad en el stock norte: efectos aditivos de la longitud total de rape (A), profundidad (B), latitud (C) y longitud (D). La línea sólida representa el efecto de la covariable y las líneas discontinuas representan el intervalo de confianza del 95%. El eje-y está escalado a 0 y representa la importancia relativa de la covariable; las barras en el eje-x muestran el número de observaciones.

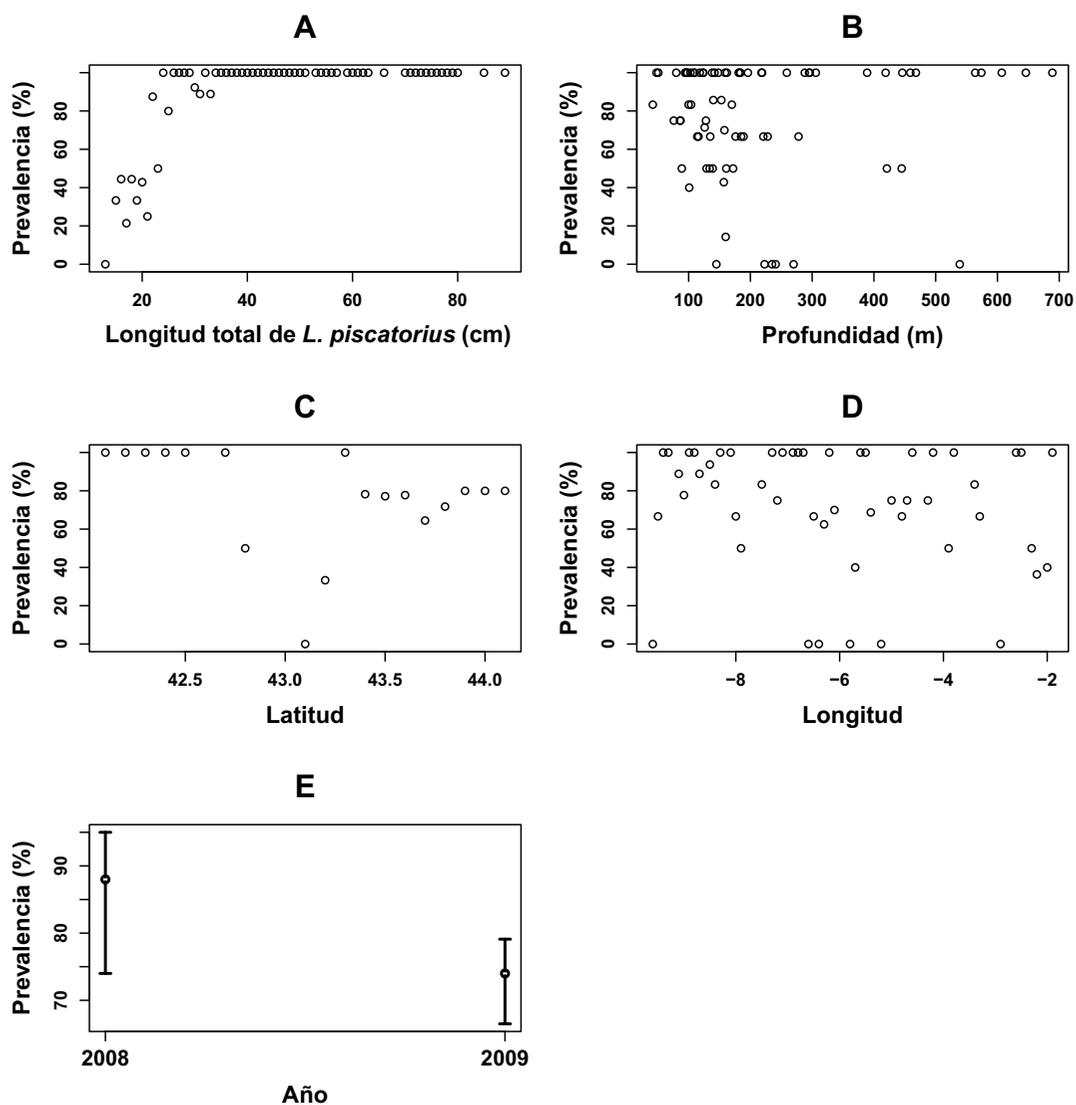


Figura 5.21: *Anisakis* Tipo I, exploratorio de la prevalencia en el stock sur: gráficos según la longitud total de rape (A), profundidad (B), latitud (C), longitud (D) y año (E). En E las barras representan el intervalo de confianza del 95 %.

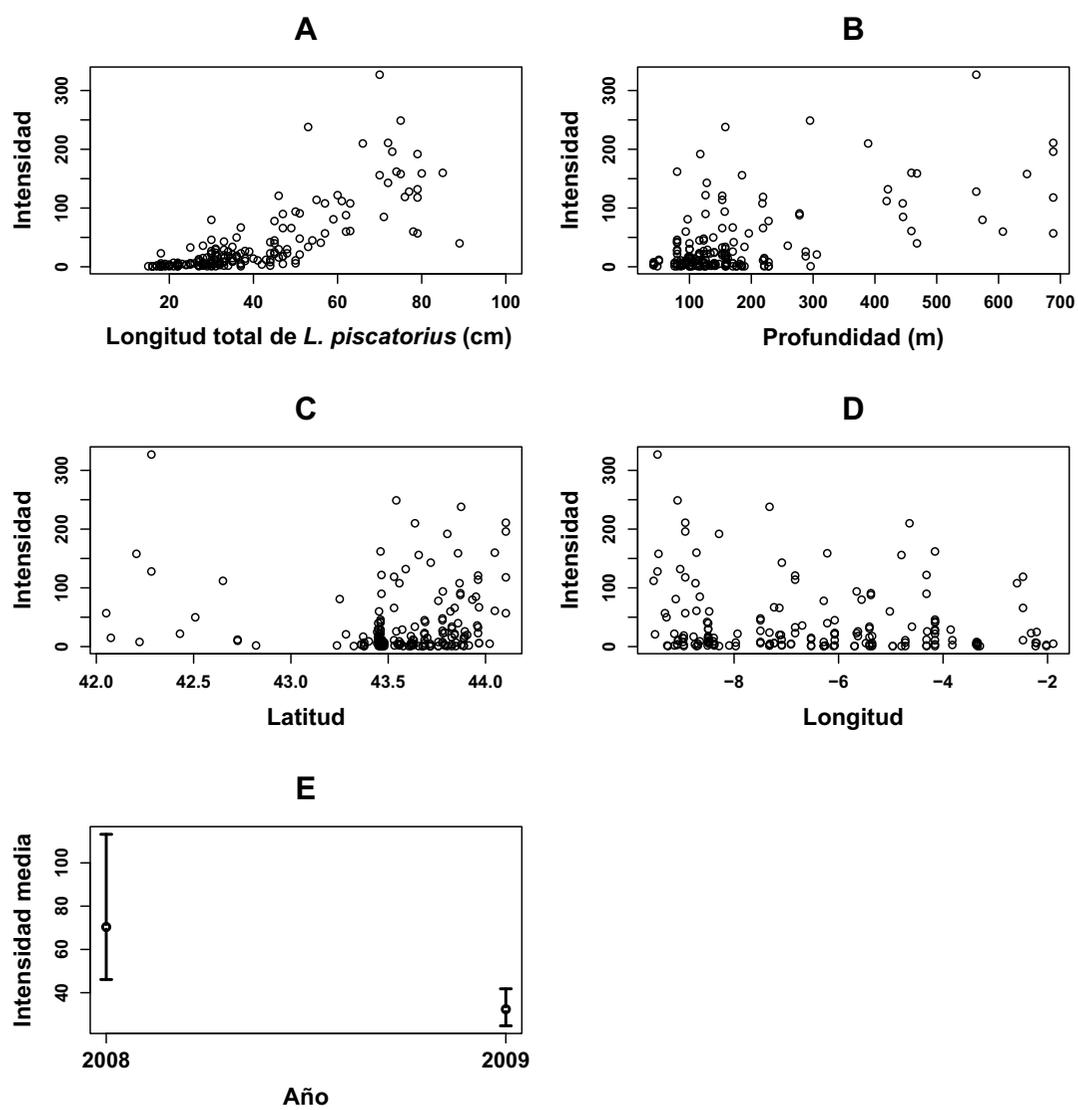


Figura 5.22: *Anisakis* Tipo I, exploratorio de la intensidad en el stock sur: gráficos según la longitud total de rape (A), profundidad (B), latitud (C), longitud (D) y año (E). En E las barras representan el intervalo de confianza del 95%.

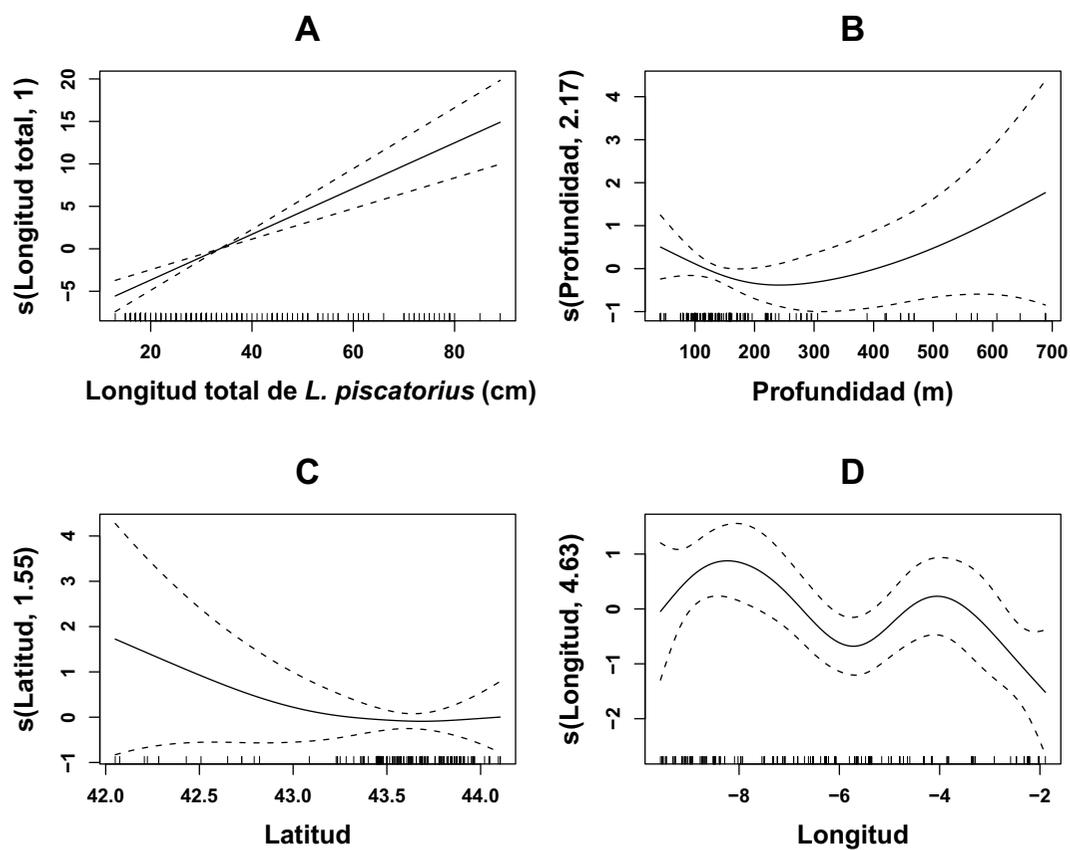


Figura 5.23: *Anisakis* Tipo I, modelado (GAM) de la prevalencia en el stock sur: efectos aditivos de la longitud total de rape (A), profundidad (B), latitud (C) y longitud (D). La línea sólida representa el efecto de la covariable y la línea discontinua representa el intervalo de confianza del 95 %. El eje-y está escalado a 0 y representa la importancia relativa de la covariable; las barras en el eje-x muestran el número de observaciones.

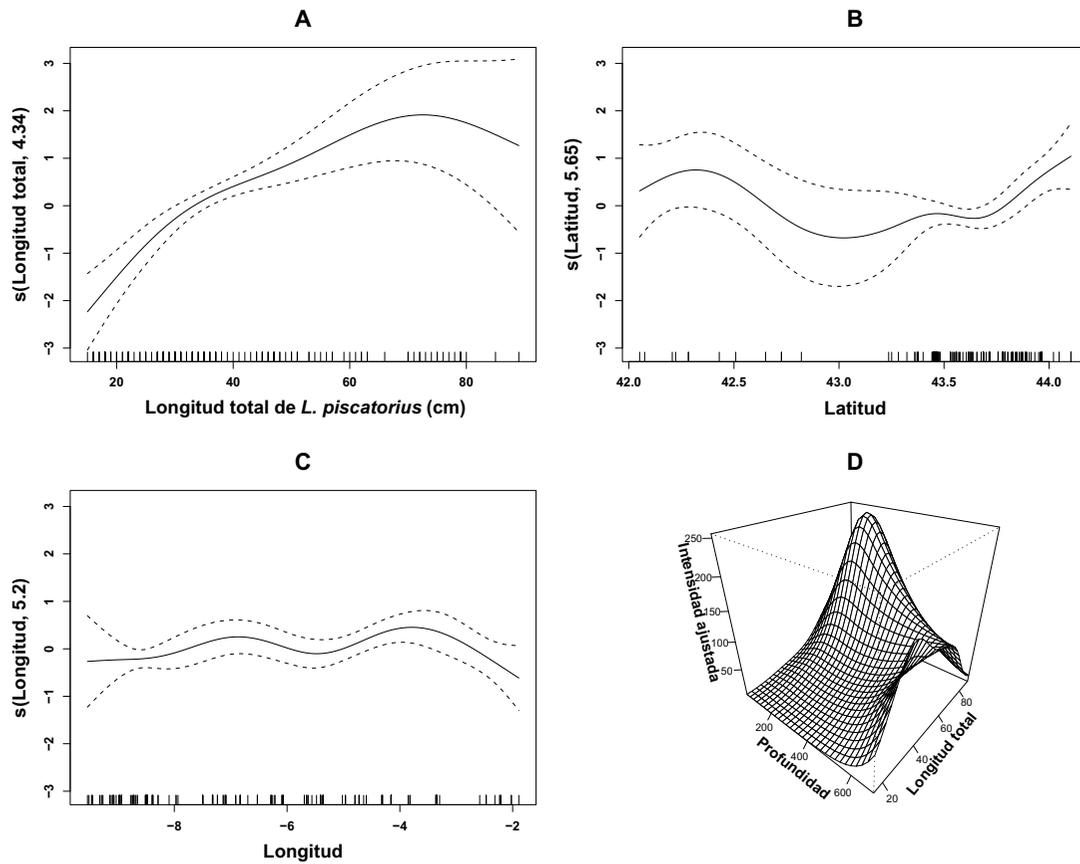


Figura 5.24: *Anisakis* Tipo I, modelado (GAM) de la intensidad en el stock sur: efectos aditivos de la longitud total de rape (A), latitud (B), longitud (C) e interacción Lt y H (D). La línea sólida representa el efecto de la covariable y la línea discontinua representa el intervalo de confianza del 95%. El eje-y está escalado a 0 y representa la importancia relativa de la covariable; las barras en el eje-x muestran el número de observaciones. La interacción de Lt y H (D) se muestra como gráfico en perspectiva sin límites de error.

Pseudoterranova decipiens (s.l.)

5.2.3. Resultados (continuación)

5.2.3.2. *Pseudoterranova decipiens* (s.l.)

La representación gráfica del efecto de las variables estudiadas (Lt, sexo, año, stock, dICES, H, lat y long) sobre la prevalencia y la intensidad de *P. decipiens* (s.l.) se muestra en las Figuras 5.25 y 5.26, respectivamente.

La prevalencia presentó una correlación positiva significativa con la longitud total del rape ($r_s = 0.736$, $p < 0.01$). En rapas menores que 46 cm no se encontró este parásito, y en los rapas mayores que este tamaño, la prevalencia presentó un incremento positivo con la talla.

No se observaron diferencias significativas de la prevalencia entre sexos ni años de muestreo (Tabla 5.8). Tampoco se observó en los gráficos una relación evidente de la profundidad y la latitud con la prevalencia (Figura 5.25), y el test de Spearman no fue significativo (profundidad: $r_s = 0.138$, $p > 0.05$; latitud: $r_s = -0.199$, $p > 0.05$).

Se obtuvo una relación significativa negativa entre la prevalencia y la longitud ($r_s = -0.414$, $p < 0.05$), aunque gráficamente no se pudo observar ningún patrón (Figura 5.25).

La prevalencia fue significativamente mayor en el stock norte, y en las divisiones ICES de este stock la presencia del parásito fue significativamente superior que en las del stock sur (Tablas 5.7 y 5.8, Figura 5.25). No se encontraron diferencias entre las divisiones del stock sur, y en el stock norte, la presencia del parásito en la VIIc fue significativamente menor que en la VIIb y VIIk (Tabla 5.8); *P. decipiens* (s.l.) se observó en el 44 % de los rapas procedentes de la división VIIc, y en el 82 % y 59 % de los rapas correspondientes a la VIIb y VIIk, respectivamente (Tabla 5.7, Figura 5.25). La mayor prevalencia observada en la división VIIb coincide con la correlación negativa entre prevalencia y longitud geográfica citada anteriormente, ya que la división VIIb es la más oriental de las divisiones ICES del stock norte estudiadas.

Ninguna de las variables estudiadas presentó un efecto significativo sobre el número de parásitos presentes en cada hospedador infectado (Tabla 5.8). En la representación gráfica, no se observó ninguna relación evidente entre la intensidad y el tamaño del hospedador, profundidad, latitud ni longitud (Figura 5.26), corroborando el test de Spearman esta observación, pues no fue significativo para ninguna de estas variables (Lt, $r_s = -0.078$, $p > 0.05$; H, $r_s = -0.056$, $p > 0.05$; lat, $r_s = -0.013$, $p > 0.05$ y long, $r_s = 0.041$, $p > 0.05$). Gráficamente (Figura 5.26) se puede observar que en el stock sur la intensidad es menor que en el norte, pero no se obtuvieron diferencias significativas

de la intensidad entre stocks ni divisiones ICES con las pruebas estadísticas (U de Mann-Whitney y Kruskal-Wallis).

Según estos resultados se concluye que las variables sexo, año, profundidad, latitud y longitud no tienen un efecto relevante sobre la prevalencia ni sobre la intensidad de *P. decipiens* (*s.l.*). Sin embargo, la presencia del parásito resultó altamente dependiente del área geográfica; en el stock norte, y divisiones ICES pertenecientes a éste, se observó una prevalencia media para todas las divisiones y años del 51 %, mientras que, en el stock sur, la prevalencia media fue del 4 % (Tabla 5.7), siendo el número de rapas infectadas en la división ICES IXaN y VIIIcO tan bajo (1 y 2, respectivamente), que no se pudieron incluir en el estudio de intensidad. Hay que destacar el incremento positivo de la prevalencia con el tamaño del rape, y sobre todo que el tamaño mínimo de infección fue 46 cm.

Tabla 5.7: *P. decipiens* (*s.l.*), valores de prevalencia (P) e intensidad media (IM) por stock, división ICES y año de muestreo. Entre paréntesis se muestra el intervalo de confianza del 95 %.

Área geográfica		Año		Total
		2008	2009	
Stock norte	P	51.6 (42.6-60.7)	50.8 (41.9-59.7)	50.8 (44.6-57.0)
	IM	3.2 (2.4-5.4)	4.0 (3.1-6.5)	3.6 (2.9-5.1)
VIIb	P	100.0	71.4 (34.1-94.7)	81.8 (50.0-96.7)
	IM	3.0	6.6 (2.6-10.6)	5.0 (2.9-8.3)
VIIc	P	49.4 (38.3-60.4)	38.5 (25.1-50.0)	43.9 (36.1-51.9)
	IM	3.5 (2.3-7.7)	3.27 (3.5-4.4)	3.4 (2.6-5.5)
VIIk	P	51.2 (35.9-66.0)	68.9 (53.4-81.5)	59.3 (48.3-69.3)
	IM	2.7 (1.9-3.9)	4.4 (2.7-10.0)	3.7 (2.7-6.9)
Stock sur	P	5.0 (0.9-17.1)	3.3 (1.6-6.8)	3.6 (1.8-6.7)
	IM	1.0	2.0 (1.3-3.3)	1.8 (1.2-2.9)
VIIIcE	P	-	3.4 (1.5-7.4)	3.4 (1.5-7.4)
	IM	-	2.0 (1.2-3.5)	2.0 (1.2-3.3)
VIIIcO	P	6.7 (1.2-21.3)	0.0	3.2 (0.6-11.1)
	IM	1.0	0.0	1.0
IXaN	P	0.0	25.0	7.1 (0.4-31.7)
	IM	0.0	2.0	2.0
Total	P	40.1 (32.7-47.8)	21.2 (17-25.9)	
	IM	3.1 (2.4-5.4)	3.8 (3-6.1)	

Tabla 5.8: *P. decipiens (s.l.)*, resultados de los test no paramétricos empleados para la comparación de la prevalencia e intensidad entre sexos, años, stocks y divisiones ICES (* = p-valor<0.05).

Variables	Prevalencia				Intensidad				
	n	Chi-cuadrado (X^2)		Fisher (F)	n	Kruskal-Wallis (H)		Mann-Whitney (U)	
		X^2	p-valor	p-valor		H	p-valor	U	p-valor
Sexo	246	0.350	0.554	0.599	129	-	-	178.000	0.552
Año	252	0.020	0.890	0.900	129	-	-	1751.500	0.123
Stock	502	142.590	0.000*	-	138	-	-	365.500	0.063
División ICES	-	-	-	-	135	3.903	0.272	-	-
VIIb-VIIc	166	5.950	0.015*	0.025*	-	-	-	-	-
VIIb-VIIk	97	1.910	0.168	0.203	-	-	-	-	-
VIIb-VIIIcE	185	85.280	0.000*	0.000*	-	-	-	-	-
VIIb-VIIIcO	73	45.090	0.000*	0.000*	-	-	-	-	-
VIIb-IXaN	25	14.310	0.000*	0.000*	-	-	-	-	-
VIIc-VIIk	241	6.090	0.014*	0.016*	-	-	-	-	-
VIIc-VIIIcE	329	76.830	0.000*	0.000*	-	-	-	-	-
VIIc-VIIIcO	217	33.480	0.000*	0.000*	-	-	-	-	-
VIIc-IXaN	169	7.170	0.007*	0.009*	-	-	-	-	-
VIIk-VIIIcE	260	107.960	0.000*	0.000*	-	-	-	-	-
VIIk-VIIIcO	148	50.940	0.000*	0.000*	-	-	-	-	-
VIIk-IXaN	100	13.740	0.000*	0.000*	-	-	-	-	-
VIIIcE-VIIIcO	236	0.010	0.934	1.000	-	-	-	-	-
VIIIcE-IXaN	188	0.490	0.482	0.424	-	-	-	-	-
VIIIcO-IXaN	76	0.460	0.497	0.462	-	-	-	-	-

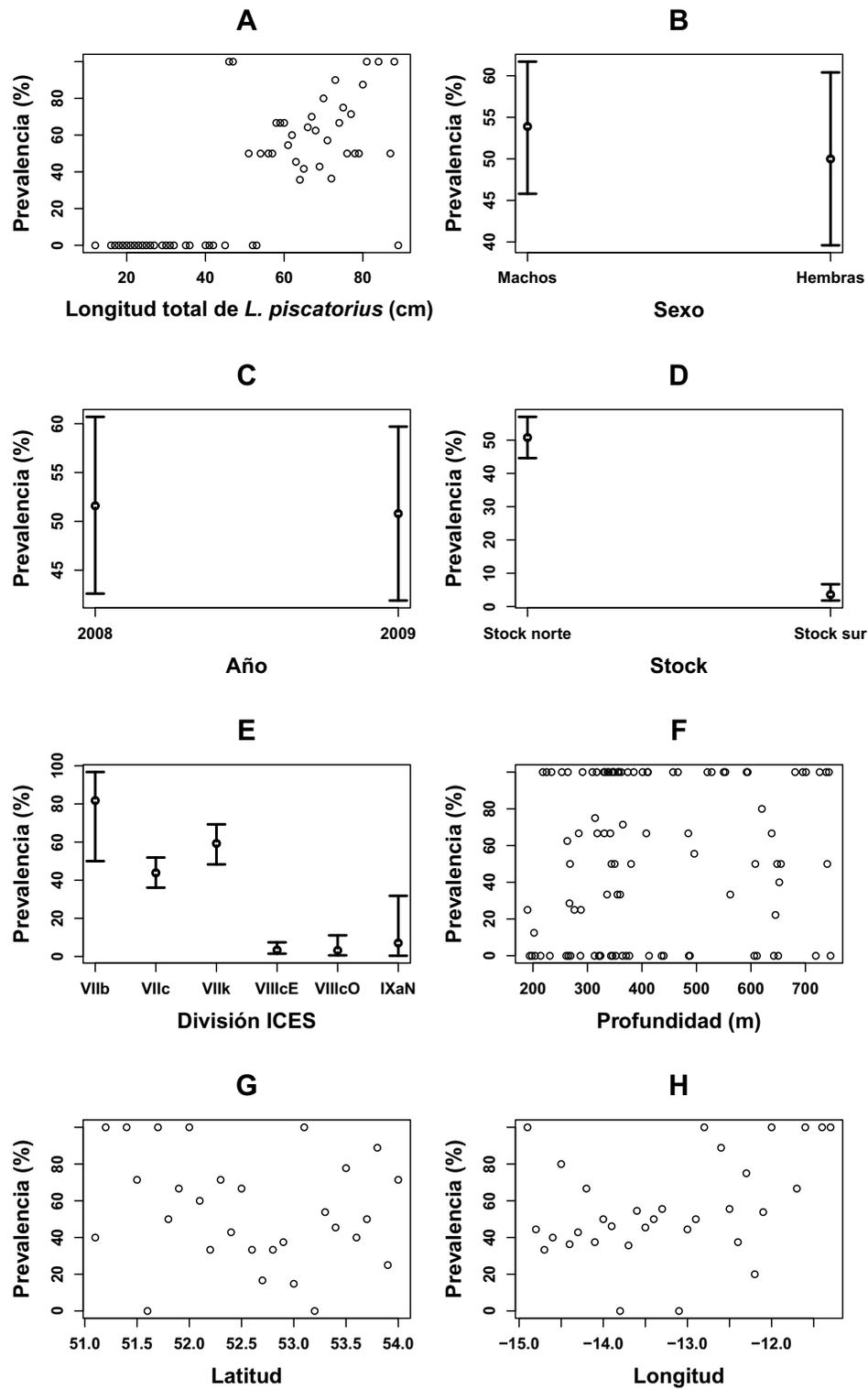


Figura 5.25: *P. decipiens* (*s.l.*), exploratorio de la prevalencia en función de la longitud total de rape (A), sexo (B), año (C), stock (D), división ICES (E), profundidad (F), latitud (G) y longitud (H). En B, C, D y E las barras representan el intervalo de confianza del 95 %.

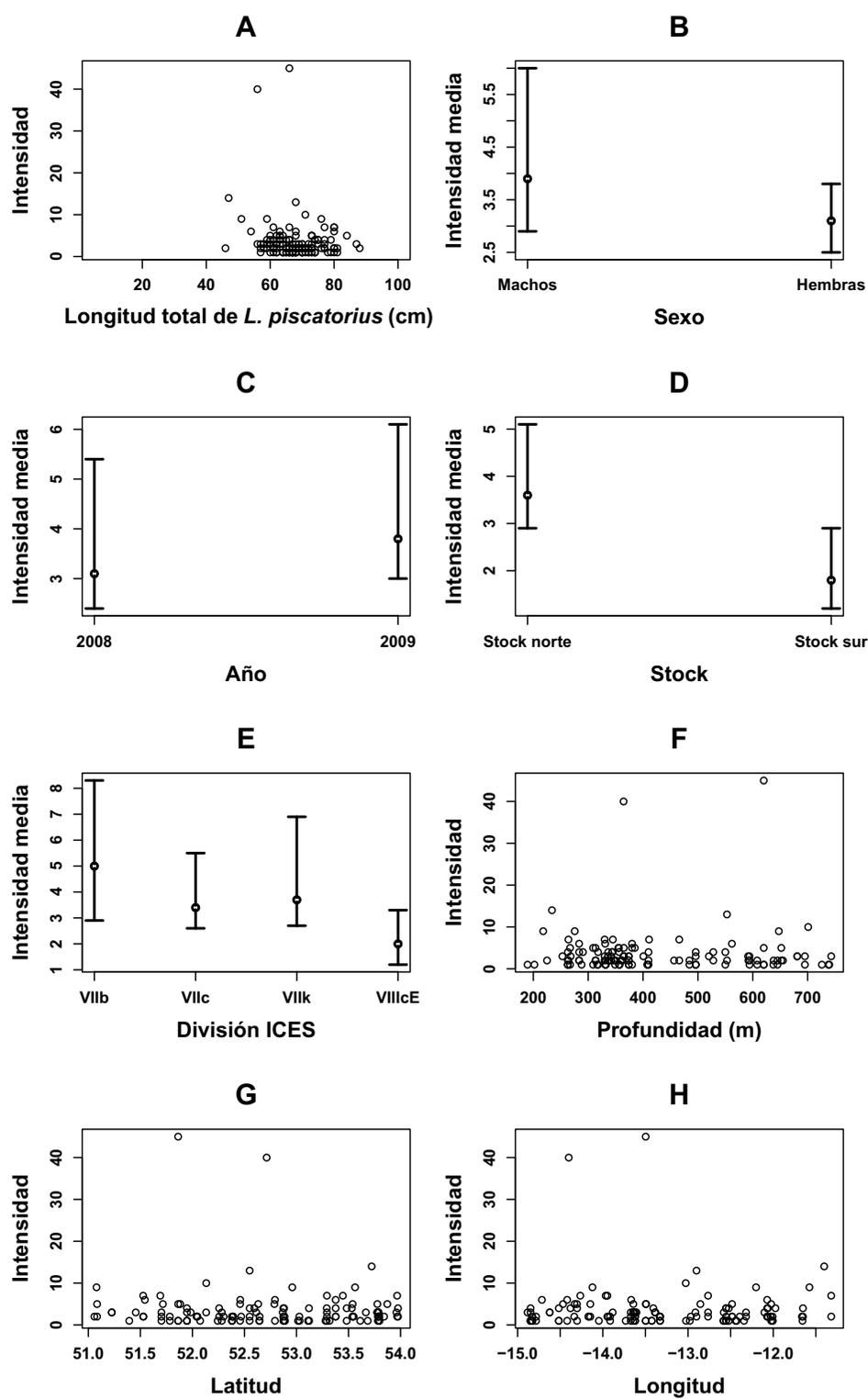


Figura 5.26: *P. decipiens* (s.l.), exploratorio de la intensidad en función la longitud total de rape (A), sexo (B), año (C), stock (D), división ICES (E), profundidad (F), latitud (G) y longitud (H). En B, C, D y E las barras representan el intervalo de confianza del 95%.

Hysterothylacium rigidum

5.2.3. Resultados (continuación)

5.2.3.3. *Hysterothylacium rigidum*

La representación gráfica del efecto de las variables estudiadas (Lt, sexo, año, stock, dICES, H, lat y long) sobre la prevalencia y la intensidad de *H. rigidum* se muestra en las Figuras 5.27 y 5.28.

La relación observada gráficamente entre la prevalencia y la longitud total del rape fue opuesta entre stocks; en el stock norte resultó positiva ($r_s = 0.302$, $p < 0.05$) y en el stock sur negativa ($r_s = -0.415$, $p < 0.05$), es decir, el número de parásitos aumenta con la talla del rape en el stock norte y disminuye en el stock sur (Figura 5.27).

No se observó ninguna relación evidente entre la profundidad, latitud y longitud y la prevalencia del parásito (Figura 5.27), y el test de Spearman no fue significativo, ni en el stock norte (H, $r_s = -0.097$, $p > 0.05$; lat, $r_s = 0.210$, $p > 0.05$; long, $r_s = -0.066$, $p > 0.05$), ni en el stock sur (H, $r_s = -0.084$, $p > 0.05$; lat, $r_s = 0.361$, $p > 0.05$; long, $r_s = -0.010$, $p > 0.05$).

No se encontraron diferencias significativas de la prevalencia de *H. rigidum* entre sexos ni años de muestreo, pero la prevalencia fue significativamente superior en el stock sur (Tabla 5.10, Figura 5.28). La mayor prevalencia se obtuvo en la división VIIIcO (Tabla 5.9). Por otra parte, se encontraron diferencias significativas entre algunas divisiones de uno y otro stock (VIIc-VIIIc(E y O) y VIIk-VIIIcO), Tabla 5.10).

Sólo el año de muestreo presentó un efecto significativo sobre la intensidad de *H. rigidum* (Tabla 5.10). Gráficamente, no se observó ninguna relación entre la intensidad y el tamaño del hospedador, profundidad, latitud ni longitud (Figura 5.27), corroborando el test de Spearman esta observación, pues no fue significativa para ninguna de estas variables, ni en el stock norte (Lt, $r_s = -0.052$, $p > 0.05$; H: $r_s = 0.006$, $p > 0.05$; lat, $r_s = -0.149$, $p > 0.05$ y long, $r_s = 0.194$, $p > 0.05$), ni en el stock sur (Lt, $r_s = -0.119$, $p > 0.05$; H, $r_s = -0.123$, $p > 0.05$; lat, $r_s = 0.272$, $p > 0.05$ y long, $r_s = 0.302$, $p > 0.05$).

Debido a un dato atípico de intensidad ($I = 25$) en una hembra de 73 cm, capturada en la división ICES VIIk (stock norte) en 2009, los valores afectados resultaron de intensidad media excesivamente elevada, y los intervalos de confianza más amplios de lo que correspondería si no se tuviera en cuenta ese dato (Tabla 5.9, Figura 5.28). A pesar de ello, no se encontraron diferencias significativas entre sexos, stocks ni divisiones ICES (Tabla 5.10).

La intensidad en 2009 fue significativamente superior a la encontrada en 2008, aunque teniendo en cuenta que en 2009 se localiza el dato atípico, el efecto del año sobre la intensidad de *H. rigidum* no resulta tan evidente.

En función de estos resultados se considera que la longitud total del hospedador, profundidad, latitud, longitud, sexo y año no influyen significativamente sobre la prevalencia e intensidad de *H. rigidum*. Sin embargo, la presencia del parásito depende del área geográfica, ya que se ha observado una prevalencia superior en el stock sur.

Tabla 5.9: *H. rigidum*, valores de prevalencia (P) e intensidad media (IM) por stock, división ICES y año de muestreo. Entre paréntesis se indica el intervalo de confianza del 95 %.

Área geográfica		Año		Total
		2008	2009	
<u>Stock norte</u>	P	10.7 (6.0-17.5)	3.1 (1.1-7.6)	6.7 (4.1-10.7)
	IM	1.3 (1.0-2.0)	7.0	2.7 (1.1-8.3)
VIIb	P	25.0	0.0	9.1 (0.5-40.4)
	IM	1.0	0.0	1.0
VIIc	P	10.4 (4.9-19.3)	2.6 (0.5-8.9)	6.5 (3.5-11.5)
	IM	1.3 (1.0-1.4)	1.0	1.1 (1.0-1.3)
VIIk	P	9.8 (3.4-22.9)	4.4 (0.8-15.2)	7.0 (3.1-14.4)
	IM	1.8	13.0	5.5 (1.0-14.0)
<u>Stock sur</u>	P	12.5 (5.1-26.1)	15.2 (10.9-20.9)	14.8 (10.7-19.8)
	IM	1.0	1.8 (1.5-2.1)	1.7 (1.4-1.9)
VIIIcE	P	-	13.2 (8.8-19.2)	13.2 (8.8-19.2)
	IM	-	1.7 (1.4-2.0)	1.7 (1.4-2.0)
VIIIcO	P	16.7 (6.8-34.8)	25.0 (12.2-42.3)	21.0 (12.3-33.0)
	IM	1.0	1.9 (1.0-2.6)	1.5 (1.0-2.2)
IXaN	P	0.0	25.0	7.1 (0.4-31.7)
	IM	0.0	1.0	1.0
Total	P	11.1 (7.0-16.9)	10.6 (7.6-14.4)	
	IM	1.2 (1.0-1.7)	2.3 (1.6-5.0)	

Tabla 5.10: *H. rigidum*, resultados de los test no paramétricos empleados para la comparación de la prevalencia e intensidad entre sexos, años, stocks y divisiones ICES (* = p-valor<0.05).

Variables	Prevalencia				Intensidad				
	Chi-cuadrado (X^2)			Fisher (F)	Kruskal-Wallis (H)			Mann-Whitney (U)	
	n	X^2	p-valor	p-valor	n	H	p-valor	U	p-valor
Sexo	487	1.780	0.183	0.190	53	-	-	294.500	0.703
Año	502	0.030	0.860	-	54	-	-	210.000	0.036*
Stock	502	8.480	0.004*	-	54	-	-	246.000	0.208
División ICES	-	-	-	-	52	5.989	0.112	-	-
VIIb-VIIc	166	0.120	0.734	0.541	-	-	-	-	-
VIIb-VIIk	97	0.070	0.799	0.582	-	-	-	-	-
VIIb-VIIIcE	185	0.160	0.693	1.000	-	-	-	-	-
VIIb-VIIIcO	73	0.850	0.357	0.679	-	-	-	-	-
VIIb-IXaN	25	0.030	0.859	1.000	-	-	-	-	-
VIIc-VIIk	241	0.020	0.875	1.000	-	-	-	-	-
VIIc-VIIIcE	329	4.160	0.041*	0.045*	-	-	-	-	-
VIIc-VIIIcO	217	9.850	0.002*	0.003*	-	-	-	-	-
VIIc-IXaN	169	0.010	0.920	1.000	-	-	-	-	-
VIIIk-VIIIcE	260	2.26	0.133	0.148	-	-	-	-	-
VIIIk-VIIIcO	148	6.300	0.012*	0.023*	-	-	-	-	-
VIIIk-IXaN	100	0.000	0.982	1.000	-	-	-	-	-
VIIIcE-VIIIcO	236	2.120	0.145	0.154	-	-	-	-	-
VIIIcE-IXaN	188	0.430	0.512	1.000	-	-	-	-	-
VIIIcO-IXaN	76	1.450	0.228	0.445	-	-	-	-	-

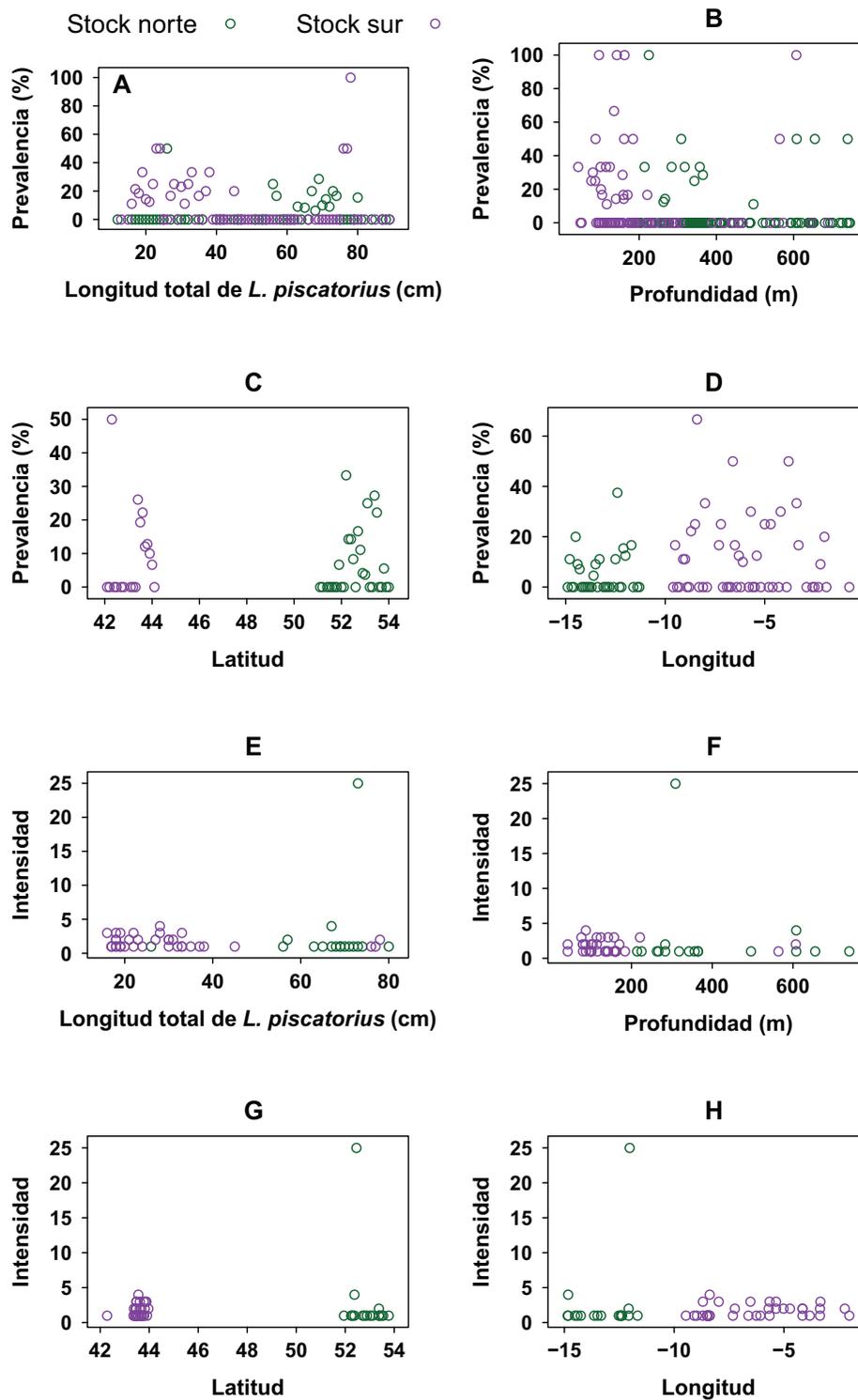


Figura 5.27: *H. rigidum*, exploratorio de la prevalencia e intensidad en función de las variables continuas, longitud total de rape (A y E), profundidad (B y F), latitud (C y G) y longitud (D y H).

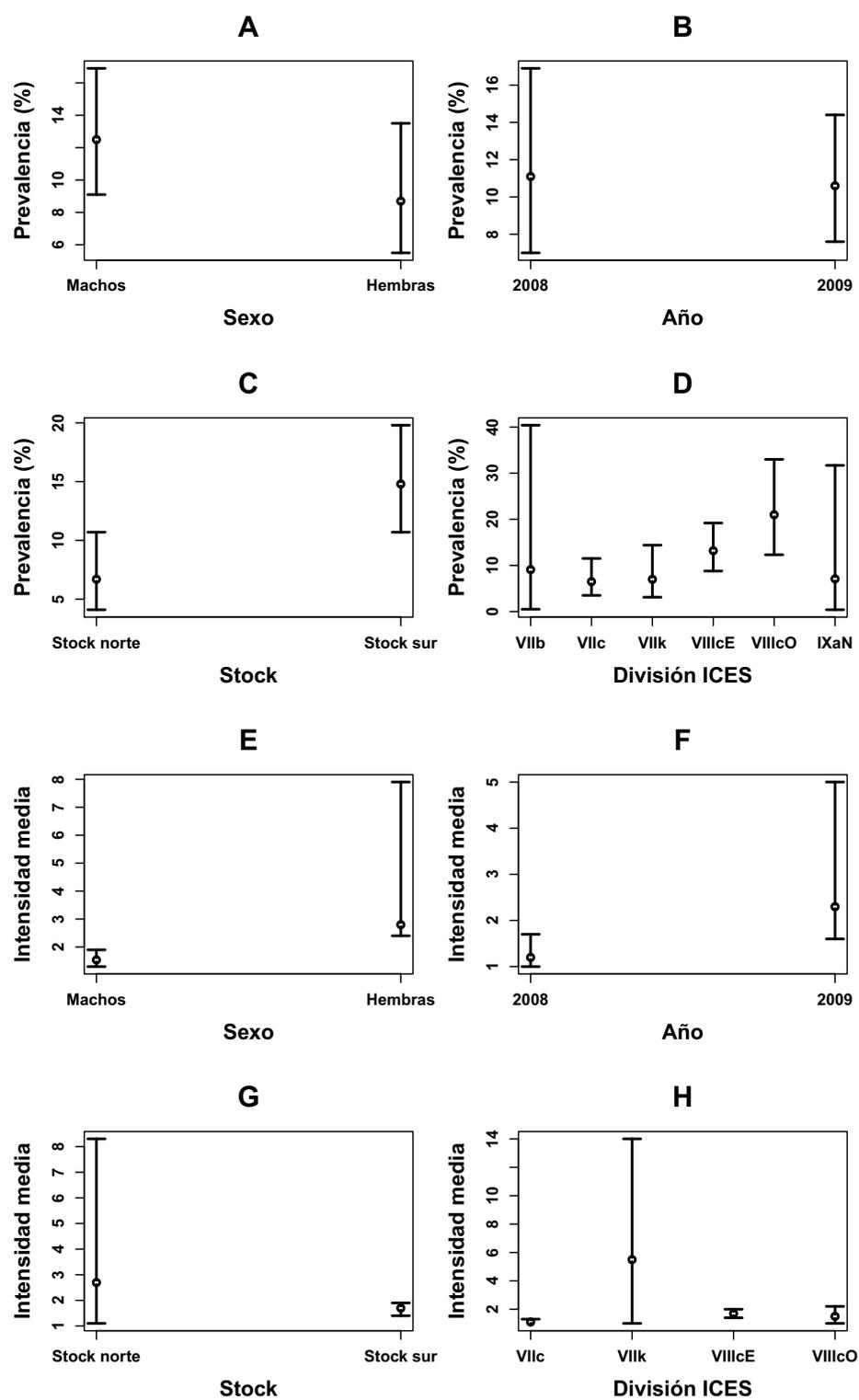


Figura 5.28: *H. rigidum*, exploratorio de la prevalencia e intensidad en función de las variables factoriales, sexo del hospedador (A y E), año (B y F), stock (C y G) y división ICES (D y H). Las barras representan el intervalo de confianza del 95%.

Chondracanthus lophii

5.2.3. Resultados (continuación)

5.2.3.4. *Chondracanthus lophii*

Influencia del área geográfica (stock y divisiones ICES) sobre la abundancia

1. Análisis exploratorio

En los rapés juveniles (<24 cm de Lt) la infestación con *C. lophii* fue extremadamente baja, tan sólo 2 individuos de 205 examinados, estaban parasitados (Figura 5.29). En los de mayor talla se observó un incremento de la abundancia del parásito, aunque en los rapés de mayor tamaño (>100 cm de Lt) la abundancia disminuyó ligeramente.

C. lophii apareció en toda el área de estudio, siendo los niveles de infestación (prevalencia, intensidad y abundancia media) superiores en el stock norte (Tabla 5.11). La representación gráfica de la abundancia media por división ICES indicó áreas claramente diferenciadas, las divisiones VIIb y VIIc, con valores de abundancia media superiores a 4 y las divisiones VIIj, VIIk, VIIIcE y VIIIcO, con valores iguales o inferiores a 1 (Figura 5.29).

En 2008, la abundancia media de *C. lophii* fue superior que en 2007 y 2009. Finalmente, se observó una gran variabilidad estacional de la abundancia media, dándose, en general, en la primavera, los menores valores (Figura 5.29).

Esta exploración sugiere que la longitud total de rape y el área geográfica son las variables que más influyen sobre la abundancia de *C. lophii*.

2. Modelado de la abundancia en función del stock

En el modelo logístico para la prevalencia, todas las variables presentaron un efecto significativo en mayor o menor grado, destacando sobre todo la estación y su interacción con la talla del rape (Tabla 5.12). El efecto del año fue menos evidente, y sólo se encontraron diferencias entre 2007 y 2008.

El modelo numérico para la intensidad indicó que la longitud total y el stock fueron las variables con una mayor influencia sobre la intensidad de *C. lophii* (Tabla 5.12). La intensidad fue significativamente diferente entre el invierno y la primavera, y la relación entre la intensidad del parásito y la talla del rape varía entre stocks, pues la interacción Lt*stock fue significativa.

En ambos stocks, y en cada estación (sobre todo en verano), se encontró una relación positiva entre la abundancia de *C. lophii* y la longitud total de rape (Figura 5.30). La abundancia del parásito fue mayor en el stock norte.

3. Modelado de la abundancia en función de la división ICES

En el modelo logístico para la prevalencia, la división ICES y el año fueron significativas, mientras que, no lo fueron la longitud total del rape y su interacción con la división ICES (Tabla 5.13). El efecto del tamaño del rape y de la división ICES pudo haber sido reducido por la presencia de su interacción en el modelo final.

El modelo ZAM numérico indicó que la longitud total y la división ICES fueron las variables con mayor influencia sobre la intensidad de *C. lophii*, mientras que la estación no fue significativa (Tabla 5.13).

En la mayoría de las divisiones ICES se encontró una relación positiva entre la abundancia de *C. lophii* y la talla de rape (Figura 5.31). La abundancia del parásito fue mayor en las divisiones ICES más septentrionales, VIIb y VIIc, en todo el rango de tallas examinado.

Haciendo una valoración conjunta de los resultados obtenidos en el análisis por stock y por división ICES, se concluye que las variables que presentaron un efecto más relevante sobre la abundancia de *C. lophii* fueron la longitud total de rape y el área geográfica, principalmente por división ICES. La abundancia más elevada se obtuvo en las divisiones VIIb y VIIc (9.7 y 5.5, respectivamente) (Tabla 5.11). Las variables temporales, año y estación, presentaron efectos cambiantes sobre la abundancia de *C. lophii* por stock y división ICES, lo cual sugiere que no existe un patrón de variabilidad anual ni estacional.

Variación espacial y batimétrica de la prevalencia e intensidad

Stock norte

1. Análisis exploratorio

La prevalencia de *C. lophii* aumentó con la talla de rape, midiendo el individuo más pequeño parasitado 29 cm (Figura 5.32). *C. lophii* apareció en rapés

capturados en todo el rango de profundidad muestreado y en todas las zonas muestreadas del stock norte, si bien su presencia disminuyó a partir de 450 m de profundidad, y aumentó con la latitud, principalmente entre 52° - 54°N. La relación con la longitud geográfica fue menos patente. Con respecto al año, se observó una prevalencia superior en 2008 (Figura 5.32).

Por otra parte, también se observó una clara relación de la intensidad con la longitud total de rape (Figura 5.33), encontrándose valores superiores a 20 tan sólo en rapas de más de 60 cm de Lt. La intensidad de *C. lophii* presentó una cierta tendencia de aumento con la latitud, y de disminución con la profundidad. Los niveles de infestación más altos se localizaron principalmente en latitudes mayores a 52°N y en profundidades menores de 450 m. El efecto de la longitud geográfica fue menos evidente, aunque rapas con más de 20 parásitos, sólo se encontraron en longitudes superiores a 13°O. No se observaron diferencias apreciables de la intensidad de *C. lophii* entre 2008 y 2009 (Figura 5.33).

Esta exploración sugiere que la longitud total del rape, la profundidad y la latitud son las covariables que presentan efectos más evidentes sobre la prevalencia e intensidad de *C. lophii*.

2. Modelado

Los modelos GAM determinaron el efecto de la longitud total del hospedador, profundidad, latitud, longitud y año sobre la prevalencia e intensidad de *C. lophii*, separadamente (Tabla 5.14). La *deviance* explicada fue 64 % y 24 %, en los modelos de prevalencia e intensidad, respectivamente. La longitud total del rape, la profundidad y la latitud fueron las covariables que presentaron efectos significativos sobre la prevalencia de *C. lophii*, mientras que la longitud total del rape resultó ser la más significativa sobre la intensidad del parásito (Tabla 5.14).

El modelado de la prevalencia indicó en peces jóvenes (Lt <50 cm), un incremento de la presencia del parásito con la talla, una disminución de la infestación con la profundidad, más apreciable entre 400 y 600 m, y efectos de la latitud y longitud menos patentes aunque ambos fueron significativos (Figura 5.34).

El modelado de la intensidad, mostró un incremento de ésta con la longitud total del rape. El efecto de las otras covariables no resultó tan claro, si bien la tendencia de la intensidad fue a disminuir con la profundidad y aumentar con

la latitud, el efecto de las variables en el modelo está próximo a cero (Figura 5.35).

Stock sur

1. Análisis exploratorio

La prevalencia de *C. lophii* aumentó con la longitud total de rape, siendo 18 cm la mínima talla de rape en la que el parásito fue encontrado (Figura 5.36). La presencia de este parásito en pequeños juveniles es muy baja; sólo fue encontrado en 14 rapas de 223 examinados con tallas menores de 30 cm. *C. lophii* se observó en todo el rango de profundidad estudiado y en todas las zonas muestreadas del stock sur, pero sobre todo a menos de 300 m de profundidad y entre 43 - 44.5°N de latitud. La relación con la longitud geográfica fue menos evidente. No se observaron diferencias entre años.

La intensidad de *C. lophii*, también se mostró aparentemente relacionada con la longitud total de rape (Figura 5.37). La intensidad parece aumentar con la profundidad, latitud y longitud (Figura 5.37). Los menores niveles de infestación se obtuvieron en rapas capturados a menos de 300 m de profundidad. En latitudes inferiores a 43°N tan sólo se encontró un rape parasitado y en el rango comprendido entre 43 - 44.5°N se aprecia un aumento de la intensidad con respecto a la latitud. El efecto de la longitud fue menos evidente, aunque los rapas más parasitados se capturaron en longitudes superiores a 6°O. No se observaron diferencias acusadas de la intensidad de *C. lophii* entre años (Figura 5.37).

Esta exploración sugiere que la longitud total del rape y la latitud presentan un mayor efecto, que el resto de variables estudiadas, sobre la prevalencia e intensidad de *C. lophii*.

2. Modelado

La *deviance* explicada por los modelos GAM para la prevalencia e intensidad fue 43% y 63%, respectivamente. La longitud total del rape fue la variable que presentó un efecto más significativo sobre la prevalencia e intensidad de *C. lophii*. El efecto del resto de variables estudiadas fue diverso; la longitud y

la profundidad fueron significativas para la prevalencia y la latitud sólo tuvo incidencia sobre la intensidad (Tabla 5.14).

El modelado de la prevalencia indicó a) un incremento de la presencia del parásito en rapas menores de 30 cm, y en latitudes entre 43 - 44°N, b) un descenso entre 100 y 200 m de profundidad, manteniéndose después relativamente estable y c) fluctuaciones sin tendencia clara con la longitud (aunque ésta resultó con un efecto estadístico significativo) (Figura 5.38).

El modelado de la intensidad mostró un aumento de ésta con la longitud total del rape y la latitud (Figura 5.39). El resto de variables, excepto el año, fueron eliminadas del modelo.

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos en ambos stocks, la variable más significativa sobre la prevalencia e intensidad de *C. lophii* fue la longitud total de rape; los rapas menores que 30 cm presentaron una prevalencia muy baja (4% y 6% para el stock norte y sur, respectivamente) y la intensidad aumentó con la talla del rape. La latitud y la profundidad también presentaron efectos; se observó un gradiente latitudinal de aumento de la abundancia del copépodo y, en general, éste fue más abundante en aguas poco profundas (entre 100 y 450 m). No se observó ninguna tendencia en la variabilidad de los niveles de infestación de *C. lophii* según la longitud y año.

Tabla 5.11: *C. lophii*, valores de prevalencia (P), intensidad media (IM) y abundancia media (AbM) por stock, división ICES y año de muestreo. Se indica entre paréntesis el intervalo de confianza del 95 %.

Área geográfica		Año			Total
		2007	2008	2009	
Stock norte	P	21.1 (16.8-26.1)	40.9 (34.6-47.4)	36.4 (31.0-42.1)	32.0 (28.9-35.3)
	IM	7.7 (6.1-10.2)	8.1 (6.9-9.6)	7.0 (5.9-8.6)	7.6 (6.8-8.6)
	AbM	1.6 (1.2-2.3)	3.3 (2.6-4.2)	2.6 (2.0-3.2)	2.4 (2.1-2.8)
VIIb	P	94.3 (80.5-100.0)	100.0	87.5 (50.0-99.4)	93.6 (82.3-98.2)
	IM	10.8 (8.1-15.0)	11.3	8.1 (4.6-14.0)	10.4 (8.2-13.7)
	AbM	10.2 (7.4-14.1)	11.3	7.1 (3.8-12.8)	9.7 (7.6-12.9)
VIIc	P	-	77.8 (67.4-86.0)	60.9 (50.0-70.8)	69 (61.6-75.6)
	IM	-	7.8 (6.5-9.3)	8.1 (6.3-10.5)	7.9 (6.8-9.2)
	AbM	-	6.1 (4.8-7.4)	4.9 (3.7-6.7)	5.5 (4.5-6.5)
VIIj	P	16.5 (10.2-25.2)	19.7 (11.2-31.8)	11.1 (3.1-29.2)	16.8 (11.8-22.9)
	IM	4.0 (2.7-5.8)	6.0 (3.7-10.8)	5.7	4.9 (3.6-7.1)
	AbM	0.7 (0.4-1.1)	1.2 (0.6-2.5)	0.6	0.8 (0.5-1.3)
VIIIk	P	6.9 (3.6-12.2)	17.9 (10.8-27.9)	25.0 (18.8-32.3)	16.5 (13.1-20.4)
	IM	3.8 (2.2-6.4)	10.2 (6.2-18.2)	5.6 (4.2-8.4)	6.3 (4.9-8.6)
	AbM	0.3(0.1-0.6)	1.8 (0.9-3.8)	1.4 (1.0-2.2)	1.0 (0.7-1.5)
VIIIa	P	33.3 (12.3-63.0)	-	-	33.3 (12.3-63.0)
	IM	8.3	-	-	8.3
	AbM	2.8	-	-	2.8
Stock sur	P	11.8 (7.5-18.0)	23.4 (15.5-35.2)	13.0 (9.3-17.7)	14.0 (11.2-17.4)
	IM	3.4 (2.3-5.3)	4.4 (3.0-5.9)	2.9 (2.2-4.2)	3.4 (2.8-4.2)
	AbM	0.4 (0.2-0.7)	1.0 (0.6-1.7)	0.4 (0.2-0.6)	0.5 (0.4-0.6)
VIIIcE	P	20.5 (9.3-36.5)	29.2 (13.9-50.0)	12.5 (8.6-17.6)	15.0 (11.3-19.7)
	IM	2.8 (1.8-3.4)	4.6 (2.6-6.7)	2.5 (1.9-3.3)	2.9 (2.3-3.6)
	AbM	0.6 (0.2-1.0)	1.3 (0.5-2.6)	0.3 (0.2-0.5)	0.4 (0.3-0.6)
VIIIcO	P	9.1 (4.9-16.2)	23.3 (11.2-41.6)	18.2 (8.2-34.7)	13.3 (8.9-19.3)
	IM	3.9 (2.1-7.1)	4.7 (2.7-6.7)	5.0 (1.8-9.5)	4.4 (3.0-6.2)
	AbM	0.4 (0.1-0.8)	1.1 (0.4-2.2)	0.9 (0.2-2.5)	0.6 (0.1-1.0)
IXaN	P	0	10.0 (0.5-44.6)	0	10.0 (0.5-44.6)
	IM	-	1.0	-	
	AbM	-	0.1	-	
Total	P	18.0 (14.7-21.8)	37.1 (31.6-42.8)	25.2 (21.7-29.0)	
	IM	6.8 (5.4-8.9)	7.6 (6.5-9.0)	6.0 (5.1-7.3)	
	AbM	1.2 (0.9-1.7)	2.8 (2.3-3.5)	1.5 (1.2-2.0)	

Tabla 5.12: *C. lophii*, resultados del ZAM final para la prevalencia (modelo logístico) e intensidad (modelo numérico), en función del stock: valor estimado del coeficiente (Coeficiente), error estandar (ES), estadístico z (de la Prueba de Wald) (z) y nivel de significación observado (p-valor) de las variables (“-” = variables excluidas del análisis, * = p-valor<0.05).

Variables	Prevalencia				Intensidad			
	Coeficiente	ES	z	p-valor	Coeficiente	ES	z	p-valor
Intersección	0.483	0.690	0.700	0.484	1.054	0.326	3.238	0.001*
Longitud total (Lt)	-0.023	0.010	-2.165	0.030*	0.016	0.005	3.314	9.21e-04*
Stock								
Norte	Referencia							
Sur	-0.604	0.209	-2.896	0.004*	-2.016	0.572	-3.522	4.29e-04*
Año								
2007	Referencia							
2008	0.543	0.214	2.541	0.011*	-	-	-	-
2009	0.286	0.210	1.365	0.172	-	-	-	-
Estación								
Invierno	Referencia							
Primavera	-4.697	1.119	-4.198	2.69e-05*	-1.220	0.249	-4.905	9.33e-07*
Verano	-2.569	0.755	-3.403	6.66e-04*	-0.181	0.162	-1.121	0.262
Otoño	-2.074	0.857	-2.420	0.016*	-0.024	0.281	-0.085	0.933
Lt*stock								
Lt*norte	Referencia							
Lt*sur	-	-	-	-	0.024	0.010	2.403	0.016*
Lt*estación								
Lt*invierno	Referencia							
Lt*primavera	0.056	0.016	3.486	4.90e-04*	-	-	-	-
Lt*verano	0.043	0.012	3.781	1.56e-04*	-	-	-	-
Lt*otoño	0.025	0.014	1.837	0.066	-	-	-	-
Log (Theta)	-	-	-	-	0.238	0.152	1.570	0.116

Tabla 5.13: *C. lophii*, resultados del ZAM final para la prevalencia (modelo logístico) e intensidad (modelo numérico), en función de la división ICES: valor estimado del coeficiente (Coeficiente), error estandar (ES), estadístico z (de la Prueba de Wald) (z) y nivel de significación observado (p-valor) de las variables (“-” = variables excluidas del análisis, * = p-valor<0.05).

Variables	Prevalencia				Intensidad			
	Coeficiente	ES	z	p-valor	Coeficiente	ES	z	p-valor
Intersección	4.024	3.146	1.279	0.201	0.660	0.314	2.104	0.035*
Longitud total (Lt)	-0.023	0.049	-0.478	0.633	0.025	0.005	5.486	4.11e-08*
División ICES								
VIIb	Referencia							
VIIc	-7.837	3.243	-2.416	0.016*	-0.779	0.275	-2.827	0.005*
VIIj	0.010	0.051	0.194	0.847	-0.795	0.279	-2.850	0.004*
VIIk	-8.275	3.228	-2.564	0.010*	-1.086	0.284	-3.821	1.330e-04*
VIIIcE	-6.091	3.170	-1.921	0.055	-1.465	0.330	-4.442	8.93e-06*
VIIIcO	-8.538	3.206	-2.663	0.008*	-1.449	0.347	-4.172	3.02e-05*
Año								
2007	Referencia							
2008	0.542	0.234	2.319	0.020*	-	-	-	-
2009	0.449	0.220	2.041	0.041*	-	-	-	-
Estación								
Invierno	Referencia							
Primavera	-	-	-	-	-0.499	0.313	-1.597	0.110
Verano	-	-	-	-	0.406	0.262	1.553	0.120
Otoño	-	-	-	-	0.549	0.329	1.668	0.095
Lt*división ICES								
Lt*VIIb	Referencia							
Lt*VIIc	0.095	0.051	1.874	0.061	-	-	-	-
Lt*VIIj	0.010	0.051	0.194	0.847	-	-	-	-
Lt*VIIk	0.055	0.050	1.106	0.269	-	-	-	-
Lt*VIIIcE	0.022	0.049	0.438	0.661	-	-	-	-
Lt*VIIIcO	0.086	0.051	1.709	0.087	-	-	-	-
Log (Theta)	-	-	-	-	0.314	0.151	2.083	0.037*

Tabla 5.14: *C. lophii*, resultados de los GAM finales para la prevalencia e intensidad en los stocks norte y sur: nivel de significación observado (p-valor) de las variables en los modelos (gle = grados de libertad estimados, X^2 = valores del test Chi-cuadrado, “-” = variables excluidas del análisis, * = p-valor<0.05).

Variables	Prevalencia			Intensidad		
	gle	X^2	p-valor	gle	X^2	p-valor
Stock norte						
Longitud total	5.32	24.60	0.0002*	5.57	27.26	<0.0001*
Profundidad	4.98	23.92	0.0002*	1.00	2.88	0.0895
Latitud	5.30	17.35	0.0049*	1.00	4.15	0.0416*
Longitud	8.69	15.11	0.0773	3.05	10.19	0.0178*
Stock sur						
Longitud total	5.06	25.41	0.0001*	1.46	14.09	0.0004*
Profundidad	4.24	11.30	0.0277*	-	-	-
Latitud	3.96	8.55	0.0718	1.00	12.28	0.0005*
Longitud	7.81	19.84	0.0098*	-	-	-
Año	-	-	-	2.00	4.97	0.0835

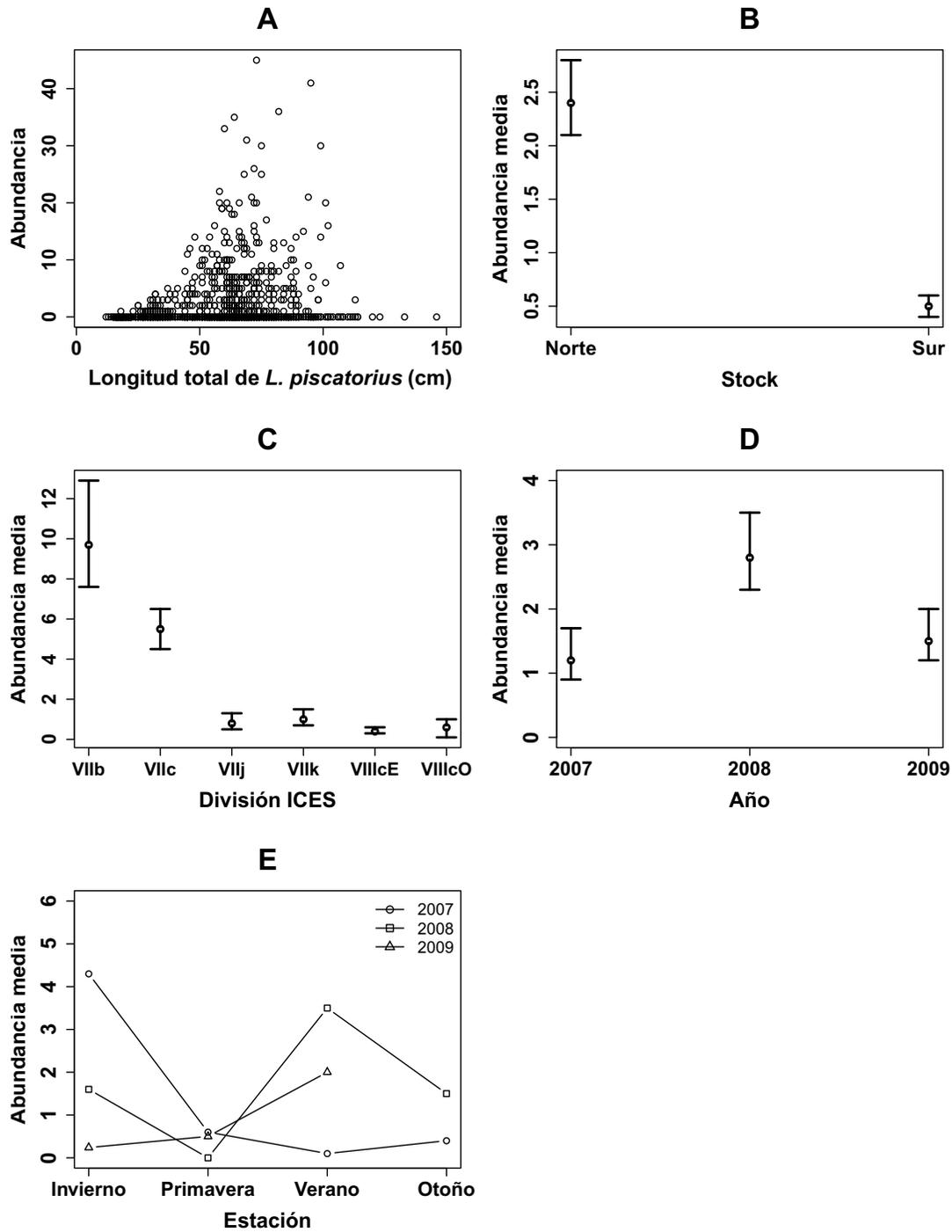


Figura 5.29: *C. lophii*, exploratorio de la abundancia, en función del área geográfica: abundancia según la longitud total del rape (A), stock (B), división ICES (C), año (D) y estación (E). En B, C y D las barras representan el intervalo de confianza del 95 %.

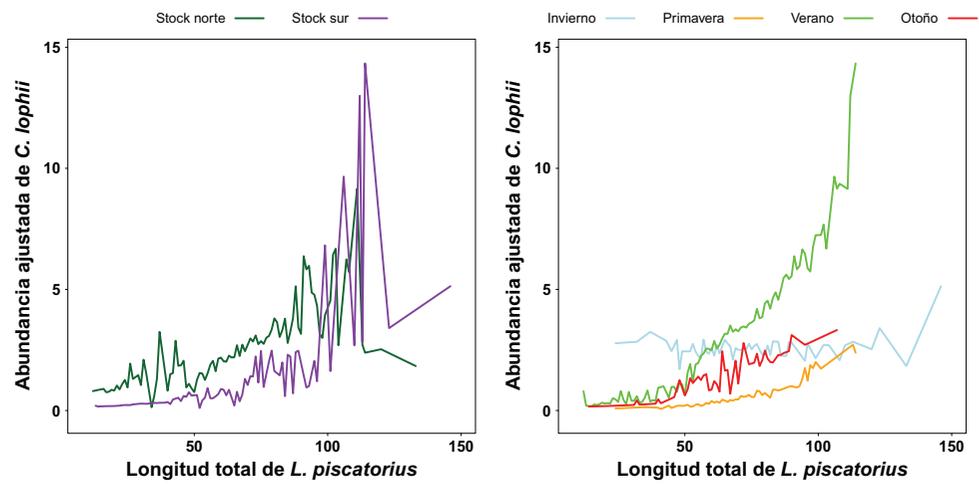


Figura 5.30: *C. lophii*, modelado de la abundancia para los stocks (izquierda) y estaciones (derecha): curvas ajustadas según el modelo ZANB seleccionado para la abundancia en función de la longitud total de rape.

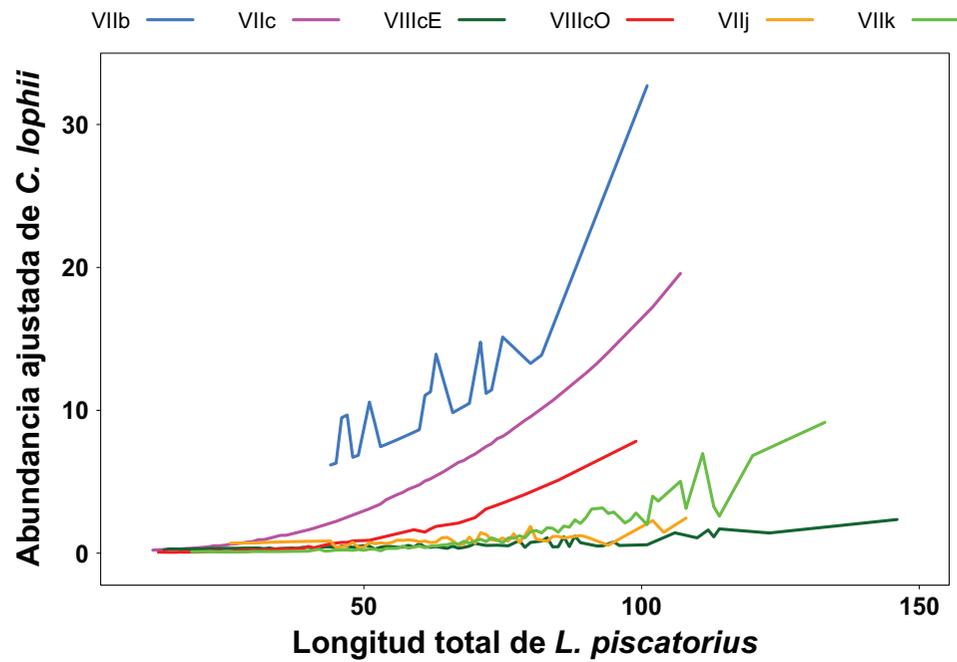


Figura 5.31: *C. lophii*, modelado de la abundancia para las divisiones ICES: curvas ajustadas según el modelo ZANB seleccionado para la abundancia en función de la longitud total de rape.

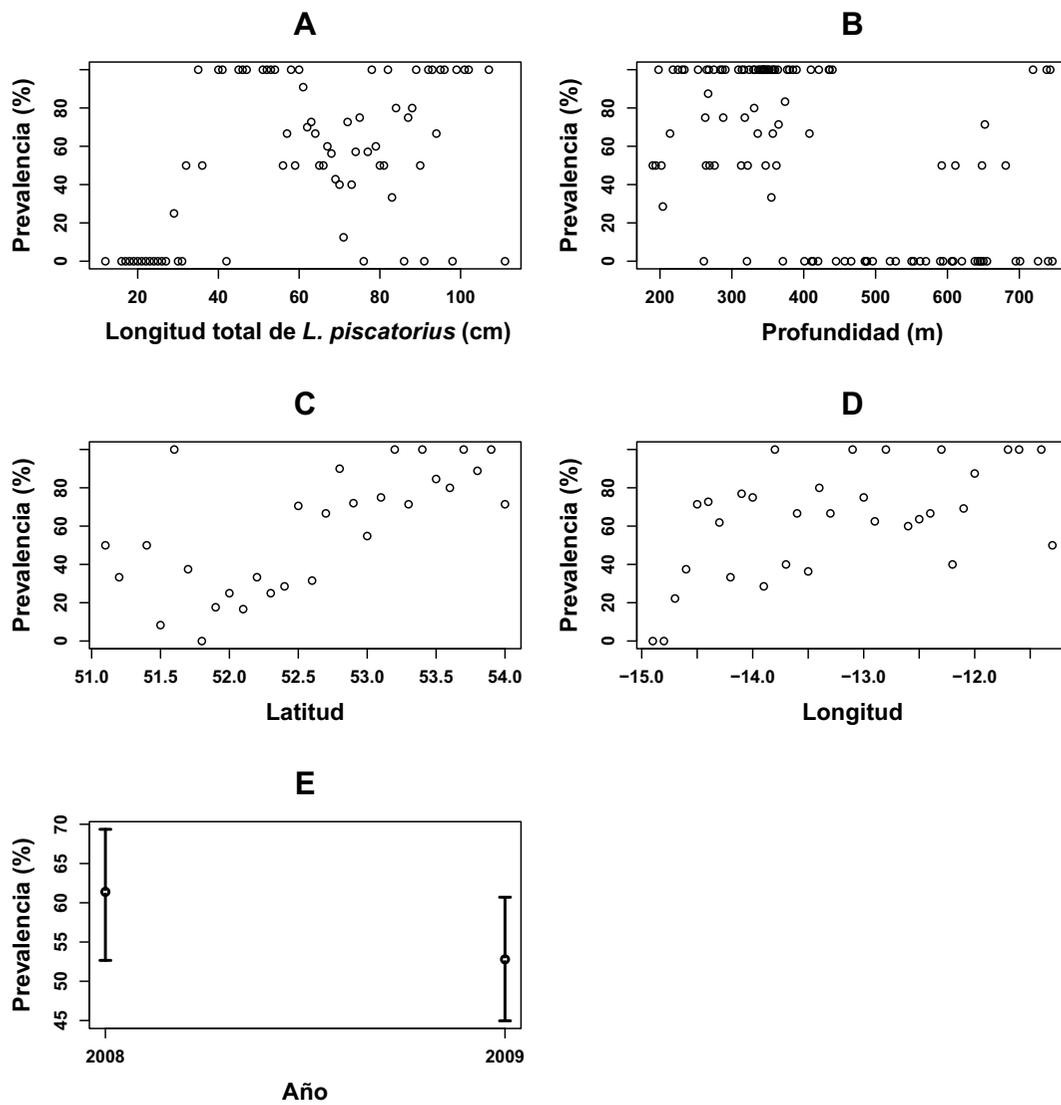


Figura 5.32: *C. lophii*, exploratorio de la prevalencia en el stock norte: gráficos en función de la longitud total de rape (A), profundidad (B), latitud (C), longitud (D) y año (E). En E las barras representan el intervalo de confianza del 95 %.

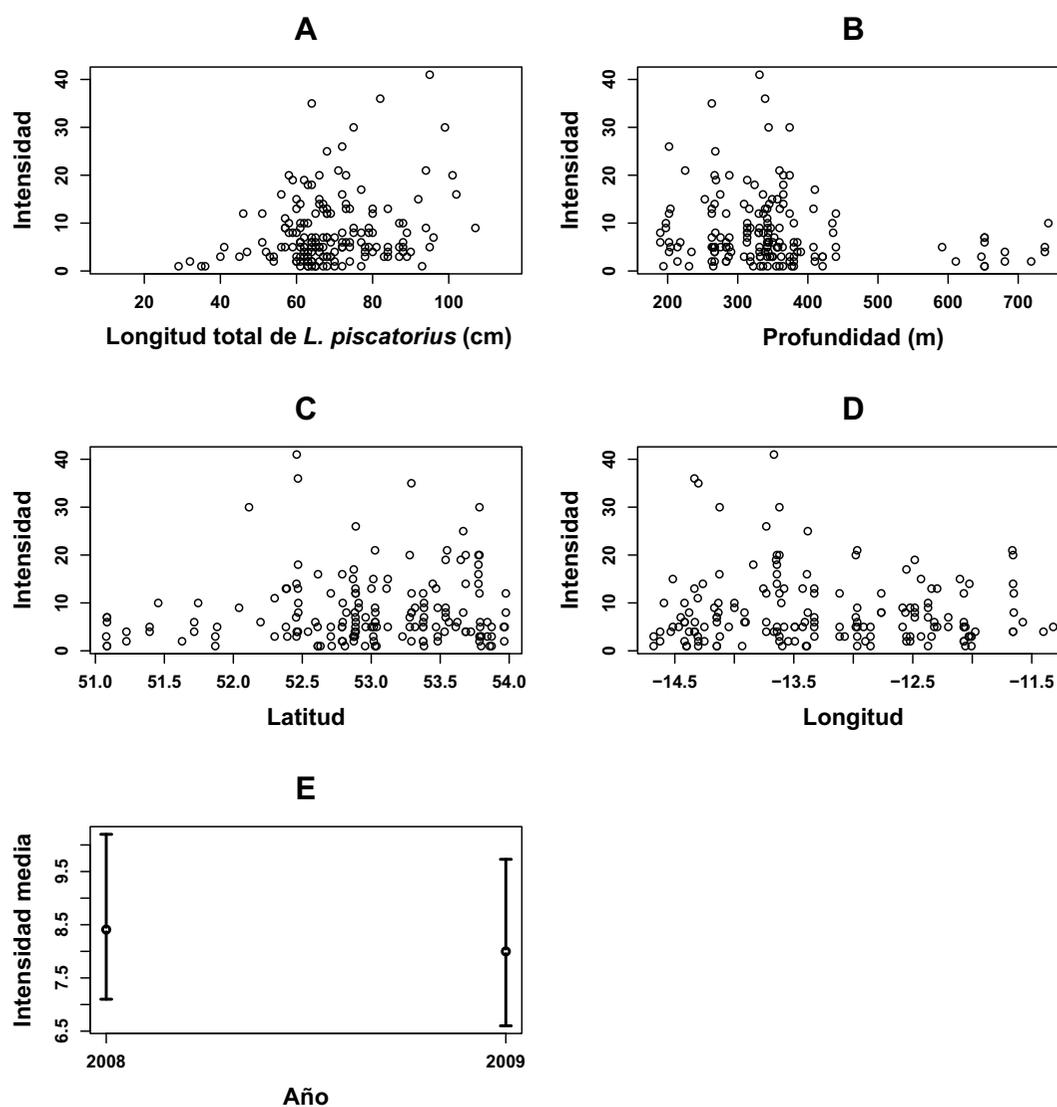


Figura 5.33: *C. lophii*, exploratorio de la intensidad en el stock norte: gráficos en función de la longitud total de rape (A), profundidad (B), latitud (C), longitud (D) y año (E). En E las barras representan el intervalo de confianza del 95%.

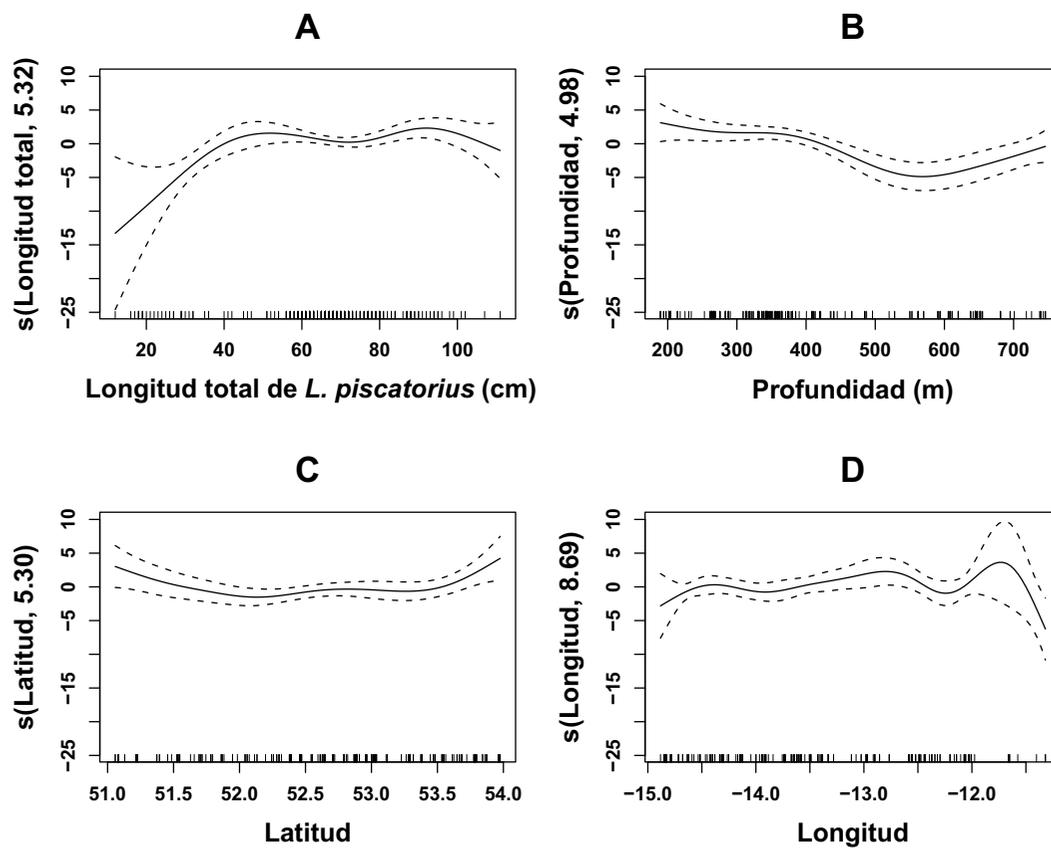


Figura 5.34: *C. lophii*, modelado (GAM) de la prevalencia en el stock norte: efectos aditivos de la longitud total de rape (A), profundidad (B), latitud (C) y longitud (D). La línea sólida representa el efecto de la covariable y las líneas discontinuas representan el intervalo de confianza del 95%. El eje-y está escalado a 0 y representa la importancia relativa de la covariable; las barras en el eje-x muestran el número de observaciones.

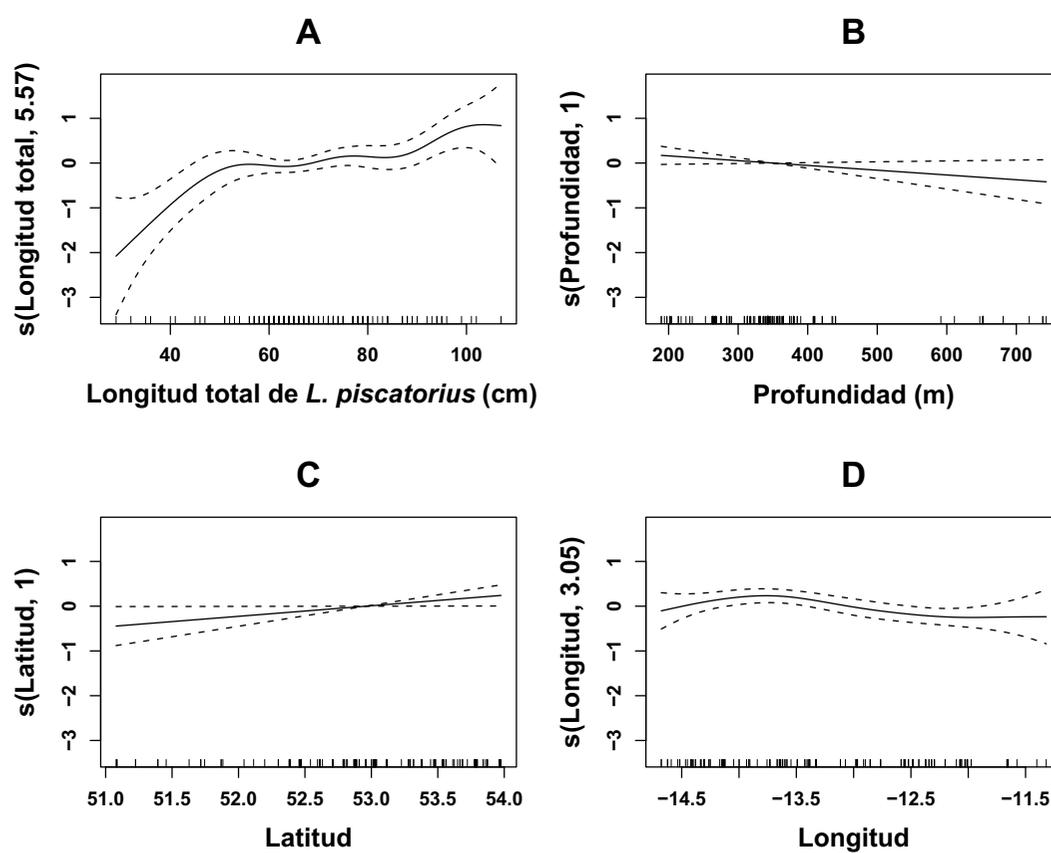


Figura 5.35: *C. lophii*, modelado (GAM) de la intensidad en el stock norte: efectos aditivos de la longitud total de rape (A), profundidad (B), latitud (C) y longitud (D). La línea sólida representa el efecto de la covariable y las líneas discontinuas representan el intervalo de confianza del 95%. El eje-y está escalado a 0 y representa la importancia relativa de la covariable; las barras en el eje-x muestran el número de observaciones.

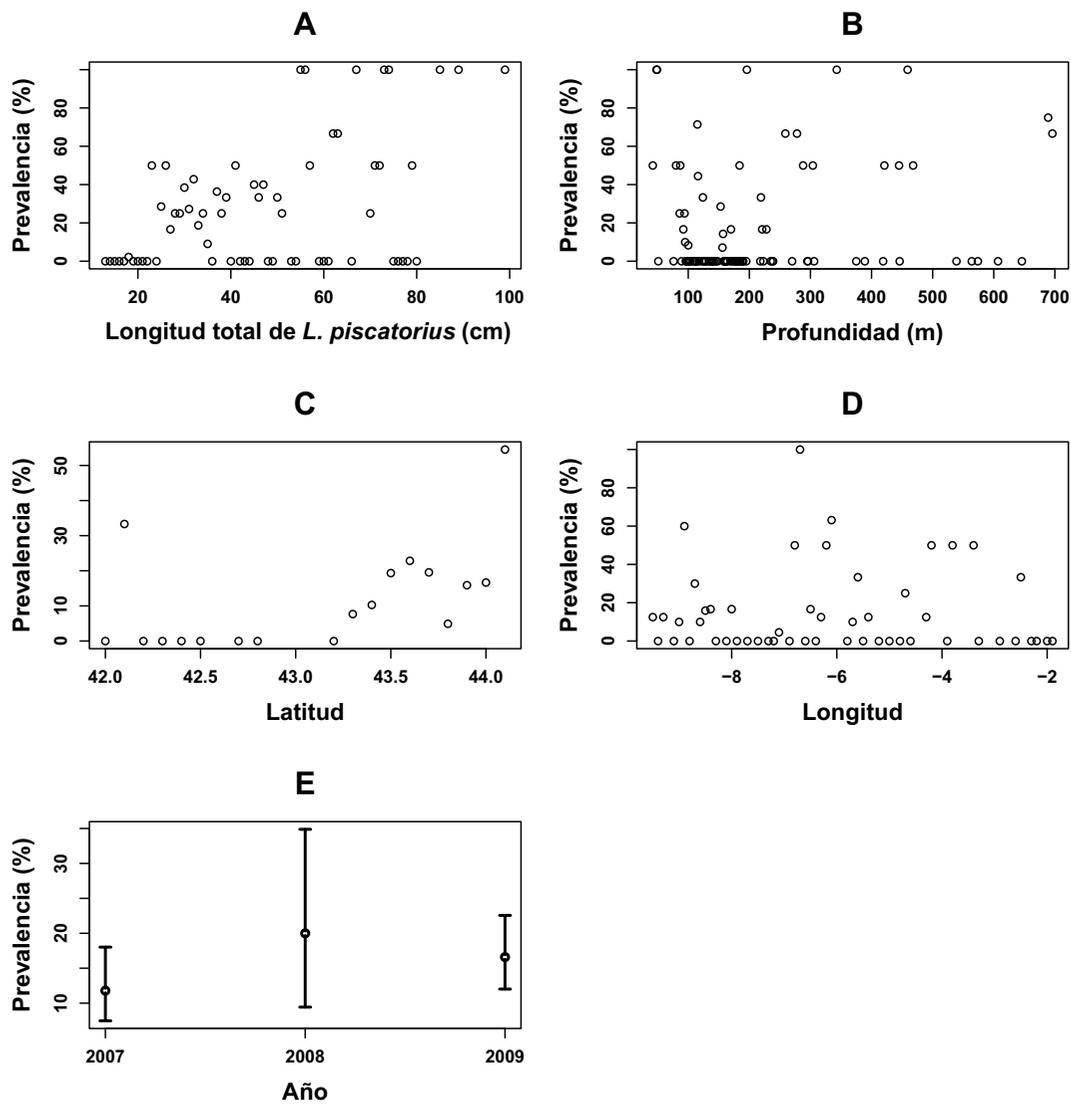


Figura 5.36: *C. lophi*, exploratorio de la prevalencia en el stock sur: gráficos en función de la longitud total de rape (A), profundidad (B), latitud (C), longitud (D) y año (E). En E las barras representan el intervalo de confianza del 95 %.

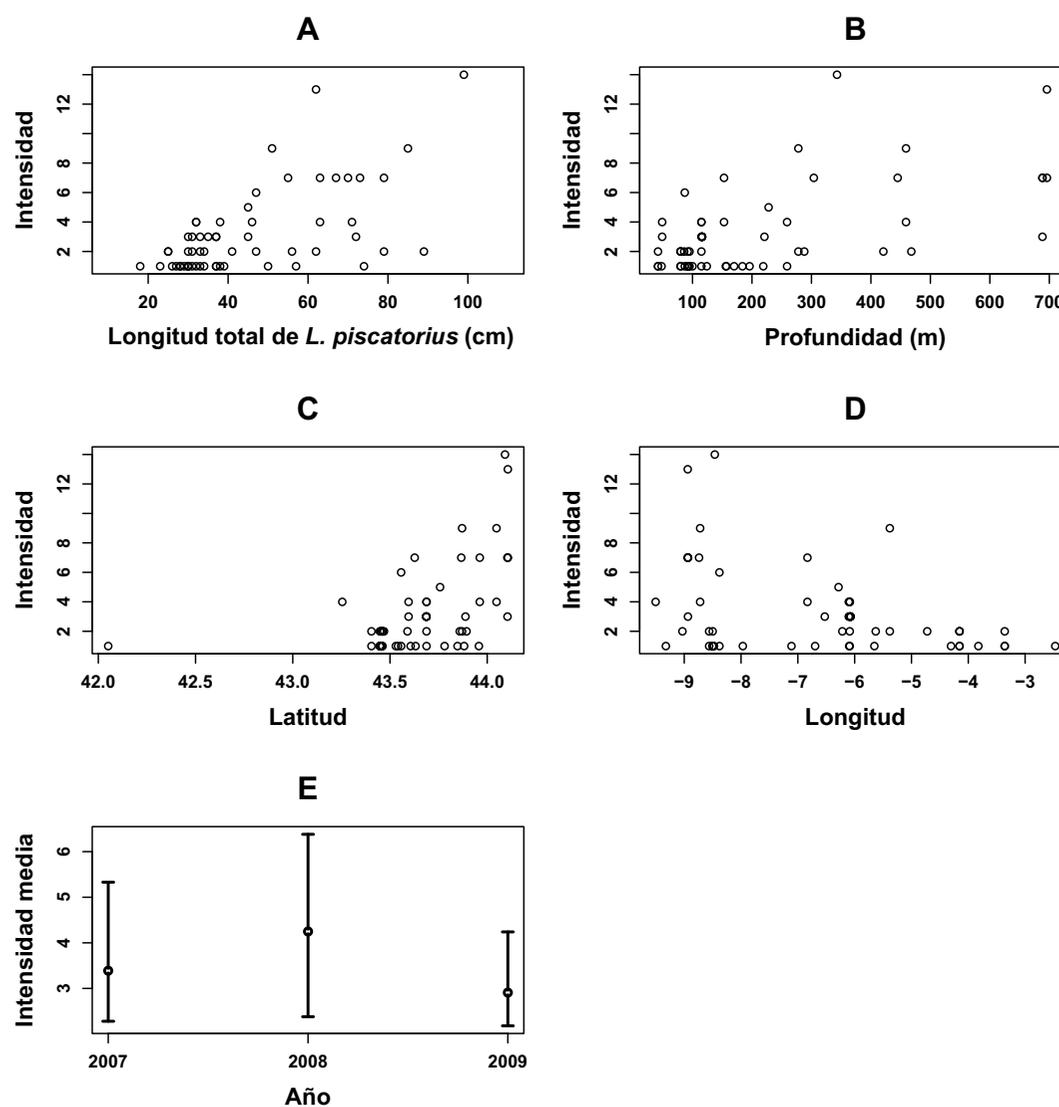


Figura 5.37: *C. lophii*, exploratorio de la intensidad en el stock sur: gráficos en función de la longitud total de rape (A), profundidad (B), latitud (C), longitud (D) y año (E). En E las barras representan el intervalo de confianza del 95 %.

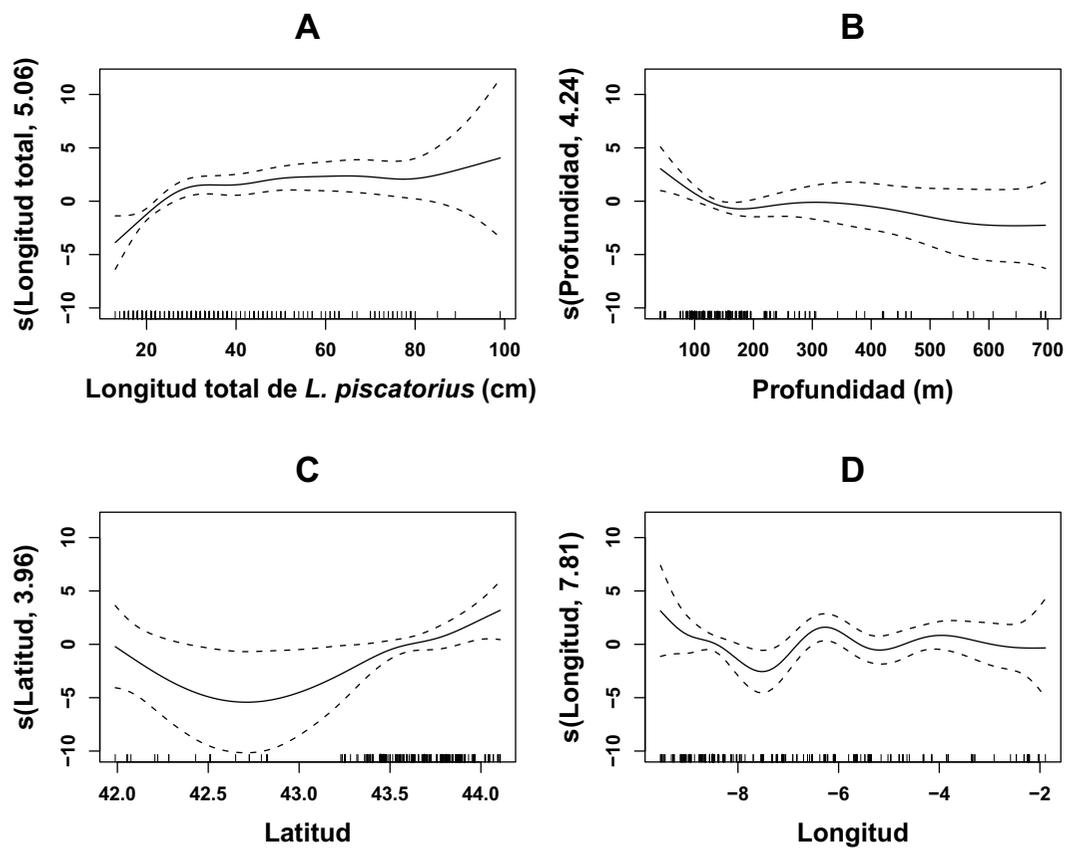


Figura 5.38: *C. lophii*, modelado (GAM) de la prevalencia en el stock sur: efectos aditivos de la longitud total de rape (A), profundidad (B), latitud (C) y longitud (D). La línea sólida representa el efecto de la covariable y las líneas discontinuas representan el intervalo de confianza del 95%. El eje-y está escalado a 0 y representa la importancia relativa de la covariable; las barras en el eje-x muestran el número de observaciones.

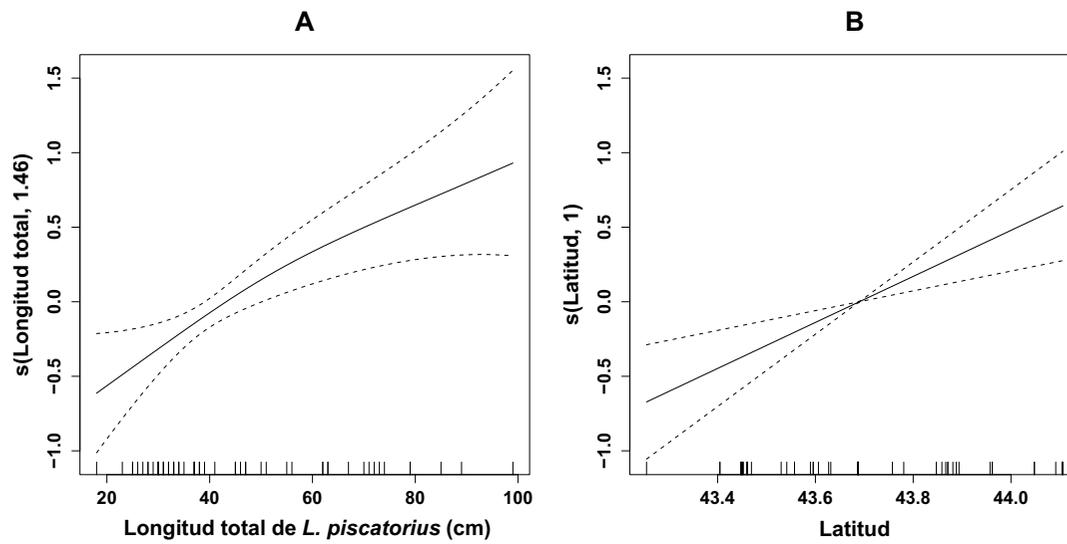


Figura 5.39: *C. lophii*, modelado (GAM) de la intensidad en el stock sur: efectos aditivos de la longitud total de rape (A) y latitud (B). La línea sólida representa el efecto de la covariable y las líneas discontinuas representan el intervalo de confianza del 95%. El eje-y está escalado a 0 y representa la importancia relativa de la covariable; las barras en el eje-x muestran el número de observaciones.

Spraguea lophii

5.2.3. Resultados (continuación)

5.2.3.5. *Spraguea lophii*

Influencia del área geográfica (stock y división ICES) sobre la prevalencia

1. Análisis exploratorio

Se observó un ligero aumento de la prevalencia con la talla del rape (Figura 5.40). *S. lophii* apareció en toda el área de estudio, aunque la prevalencia encontrada en el stock norte fue superior que en el stock sur (Tabla 5.15). La prevalencia fue mayor en la división ICES VIIb y menor en la VIIIcO. En las otras divisiones ICES la presencia de este parásito fue muy similar. No se observaron diferencias relevantes en las variables temporales; la variación estacional e interanual fue reducida (Figura 5.40).

2. Modelado de la prevalencia en función del área geográfica (stock y división ICES)

La *deviance* explicada por los GLM de prevalencia fue muy baja; menos de un 10%, tanto en función del stock (6%) como de la división ICES (9%). Esto indica que las variables estudiadas no presentan efectos apreciables sobre la presencia de este parásito. De ellas, la más significativa y la que mayor porcentaje de *deviance* explicó fue la longitud total del rape (Tabla 5.16).

Los valores ajustados de prevalencia para stocks y divisiones ICES con respecto a la longitud total del rape indicaron un aumento de la presencia de *S. lophii*, tanto en los stocks como en las divisiones ICES, excepto en la VIIb (Figura 5.41). Sin embargo, el ajuste del modelo no resultó suficiente para considerar que la talla del rape tiene un efecto determinante sobre la presencia del parásito.

Variación espacial y batimétrica de la prevalencia

Stock norte

1. Análisis exploratorio

La prevalencia de *S. lophii* aumentó con la longitud total de rape. El individuo más pequeño encontrado con infección por este parásito tenía 32 cm de talla (Figura 5.42). No se apreciaron relaciones entre la prevalencia y la profundidad, latitud ni longitud, como tampoco se manifestaron diferencias entre años (2008 y 2009).

Esta exploración sugiere que la talla del rape es la variable que más afecta a la prevalencia de *S. lophii*.

2. Modelado

La *deviance* explicada por el modelo GLM fue baja, tan sólo un 18% de la variabilidad total de la prevalencia. La variable más significativa y la que mayor porcentaje de *deviance* explicó fue la longitud total del rape (Tabla 5.17).

En la Figura 5.43 se muestran las relaciones entre la prevalencia de *S. lophii*, ajustada por el GLM, y las variables continuas (talla, profundidad, latitud y longitud). Se observó un aumento de la presencia de *S. lophii* con la talla de rape. Por el contrario, no se detectaron relaciones entre la prevalencia y la profundidad, latitud ni longitud. La varianza explicada por el modelo no resultó suficiente para considerar un efecto realmente significativo de la talla sobre la presencia del parásito, pero indica que el tamaño del hospedador tiene un cierto efecto sobre la presencia del parásito.

Stock sur

1. Análisis exploratorio

La prevalencia de *S. lophii* aumentó con la longitud total de rape. La talla más pequeña de rape infectado fue 15 cm (Figura 5.44). No se observó relación entre la prevalencia y la profundidad, latitud ni longitud. En el 2007 la prevalencia fue ligeramente inferior, pero las diferencias entre años son reducidas, pues se solapan los intervalos de confianza.

Esta exploración sugiere que la talla del rape es la variable que más afecta a la prevalencia de *S. lophii*.

2. Modelado

La *deviance* explicada por el modelo GLM fue de 26 %, mayor que en el stock norte. La variable que mayor porcentaje de *deviance* explicó fue la longitud total de rape (Tabla 5.17).

Se observó un aumento de la presencia de *S. lophii* con la talla de rape. No se detectaron relaciones claras entre la prevalencia, ajustada por GLM, y la profundidad, latitud ni longitud (Figura 5.45).

El ajuste de los GLM desarrollados en los 2 stocks, al igual que los realizados en el análisis en función del área geográfica (stock y división ICES) no resulta concluyente, pero indica que tan sólo la longitud total del rape tiene un cierto efecto sobre la prevalencia de *S. lophii*.

Tabla 5.15: *S. lophii*, valores de prevalencia por stock, división ICES y año de muestreo. Entre paréntesis se indica el intervalo de confianza del 95 %.

Área geográfica	Año			Total
	2007	2008	2009	
Stock norte	70.6 (65.2-75.6)	68.8 (62.6-74.5)	59.6 (53.8-65.3)	66.3 (63.0-69.5)
VIIb	82.9 (67.3-92.3)	100.0	100.0	87.2 (74.7-94.3)
VIIc	-	65.4 (54.3-75.4)	51.2 (40.7-61.7)	58.1 (50.3-65.6)
VIIj	62.9 (52.6-72.3)	77.0 (64.8-86.3)	48.1 (29.3-66.9)	65.4 (58.1-71.9)
VIIk	75.5 (68.0-81.8)	64.7 (53.9-74.2)	64.0 (56.4-71.1)	68.6 (63.9-73.1)
VIIIa	33.3 (12.3-63.0)	-	-	33.3 (12.3-63.0)
Stock sur	46.3 (40.7-52.0)	62.9 (54.2-70.9)	55.9 (50.2-61.5)	53.2 (49.5-56.7)
VIIIcE	54.6 (47.4-61.6)	65.2 (54.9-74.6)	56.0 (50.0-62.0)	57.1 (52.9-61.1)
VIIIcO	30.0 (22.0-39.5)	53.3 (34.8-70.2)	54.5 (37.8-71.5)	38.7 (31.7-46.23)
IXaN	100.0	70.0 (38.1-91.3)	60.0 (18.9-92.4)	72.2 (47.2-88.4)
Total	58.4 (54.4-62.2)	66.7 (61.6-71.4)	57.7 (53.7-61.7)	

Tabla 5.16: *S. lophii*, resultados de los GLM finales para la prevalencia, en función del área geográfica: valores de porcentaje de *deviance* explicada (% dev) y nivel de significación observado (p-valor) de las variables (gl = grados de libertad, Dev.res. = *deviance* residual, Dev. = cambio de *deviance*, * = p-valor<0.05).

Variables	Prevalencia				
	gl	Dev.res.	Dev.	% dev	p-valor
Análisis stocks					
Nulo		2060.60			
Longitud total (Lt)	1	1972.10	88.12	4.27	<0.0001*
Stock	1	1968.50	4.05	0.20	0.0441*
Estación	3	1966.80	1.61	0.08	0.6573
Lt*stock	1	1952.50	14.37	0.70	0.0002*
Lt*estación	3	1932.10	20.35	0.99	0.0001*
Análisis división ICES					
Nulo		2060.60			
Longitud total (Lt)	1	1972.50	88.12	4.28	<0.0001*
División ICES	5	1949.10	23.46	1.14	0.0003*
Año	2	1946.20	2.87	0.14	0.2386
Lt*división ICES	5	1891.70	54.54	2.65	<0.0001*
Lt*año	2	1884.5	7.14	0.35	0.0282*

Tabla 5.17: *S. lophii*, resultados de los GLM finales para la prevalencia en los stocks norte y sur: valores de porcentaje de *deviance* explicada (% dev) y nivel de significación observado (p-valor) de las variables (gl = grados de libertad, Dev.res. = *deviance* residual, Dev. = cambio de *deviance*, * = p-valor<0.05).

Variables	Prevalencia				
	gl	Dev.res.	Dev.	% dev.	p-valor
Stock norte					
Nulo		381.87			
Longitud total (Lt)	1	343.07	38.80	10.16	<0.0001*
Profundidad	1	343.06	0.01	0.00	0.9108
Latitud	1	331.04	12.02	3.15	0.0005*
Longitud	1	321.71	9.33	2.44	0.0023*
Lt*profundidad	1	317.22	4.49	1.18	0.0341*
Lt*latitud	1	315.20	2.02	0.53	0.1555
Lt*longitud	1	312.54	2.66	0.70	0.1027
Stock sur					
Nulo		537.10			
Longitud total (Lt)	1	450.91	86.20	16.05	<0.0001*
Profundidad	1	410.48	40.43	7.53	<0.0001*
Año	2	407.14	3.36	0.62	0.1888
Lt*profundidad	1	402.30	4.84	0.90	0.0278*
Lt*año	2	398.14	4.16	0.76	0.1247

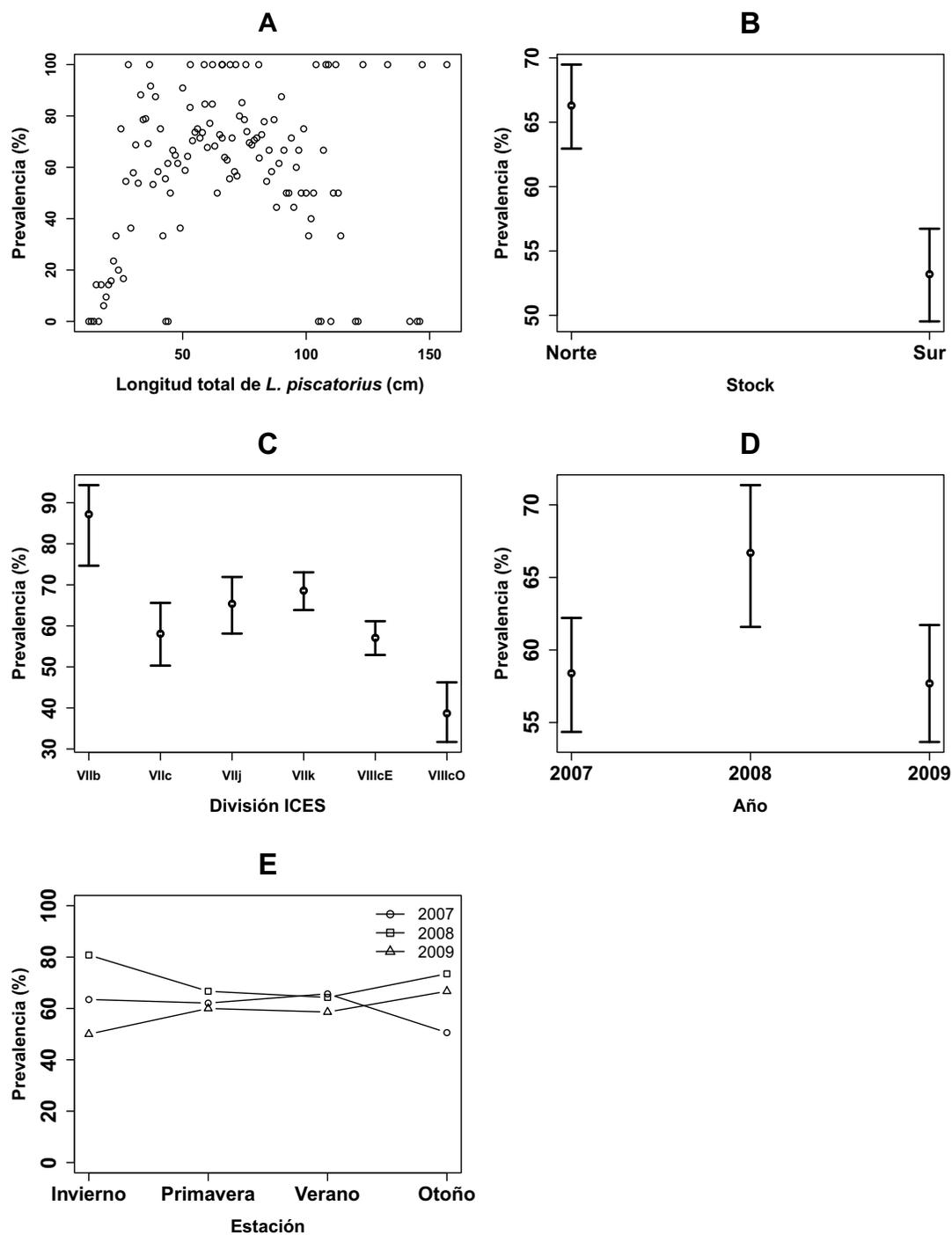


Figura 5.40: *S. lophii*, exploratorio de la prevalencia, en función del área geográfica: prevalencia según la longitud total de rape (A), stock(B), división ICES (C), año (D) y estación (E). En B, C y D las barras representan el intervalo de confianza del 95 %.

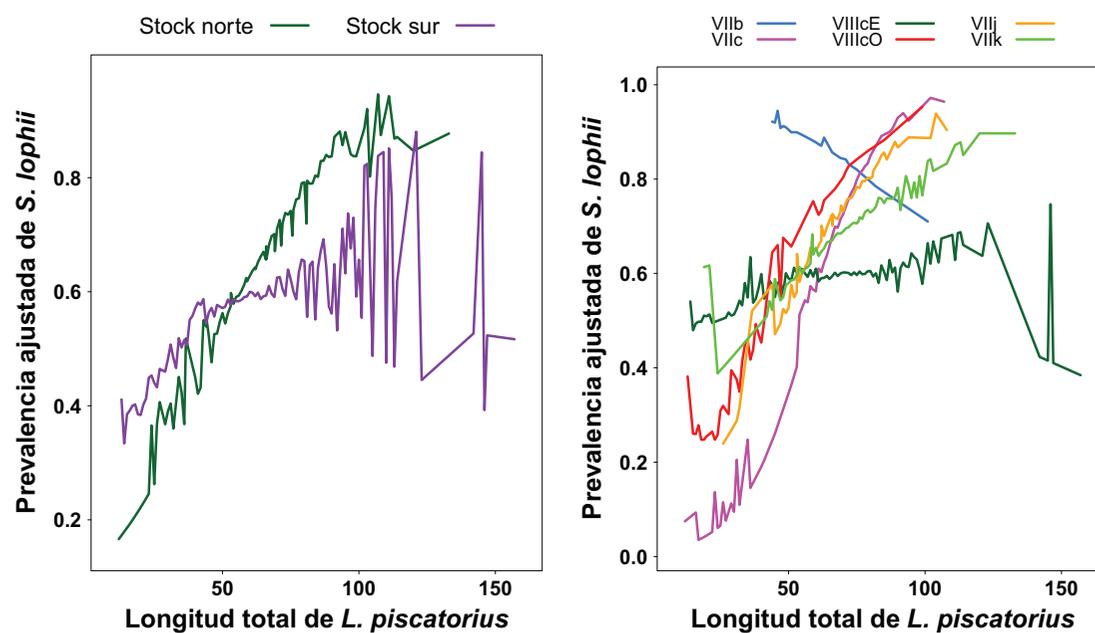


Figura 5.41: *S. lophii*, modelado de la prevalencia para cada stock (izquierda) y división ICES (derecha): curvas ajustadas según el modelo GLM seleccionado para la prevalencia en función de la longitud total de rape.

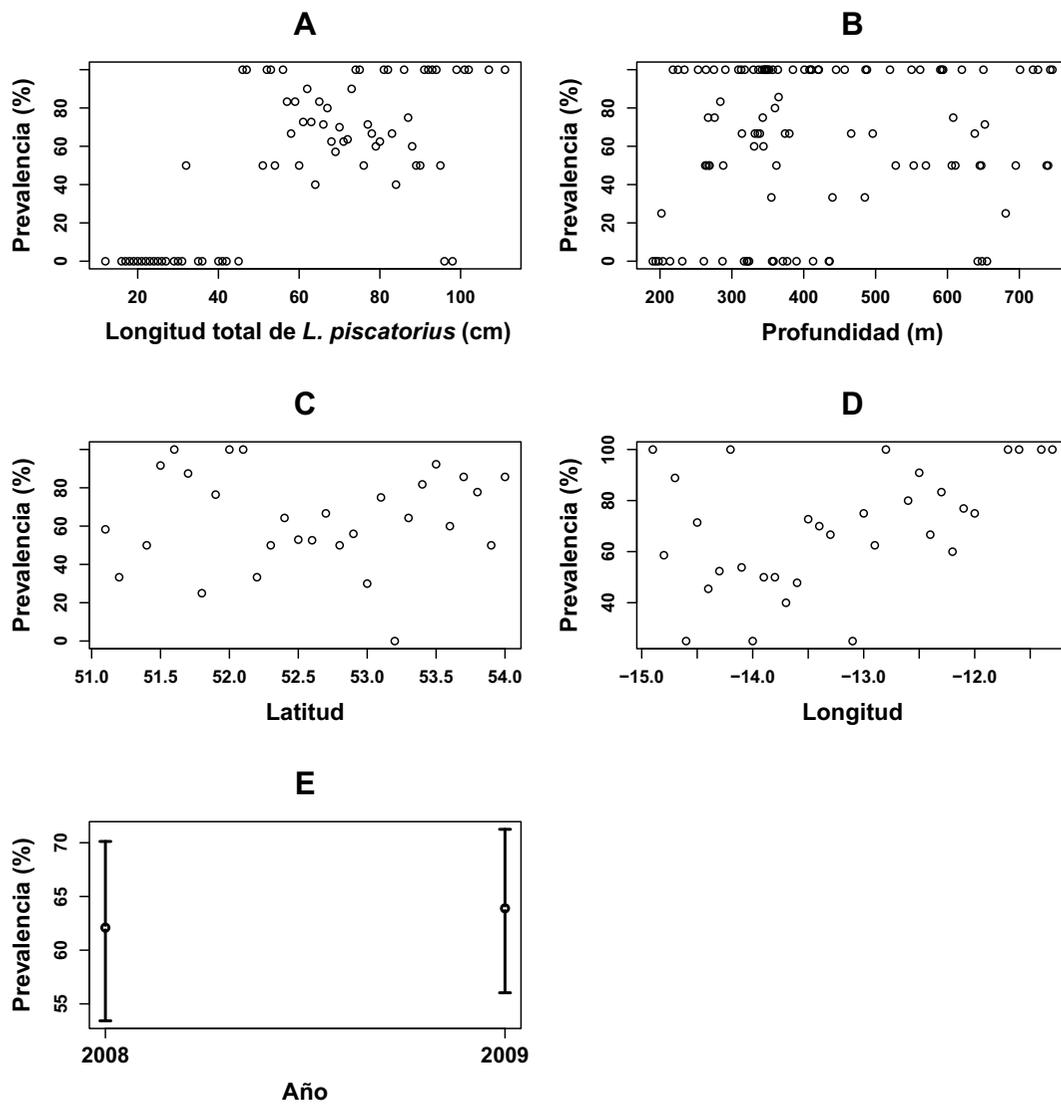


Figura 5.42: *S. lophii*, exploratorio de la prevalencia en el stock norte: gráficos en función de la longitud total de rape (A), profundidad (B), latitud (C), longitud (D) y año (E). En E las barras representan el intervalo de confianza del 95 %.

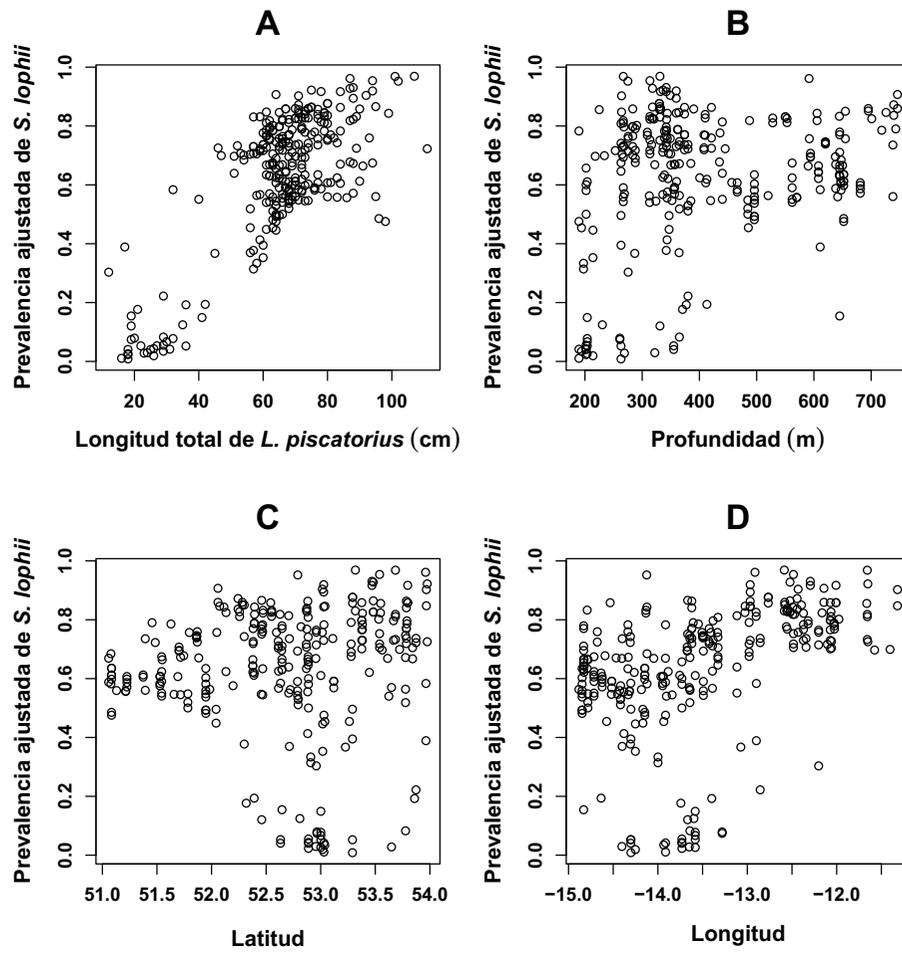


Figura 5.43: *S. lophii*, modelado de la prevalencia en el stock norte: valores ajustados según el modelo GLM seleccionado en función de la longitud total de rape (A), profundidad (B), latitud (C) y longitud (D).

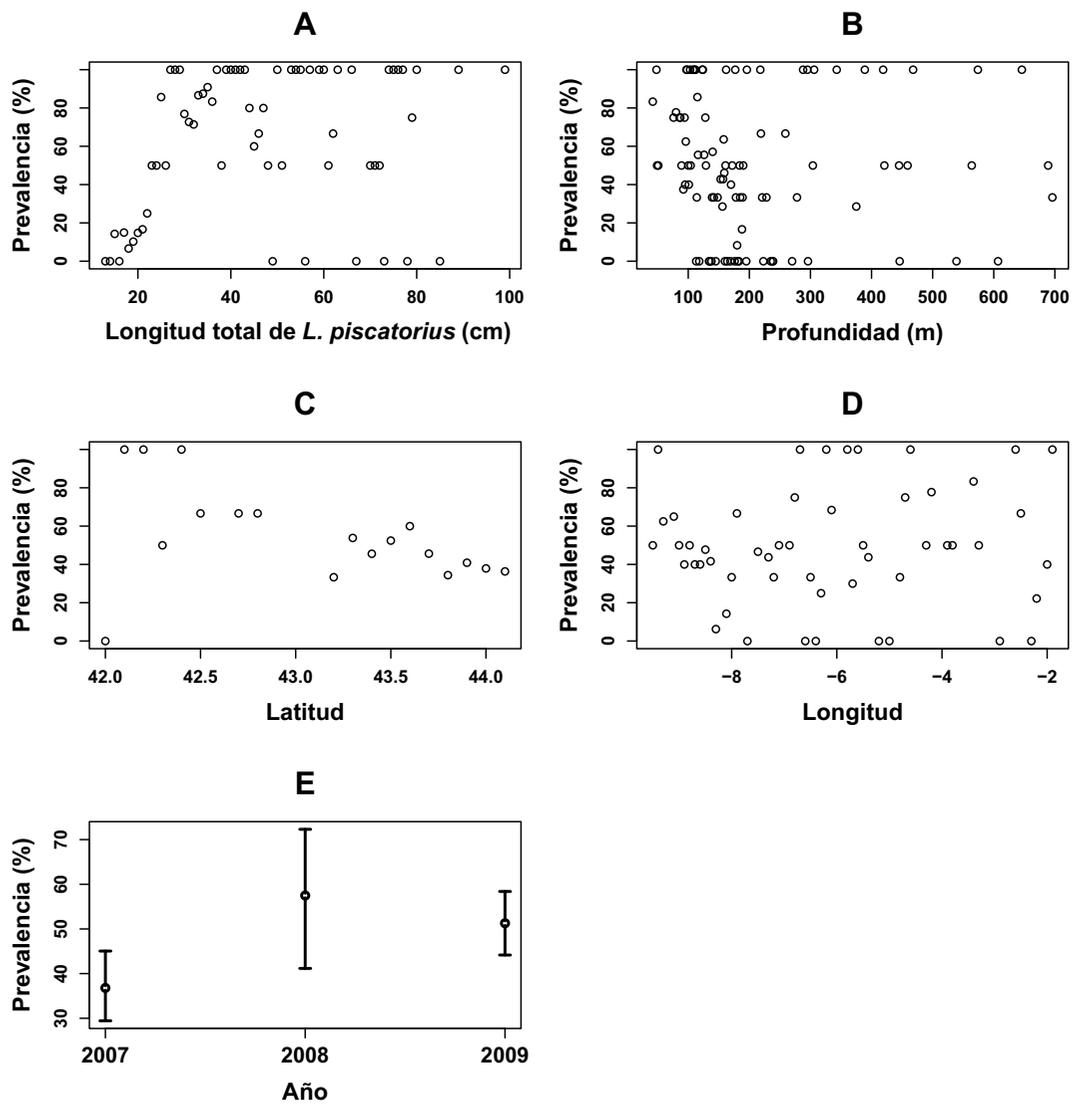


Figura 5.44: *S. lophii*, exploratorio de la prevalencia en el stock sur: gráficos según la longitud total de rape (A), profundidad (B), latitud (C), longitud (D) y año (E). En E las barras representan el intervalo de confianza del 95 %.

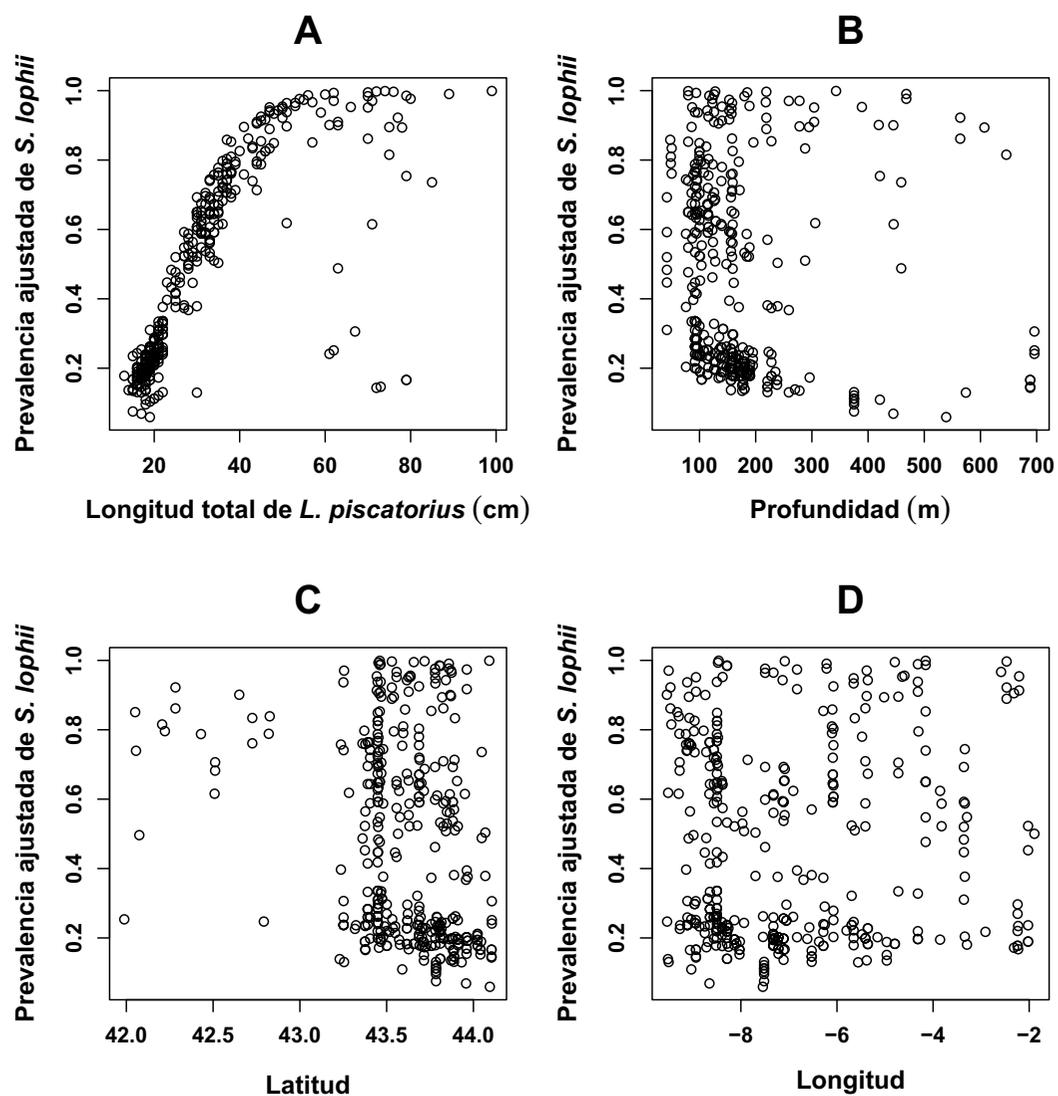


Figura 5.45: *S. lophii*, modelado de la prevalencia en el stock sur: valores ajustados según el modelo GLM seleccionado en función de la longitud total de rape (A), profundidad (B), latitud (C) y longitud (D).

Análisis multivariante

5.3. Análisis multivariante de los parásitos biomarcadores

5.3.1. Introducción

El estudio de la distribución geográfica de parásitos proporciona información valiosa para conocer los movimientos de los peces hospedadores y, junto con otras técnicas de identificación de stocks, permite discriminar poblaciones de peces. El análisis de material parasitológico como método para definir stocks ha aumentado notablemente en las últimas décadas (Williams et al. 1992). La utilidad de los estudios parasitológicos en la identificación de stocks ha sido demostrada para un gran número de especies marinas de interés comercial como el salmón rojo (*Oncorhynchus nerka*), el fletán negro (*Reinhardtius hippoglossoides*), el arenque y el bacalao (Margolis 1963, Boje et al. 1997, Podolska et al. 2006, Perdiguero-Alonso 2008).

De acuerdo con MacKenzie & Abaunza (1998, 2005) el examen parasitológico presenta ciertas ventajas sobre otras técnicas utilizadas para identificación de stocks, como por ejemplo, genética o marcado artificial. Así, en determinadas especies de peces marinos resulta complicado realizar marcado artificial externo, y en el caso de que sea posible, el individuo marcado, debe ser recapturado para obtener una observación válida. Además, los datos sobre parásitos se pueden obtener de programas de muestreo periódicos y pueden servir para identificar subpoblaciones de peces que tienen comportamientos diferentes, pero entre las cuales todavía existe un flujo genético.

Los estudios sobre parásitos aplicados a la definición de stocks tienen también ciertas limitaciones (Sindermann 1983, MacKenzie & Abaunza 1998, 2005). Así, entre otras, la escasez de información sobre el ciclo de vida de los parásitos puede limitar la eficiencia en el uso de estos organismos como marcadores biológicos; la identificación de muchas especies parásitas es todavía incierta, y la reciente aplicación de técnicas genéticas a la taxonomía de parásitos ha demostrado que especies que se consideraban únicas, están compuestas por especies gemelas, de morfología similar pero diferentes genéticamente; y es preferible conocer la edad del hospedador, pero existen especies de peces marinos e invertebrados para los cuales las técnicas de determinación de la edad no están validadas.

Estudios generales de la fauna parásita de los peces pueden aportar conocimientos complementarios. En algunas ocasiones, y tratándose de especies pesqueras, ésto es relevante desde un punto de vista biológico, pero podría no ser suficiente para

establecer los límites de distribución en los que basar la gestión de las pesquerías. Es necesario encontrar un equilibrio entre la amplitud del estudio parasitológico a desarrollar y la información necesaria para los objetivos planteados (Lester & MacKenzie 2009).

En esta sección se tratarán las posibilidades de diferenciar los rapes en función del stock al que pertenezcan (norte o sur), basándose en la abundancia de *Anisakis* Tipo I, *P. decipiens* (*s.l.*), *H. rigidum* y *C. lophii*. El microsporidio *S. lophii* no fue incluido en este análisis ya que, en la sección anterior se llegó a la conclusión de que no era adecuado como marcador biológico para identificar los stocks. Como se ha visto anteriormente, los parásitos seleccionados presentan características de biomarcadores, y se analizarán sus potencialidades de aplicación al rape.

5.3.2. Material y métodos

El material parasitológico usado en este estudio corresponde con el empleado para llevar a cabo los análisis expuestos en la sección 5.2, al igual que la metodología de extracción e identificación. Tan sólo se usaron las muestras de rapes con una longitud total entre 33 y 65 cm y en las que se hizo un examen parasitológico completo (173 en total), es decir, se recogieron datos de los 3 nematodos estudiados, *Anisakis* Tipo I, *P. decipiens* (*s.l.*) e *H. rigidum*, y del copépodo *C. lophii* (Tabla 5.18). Las divisiones ICES IXaN y VIIb no se tuvieron en cuenta en los análisis estadísticos por tener un tamaño muestral inferior a 10.

Tabla 5.18: Número de rapes examinados según el stock de procedencia y división ICES en el estudio multivariante

	División ICES						Total
	VIIb	VIIc	VIIk	VIIIcE	VIIIcO	IXaN	
Stock norte	8	70	20				98
Stock sur				43	24	8	75

Se realizó un análisis exploratorio de los datos, donde se examinó la normalidad de la abundancia de los parásitos estudiados (representación gráfica y test de Shapiro-Wilk) y la homocedasticidad (test de Levene) por stock y división ICES. Ninguna de las variables consideradas presentó una distribución normal ($p < 0.05$) ni fueron homocedásticas ($p < 0.05$), por lo que se usaron técnicas estadísticas no paramétricas. Los datos de abundancia se transformaron en logaritmos ($\ln(Ab+1)$) para minimizar el efecto de las diferentes abundancias observadas para los parásitos analizados. Esta

transformación reduce la importancia de los parásitos más abundantes, dando más peso a las especies con abundancias más bajas.

Como se ha visto anteriormente, la infestación parasitaria aumentó con el tamaño del rape. Debido a las diferencias entre stocks en la talla mediana del rape muestreado (61 y 44 cm, en el norte y sur respectivamente), se realizó una corrección de este parámetro mediante una regresión lineal entre la longitud total del rape y la abundancia de cada parásito (Moore et al. 2003). Los factores sexo y año no presentaron un efecto significativo sobre la infestación (sección 5.2), por lo que no se tuvieron en cuenta.

Se aplicaron los siguientes análisis estadísticos no paramétricos, usando una matriz de similitudes de Bray-Curtis generada de las abundancias de los 4 parásitos estudiados: análisis de similitud (ANOSIM), para la comparación entre stocks y divisiones ICES asumiendo una hipótesis nula de igualdad (a un nivel de significación de 0.05), escalamiento multidimensional no métrico (nMDS) como método de ordenación, y porcentajes de similitudes (SIMPER) para determinar la contribución relativa de cada especie parásita a la disimilitud entre grupos.

- Análisis de similitud (ANOSIM) (Clarke 1993). ANOSIM es un análisis estadístico ampliamente usado en estudios ecológicos para la comparación de comunidades entre áreas diferentes usando índices de similitud basados en abundancias.

Para realizar este análisis, se definieron grupos de muestras de las cuales se desea conocer si se agrupan entre sí (stock y división ICES, en este estudio). En el ANOSIM se calcula el estadístico R, el cual se formula:

$$R = \frac{(\bar{r}_B - \bar{r}_W)}{\frac{1}{2}M}$$

donde:

\bar{r}_B = rango promedio de todas las similitudes entre muestras de grupos diferentes.

\bar{r}_W = rango promedio de todas las similitudes entre muestras del mismo grupo.

$M = n(n-1)/2$, siendo n el número total de muestras incluidas en el análisis.

R toma valores entre -1 y 1, aunque este rango suele restringirse a valores positivos (0 - 1), indicando cierto grado de discriminación entre grupos. Cuando R es igual o próximo a 0, se cumple la hipótesis nula de igualdad entre grupos, es decir, no existen diferencias entre los grupos estudiados.

La significación estadística del estadístico R se calcula mediante un método de permutaciones en el que se van cambiando las muestras de un grupo a otro de manera aleatoria. Con este propósito se realizaron 5000 permutaciones.

- Escalamiento multidimensional no métrico (nMDS). Con el nMDS realizado en este estudio se observó gráficamente la similitud entre las muestras de distinta procedencia (stock y división ICES). Para determinar la bondad de la ordenación se usó el factor de *stress*, que toma valores entre 0 y 1, indicando valores próximos a 0 un mejor ajuste.
- Análisis de porcentaje de similitud (SIMPER) (Clarke 1993). El SIMPER es una técnica estadística usada para explorar la contribución que tiene cada una de las variables consideradas en un análisis multivariante para la separación entre grupos de muestras.

Los 3 análisis expuestos en este apartado se realizaron por medio de un uso combinado de 3 programas estadísticos: R (v.2.10.0) (R Development Core Team 2009), SPSS (v.11.5.1) y PRIMER (v.6) (Clarke & Warwick 2001).

5.3.3. Resultados

La distribución de los parásitos estudiados en las aguas del suroeste europeo se examinó en la sección 5.2. *C. lophii* fue más abundante en el stock norte principalmente en las divisiones ICES VIIb y VIIc. *P. decipiens* (*s.l.*) también presentó una prevalencia superior en el stock norte siendo en este caso las divisiones ICES VIIb y VIIk donde la presencia del parásito fue mayor, pero su intensidad fue similar en ambos stocks. Por el contrario, *Anisakis* Tipo I e *H. rigidum* mostraron una presencia mayor en el stock sur, encontrándose la mayor prevalencia de ambos parásitos en la división ICES VIIIcO. Sin embargo, su patrón de intensidad fue diferente; la intensidad de *Anisakis* Tipo I fue superior en el stock sur y en el caso de *H. rigidum* no se encontraron diferencias relevantes entre stocks.

Similitud entre stocks

La comparación de las abundancias de parásitos entre stocks indican que existen diferencias significativas (ANOSIM, $R = 0.195$, $p < 0.05$). Sin embargo, el bajo valor del estadístico R sugiere que la variabilidad en la composición parasitaria entre el stock norte y el stock sur no es suficiente para ser considerados como 2 stocks independientes.

En el escalamiento multidimensional no métrico de las abundancias de los parásitos estudiados se observó que las muestras procedentes de ambos stocks se solapan ($stress = 0.15$) (Figura 5.46).

Los resultados obtenidos del SIMPER indicaron una disimilaridad media entre stocks de 35 %, es decir, la similitud entre stocks fue relativamente elevada. El parásito que más contribuyó a la discriminación entre stocks fue *Anisakis* Tipo I (contribución del parásito (C) = 40 %) seguido de *C. lophii* (C = 38 %) y de *P. decipiens* (*s.l.*) (C = 19 %) (Tabla 5.19). *H. rigidum* fue eliminado del análisis porque la abundancia entre stocks no resultó significativamente diferente. La especie parásita que mejor discriminó fue *C. lophii*, por tener la relación disimilaridad-desviación estándar más elevada (Tabla 5.19). La abundancia media de cada parásito en cada stock, derivada de este análisis, coincide en gran medida con los resultados obtenidos en la sección 5.2, siendo la abundancia de *Anisakis* Tipo I mayor en el stock sur, y la de *P. decipiens* (*s.l.*) y *C. lophii* en el norte.

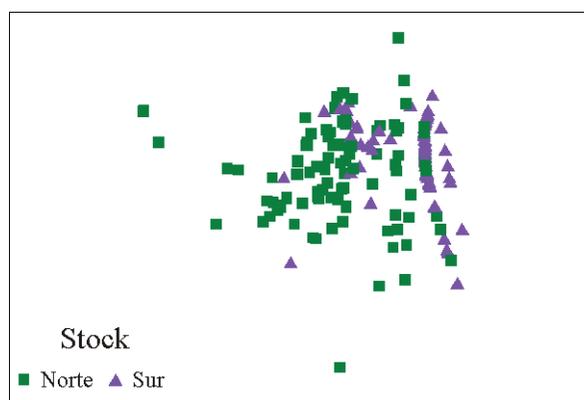


Figura 5.46: Gráfico bidimensional de ordenación no métrica usando la matriz de similitud de Bray-Curtis de las abundancias de *Anisakis* Tipo I, *P. decipiens* (*s.l.*), *H. rigidum* y *C. lophii* del stock norte y sur de *L. piscatorius* de la plataforma sur del Atlántico Nordeste.

Tabla 5.19: Resultados del análisis SIMPER basado en las abundancias de *Anisakis* Tipo I, *P. decipiens* (*s.l.*) y *C. lophii* entre los stocks norte y sur de rape (AbM1 = abundancia media en el stock norte; AbM2 = abundancia media en el stock sur; DM = disimilaridad media; D/DE = disimilaridad entre desviación estándar; C(%) = contribución de cada parásito a la discriminación entre stocks; A(%) contribución acumulada de cada parásito a la discriminación entre stocks).

Especie	AbM1	AbM2	DM	D/DE	C(%)	A(%)
<i>Anisakis</i> Tipo I	20.12	34.16	13.89	1.02	39.59	39.59
<i>C. lophii</i>	2.82	0.52	13.33	1.32	37.98	77.57
<i>P. decipiens</i> (<i>s.l.</i>)	0.94	0.01	6.83	0.85	19.46	97.02

Similitud entre divisiones ICES

Usando la división ICES como variable geográfica en lugar del stock, el análisis de similitud dio como resultado un $R = 0.086$ ($p < 0.05$). El estadístico del ANOSIM fue muy próximo a 0, incluso menor que en el análisis realizado por stock, lo que indica que las diferencias entre divisiones ICES no son suficientes para discriminar los rapes por esta procedencia.

El escalamiento multidimensional no métrico de las abundancias de los parásitos estudiados indicó un solapamiento de las muestras según la división ICES de procedencia ($stress = 0.14$) (Figura 5.47). Las divisiones ICES más distantes según el factor de $stress$ coincidieron con las geográficamente más separadas (VIIc-VIIIcE, VIIIcO) y el mayor grado de solapamiento se obtuvo entre las divisiones ICES más próximas (VIIk-VIIIcE, VIIIcO).

Se observó la presencia de 8 muestras de rape cuya composición parasitaria se alejó en mayor grado del resto de muestras (Figura 5.47). La procedencia de estas muestras fue en su mayoría de la división ICES VIIc (7) y 1 de la división ICES VIIk. Examinando en detalle estas muestras, se observó que en 7 de ellas (de la división VIIc y VIIk) la abundancia de *Anisakis* Tipo I fue inferior a 5, cuando la abundancia media correspondiente a estas divisiones fue de 52 en VIIc y 46 en VIIk (Figura 5.47). Por otro lado, la muestra atípica restante de la división VIIc presentó una abundancia de *P. decipiens* (*s.l.*) de 40, significativamente superior a la media correspondiente a esta división (2).

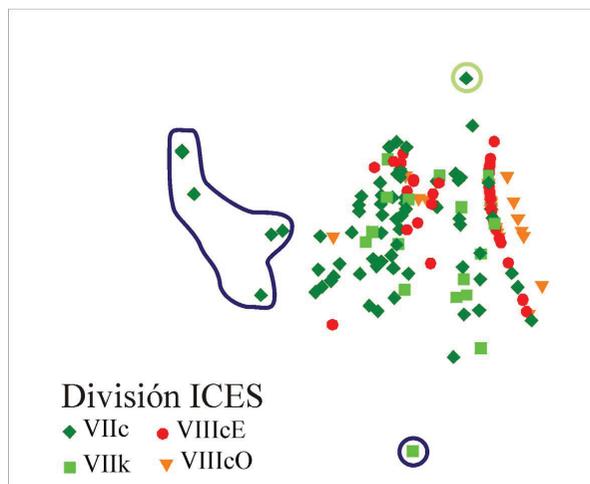
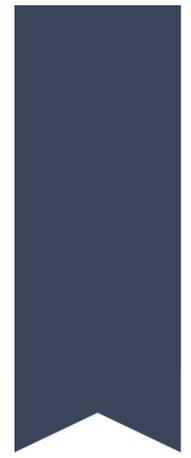
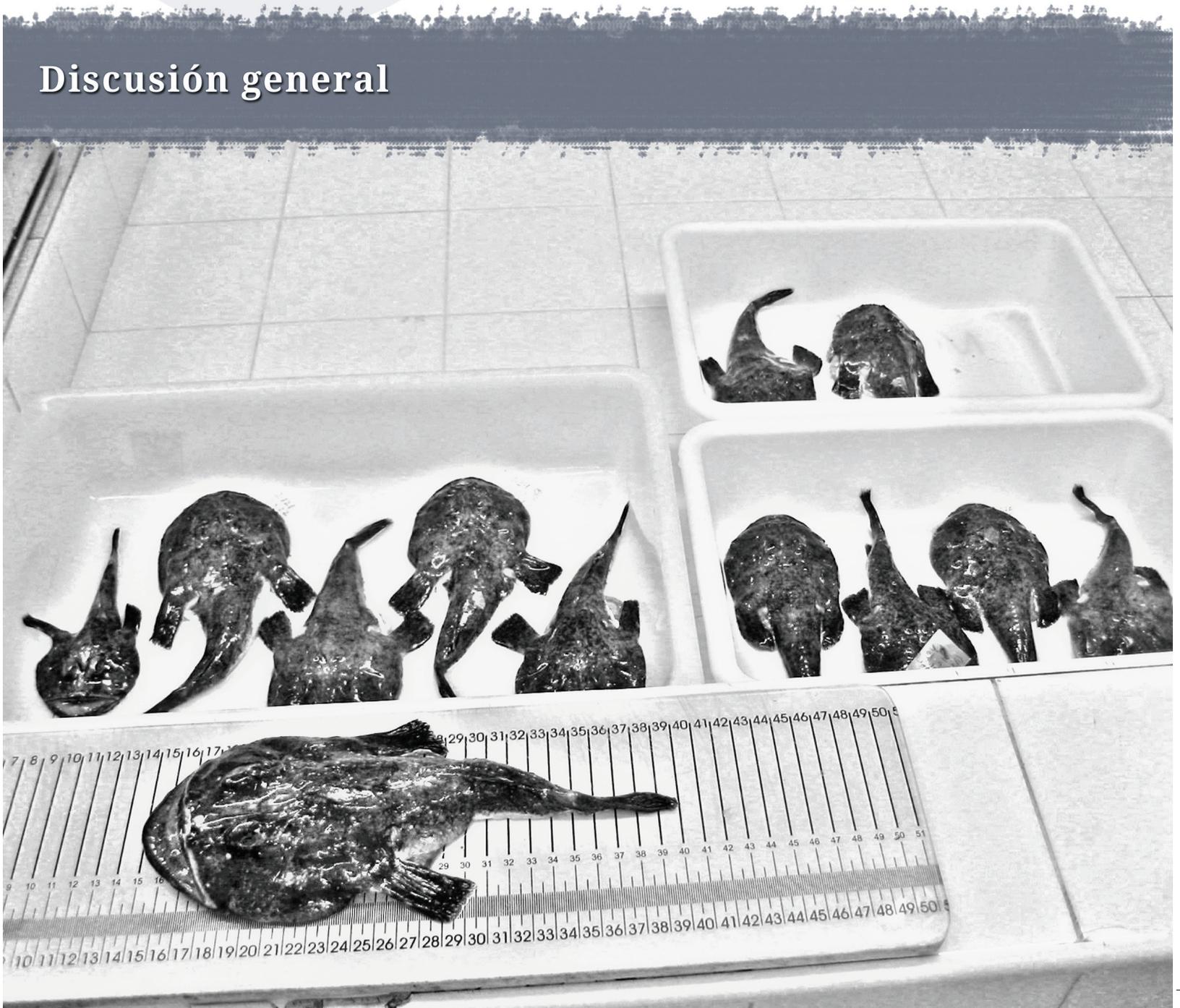


Figura 5.47: Gráfico bidimensional de ordenación no métrica usando la matriz de similitud de Bray-Curtis de las abundancias de *Anisakis* Tipo I, *P. decipiens* (s.l.), *H. rigidum* y *C. lophii* de las divisiones ICES estudiadas de la plataforma sur del Atlántico Nordeste (círculo violeta = abundancia de *Anisakis* Tipo I significativamente inferior a la media; círculo verde = abundancia de *P. decipiens* (s.l.) significativamente superior a la media).

6



Discusión general



Un aspecto clave para que la evaluación y gestión de recursos marinos se realice con fundamentos científicos, es tener bien definidos los límites espaciales de los stocks o unidades de gestión. Conocer la verdadera estructura poblacional de las especies explotadas es básico para realizar una evaluación y gestión más eficiente.

Los estudios dirigidos a la identificación de stocks de peces, emplean una amplia variedad de métodos, más o menos adecuados dependiendo de la especie estudiada (Cadrin et al. 2005): estrategia vital (crecimiento y reproducción), marcas naturales (morfometría del cuerpo y otolitos, merística, genética, parásitos, composición química y microestructura de otolitos, y perfiles de ácidos grasos) y marcas aplicadas (marcas externas e internas, marcas electrónicas y marcado térmico de otolitos). Sin embargo, la mejor manera de abordar el problema de la definición de los límites de los stocks es la aplicación de una aproximación holística (Begg & Waldman 1999), esto es, reunir los resultados de un amplio espectro de técnicas complementarias que, en conjunto, aportan una mayor información, y permiten una definición más precisa del stock. Esto resulta particularmente ventajoso para especies con una estructura poblacional compleja (Begg & Waldman 1999), como es el caso del rape. La situación ideal para desarrollar una aproximación holística sería aplicar todas las técnicas sobre los mismos individuos, pero esto es de gran dificultad y se ha realizado en pocas ocasiones, como, por ejemplo, para la lubina (*Morone saxatilis*) y el jurel (Waldman et al. 1997, Abaunza et al. 2008a). La complejidad en aspectos operacionales, logística y diseño de muestreo de este tipo de estudios, podría explicar por qué son tan escasos, a pesar de ser tan eficientes (Abaunza et al. 2008b). Otra manera de aplicar la aproximación holística sería recopilar la información disponible sobre estudios de identificación de stocks de una especie determinada e inferir, a partir de ella, la estructura poblacional (Begg & Waldman 1999).

En este estudio se utilizaron las técnicas de análisis morfométrico de otolitos y análisis parasitológico, para examinar la entidad biológica que tiene la actual estructura de stock de rape en aguas del suroeste europeo. Ambas técnicas se aplicaron usando los mismos rapes muestreados, lo que facilitó la interpretación de los resultados y comparación de las dos técnicas. Las muestras se recogieron en dos años consecutivos (2008 y 2009), para estimar la estabilidad temporal de los resultados obtenidos. La selección de estas técnicas radicó fundamentalmente en su demostrada validez y eficiencia en estudios generales de identificación de stocks (Cadrin et al. 2005).

Además, combinando los resultados aquí obtenidos con los de estudios previos en los que se aplicaron diferentes métodos (estrategia vital, genética, morfología corporal, merística y comportamiento migratorio (Fariña 2002, Fariña et al. 2004)), se amplía y complementa la información existente sobre la estructura poblacional de rape en la plataforma sur del Atlántico Nordeste.

Morfometría de otolitos

La morfometría de otolitos ha sido utilizada para la discriminación de stocks de diferentes especies de peces marinos. Esta técnica es menos costosa y más eficiente, en términos de tiempo, que otras, como la genética. Los otolitos son relativamente fáciles de obtener, ya que se recogen en los muestreos biológicos periódicos de peces comerciales, por ser las estructuras más utilizadas para la determinación de la edad. Su procesamiento y examen no requiere coste adicional, principalmente por el desarrollo de programas gratuitos para el análisis de imagen, como ImageJ, empleado en este trabajo. Por otro lado, las partes duras de los peces, como los otolitos, poseen la ventaja de ser relativamente inalterables a los cambios inmediatos en las condiciones del pez (estrés y falta de alimento, entre otros) frente a otras características morfométricas del cuerpo que podrían verse afectadas, e influirían en los resultados de los análisis (Campana & Casselman 1993). En general, los marcadores fenotípicos (morfometría corporal y de otolitos, merística, parásitos, etc.) resultan de mayor aplicación para la gestión de pesquerías que los marcadores genéticos (Begg & Waldman 1999). Por ello, se ha sugerido que grupos poblacionales con diferentes características fenotípicas persistentes en el tiempo, se reconozcan como stocks distintos cuando se trata de la evaluación y gestión de sus pesquerías, incluso si existe homogeneidad genética, lo cual indicaría que los individuos han pasado periodos significantes de su vida en distintos ambientes, aunque entre ellos exista un flujo genético que impida su diferenciación (Cadrin & Friedland 1999, Campana 1999). Una de las principales desventajas del uso del análisis morfométrico de otolitos, es el efecto del tamaño y edad del pez sobre su forma, que puede generar cierta confusión en la discriminación de stocks si no se realiza un muestreo y un tratamiento estadístico adecuado, además de una correcta interpretación de los resultados (Cadrin & Friedland 2005). Para evitar estos efectos, en este trabajo se ha eliminado el efecto de la talla sobre la forma de esta estructura, y se ha realizado un muestreo uniforme en el rango de tallas examinado.

Existen otras técnicas de identificación de stocks empleando otolitos que analizan su composición química (concentración de elementos traza como el Li, Mg, Mn, Sr y Ba) y microestructura (por ejemplo, incremento del crecimiento y anchura de la banda translúcida del primer y segundo anillo). La principal ventaja de estas técnicas sobre el análisis de la forma del otolito es que permiten examinar diferentes periodos de la vida de los peces, ya que identifican zonas de crecimiento (Campana 1999, Begg et al. 2001). Sin embargo, la técnica aplicada en este trabajo, además de no ser destructiva, pues las muestras no son alteradas en su procesamiento, es más eficiente en términos de coste, tiempo y complejidad. La preparación de las muestras es más simple, no se utilizan equipos de laboratorio sofisticados y es menos sensible a errores humanos (contaminación e incertidumbre en la determinación de las distintas zonas de crecimiento, en el análisis químico y de la microestructura, respectivamente). La exploración de los elementos traza de los otolitos resulta apropiada sólo cuando existen diferencias significativas entre grupos, en caso contrario, se considera de poca utilidad (Campana et al. 2000). En el caso de la estructura interna del otolito, habría que aumentar la objetividad en la definición de las zonas de crecimiento y disminuir el tiempo de procesamiento de las muestras para que fuera un método de mayor aplicabilidad (Begg et al. 2001).

En el estudio morfométrico de otolitos desarrollado en este trabajo, se realizó una combinación de medidas univariantes (longitud, anchura, peso, perímetro, área del otolito, circularidad, ratio entre el perímetro y el área del otolito y ratio entre la longitud y la anchura del otolito) y EFA (análisis elíptico de Fourier) para examinar la variación de la morfología de los otolitos sagita de rape entre individuos de los stocks norte y sur. Se consideró la opción más completa y adecuada para capturar la compleja variación morfológica debida al crecimiento del otolito. La selección del otolito sagita radicó en que éste posee características más adecuadas que los otros dos tipos de otolitos (*lapillus* y *asteriscus*) por ser más grande, por tanto más fácil de manejar, y presenta una menor variabilidad intra-stock que el *asteriscus*. El *lapillus* carece de características especiales apropiadas para la discriminación de stocks (Campana & Casselman 1993). Son numerosas las variables empleadas en este tipo de estudios. La variabilidad del tamaño y forma del núcleo del otolito (Postuma 1974), las medidas de los anillos de los otolitos (Torres et al. 1996), la longitud del otolito, anchura, área y perímetro (Bolles & Begg 2000), los índices de

forma (Bolles & Begg 2000, Tuset et al. 2003) o la relación entre el tamaño del pez y el radio del otolito (Zabel et al. 2010), son algunos ejemplos de medidas morfométricas univariantes utilizadas. Otra técnica empleada es el EFA, que analiza la forma del otolito (Castonguay et al. 1991, Stransky et al. 2008a, Farias et al. 2009). Para obtener resultados más precisos, algunos autores como Duarte-Neto et al. (2008) o Stransky et al. (2008b) usaron una combinación de ambas técnicas (medidas univariantes y EFA), y en este trabajo se ha seguido esta línea. En los últimos años, han surgido nuevas técnicas que podrían ser un complemento o alternativa al EFA puesto que presentan ciertas ventajas sobre éste. El estudio de la forma y distancia relativa entre las dos zonas translúcidas más internas del otolito, aplicado en bacalao, no necesita contornos cerrados (Berg et al. 2005). La reconstrucción del contorno de esta estructura aplicando la transformación de ondas y la escala de la curvatura del espacio de representación, determinan de manera más precisa las irregularidades de su forma (Parisi-Baradad et al. 2005). Por último, la reflexión parcial, en donde se requieren la mitad de coeficientes para obtener la misma exactitud que con el EFA (Reig-Bolaño et al. 2010).

Los resultados del análisis univariante (ANCOVA) y multivariante (MDS, escalamiento multidimensional métrico y LDA, análisis discriminante lineal), indicaron que las diferencias encontradas en la morfología de los otolitos no son suficientes para sostener la actual separación entre stocks. El MDS no revela gráficamente ninguna evidencia de separación entre stocks, ni cualquier otra agrupación con límites diferentes de las actuales unidades de gestión. Sin embargo, se ha observado que en ocasiones, usando este método de ordenación, podrían no detectarse diferencias entre grupos que realmente existen y éstas ser detectadas con otros análisis estadísticos como el análisis discriminante o el análisis de componentes principales (Tracey et al. 2006). En este trabajo, la falta de diferenciación entre stocks se sigue manteniendo en el LDA, ya que el porcentaje global de individuos correctamente clasificados fue bajo (45%), y la primera y segunda función discriminante explicaron tan sólo un 15 y un 7%, respectivamente, de la varianza total.

La variación morfológica de los otolitos, considerada como marca natural, debe llevar aparejada la determinación de los factores que la regulan. La forma del otolito, al igual que la forma del cuerpo, entre otras características morfométricas, está regulada genéticamente. Sin embargo, también presenta variabilidad que está principalmente

relacionada con factores ambientales locales, como la profundidad y la temperatura del agua, además de por el sexo, edad, clase de edad y tasa de crecimiento de los individuos (Castonguay et al. 1991, Campana & Casselman 1993, Lombarte & Lleonart 1993, Cardinale et al. 2004, Swain et al. 2005, Schulz-Mirbach et al. 2008). En muchos casos se ha evaluado la importancia relativa de la genética y las condiciones ambientales sobre la forma del otolito, pero pocos la han evaluado en términos absolutos (Burke et al. 2008). Existen evidencias que confirman la hipótesis de que la forma del otolito en peces presenta una doble regulación: variación ambiental, que provoca un cambio en la morfología total del otolito, y variación genética, que afecta a la forma del otolito localmente (Vignon & Morat 2010). Otros estudios sobre el desarrollo ontogenético de la forma de los otolitos, como los llevados a cabo en la anguila (*Anguilla anguilla*) y el pargo (*Lutjanus kasmira*), mostraron que en los primeros estadios de vida, había una mayor uniformidad morfológica de estas estructuras que en individuos adultos (Capoccioni et al. 2011, Vignon 2012), lo que podría ser debido a que los factores ambientales presentan una mayor influencia sobre los adultos que sobre las larvas (Vignon 2012).

Para valorar si los resultados obtenidos en este trabajo son coherentes con esta hipótesis, se ha examinado la información disponible acerca de las condiciones ambientales y la estructura genética del rape en la plataforma sur del Atlántico Nordeste. El rango de profundidades examinado y la temperatura media del agua en el fondo marino (dato de interés puesto que el rape es un organismo bentónico-demersal) tan sólo difieren ligeramente entre stocks (10.5 y 12°C en el stock norte y en el sur, respectivamente (ICES 2010a)), y su influencia sobre la forma de los otolitos, en términos de discriminación de stocks, no debería ser apreciable. En cuanto a la estructura genética del rape en esta área, según estudios previos en los que se usaron variables genéticas (microsatélites) como marcas naturales, no existen evidencias de diferenciación genética que justifiquen la actual separación entre el stock norte y el stock sur de rape (Crozier 1987, Blanco et al. 2008). De hecho, más del 98% de la variación genética total entre ambos stocks se atribuyó a diferencias dentro de las poblaciones, lo cual sugiere un elevado flujo genético entre poblaciones que previene una divergencia entre estos stocks vecinos (Fariña et al. 2004). Por lo tanto, ante una situación de ausencia de variación genética y factores ambientales semejantes, es razonable encontrar una morfología del otolito que no difiera significativamente entre stocks.

La evaluación del efecto del sexo y año sobre la forma del otolito indicó que la influencia de ambas variables no fue relevante. Se obtuvo un resultado similar para el jurel (Stransky et al. 2008a). En otras especies se ha citado lo contrario, así en la discriminación de stocks de gallineta (*Helicolenus dactylopterus*) en aguas portuguesas, el sexo resultó ser un factor destacado (Neves et al. 2011). El efecto de la talla sobre la morfología del otolito fue eliminado del análisis, por lo que no tuvo influencia en los resultados.

Otro factor que se ha considerado de gran impacto sobre la forma del otolito es el índice de crecimiento del pez, a su vez influenciado por las condiciones ambientales (disponibilidad de alimento y temperatura del agua, entre otras) y características biológicas del individuo (por ejemplo, el sexo) (Campana & Casselman 1993). Se ha observado una relación entre estas variables en diferentes especies de peces, como la caballa (*Scomber scombrus*) y el bacalao del Atlántico Nordeste (Castonguay et al. 1991, Campana & Casselman 1993, Cardinale et al. 2004, Stransky et al. 2008b). El efecto de este factor no se pudo valorar en este estudio, pues existen muchas incertidumbres tanto en la determinación de la tasa de crecimiento del rape, como en los procesos de la determinación de la edad (Fariña et al. 2008).

En el LDA se ha detectado un porcentaje de clasificación errónea elevado; un 55 % de los rapes fueron clasificados en un stock que no correspondía con el de su captura. Los análisis estadísticos no permitieron determinar si ésto es debido a una imprecisión en la metodología, variabilidad individual o por migración de individuos desde otras áreas, tal como indican Campana & Casselman (1993). En este sentido, se detectó una significativa variabilidad individual en la morfología de los otolitos tanto en el stock norte como en el sur. Además, las experiencias de marcado-recaptura de rape confirmarían la existencia de un cierto intercambio de individuos entre ambos stocks (Pereda & Landa 1997, Landa et al. 2008a). No hay fundamentos para asegurar que las diferencias morfológicas de los otolitos entre rapes, ni las migraciones documentadas, sean las causas posibles de la clasificación incorrecta de individuos en cada stock, aunque sí sería conveniente tenerlo en cuenta en la valoración de los resultados de este análisis.

Por otro lado, la clasificación incorrecta de los individuos permitió comprobar cuáles, de entre los tres stocks incluidos en el LDA, eran más semejantes entre sí. Se observó menor similitud con la distancia geográfica; los stocks que muestran cualitativamente mayor analogía son el stock norte con el stock sur, y el stock de la plataforma norte con el stock norte. Estos resultados son un poco más coherentes si se tiene en cuenta que la morfología de los otolitos está influenciada por las condiciones ambientales. Se asume que la diferencia de esta influencia será menor entre stocks vecinos (como se mostró anteriormente para los stocks de la plataforma sur) y aumentará cuanto más alejados estén geográficamente. Este patrón se observó también en otros estudios de este tipo, como por ejemplo, el desarrollado para dos especies del género *Sebastes*, *S. marinus* y *S. mentella*, en el Atlántico Norte, en el que entre las tres unidades de gestión reconocidas (este, oeste y central), resultaron más diferentes las más distanciadas (Stransky 2005).

En cuanto al patrón de crecimiento del otolito del rape, se observó, en ambos stocks, que el otolito se hace más alargado a medida que aumenta el tamaño del rape, a la vez que su anchura disminuye y su rostro se vuelve más pronunciado. El desarrollo del tamaño y la forma del otolito es un proceso ontogénico, aunque, como se ha visto anteriormente, hay una fuerte variabilidad dependiente de múltiples factores (referencias anteriormente citadas y Torres et al. 2000, Monteiro et al. 2005, Hüsey 2008). El rape presenta un cambio de hábitat a lo largo de su desarrollo (estadios larvarios pelágicos, y juveniles y adultos en un hábitat bentónico-demersal) y de alimentación (Crozier 1985). También se ha observado que los reclutas y juveniles de rape se encuentran en aguas más someras que los juveniles más desarrollados y adultos (Velasco et al. 2008). Ambos aspectos, podrían afectar a la morfología del otolito, ya que varían las condiciones ambientales a las que los individuos están sometidos durante su ciclo de vida.

Las diferencias morfológicas encontradas entre los otolitos de rape del stock norte y del sur no tienen por sí mismas entidad suficiente para justificar la actual estructura de stock en las aguas del suroeste europeo. Trabajos basados en la configuración del otolito, que han examinado la estructura poblacional de otras especies de profundidad, como el granadero (*Coryphaenoides rupestris*), en el Atlántico Norte, también obtuvieron una baja diferenciación entre áreas (Longmore et al. 2010). Esto puede ser debido a que en aguas profundas existe una mayor homogeneidad en las

condiciones ambientales que afectan a la forma del otolito, lo que provocaría una menor variación. En otros estudios, como por ejemplo los llevados a cabo para el jurel mediterráneo (*Trachurus mediterraneus*), el granadero y el *Argyrosomus japonicus*, se aplicó una combinación de análisis morfométrico y químico del otolito, para obtener una mayor precisión en la discriminación de stocks (Turan 2006, Longmore et al. 2010, Ferguson et al. 2011). El examen de la concentración de elementos traza en el margen externo del otolito aportó mayor discriminación, poniendo de manifiesto, en periodos inmediatos, las diferencias entre grupos procedentes de las distintas áreas geográficas, y complementando el análisis morfométrico, que contribuyó a los resultados para una escala temporal mayor, ya que, como se citó anteriormente, la forma del otolito se ve influenciada por los componentes genético y ambiental.

Por otra parte, los resultados del análisis morfométrico de otolitos de rape tampoco sugieren una mezcla homogénea entre ambos stocks, pues se encontraron diferencias de los tres índices de forma y las funciones discriminantes fueron significativas. Ésto probablemente indica la presencia de subpoblaciones dentro de un único stock con estructura compleja, entendiéndose subpoblación como un grupo de individuos que viven en un área más pequeña que la correspondiente a la población y en la que los cambios numéricos están determinados tanto por los procesos de nacimiento y muerte como por los de migración y emigración (Berryman 2002).

En general, se ha comprobado la eficiencia de la técnica de morfometría de otolitos para la identificación de stocks, sin embargo, es conveniente integrar las aportaciones de esta técnica con otras disponibles, como la de biomarcadores parásitos (exploradas en este trabajo) y otras previas documentadas para el rape, combinando así conocimientos derivados de técnicas que atienden tanto a aspectos genéticos como fenotípicos de la biología de rape.

Parásitos como biomarcadores

Los parásitos se han venido utilizando, ya desde 1930, para aportar información sobre la biología de sus hospedadores (Lester 1990). También como marcadores biológicos en estudios de identificación de stocks de distintas especies de peces demersales (McClelland & Marcogliese 1994, Mattiucci et al. 2004). En nuestro estudio

se realizó un análisis por parásito, para identificar qué parásitos son más aptos como biomarcadores y cuáles son las variables que pueden tener un efecto significativo sobre sus niveles de infestación, y un análisis multivariante, para comparar las abundancias entre stocks de los parásitos seleccionados, basándose en los resultados del primer análisis e información previa.

La selección de parásitos biomarcadores es una fase primordial en estudios de identificación de stocks de peces, ya que si se usan parásitos que no son adecuados se podría obtener información biológica interesante, pero no suficiente para establecer una estructura de stock que pueda ser aplicada a la gestión de pesquerías (Lester & MacKenzie 2009). Cuanta más información se posea sobre la fauna parásita del hospedador antes del estudio, más eficiente será la selección de los parásitos (MacKenzie & Abaunza 1998, 2005). Por ello, en nuestro caso, se realizó una revisión bibliográfica y un análisis exploratorio preliminar de la fauna macroparásita de rape, que aportaron los fundamentos para la correcta selección de los parásitos finalmente empleados (*Anisakis* Tipo I, *P. decipiens* (*s.l.*), *H. rigidum*, *C. lophii*), cuyas propiedades de biomarcadores se probaron en este estudio. Existen dos aproximaciones para el uso de parásitos en identificación de stocks (MacKenzie & Abaunza 1998, 2005): seleccionar un número determinado de especies de entre la fauna parásita (por ejemplo, Kabata 1963, Margolis 1963, MacKenzie 1990), o hacer un examen parasitológico completo (entre otros, Boje et al. 1997, Oliva & González 2004, Timi 2007). En este estudio se realizó la primera, principalmente por limitaciones de tiempo. Los rapes examinados presentaron una talla mediana de 61 cm, y un examen parasitológico completo de todos los individuos muestreados provocaría que el tiempo se convirtiera en un factor limitante del estudio. Valorando lo que ocuparía un muestreo completo y la información que se obtendría con ambas aproximaciones, se asumió que el examen de los parásitos seleccionados era suficiente, y que un estudio más detallado sería enriquecedor desde un punto de vista biológico, pero no determinante para el objetivo principal perseguido. Con el fin de disminuir el tiempo de procesamiento de las muestras, se probaron métodos alternativos al examen visual para la extracción de los parásitos, como la digestión del mesentéreo (zona más parasitada por larvas de nematodos) en solución digestiva de pepsina (Smith & Wootten 1975). Sin embargo, este método se descartó por afectar a la morfología de los adultos de *H. rigidum*, haciendo inviable su identificación.

Conocer los factores que puedan afectar a los niveles de infestación de los parásitos biomarcadores es fundamental porque podrían interferir en la determinación de la variabilidad espacial.

Los modelos de las familias GLM (*generalized linear models*), GAM (*generalized additive models*) y ZAM (*zero altered models*), con los que se exploró el efecto de variables biológicas, temporales y espaciales sobre la infestación de los parásitos seleccionados en el rape, aunque de aplicación reciente en el campo de la parasitología, son cada vez más habituales por ser más flexibles y adecuados para explicar posibles relaciones entre datos parasitológicos y distintos tipos de variables explicativas (Lefebvre et al. 2002, Zuur et al. 2009, Katahira et al. 2011). Así, Agnew et al. (2003) empleó una combinación de GLM y GAM para determinar la influencia de factores ambientales sobre la infección del mixosporidio *Kudoa alliaris*, y Podolska & Horbowy (2003) un GLM para examinar qué factores influían sobre la prevalencia e intensidad de *A. simplex* (*s.l.*). Estos modelos presentan ciertas ventajas con respecto a los análisis tradicionales, como test paramétricos estándar o análisis no paramétricos, sobre todo en estudios parasitológicos (Wilson et al. 1996, Wilson & Grenfell 1997). Los parásitos tienden a agregarse en la población de su hospedador y, generalmente, su distribución no es empíricamente descrita por la distribución normal (Crofton 1971, Rousset et al. 1996, Shaw et al. 1998). Tanto los GLM, GAM como los ZAM permiten especificar una distribución del error binomial negativa, en contraste con los modelos de regresión lineal clásicos que asumen una distribución normal (Wilson et al. 1996). Otra ventaja que presentan estos modelos sobre los test no paramétricos es la posibilidad de analizar conjuntamente distintas variables explicativas y las posibles interacciones entre ellas. Esto hace posible introducir en el análisis un amplio rango tanto de talla del hospedador como geográfico, además de datos de diferentes estaciones y años. Los modelos GAM permiten explorar relaciones complejas entre variables mediante funciones no paramétricas y semi-paramétricas sin hacer asunciones *a priori* de las relaciones entre variables (Zuur et al. 2009). La selección de los ZAM para explorar el efecto de las diferentes variables sobre la abundancia de *C. lophii*, se basó en su capacidad de analizar datos que presentaran un elevado porcentaje de ceros, lo cual hace posible construir un único modelo, introduciendo como variable dependiente la abundancia, en vez de combinar dos modelos, uno para prevalencia y otro para intensidad (Heilbron 1994, Zuur et al. 2009).

Los resultados de este estudio indicaron que las variables que presentaron un efecto significativo sobre los niveles de infestación de los parásitos estudiados en la mayoría de los análisis realizados, fueron la longitud total del rape y las variables espaciales, principalmente las factoriales (stock y división ICES). Los niveles de infestación de *Anisakis* Tipo I, *P. decipiens* (*s.l.*), *C. lophii* y *S. lophii* aumentaron con el tamaño del rape, y se encontraron diferencias de parasitación en rapas procedentes del stock norte y sur, y de las diferentes divisiones ICES.

La relación entre la talla del hospedador y los niveles de infestación de parásitos ha sido bien estudiada (Poulin 2000). Generalmente resulta positiva y estadísticamente significativa (entre otros, Midtgaard et al. 2003, Rello et al. 2009, Cañás et al. 2010, Gutiérrez-Galindo et al. 2010). Sin embargo, se ha demostrado que presenta una elevada variabilidad que podría ser debida a aspectos biológicos y ecológicos inherentes al sistema hospedador-parásito (regulación denso-dependiente del número de parásitos, transmisión y comportamiento del parásito en el hospedador, patogenicidad, etc.) o a errores en la toma y el procesamiento de los datos (tamaño muestral, rango de talla del hospedador examinado, etc.) (Poulin 2000, Pérez del Olmo 2008). En este estudio se examinó la relación entre el tamaño del rape y los niveles de infestación de los parásitos, obteniendo resultados variables para las distintas especies de nematodos. La prevalencia y la intensidad de *Anisakis* Tipo I, y la prevalencia de *P. decipiens* (*s.l.*) aumentaron significativamente con el tamaño del rape. Sin embargo, no se observó correlación entre la talla del hospedador y los niveles de infestación de *H. rigidum*, en este caso, la longitud total no afectó a la intensidad del parásito y su relación con la prevalencia presentó tendencias opuestas en el stock norte y sur (positiva y negativa, respectivamente), indicando que no existe una correspondencia real entre ambas variables. Son escasos los datos cuantitativos publicados sobre este parásito, aunque existe más información sobre otro miembro del género, *H. aduncum*, del que se publicaron resultados, sobre la correlación entre talla del hospedador y niveles de infestación, de diversa tendencia (Rello et al. 2008, 2009, Cañás et al. 2010, Karl & Levsen 2011). En el caso de *Anisakis* Tipo I y *P. decipiens* (*s.l.*), esta relación puede ser debida a una mayor ingestión de presas infectadas y a la acumulación de los parásitos en la cavidad visceral. La alimentación de los rapas cambia con la edad (Crozier 1985, Laurenson & Priede 2005) y esto puede afectar a su fauna parásita. En los primeros años de vida no todas las presas de los rapas son hospedadores intermediarios de estos parásitos, mientras que muchas de las

especies de peces que les sirven de alimento a juveniles desarrollados de rape y adultos, sí lo son (por ejemplo, merluza y lirio (Crozier 1985, Laurenson & Priede 2005)). El incremento de los niveles de infestación de ambos parásitos con la talla del hospedador ha sido observado en otras especies de peces marinos como bertorella, lirio y bacalao (Des Clers 1991, Fernández et al. 2005, Valero et al. 2006). Sin embargo, también se han notificado casos en los que el tamaño del hospedador no afectó a la abundancia de *Anisakis* spp., o lo hizo negativamente (Rello et al. 2008, Karl & Levsen 2011). Esta amplia variabilidad en la relación de la talla del hospedador y los niveles de infestación de los parásitos nematodos ya ha sido citada previamente por Poulin (2000). En función de lo expuesto, se propone que la variabilidad encontrada en este estudio se debe, principalmente, a factores biológicos y ecológicos inherentes al sistema hospedador-parásito, y no a interferencias estadísticas, teniendo en cuenta que para el estudio de los tres parásitos se ha examinado el mismo número de muestras (502) y rango de talla de rape (12 - 89 cm).

Los análisis revelaron que los niveles de infestación de *C. lophii* aumentaron significativamente con la talla del hospedador, coincidiendo con resultados previos obtenidos por Cañás et al. (2010). Prevalencias e intensidades mayores para peces más grandes y de mayor edad se han citado también en muchas asociaciones copépodo-hospedador (entre otros, Bortone et al. 1978, Kabata 1981, Anderson & Gordon 1982, Poulin et al. 1991, Pascual et al. 2005, Timi & Lanfranchi 2006). En el caso de *C. lophii*, esta interacción puede ser debida a la acumulación del parásito con el tiempo, ya que se considera que el copépodo no abandona su hospedador hasta que muere. En el stock norte, la probabilidad de que un rape sea infectado por *C. lophii* aumenta hasta que alcanza 50 cm de longitud total (Lt), se mantiene relativamente constante entre 50 y 100 cm y disminuye a partir de 100 cm. El incremento inicial podría estar relacionado con el hecho de que los peces al aumentar de tamaño presentan una mayor superficie de infección, y una circulación de agua por unidad de tiempo más abundante a través de sus branquias, atrayendo así a más copepoditos (estado infectivo de los copépodos) (Poulin et al. 1991). La mayor prevalencia observada en tallas intermedias (50 - 100 cm de Lt) indica que posiblemente exista una preferencia del parásito por estas tallas. En este sentido, se ha observado que estados infectivos del parásito *Salmincola edwardsii*, en la búsqueda de hospedador, responden a señales visuales y mecánicas incrementando su actividad natatoria, y que hospedadores de mayor tamaño son más estimulantes que los de menor tamaño

(Poulin et al. 1990, 1991). La disminución de la prevalencia en los rapes mayores de 100 cm, podría estar relacionada con cambios en la fisiología y comportamiento del hospedador; se podría pensar que estos individuos serán capaces de generar corrientes más fuertes en el flujo de agua que atraviesa la cavidad branquial, lo cual podría provocar que los parásitos se liberaran (Shotter 1973, Etchegoin & Sardella 1990). Sin embargo, la explicación más plausible es que *C. lophii* tenga cierta capacidad de selección entre hospedadores disponibles y que exista un tamaño o talla óptimo, como ya fue observado para otros copépodos parásitos (Timi & Lanfranchi 2006).

Con respecto a *S. lophii*, se encontró un cierto efecto de la talla del rape sobre su prevalencia, observándose los valores mayores en rapes grandes. Esta relación también se citó en estudio previos (Canning & Lom 1986). Debido a que aún se desconoce en gran parte el ciclo de vida de este protozoo parásito no se pueden realizar interpretaciones concretas sobre los resultados obtenidos.

Conocer y tener en cuenta la relación entre la talla del hospedador y los niveles de infestación de los parásitos que permanecen un largo periodo de tiempo en el pez, como es el caso de los nematodos anisákidos y el copépodo *C. lophii* en el rape, es básico para examinar posibles diferencias geográficas entre grupos que presenten tallas medianas diferentes dentro de una población (Abaunza et al. 1995). Un ejemplo de esto se observó con *Anisakis* Tipo I. En el análisis exploratorio, en donde no se tuvo en cuenta el efecto del tamaño del rape, la mayor intensidad y prevalencia correspondieron a las áreas geográficas donde la talla mediana del rape fue mayor, el stock norte y divisiones ICES pertenecientes a éste. Sin embargo, los modelos GLM para prevalencia e intensidad de este parásito, por stock y división ICES, en los que se incluyó el efecto de la talla, indicaron que los niveles de infestación más elevados estaban en el stock sur y las divisiones ICES VIIIc y IXa.

En general, la distribución de los parásitos marinos depende de factores abióticos (por ejemplo, temperatura y salinidad) y bióticos (ciclo de vida del parásito y especificidad con el hospedador, comportamiento y disponibilidad de hospedadores tanto intermediarios como definitivos) (MacKenzie & Abaunza 2005, Pascual et al. 2007, Timi 2007). La determinación de los factores que afectan a la distribución es compleja, porque también lo es el sistema hospedador-parásito y puede tener influencia una característica del parásito, del hospedador o de la propia asociación entre ambos

(Poulin et al. 2011). Tratar de explicar las diferencias en los niveles de infestación de los tres nematodos y *C. lophii* entre stocks y divisiones ICES en función de factores ambientales no resulta sencillo. La diferencia de temperatura y salinidad media del agua en el fondo marino (10.5°C - 35.568‰ y 12°C - 35.641‰ en las aguas de los stocks norte y sur, respectivamente (ICES 2010a)), no parece suficiente para influir de forma determinante sobre la distribución de los parásitos estudiados. Además, en el área de estudio no existen gradientes drásticos en las condiciones ambientales que puedan causar variaciones latitudinales marcadas en las comunidades parásitas presentes en los peces de ese área, como sucede en otras zonas del Atlántico Suroeste (Pascual et al. 2007, Timi 2007). Para los parásitos que se transmiten por vía trófica (como los nematodos estudiados) los hábitos alimenticios del rape, y las consecuencias de diferencias en la disponibilidad de presas (hospedadores intermediarios de los parásitos) entre las áreas estudiadas, podría ser una posible explicación de mayor peso, a las diferencias en los niveles de infestación de dichos parásitos entre los stocks norte y sur de rape (Sanmartín et al. 2000, González & Poulin 2005, González & Oliva 2009, McClelland & Melendy 2011). Otro factor a tener en cuenta es la distancia geográfica, ya que se ha indicado una disminución de la similitud de las comunidades parásitas entre algunos hospedadores, es decir, poblaciones de organismos cercanas presentan más similitudes en cuanto a los parásitos y sus abundancias que aquellas más alejadas (Poulin 2003, Perdiguero-Alonso 2008, Pérez del Olmo et al. 2009, Poulin et al. 2011). En este trabajo tan sólo se han estudiado 5 parásitos del total de la fauna parásita del rape, pero cabría esperar que si la distancia geográfica es un factor que afecta a la composición parasitaria de los peces, también pueda influir sobre los niveles de infestación de los parásitos examinados.

Como se dijo anteriormente, el grado de especificidad de un parásito con el hospedador es otro factor que influye en su distribución. *Anisakis* Tipo I es un parásito generalista, cuya transmisión y persistencia está asociada a la capacidad de infectar a múltiples especies de hospedadores que coexisten en la misma área, lo que amplía sus oportunidades para expandir su distribución geográfica. El número de hospedadores que pueden intervenir en su ciclo de vida es muy numeroso, desde peces teleósteos a mamíferos marinos que pertenecen a las familias Delphinidae, Balaenopteridae, Phocoenidae y Ziphiidae, entre otras (Fernández et al. 2004, Lehnert et al. 2005, Mattiucci et al. 2005, Mattiucci & Nascetti 2006). Esto indica que tiene un bajo grado de especificidad, en consonancia con su amplio rango geográfico de

distribución.

En nuestro caso, los niveles de infestación de *Anisakis* Tipo I fueron mayores en el stock sur. Comparando nuestros resultados con los de estudios previos realizados sobre rape en las costas gallegas, se observó que la prevalencia de este parásito se ha mantenido relativamente constante en el tiempo (tomando valores entre 75 y 100%), mientras que la intensidad aumentó en el periodo en que existe este tipo de información: 9 (Quinteiro 1990), 19 (Abollo et al. 2001) y 48 (este estudio). También en otras especies de peces marinos, como la faneca, se informó de un aumento de este parásito (Abollo et al. 2001, Rello et al. 2008). Este incremento puede estar relacionado probablemente con prácticas desarrolladas en la pesca comercial; la evisceración del pescado fresco a bordo de los buques, y la posterior eliminación de las vísceras infestadas al mar, podría causar un aumento de la abundancia de este parásito, ya que otros peces o mamíferos marinos comerían las vísceras descartadas, infectándose (López & López 2000, Abollo et al. 2001).

P. decipiens (*s.l.*) también se encontró en toda el área de estudio, pero la prevalencia observada en el stock sur (4%) fue significativamente inferior a la del stock norte (51%). Este parásito presenta una mayor especificidad que *Anisakis* Tipo I en cuanto a sus hospedadores definitivos. En la plataforma sur del Atlántico Nordeste, tan sólo se han encontrado adultos en la foca común (*Phoca vitulina*) y foca gris (*Halichoerus grypus*) (McClelland 2002), cuyos límites de distribución más meridional se hallan en las Islas Británicas (Ridgway & Harrison 1981), aunque se ha informado de avistamientos puntuales en las costas españolas (Arronte et al. 2008). En estudios parasitológicos previos de rape (Quinteiro 1990, Køie 1993a), la presencia de este parásito fue citada en las islas Feroe, pero no en el norte de España, zona que no forma parte del área de distribución de especies incluidas dentro de *P. decipiens* (*s.l.*) (*P. krabbei*, *P. decipiens* (*s.s.*) y *P. bulbosa*) que habitan en el Atlántico Nordeste (Mattiucci & Nascetti 2008). Por tanto, con este trabajo se aporta la primera referencia de *P. decipiens* (*s.l.*) en *L. piscatorius*, en aguas del Cantábrico y noroeste de la península ibérica. La presencia de este parásito en esta zona se explicaría mediante el transporte desde zonas más septentrionales, sea por sus hospedadores definitivos cuando se aproximan a esta área, por el rape o por otro hospedador intermediario que forme parte de su dieta.

En este estudio se muestra por primera vez la variación espacial cuantitativa de los niveles de infestación de *C. lophii* en el Atlántico Nordeste. Este parásito fue más abundante en las regiones más septentrionales del área de estudio (stock norte, divisiones ICES VIIbc), donde prevalencia, intensidad y abundancia media alcanzaron los valores máximos. *L. piscatorius*, es el único hospedador conocido de *C. lophii* (Kabata 1979), por lo que, al no intervenir más organismos en el ciclo de vida del parásito, la disponibilidad de rapés que puedan ser parasitados es un factor determinante en su distribución espacial. Existe un gradiente latitudinal de la talla media de los rapés, esto es, en las aguas del sur y suroeste de Irlanda, los rapés son de mayor tamaño que en el norte y noroeste de España (ICES 2011b). Debido a la relación positiva entre los niveles de infestación del parásito y el tamaño del hospedador, es lógico pensar que en las áreas donde la talla media del rape es mayor, habrá más parásitos y la probabilidad de infección será mayor. También se encontró una relación negativa significativa entre la prevalencia de *C. lophii* y la profundidad. El efecto de esta variable puede ser debido a diferentes factores ambientales como la luz, gradientes de temperatura, presión, salinidad, o a un efecto combinado de éstos (Rohde 1993). Los ectoparásitos son más sensibles a los cambios ambientales que los endoparásitos, ya que están sometidos directamente a ellos, lo que explicaría que el efecto de la profundidad sólo se haya encontrado en el único ectoparásito estudiado. La relación entre la prevalencia y profundidad hallada en este estudio también ha sido observada para otros ectoparásitos de peces marinos. Así, se indicó un descenso de los niveles de infestación del isópodo *Livoneca* sp. con la profundidad en aguas de Kuwait (Mathews & Samuel 1987) y en otras áreas, como en el suroeste de Australia y noroeste del Atlántico y Pacífico, se comprobó que la abundancia y diversidad de monogeneos parásitos fue menor en peces de aguas profundas que de aguas superficiales (Campbell et al. 1980, Campbell 1983, Rohde 1988).

Las variables temporales, año y estación, no presentaron, en general, un efecto significativo sobre los niveles de infestación de los parásitos. En los estudios de identificación de stocks, es conveniente repetir el muestreo en el tiempo para comprobar la estabilidad temporal de las diferencias o similitudes encontradas entre poblaciones (Abaunza et al. 2008b). Que el factor año no afectase significativamente a los niveles de infestación de los parásitos en los stocks norte y sur de rape, es indicativo de que la infestación no es un proceso aleatorio, se repite en el tiempo, y revela que no hay problemas de pseudorreplicación. Esto permitió tratar los datos

de los dos años de muestreo (2008 y 2009) como un único conjunto en el análisis multivariante, con la seguridad de que se obtendrían los mismos resultados que en un análisis independiente para cada año. Sin embargo la repetibilidad de los niveles de infestación de los parásitos en el tiempo no siempre se observa. Así, en el salmonete de roca (*Mullus surmuletus*) de la costa mediterránea de España, se han señalado diferencias entre los resultados en función de si se considera un año o dos de muestreo (Ferrer-Castelló et al. 2007), y se detalla extensamente la importancia de evitar la pseudorreplicación para poder hacer inferencias precisas sobre la estructura de stock de peces basadas en datos parasitológicos.

Con respecto a la estación, tan sólo se estudió su efecto en *C. lophii* y *S. lophii*, ya que las muestras empleadas en los análisis de los nematodos fueron recogidas en la misma estación, otoño de 2008 y 2009. En muchos peces marinos no es extraño encontrar, en primavera y verano, elevados niveles de infestación de copépodos parásitos (Carvalho & Luque 2011, Muñoz & Randhawa 2011), aunque esta observación no se puede tratar como una generalidad, pues hay casos en donde no se ha observado (Aguirre-Macedo & Kennedy 1999, Hayward et al. 2008, Timi et al. 2009). En nuestro estudio de *C. lophii* el componente temporal fue incorporado dentro de los modelos (ZANB) y no se detectaron tendencias claras. En 2007, la abundancia más alta se observó en verano, coincidiendo con la tendencia comentada anteriormente, pero ésta no se encontró en 2008 y 2009, por lo que se concluye que no hay un patrón estacional claro en la variación de los niveles de infestación de *C. lophii*. Las fluctuaciones observadas parecen ocurrir dentro del rango de variabilidad natural. En este mismo sentido, los resultados obtenidos para *S. lophii* coinciden con los del copépodo, y la estación no presentó un efecto significativo sobre la prevalencia del protozoo.

Basándose en los resultados de los análisis por parásito, se considera que *Anisakis* Tipo I, *P. decipiens* (s.l.), *H. rigidum* y *C. lophii* son buenos biomarcadores para la identificación de stocks de rape en aguas del suroeste europeo. Las larvas de nematodos anisákidos pertenecientes al género *Anisakis* representan uno de los mejores biomarcadores empleados hasta la fecha (MacKenzie 2002). La aplicación de marcadores genéticos para la identificación de las larvas de *Anisakis* a nivel de especie, y los aspectos biogeográficos de *Anisakis* spp., permitieron la identificación de stocks de diferentes especies demersales como la merluza, y pelágicas como el jurel y el pez

espada (*Xiphias gladius*) (Mattiucci et al. 2004, 2007, García et al. 2011). Especies pertenecientes al género *Pseudoterranova* también han sido ampliamente usadas en identificación de stocks de peces marinos como el bacalao y la platija americana (*Hippoglossoides platessoides*), entre otros (Boily & Marcogliese 1995, McClelland & Melendy 2007, 2011, Perdiguero-Alonso 2008).

El ciclo de vida de *Anisakis* Tipo I y *P. decipiens* (*s.l.*) está bien documentado y se asume que las larvas encapsuladas en las vísceras y músculo no abandonan su hospedador hasta que éste muere o es depredado (Anderson 1992, McClelland 2002, Klimpel et al. 2004, Mattiucci & Nascetti 2008). Si un parásito es común entre peces jóvenes y escaso entre adultos puede indicar que es *temporal* o bien que la subpoblación de peces infectados se ha visto rebajada por la presencia de peces no infectados de otras áreas (Lester 1990). Sin embargo, los niveles de infestación de ambos parásitos aumentaron con la talla del rape, lo que indica que estos parásitos son *permanentes* y, por lo tanto, poseen la característica más valorada para ser usados como biomarcadores.

El ciclo de vida de *H. rigidum* no ha sido descrito, pero se considera que los miembros del género *Hysterothylacium* presentes en el Atlántico Nordeste poseen un ciclo de vida semejante (Køie 1993b). No se observó una correlación positiva entre los niveles de infestación de *H. rigidum* con el tamaño del rape, pero se asume como parásito *permanente*, al igual que *H. aduncum*, parásito frecuentemente usado como biomarcador para diferenciar stocks de peces como el jurel y el bacalao (MacKenzie et al. 2008, McClelland & Melendy 2011). Los tres nematodos estudiados presentaron niveles de infestación diferentes entre los stocks norte y sur y relativamente estables entre años.

La abundancia de *C. lophii* entre el stock norte y sur fue muy diferente. Su ciclo de vida no ha sido descrito todavía, pero por afinidad con otras especies de la familia Chondracantidae, parece ser monoxeno y permanecer en el hospedador hasta su muerte (Kabata 1981, Izawa 1986), lo cual se ve apoyado por el hecho de que su abundancia aumenta con la talla del rape. Por lo tanto, al igual que los nematodos estudiados, se asume que posee la permanencia suficiente en el hospedador para ser usado como biomarcador. Los niveles de infestación fueron relativamente constantes entre años y, por otra parte, no se tiene constancia de que este parásito afecte a la salud

del rape, además de ser fácilmente detectable en la cavidad branquial del hospedador, ya que los individuos adultos tienen un tamaño medio de 1.2 cm (Kabata 1992). Este parásito no se ha usado previamente como marcador biológico, pero sí se ha empleado otra especie de la familia Chondracantidae, *Acanthochondria priacanthi*, para la identificación de stocks del pez *Arctoscopus japonicus*, en el Pacífico Norte (Yanagimoto & Konishi 2004). El uso de copépodos como biomarcadores no es tan habitual como el de nematodos anisákidos, pero se han nombrado casos en los que se establecieron como uno de los parásitos que mejor contribuían a la separación de stocks de diferentes especies de peces marinos como la merluza sudamericana (*Merluccius hubbsi*, *M. australis* y *M. gayi gayi*) y la anchoveta (*Engraulis ringens*) (MacKenzie & Longshaw 1995, Oliva & Ballón 2002, Valdivia et al. 2007).

Para examinar simultáneamente las variaciones de los niveles de infestación de los parásitos seleccionados, se realizó un análisis multivariante basado en sus abundancias, mediante una combinación de tres técnicas estadísticas no paramétricas (nMDS, ANOSIM y SIMPER) en lugar de técnicas paramétricas más conocidas, como el análisis discriminante, regresión logística, análisis de correspondencias o análisis de conglomerados, empleados con frecuencia en los estudios de identificación de stocks (Timi 2003, Brickle et al. 2006, Ferrer-Castelló et al. 2007, Valdivia et al. 2007, Higgins et al. 2010). Existen trabajos que comparan técnicas paramétricas (análisis discriminante) y técnicas no paramétricas (redes neuronales y *random forest*) que indicaron que las segundas eran más adecuadas para estudios de identificación de stocks empleando parásitos como biomarcadores (Power et al. 2005, Perdiguero-Alonso 2008). Sin embargo, las técnicas estadísticas más novedosas como las redes neuronales y los *random forest* también presentan sus limitaciones, y así, los *random forest* utilizan un algoritmo relativamente reciente y su aplicación todavía es escasa, pero tienen un elevado potencial para desarrollar modelos predictivos usando datos complejos. Por el contrario, nMDS, ANOSIM y SIMPER son de fácil aplicación, de forma conjunta ofrecen una alta fiabilidad de los resultados, y se vienen utilizando, no sólo para la identificación de stocks de peces marinos (Moore et al. 2011, Vales et al. 2011), sino también en estudios ecológicos como, por ejemplo, el realizado para explorar el efecto del vertido de petróleo sobre las comunidades parásitas de la boga (Pérez del Olmo 2008).

Los resultados obtenidos del ANOSIM y nMDS indicaron que el grado de similitud entre los stocks norte y sur de rape es elevado. Los parásitos que más aportaron a la discriminación entre stocks fueron el *Anisakis* Tipo I (40%), *C. lophii* (38%) y *P. decipiens* (*s.l.*) (19%). Estos resultados concuerdan con los presentados en el análisis por parásito, en el que *Anisakis* Tipo I y *C. lophii* mostraron diferencias significativas entre stocks tanto para la prevalencia como para la intensidad, y la variación de la prevalencia de *P. decipiens* (*s.l.*) fue muy elevada. Sin embargo, cabe destacar que aunque el valor del estadístico R del ANOSIM fue bajo (0.195), el análisis fue significativo ($p < 0.05$), lo que sugiere la existencia de diferencias en la abundancia de estos parásitos entre stocks, tal como se vio en el análisis por parásito, pero no suficientes para ser considerados dos stocks diferentes. Las abundancias y niveles de infestación similares entre distintas áreas de distribución de una especie indicarían la posibilidad de un único stock. Sin embargo, también puede suceder el caso de la existencia de dos o más stocks, y que no se hallen diferencias en los niveles parasitarios de infestación, si se dan condiciones igualmente favorables para la reproducción y transmisión de los parásitos entre las distintas áreas que conforman la distribución de esa especie (Moore et al. 2011). Así, la proporción relativa de las distintas especies del género *Anisakis*, identificadas genéticamente, ha permitido discriminar stocks de merluza y jurel en aguas europeas (Mattiucci et al. 2004, Abaunza 2008). Basándose en la comparación de la abundancia de los 4 parásitos seleccionados y por la similitud entre los niveles de infestación de estos parásitos en los stocks norte y sur, no hay fundamentos definitivos para apoyar la actual estructura de stock del rape en las aguas del suroeste europeo.

Por otra parte, tampoco se espera una población totalmente panmíctica de rape en las aguas del suroeste europeo, ya que las diferencias encontradas entre las unidades de gestión, aunque bajas, son debidas a variaciones reales entre los grupos estudiados y no al azar. El hecho de que el ANOSIM fuese significativo, indica la presencia de subpoblaciones dentro de un único stock, como se comentó anteriormente, posiblemente relacionadas con componentes de puesta. Las estructuras poblacionales complejas dentro de un único stock son frecuentes en otras especies de peces marinos como, por ejemplo, la caballa en el Atlántico Nordeste, que es evaluada y gestionada como un stock con tres componentes de puesta (ICES 2011c), y en otras especies australes de gádidos (Arkhipkin et al. 2009, Schuchert et al. 2010).

Finalmente, tanto de la morfometría de otolitos como del análisis parasitológico, se llega a la misma conclusión: en las aguas del suroeste europeo las evidencias biológicas indican que el rape *L. piscatorius* conforma un único stock, pero con la presencia de subpoblaciones. Para obtener una perspectiva más amplia sobre la estructura de stock del rape en esta zona, se revisan a continuación estos resultados, con los conocimientos derivados de otras técnicas relativas a aspectos fenotípicos de la biología del rape y genéticas.

Estructura de stock de rape

La estructura poblacional del género *Lophius* se ha examinado para determinadas especies y mediante diversas técnicas, principalmente la genética (isoenzimas y RAPD), en las áreas de distribución de *L. litulon*, *L. vomerinus* y *L. americanus* (Smith & Fujio 1982, Leslie & Grant 1990, Chikarmane et al. 2000). También se empleó la morfometría y la merística en el caso de *L. vomerinus* (Leslie & Grant 1990). La estructura de stock en el mar de Irlanda y en las aguas del oeste de Escocia de las dos especies europeas de rape, *L. piscatorius* y *L. budegassa*, fue analizada usando alozimas (Crozier 1987, 1988).

Son muchos los métodos para la identificación de stocks, si bien la combinación de los resultados de técnicas complementarias constituye lo más adecuado y completo para abordar este tipo de estudios (Begg & Waldman 1999, Abaunza et al. 2008a). Las técnicas aplicadas en el presente trabajo examinaron aspectos fenotípicos del rape que no habían sido analizados previamente en esta especie. Los resultados obtenidos, tanto en el análisis morfométrico de otolitos como en el análisis parasitológico, indicaron que, desde un punto de vista biológico, en la plataforma sur del Atlántico Nordeste hay un único stock que posee una estructura espacial compleja, y sugieren la existencia de subpoblaciones. La información de los estudios previos sobre la identificación de stocks de rape en las aguas del suroeste de Europa, la mayoría generada bajo el proyecto internacional GESSAN (Fariña 2002), se integró aquí para discutir la estructura de stock de rape. En este proyecto se aplicaron técnicas genéticas y fenotípicas: genética, marcado-recaptura, morfometría corporal, merística, reproducción y crecimiento (Fariña 2002, Fariña et al. 2004). No hay mucha información sobre los métodos relativos al ciclo vital y parámetros biológicos debido a las dificultades, tanto de obtener información sobre ciertos aspectos reproductivos de

las hembras, como a las inherentes a la determinación de la edad (Fariña et al. 2008). Aunque las técnicas de nuestro estudio y las del GESSAN se realizaron a distinta escala temporal y se aplicaron sobre diferentes individuos, se considera interesante integrar y discutir aquí la información básica disponible (obtenida de dicho proyecto y de otras referencias) para explorar la estructura espacial de rape.

La caracterización genética de rape en aguas del suroeste europeo basada en microsatélites de ADN sugirió la existencia de diferencias entre poblaciones de distintas áreas, si bien la variabilidad genética entre stocks fue baja (Blanco et al. 2008). Así, el 98 % de la heterogeneidad genética se atribuyó a las diferencias dentro de las poblaciones, lo que sugiere un alto flujo genético entre éstas (Fariña et al. 2004). Esta limitada estructura genética de rape (Fariña et al. 2004, Charrier et al. 2006) es consistente con los resultados de nuestros análisis parasitológico y la morfometría de otolitos, que apuntan la existencia de diferencias fenotípicas entre áreas de estudio, pero no discriminan los stocks norte y sur establecidos actualmente.

Estudios genéticos realizados a una escala espacial inferior, mostraron que las poblaciones de rape de la costa oeste de Escocia y del mar de Irlanda eran genéticamente similares (Crozier 1987, 1988). La baja variabilidad genética entre stocks se ha observado en diferentes especies demersales del Atlántico Nordeste como el rape negro, la merluza y el merlán (*Merlangius merlangus*), entre otras (Fariña 2002, Fariña et al. 2004, Charrier et al. 2007, Blanco et al. 2008, Pita et al. 2011). Al igual que sucede en muchos stocks, la falta de barreras físicas aparentes en el área de estudio favorecería el flujo genético mediante la dispersión larvaria y la migración de individuos adultos (Ward et al. 1994, Ward 2000). La tendencia del rape a la dispersión, en diferentes estados de su ciclo vital, ha sido documentada en referencias previas sobre dispersión larvaria (Hislop et al. 2001) y estudios de marcado-recaptura de juveniles y adultos, que sugieren una mayor capacidad de desplazamiento del rape de lo que tradicionalmente se creía (Fariña et al. 2004, Landa et al. 2008a). Se confirmó que el desplazamiento de estadios postlarvarios (juvelines y adultos) se produce entre stocks de manera bidireccional, desde el stock sur (división ICES VIIIc) al stock norte (división ICES VIIIab) y viceversa (Pereda & Landa 1997, Landa et al. 2008a), señalando que el cañón del Cap Bretón no actúa como una barrera física de separación entre el stock norte y el stock sur. Estos procesos de dispersión conllevarían un flujo genético entre stocks, siendo ésta una posible razón a la falta de

divergencia genética.

También se citaron desplazamientos entre el stock norte y el stock de la plataforma norte (Laurenson et al. 2005), lo que sugiere que el rape podría moverse por toda su área de distribución. Sin embargo, no se ha observado un patrón de migración, a diferencia de otras especies pelágicas en esta área como el jurel y la caballa, que realizan desplazamientos estacionales y de puesta (Villamor 2007, Abaunza et al. 2008c). Tampoco se ha podido aportar información precisa sobre la tasa de intercambio entre stocks, ya que el número de individuos de los que se pudo detectar desplazamiento es muy bajo. Sería necesario disponer de información detallada sobre la tasa de intercambio, para poder asegurar que el movimiento de juveniles y adultos de rape es uno de los factores que genera la falta de estructura genética.

Los estudios de marcado-recaptura, debido a sus altos costes y sus bajas tasas de recaptura, están siendo reemplazados por otras técnicas para determinar los patrones y tasas de movimiento entre poblaciones. El análisis químico de la parte externa del otolito es una alternativa que permitiría determinar el movimiento migratorio y que, recientemente, ha sido empleado en diferentes especies de peces (Arkhipkin et al. 2009, Schuchert et al. 2010). La base de este análisis radica en que la composición química de la parte más externa del otolito está influenciada por las condiciones ambientales a las que estuvo sometido el pez en los últimos meses de su vida. Si la muestra se toma en un periodo de tiempo relativamente corto después de que el pez migre, cabe esperar que su composición química sea igual al grupo de origen (Campana et al. 2000). Antes de proponer esta técnica para la determinación de la tasa de intercambio entre stocks de rape de la plataforma sur del Atlántico Nordeste, previamente debería verificarse que se cumplen las asunciones consideradas por Campana et al. (2000) para aplicarla como biomarcador natural, que son entre otras, que los grupos (en este caso el stock norte y sur) posean marcadores característicos y reproducibles.

En la identificación de stocks de peces marinos, los aspectos genéticos de la biología de una especie aportan información apreciable, principalmente cuando hay una estructura genética (Ward 2000). Sin embargo, cuando no la hay, como es el caso del rape, los resultados son ambiguos: pueden indicar que existe un único stock, o bien que hay dos o más stocks que todavía no se han separado, pues basta que exista

un mínimo flujo genético (1%) para que no se encuentre una variación significativa entre poblaciones (Ward 2000). Por este motivo, es fundamental complementar estos estudios con los fenotípicos, que permiten diferenciar individuos que han pasado periodos significativos de su vida en distintos ambientes, y que por lo tanto se podría asumir que forman parte de un stock diferente, a pesar de que exista una homeogeneidad genética entre ellos (Cadrin & Friedland 1999).

Los resultados del análisis de morfometría corporal y otolitos, merística y parásitos, no respaldan la actual separación entre los stocks norte y sur de rape, confirmando y reforzando las deducciones genéticas. Por otro lado, todas estas técnicas encontraron evidencias de la presencia de subpoblaciones, cuya situación y delimitación espacial son confusas, puesto que los resultados de las diferentes técnicas no concuerdan exactamente. Basándose en los análisis de morfometría corporal, se citó una segregación del rape de tres áreas geográficas en el suroeste europeo (VIIcj, VIIIabd y VIIIc) (Fariña et al. 2004, Duarte et al. 2004). Las divisiones VIIcj y VIIIabd pertenecen al stock norte, y sin embargo, están claramente diferenciadas. Además, fue mayor la proximidad entre las divisiones VIIIabd y VIIIc, que la compartida entre áreas del stock norte, a pesar de que la VIIIc pertenezca al stock sur. Ésto podría indicar que el área geográfica comprendida en las divisiones ICES VIIIabd es un área de mezcla entre stocks y como es más cercana al stock sur, se parece más a él que a otras áreas del mismo stock. La merística también indicó una segregación entre distintas zonas pero en menor grado que la morfometría del cuerpo (Duarte et al. 2004, Fariña et al. 2004). La forma de los otolitos y las características parasitarias sugieren también la presencia de subpoblaciones porque los test estadísticos (LDA y ANOSIM) fueron significativos. Sin embargo, en el escalamiento multidimensional, tanto métrico (otolitos), como no métrico (parásitos), no se distinguieron agrupaciones de datos que indicasen los límites de estos subgrupos. Superpuesto a todo esto hay que tener en cuenta además, que las divisiones ICES se establecen con fines estadísticos, y no corresponden a divisiones naturales de las poblaciones de peces.

Tanto las características del cuerpo como de los otolitos son fenotípicas y están definidas por una interacción entre genética y factores ambientales (Lombarte & Leonart 1993, Swain & Foote 1999, Swain et al. 2005, Schulz-Mirbach et al. 2008). Cabría esperar que los resultados obtenidos en ambos análisis fuesen en la misma dirección y juntos aportaran una mejor clasificación de los individuos en función de

su zona de captura, como sucedió en el bacalao del Atlántico Nordeste (Higgins et al. 2010). Sin embargo, en este caso no fue así; ninguno de los dos análisis aportó pruebas biológicas definitivas para confirmar la separación entre stock norte y sur y, aunque señalaron indicios de la presencia de subpoblaciones, los límites de éstas no coincidieron. Existe una diferencia temporal de 10 años entre algunos estudios de identificación nombrados, lo que podría suponer que los rapés examinados estuvieran sometidos a distintos factores ambientales que influyeran de diferente modo en sus características morfológicas. Además, a pesar de que el área de estudio fue la misma, en el trabajo desarrollado por Fariña (2002), se tomaron muestras en las divisiones ICES VIIIabd, que resultaron ser uno de los grupos con características morfológicas diferenciadas, y que no fueron examinadas en este trabajo. A la distinta metodología de muestreo, hay que añadir la dificultad intrínseca del estudio morfológico del cuerpo del rape, que presenta una alta variabilidad en su contorno debido a que su piel es muy flexible y carece de escamas, si bien esa dificultad se solventó en gran medida estableciendo como puntos de referencia de las distancias usadas como variables morfométricas, las espinas cefálicas (Leslie & Grant 1990, Duarte et al. 2004). Divergencias entre lo indicado por la morfometría del cuerpo y la de los otolitos también se observaron en otras especies como el jurel (Abaunza et al. 2008a, Murta et al. 2008, Stransky et al. 2008a), detectando más unidades de stock con la morfometría corporal que con la de otolitos, al igual que en este trabajo, lo cual indica que la primera técnica podría ser más sensible a variaciones tanto genéticas como ambientales que la segunda.

El estudio genético también apuntó la presencia de subpoblaciones; las muestras procedentes de la división ICES VIIIb fueron genéticamente diferentes del resto de muestras estudiadas (Fariña et al. 2004, Blanco et al. 2008). Como se puede observar, los límites espaciales de las subpoblaciones según los métodos genético, morfométrico y merístico no coinciden. La falta de concordancia entre la estructura de stock inferida de las técnicas genéticas y morfométricas también ha sido observada previamente para el rape sudafricano *L. vomerinus* (Leslie & Grant 1990).

El conjunto de la información disponible sobre la estructura de stock de rape, indica claramente que no hay una base biológica para consolidar la actual separación entre stock norte y sur en las aguas del suroeste europeo, y se puede concluir que la población de rape en estas aguas constituye un único stock. Sin embargo, esta unidad

de evaluación y gestión así considerada no es homogénea, y presenta una estructura espacial compleja. Para desarrollar una gestión eficiente de este recurso pesquero considerando un único stock, habría que conocer con detalle su estructura poblacional, lo que conllevaría la ubicación y determinación de los límites de las subpoblaciones.

En general, la formación de subpoblaciones viene determinada principalmente por la distribución de los estadios iniciales (fase de huevo y larva) del ciclo de vida de una especie condicionada por los procesos oceanográficos existentes en el área (Smedbol & Stephenson 2001). Si la puesta tiene lugar en una región que no permita la retención local de estos estadios, la probabilidad de segregación es baja, y lo contrario sucederá, si hay barreras que retengan y aislen estas fases tempranas.

A pesar de las numerosas referencias existentes sobre la reproducción del rape (Afonso-Dias & Hislop 1996, Quincoces et al. 1998, Duarte et al. 2001, Quincoces 2002, Laurenson 2006, Fariña et al. 2008), la información sobre la maduración, comportamiento reproductivo, periodo y localización de la puesta sigue siendo muy limitada. Ésto se debe esencialmente a la escasez de hembras maduras, o en puesta, encontradas en los muestreos y a un insuficiente conocimiento de la distribución de las fases larvarias (Laurenson et al. 2001, Fariña et al. 2008). No se conocen con exactitud las áreas de puesta y existen teorías contradictorias acerca de los efectos de la dispersión de las fases iniciales de vida de esta especie. Los huevos de rape, producidos dentro de una masa mucilaginosa, y las larvas pelágicas, son transportadas pasivamente. Se ha observado una amplia dispersión de estos estadios en las aguas del noroeste de Europa, lo cual favorecería la mezcla entre individuos de diferentes zonas y evitaría la formación de subpoblaciones (Hislop et al. 2001). Por el contrario, en esa área también se indicó una segregación geográfica y aislamiento de larvas, que favorecería la aparición de subgrupos (Swan et al. 2004). Por otra parte, se han documentado desplazamientos de rapas juveniles y adultos hacia aguas más profundas, que podrían estar relacionados con su actividad reproductiva (Laurenson et al. 2005, Landa et al. 2008a), lo que explicaría la dificultad indicada anteriormente, para encontrar hembras maduras o en puesta. Sin embargo, que estos movimientos fueran realizados tanto por individuos maduros como juveniles, sugiere que deben existir otros factores que inciten esa movilidad, como la disponibilidad de presas y la protección a condiciones ambientales desfavorables (Laurenson et al. 2005).

Este desconocimiento sobre la biología reproductiva del rape impide definir con certeza los límites de los posibles componentes poblacionales del stock de la plataforma sur del Atlántico Nordeste, teniendo en cuenta que el aislamiento reproductivo, causado por factores ambientales y por el comportamiento reproductivo, es un aspecto primordial que influye en la estructura poblacional. Por el contrario, cuando se posee un amplio conocimiento sobre la estrategia de vida de una especie, la complementación de distintas técnicas facilitan el conocimiento de la estructura poblacional, siendo el caso del jurel un ejemplo de esto (Abaunza 2008).

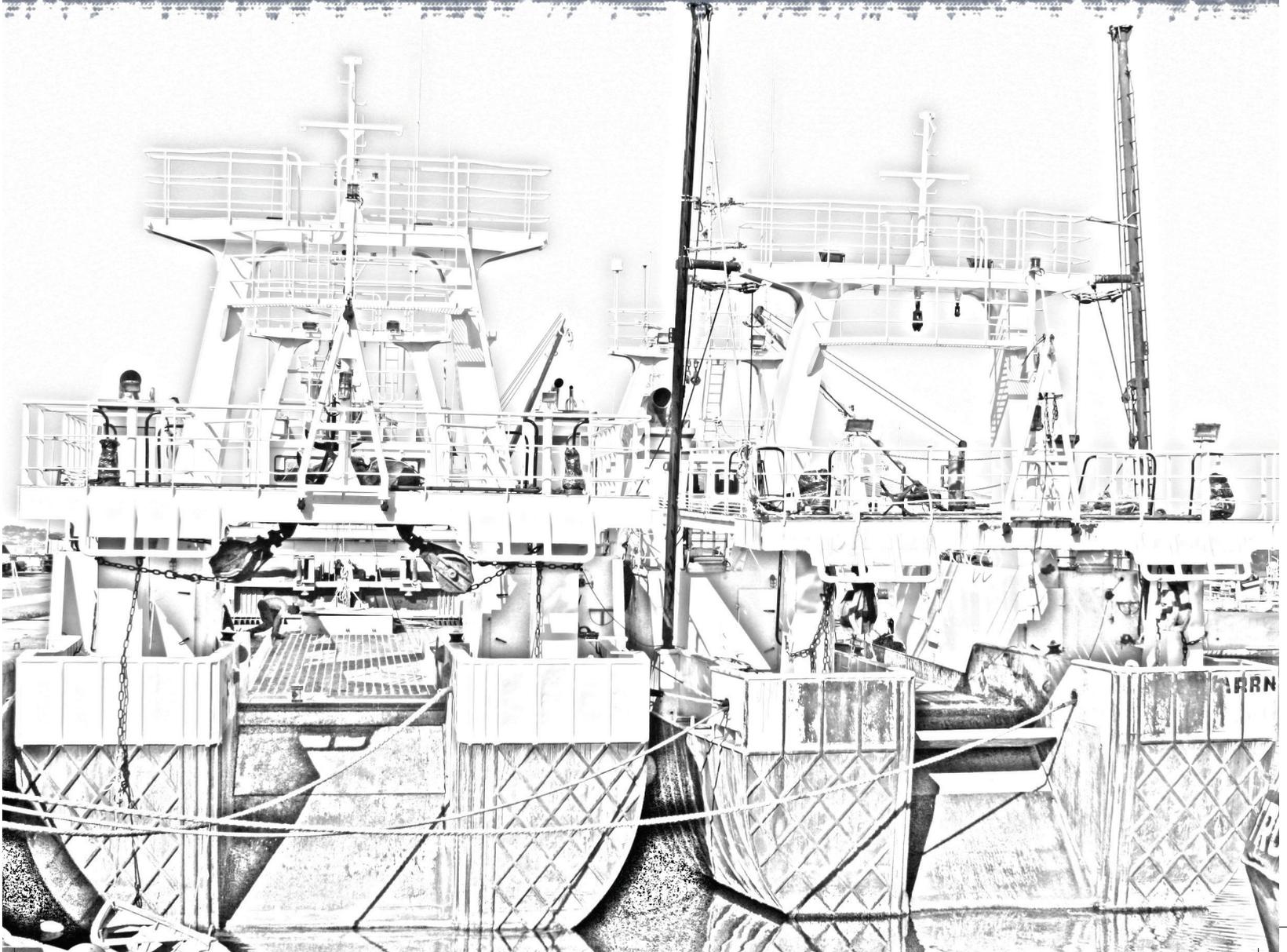
Las líneas futuras para avanzar en la determinación de la posible estructura espacial del rape, son profundizar en el estudio de los factores ambientales y biológicos que afectan a la formación de las subpoblaciones y, en especial, en los aspectos reproductivos del rape, la movilidad de esta especie a lo largo de su área de distribución y la interacción entre subpoblaciones. Una alternativa para investigar si existen diferentes zonas de puesta de rape en aguas del suroeste de Europa, podría ser el análisis químico del núcleo de los otolitos. Los elementos traza presentes en la zona central de esta estructura se acumulan durante las primeras fases de vida, y su análisis permitiría conocer las variaciones ambientales de la zona y época de puesta (Schuchert et al. 2010). Para el rape, se ha citado un cierto grado de segregación geográfica y aislamiento de las larvas aplicando esta técnica (Swan et al. 2004). Como una posible línea futura de investigación, se sugiere realizar un análisis químico del núcleo de los otolitos de rape, abarcando muestras de toda su área de distribución en las aguas europeas (o una parte representativa de ella), y dirigida a conocer la estrategia reproductiva de esta especie para definir de una forma más precisa su estructura de stock.

Los diferentes estudios de identificación de stocks aquí revisados coinciden en considerar que la población de rape en el área de estudio constituye un único stock. Consecuentemente, habría que considerar esta unidad en los procesos de evaluación y gestión de rape. Sin embargo, la presencia de subpoblaciones, sin definir espacialmente, podría afectar, en términos de evaluación y gestión, a sus procesos poblacionales y a la productividad. Con el objetivo de explorar las implicaciones que la modificación de los límites de los stocks de rape tendría en el proceso de evaluación, en el capítulo 8 se evaluó el estado del stock de rape bajo la consideración de un único stock y se comparó con los resultados previos de la evaluación según el enfoque actual de

separación en dos stocks. Se valora el riesgo de emplear los modelos de evaluación tradicionales, que asumen la homogeneidad total del stock y la ausencia de circulación de individuos entre stocks, en la elaboración de un consejo de gestión para todo el stock. Una evaluación integrada del stock, que incluya su heterogeneidad espacial, probablemente sería la opción más adecuada para stocks con estructura espacial compleja. Sin embargo, existen contrapartidas que deberían tenerse en cuenta antes de modificar las actuales unidades de evaluación y gestión. Las evaluaciones que integran la estructura espacial del stock, además de implicar una mayor complejidad de los modelos de evaluación, tienen requerimientos de datos biológicos y de las pesquerías a una escala tan baja que podrían hacer imposible la evaluación. Por otro lado, si la unidad de evaluación es mayor que las poblaciones biológicas, la percepción del estado del stock puede no ser precisa y conllevar un riesgo para la conservación del recurso.



Implicaciones de la estructura de stock de rape en su evaluación



La coincidencia de los límites de las unidades de gestión y la escala espacial de las poblaciones, subpoblaciones o componentes de puesta de un recurso pesquero es clave para realizar una evaluación precisa del estado del stock y gestión eficiente de la pesquería. Los modelos de evaluación de stocks más comunes y las estrategias de gestión asumen poblaciones discretas. Un desajuste en estos límites espaciales podría causar efectos negativos sobre el recurso y la pesquería y conducir a una percepción errónea del estado del stock, y por tanto, a medidas de gestión pesquera ineficaces.

Aunque los procesos de evaluación y gestión de pesquerías consideran el stock pesquero como unidad principal, su delimitación espacial no siempre se basa en criterios biológicos (Carvalho & Hauser 1994, Waples & Gaggiotti 2006, Reiss et al. 2009). Los actuales límites de los stocks de rape *L. piscatorius* en la plataforma sur del Atlántico Nordeste no están definidos atendiendo a criterios biológicos, sino por criterios político-administrativos y económicos; en esta área se consideran 2 stocks, norte y sur, establecidos por el ICES para llevar a cabo la evaluación y gestión de este recurso pesquero. En este capítulo se examinan las implicaciones sobre la evaluación, de la aplicación de un nuevo enfoque (derivado de los resultados obtenidos en este trabajo) sobre los límites de los 2 stocks. Primero se realiza una revisión histórica de cómo fue evaluado este recurso, y a continuación, se comparan los resultados de una evaluación independiente y conjunta de los stocks norte y sur de rape.

7.1. Evaluación en los stocks norte y sur de rapés

Los primeros pasos para determinar el estado de explotación de los rapés en el oeste europeo se desarrollaron entre 1986 y 1988, en el seno del *Working Group on Fisheries Units in Sub-areas VII y VIII* (WG-FU) (ICES 1986, 1987, 1988). Como medidas iniciales se elaboró una guía práctica para la recolección y almacenamiento de datos pesqueros, y se examinó el tipo de evaluación más adecuada para las 2 especies de rape europeo, *Lophius piscatorius* y *L. budegassa* (ICES 1988).

A partir de 1990, se comenzaron a evaluar anualmente ambas especies, distinguiéndose 2 áreas que abarcan 1) las divisiones ICES VIIb-k y VIIIab (correspondía al área estudiada por el WG-FU y comprende el área de distribución del llamado stock norte), y 2) las divisiones VIIIc y IXa (comprende el área de distribución del stock sur) (ICES 1990).

Las metodologías empleadas en la evaluación de ambos stocks fueron evolucionando paralelamente a la disponibilidad de datos y al desarrollo de nuevos modelos de evaluación, incluyendo: el análisis de cohortes de tallas, modelos estructurados por

edad (*extended survivors analysis*, XSA) y modelos de producción (Azevedo & Pereda 1997, ICES 1999, 2000, 2001, 2010b, 2011b).

Por otro lado, para la determinación de la edad de *L. piscatorius*, información clave para muchos modelos de evaluación, también se han seguido distintas aproximaciones: claves de talla-edad creadas siguiendo métodos teóricos (por ejemplo, Kimura & Chikuni 1987), o determinando las edades a partir del examen de 2 estructuras calcificadas, el ilicio y el otolito sagita (Azevedo & Pereda 1997, Duarte et al. 2005).

En el stock norte se aplicaron modelos basados en edades (XSA), hasta que en 2007, el *Working Group on the Assessment of Southern Shelf Stocks of Hake, Monk and Megrin* (WGHMM) rechazó este tipo de evaluación para ambas especies de rape, y propuso una evaluación basada en tendencias, que se mantiene en la actualidad (ICES 2012a). La causa fue que se detectaron deficiencias en los datos de entrada del modelo usado (XSA), por un incremento en los descartes, de los que se carece de información precisa, y por la falta de confianza en la determinación de las edades (ICES 2007). Desde entonces, la evaluación se basa en el estudio de las tendencias de los desembarcos por unidad de esfuerzo (LPUE) y en los datos de campañas de prospección pesquera, que incluyen índices específicos de abundancia y biomasa, y distribución de tallas. Al ser un stock compartido, la evaluación anual precisa del conjunto de datos recogidos por los principales países implicados en su explotación (España, Francia, Irlanda, Reino Unido y Bélgica).

La evaluación analítica del stock sur de rape (*L. piscatorius* y *L. budegassa*) se realiza desde 1998, empleando un modelo de producción en condiciones de no equilibrio, basado en el modelo de crecimiento poblacional de Schaefer (ASPIC) (Prager 1994) tanto para cada especie de rape por separado, como conjuntamente (Azevedo & Pereda 1997, ICES 2012a). En general, estas evaluaciones fueron aceptadas por el ACFM (*Advisory Committee on Fishery Management*), actualmente reconvertido como ACOM (*Advisory Committee*), y usadas para proporcionar consejos de gestión para la explotación sostenible de ambos recursos pesqueros. En 2007 se llevó a cabo una revisión de la evaluación de los rapes del stock sur; se ensayaron distintos modelos, y se descartaron los basados en la edad, de modo que se mantuvo el modelo ASPIC. Desde entonces las 2 especies de rape se evalúan separadamente (ICES 2011b). Al igual que en el stock norte, la poca fiabilidad en la determinación de la edad de esta especie impide la aplicación de modelos estructurados por edad. Los resultados de estudios recientes indican que el crecimiento fue subestimado hasta entonces (Fariña et al. 2008, Landa et al. 2008b) y se recomendaron nuevos métodos y

análisis para la validación de la edad (ICES 2008). El stock sur de rape *L. piscatorius* es explotado por España y Portugal y en su evaluación se emplean las series históricas de datos de los desembarcos internacionales y de 2 índices comerciales de abundancia correspondientes a la flota de arrastre con base en el puerto de A Coruña y a la flota de rasco (arte de enmalle dirigido a rape) con base en el puerto de Cedeira.

A principios de 2012 tuvo lugar una revisión de las evaluaciones de los stocks norte y sur de rapas, recuperando y actualizando datos de entrada y ensayando diferentes modelos para su evaluación (ICES 2012b). Para el stock norte se probaron diferentes configuraciones de modelos de producción (tanto para cada especie de rape por separado, como para el conjunto de ambas), y modelos estructurados por tallas, pero ninguno de ellos fue aceptado, por lo que se mantuvo la actual evaluación basada en tendencias. En el caso del stock sur, se aceptó un modelo estructurado por tallas implementado en *stock synthesis 3* (SS3) (Methot 2000), que será el empleado en las próximas evaluaciones del stock.

7.2. Resumen sobre el estado de los stocks de rape *L. piscatorius*

Tomando como referencia la evaluación realizada en 2011 (ICES 2011b), se indican los principales aspectos relacionados con el estado de explotación de los stocks de rape, *L. piscatorius*.

Stock norte

El estado del stock norte, desde un punto de vista cuantitativo, es *desconocido*, pues no se realiza una evaluación analítica. Sin embargo, en función de las tendencias de los datos de la principal campaña oceanográfica del stock (índices de abundancia y biomasa, y distribución de tallas) se deduce que la biomasa está decreciendo desde 2008, aunque al haber evidencias de buenos reclutamientos en 2008-2010 se espera un aumento de este parámetro en los próximos años (ICES 2011a, 2011b).

Stock sur

El modelo de producción empleado para la evaluación del stock sur de rape determina el estado del stock en términos relativos de mortalidad por pesca (F)

y biomasa (B), usando como referencia los valores correspondientes al rendimiento máximo sostenible, F_{MSY} y B_{MSY} . La estimación de la B de *L. piscatorius* al inicio de 2011 fue aproximadamente un 29% de la B_{MSY} , y la F en 2010 se situó por debajo de la F_{MSY} . Los valores de la B del rape fueron inferiores a la B_{MSY} en la serie temporal (1980 - 2011), en la que mostró un patrón decreciente desde principios de la serie, se mantuvo relativamente estable con valores bajos entre 1992 y 2008, y se incrementó lentamente a continuación hasta alcanzar el 29% de la B_{MSY} en 2011. La F fue superior a la F_{MSY} en toda la serie histórica, excepto en 2001, 2002 y 2010. Se realizaron proyecciones en diferentes escenarios para examinar la variación de la biomasa y la captura de rape a medio plazo: reducciones de la F desde un 10 a un 50%, F del 2010 (F_{sq}), F_{MSY} , sin capturas, y sumando y restando al TAC de 2011 su 15%. Se estimó un crecimiento de la biomasa del rape en todos los escenarios propuestos, que en 10 años alcanzaría la B_{MSY} en todos los casos, excepto en el que se usó la F_{sq} y la F_{MSY} . Si se asume una captura cero de rape, la B_{MSY} ya se alcanzaría en el 2015.

7.3. Evaluación de rape *L. piscatorius* como un único stock

En los capítulos anteriores de esta tesis se ha empleado el análisis morfométrico de los otolitos y el parasitológico como métodos de identificación de stocks de rape, y se han valorado conjuntamente estos resultados, con estudios previos de marcado-recaptura, morfométricos, merísticos y genéticos. Globalmente, los resultados sugieren que lo que, hasta el momento se consideran 2 stocks separados, stock norte (VIIb-k y VIIIabd) y stock sur (VIIIc, IXa), son desde el punto de vista biológico, una única población. Ante esta consideración (estrictamente biológica), la población de rape de la plataforma sur del Atlántico Nordeste debería ser evaluada como un único stock. Con el fin de explorar cómo afectaría esto a la evaluación de rape, se realizó un ejercicio de evaluación asumiendo una estructura única de stock. Los resultados obtenidos se compararon con los de la evaluación realizada para cada uno de los stocks (norte y sur), en el WGHMM de 2011 (ICES 2011b).

En el desarrollo de este ejercicio se ha aplicado un modelo de producción en no equilibrio, basado en el modelo de crecimiento poblacional de Schaefer (ASPIC) (Prager, 1994). Esta elección se realizó atendiendo, por una parte, a la disponibilidad de datos, que limita la aplicación de otros modelos más complejos, y a que hasta el año 2011, el stock sur fue evaluado con ASPIC, lo cual facilita la comparación de resultados. Para el ajuste del modelo se empleó la serie histórica disponible de desembarcos internacionales (1986-2010) y 4 índices de abundancia, siendo 2 índices

de flotas comerciales y 2 índices procedentes de campañas oceanográficas. Los índices de flotas comerciales correspondieron a la flota de arrastre de fondo de Vigo (SP-VIGO7¹)(1) y flota de arrastre de fondo de Francia en el mar Céltico (FR-FU04)(2), ambas operando en el considerado stock norte. Las series históricas de campañas de investigación correspondieron a la campaña EVHOE (EVHOE-WIBTS-Q4)(3) que prospecta las divisiones VII fghj y VIII ab, y a la campaña Demersales (SpGFS-WIBTS-Q4)(4), que explora las divisiones VIII c y IX a. Se realizaron pruebas previas introduciendo las series de datos comerciales usadas en la evaluación del stock sur de rape, SP-CORUTR8c y SP-CEDGNS8c (flota de arrastre de Coruña y flota de rasco de Cedeira, respectivamente), pero la correlación con las otras series de índices resultó baja, o negativa, por lo que se decidió no incluirlas. Las opciones del modelo, los puntos de inicio y los límites superior e inferior de cada parámetro se muestran en la Tabla 7.1. Se calcularon los intervalos de confianza del 80 % y 95 % de los parámetros estimados por el modelo mediante *bootstrap* con 1000 réplicas.

Tabla 7.1: Valores de entrada de los parámetros del modelo ASPIC aplicado para la evaluación de un único stock de *L. piscatorius*.

Parámetros	Valores de entrada
Tipo de error	YLD-Condición sobre el rendimiento
Número de réplicas <i>bootstrap</i>	1000
F máxima cuando se estima el esfuerzo	8.0000 (y-1)
Peso estadístico para $B_1 > K$	1.0
B_1/K (punto de inicio)	0.5
MSY (punto de inicio)	25000 (t)
K (punto de inicio)	250000 (t)
q (punto de inicio)	1: 6.4880E-06, 2: 2.2450E-06, 3: 3.8680E-08, 4: 2.6270E-08
Parámetros estimados	Todos: B_1/K , MSY, K, q1, q2, q3, q4
Mínimo y máximo de MSY	15000 (t)-70000 (t)
Mínimo y máximo de K	80000 (t)- 500000 (t)
Semilla	1964185

Se realizó un examen exploratorio de los desembarcos de rape por stock, y de los desembarcos por unidad de esfuerzo (LPUE). Las series de datos de desembarcos internacionales para toda el área, para el stock norte (que representa una media del 87 % del desembarco total) y para el stock sur, siguieron tendencias similares (Tabla 7.2 y Figura 7.1). Los desembarcos totales de rape disminuyeron desde 30536 t en

¹Se siguieron los acrónimos que utiliza el ICES, para nombrar a las flotas pesqueras y campañas de prospección

1986 hasta 15810 t en 1993, aumentando a 25375 t en 1997 y volviendo a descender en 2000 hasta valores próximos a los alcanzados en 1993. En la primera década del siglo XXI, se observó una tendencia general de incremento hasta 2007, seguido de otro descenso hasta 2010.

La evolución de los cuatro índices de biomasa usados en el modelo se muestran en la Tabla 7.3 y Figura 7.2. Los índices de las flotas comerciales indicaron un marcado incremento de la biomasa del stock entre los años 2000 y 2003, al que siguió un periodo con pequeñas variaciones, volviendo a aumentar en 2007. En este año se registró el máximo histórico de abundancia para ambos índices. En el caso de la flota de Vigo, la tendencia en los tres años últimos fue decreciente. Las tendencias de los índices de las campañas fueron similares entre 1997 y 2005; después de un periodo de descenso hasta 2000, se observó una tendencia general creciente hasta 2004/2005; los elevados valores observados en 2004 y 2005, en la campaña EVHOE y Demersales respectivamente, descendieron en los últimos años hasta valores intermedios, registrados en 2010 (1.85 kg/30 min y 1.29 kg/30 min).

Para comprobar la sensibilidad de los resultados del ajuste del modelo a los valores iniciales de los parámetros, se hizo un análisis de sensibilidad que incluía 7 ensayos, en los que se variaron los valores iniciales del máximo rendimiento sostenible (MSY), capacidad de carga (K) y los límites superiores e inferiores de ambos parámetros, las capturabilidades (q) de las 4 series de índices de abundancia empleadas y la relación entre la biomasa en el primer año y la capacidad de carga (B_1/K). En la Tabla 7.4 se muestran los valores estimados de la K, MSY, q de cada serie de datos, B_1/K y el ratio de B_{2011}/B_{MSY} y F_{2010}/F_{MSY} . Se observó que los valores estimados en cada uno de los ensayos ASPIC no diferían apreciablemente, lo cual indica la estabilidad en el ajuste del modelo.

En la Figura 7.3 se muestran los valores observados y estimados de los índices empleados en la calibración del modelo. La flota comercial francesa es la que presenta el mejor ajuste ($R^2 = 0.554$), mostrando los demás índices un seguimiento aceptable de los valores observados y estimados. El coeficiente de correlación entre los índices de abundancia empleados varió entre 0.435 y 0.643, correspondiendo estos límites respectivamente a Vigo-Demersales y Vigo-EVHOE (ver Anexo B).

La Tabla 7.5 contiene las estimas puntuales de los parámetros y las diferentes medidas de su incertidumbre derivadas del análisis *bootstrap*: sesgo relativo, intervalos de confianza y rangos intercuartílicos. La biomasa total al comienzo de 2011 se estimó como un 71 % de la B_{MSY} , con el intervalo de confianza del 95 % entre 48 % y

96 %. Se estimó un valor 1.01 para el ratio F_{2010}/F_{MSY} , con el intervalo de confianza del 95 % entre 0.77 y 1.39. Por lo tanto, la mortalidad por pesca estimada para 2010 coincidió con la F_{MSY} y la biomasa total en 2011 se estimó inferior a la B_{MSY} . El valor estimado para el MSY fue 31660 t, con el intervalo de confianza del 95 % desde 29840 t hasta 34070 t.

Tabla 7.2: Desembarcos internacionales en t (1986 - 2010) de *L. piscatorius* por divisiones ICES consideradas en la definición espacial del stock norte (VIIb-k, VIIIabd) y stock sur (VIIIc, IXa), y para todo el área.

Año	VIIb-k	VIIIabd	VIIIc	IXa	Total
1986	19544	4122	5123	1747	30536
1987	17180	4729	3763	1378	27050
1988	16147	3948	4778	1543	26417
1989	17584	2889	3790	1206	25470
1990	16374	3379	2424	1366	23543
1991	14071	2158	2268	1372	19869
1992	11456	1362	2228	1154	16200
1993	11894	1587	1510	819	15810
1994	14075	2045	1517	490	18126
1995	16618	3113	1403	431	21564
1996	18153	3988	2050	905	25096
1997	17743	3917	2640	1075	25375
1998	16786	2787	2271	710	22553
1999	16156	1473	1558	374	19562
2000	12941	1031	808	451	15231
2001	15221	1624	525	263	17633
2002	17710	2251	726	307	20993
2003	21654	3212	1633	645	27143
2004	23743	3971	2531	626	30871
2005	22098	3445	3000	643	29187
2006	22491	3407	2413	549	28861
2007	26071	3545	1964	386	31966
2008	21457	3127	2062	275	26921
2009	16376	2648	1909	371	21304
2010	16336	3177	1325	279	21117

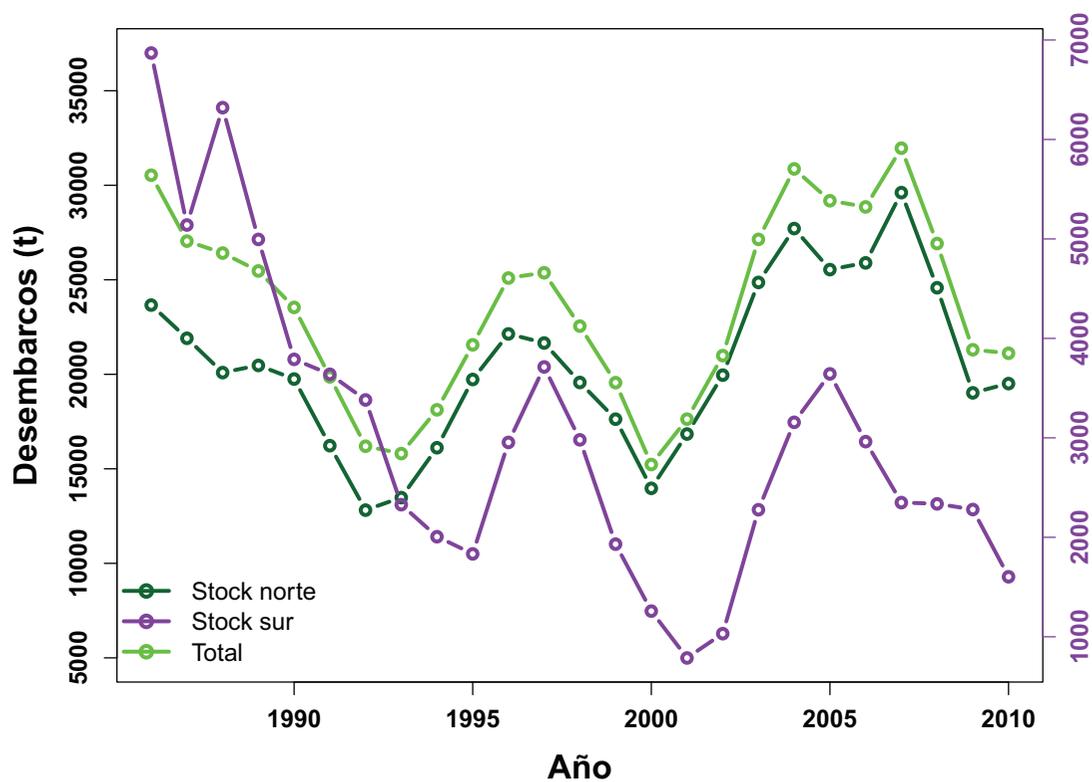


Figura 7.1: Desembarcos internacionales de *L. piscatorius* asignados al stock norte (VIIb-k, VIIIabd) y al stock sur (VIIIc, IXa), y para todo el área (1986 - 2010). Con objeto de comparar tendencias entre stocks, y dada la diferencia entre valores, el stock sur se referencia en el eje-y derecho y el stock norte en el eje izquierdo.

Tabla 7.3: Índices de biomasa (LPUE e índices de campañas, en kg por unidad de esfuerzo) empleados para ajustar el modelo de producción ASPIC para un único stock de rape (kg/d*CV = kilogramos por día y caballo de vapor, kg/10 h = kilogramos por 10 horas de arrastre, kg/30 min = kilogramos por 30 minutos de arrastre).

	SP-VIGO7	FR-FU04	EVHOE-WIBTS-Q4	SpGFS-WIBTS-Q4
Año	kg/d*CV	kg/10 h	kg/30 min	kg/30 min
1986	286	143		
1987	235	142		
1988	182	132		3.33
1989	210	102		0.44
1990	206	104		1.19
1991	184	82		0.71
1992	188	56		0.76
1993	268	60		0.88
1994	289	111		1.66
1995	410	131		2.19
1996	520	117		1.54
1997	440	105	1.53	1.69
1998	451	95	2.01	1.40
1999	428	52	1.25	0.75
2000	203	87	0.94	0.57
2001	239	103	2.34	1.09
2002	469	138	2.46	1.34
2003	598	191	2.27	1.67
2004	563	134	3.44	2.09
2005	591	170	2.77	3.05
2006	568	183	3.17	1.88
2007	627	233	3.45	1.65
2008	465	214	3.18	1.85
2009	339		2.60	1.07
2010	321		1.85	1.29

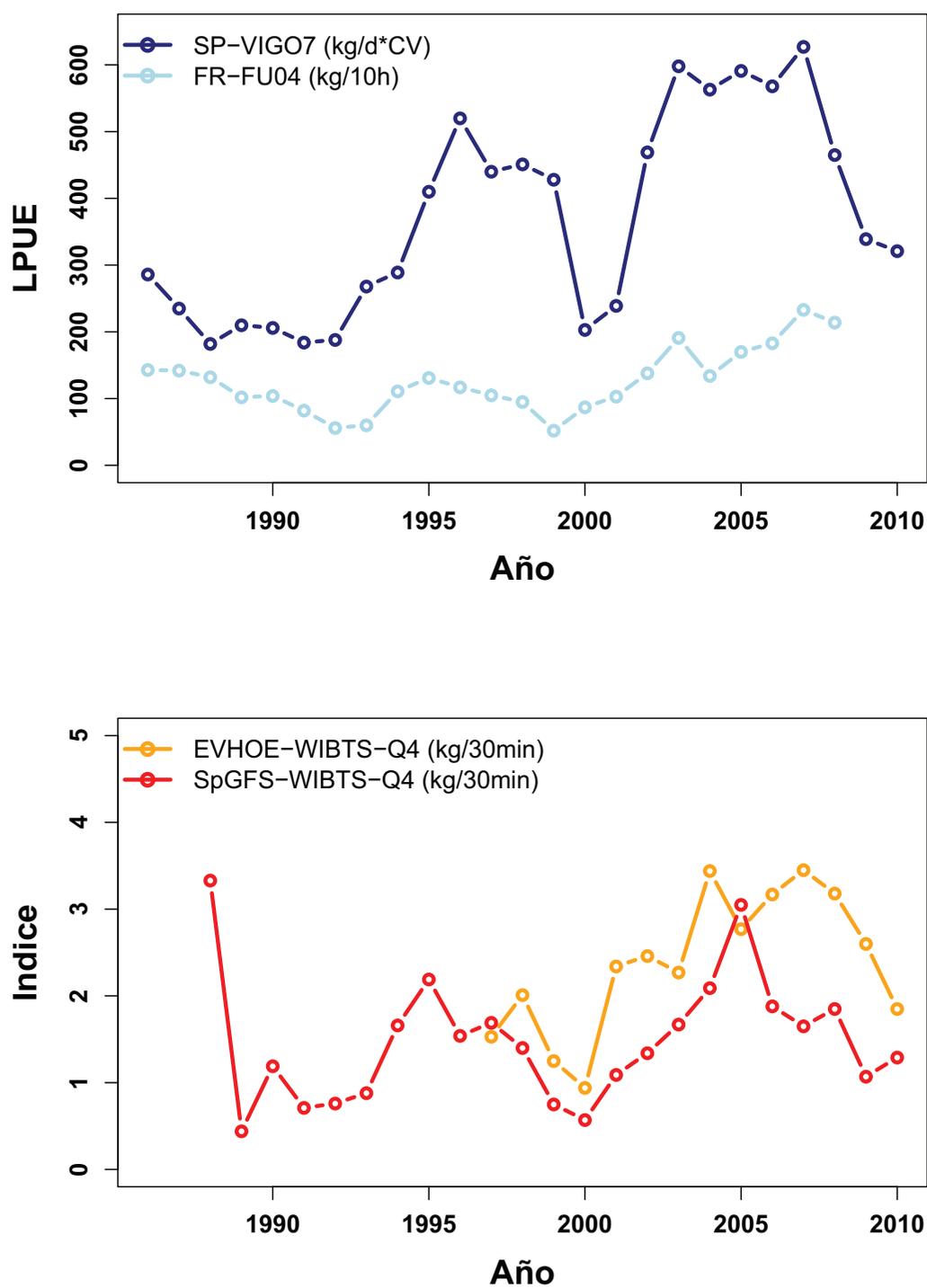


Figura 7.2: Desembarcos por unidad de esfuerzo (LPUE) de *L. piscatorius* capturado por flotas comerciales (arriba) e índices de biomasa de campañas oceanográficas (abajo).

Tabla 7.4: Valores de entrada (cursiva) y valores estimados por el modelo (normal) para los 7 ensayos ASPIC del análisis de sensibilidad para la evaluación de *L. piscatorius*. El ensayo 1 corresponde con la configuración seleccionada.

Parámetros	Ensayo						
	1	2	3	4	5	6	7
$K_{inicial}$	<i>250000</i>	<i>312500</i>	<i>187500</i>	<i>312500</i>	<i>187500</i>	<i>250000</i>	<i>250000</i>
K_{min}	<i>80000</i>	<i>80000</i>	<i>60000</i>	<i>80000</i>	<i>60000</i>	<i>80000</i>	<i>80000</i>
K_{max}	<i>500000</i>	<i>625000</i>	<i>500000</i>	<i>625000</i>	<i>500000</i>	<i>500000</i>	<i>500000</i>
$MSY_{inicial}$	<i>25000</i>	<i>31250</i>	<i>18750</i>	<i>31250</i>	<i>18750</i>	<i>25000</i>	<i>25000</i>
MSY_{min}	<i>15000</i>	<i>15000</i>	<i>11250</i>	<i>15000</i>	<i>11250</i>	<i>15000</i>	<i>15000</i>
MSY_{max}	<i>70000</i>	<i>87500</i>	<i>70000</i>	<i>87500</i>	<i>70000</i>	<i>70000</i>	<i>70000</i>
B_1/K	<i>0.5</i>	<i>0.5</i>	<i>0.5</i>	<i>0.8</i>	<i>0.8</i>	<i>0.5</i>	<i>0.5</i>
q(1)	<i>6.49E-06</i>	<i>8.11E-06</i>	<i>4.87E-06</i>	<i>8.11E-06</i>	<i>4.87E-06</i>	<i>6.49E-06</i>	<i>6.49E-06</i>
q(2)	<i>2.25E-06</i>	<i>2.81E-06</i>	<i>1.68E-06</i>	<i>2.81E-06</i>	<i>1.68E-06</i>	<i>2.25E-06</i>	<i>2.25E-06</i>
q(3)	<i>3.87E-08</i>	<i>4.84E-08</i>	<i>2.90E-08</i>	<i>4.84E-08</i>	<i>2.90E-08</i>	<i>3.87E-08</i>	<i>3.87E-08</i>
q(4)	<i>2.63E-08</i>	<i>3.28E-08</i>	<i>1.97E-08</i>	<i>3.28E-08</i>	<i>1.97E-08</i>	<i>2.63E-08</i>	<i>2.63E-08</i>
Semilla	<i>1964185</i>	<i>1964185</i>	<i>1964185</i>	<i>1964185</i>	<i>1964185</i>	<i>2455231</i>	<i>1473138</i>
K	128500	148200	140900	198600	166400	178300	157600
MSY	31660	31880	33300	38360	34050	34680	35750
Contraste	0.19	0.21	0.17	0.14	0.17	0.17	0.15
Proximidad	0.86	0.87	0.82	0.77	0.83	0.82	0.79
q(1)	1.04E-05	9.06E-06	1.04E-05	8.86E-06	8.99E-06	8.60E-06	1.04E-05
q(2)	3.68E-06	3.20E-06	3.63E-06	3.12E-06	3.15E-06	3.02E-06	3.61E-06
q(3)	6.17E-08	5.28E-08	6.17E-08	5.31E-08	5.27E-08	5.02E-08	6.18E-08
q(4)	4.10E-08	3.54E-08	4.06E-08	3.46E-08	3.50E-08	3.34E-08	4.05E-08
B_1/K	0.31	0.30	0.29	0.23	0.27	0.26	0.26
B_{2011}/B_{MSY}	0.71	0.74	0.64	0.54	0.65	0.64	0.56
F_{2010}/F_{MSY}	1.01	0.96	1.07	1.10	1.02	1.01	1.14

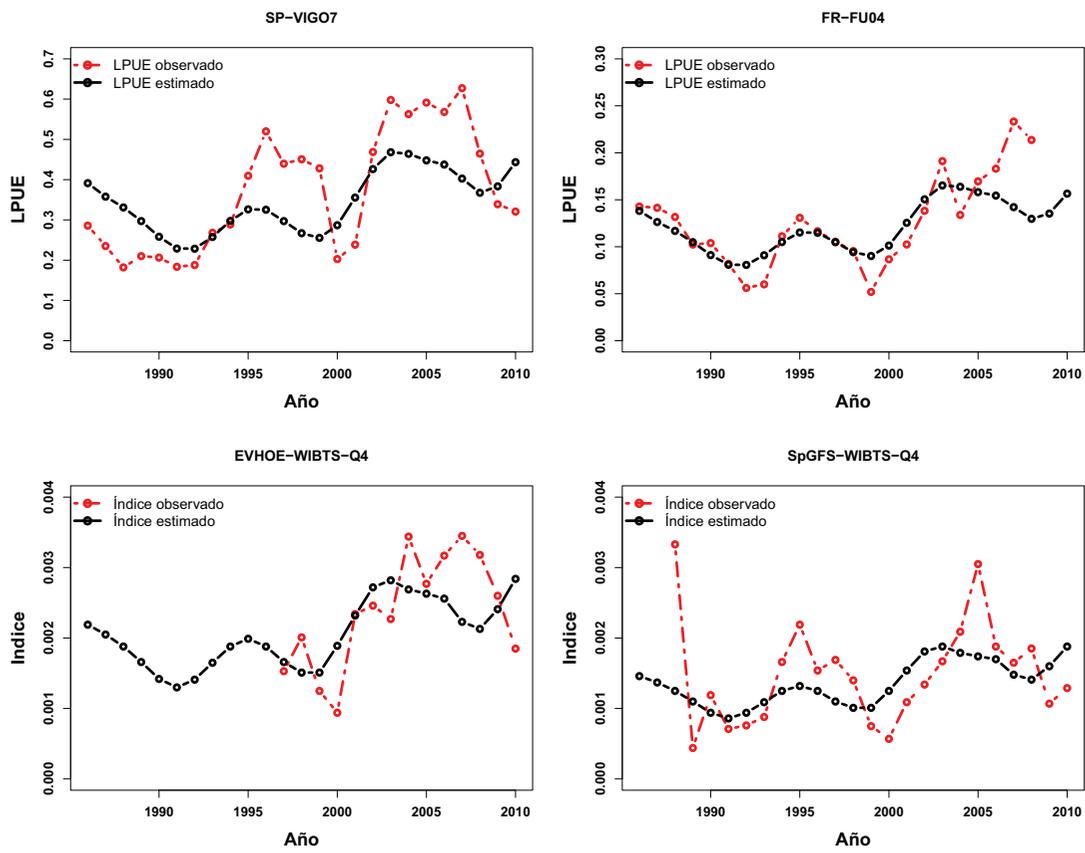


Figura 7.3: Índices de biomasa de *L. piscatorius* observados y estimados por el modelo ASPIC para las 2 flotas comerciales y las 2 campañas de prospección empleadas en el modelo de evaluación.

Tabla 7.5: Resultados del modelo ASPIC: parámetros estimados, sesgo relativo e intervalos de confianza *bootstrap* corregidos por el sesgo (I.C.), rango intercuartílico (IQ) y rango intercuartílico relativo (IQ-R). $Ye(2011)$: rendimiento en equilibrio disponible en 2011; $Y(F_{MSY})$: rendimiento disponible a F_{MSY} en 2011; Ye_{2011}/MSY : rendimiento en equilibrio disponible en 2011 como proporción de MSY; $f_{MSY}(1)$: ratio de esfuerzo pesquero a MSY para SP-VIGO7; $f_{MSY}(2)$: ratio de esfuerzo pesquero a MSY para FR-FU04; $f_{MSY}(3)$: ratio de esfuerzo pesquero a MSY para EVHOE-WIBTS-Q4; $f_{MSY}(4)$: ratio de esfuerzo pesquero a MSY para SpGFS-WIBTS-Q4.

Parámetros	Estima puntual	Sesgo relativo	I.C.				Rango IQ	Rango IQ-R
			-80 %	+80 %	-95 %	+95 %		
B_1/K	0.31	0.71 %	0.30	0.32	0.28	0.33	0.004	1.40 %
K	128500	1.23 %	124100	133400	113800	147300	3027	2.40 %
q(1)	1.04E-05	-2.63 %	9.66E-06	1.20E-05	9.10E-06	1.26E-05	1.20E-06	11.50 %
q(2)	3.68E-06	-2.12 %	3.33E-06	4.15E-06	3.06E-06	4.39E-06	4.42E-07	12.00 %
q(3)	6.17E-08	-2.76 %	5.44E-08	7.18E-08	4.92E-08	7.89E-08	9.66E-09	15.60 %
q(4)	4.10E-08	-1.58 %	3.71E-08	4.61E-08	3.40E-08	4.90E-08	4.98E-09	12.10 %
MSY	31660	-0.45 %	31220	32200	29840	34070	360	1.10 %
$Ye(2011)$	29080	-0.74 %	25840	30970	23730	31630	2920	10.00 %
$Y(F_{MSY})$	24230	-1.02 %	23490	24570	22820	24790	494	2.00 %
B_{MSY}	64270	1.23 %	62060	66700	56910	73630	1514	2.40 %
F_{MSY}	0.493	-1.06 %	0.473	0.513	0.427	0.533	0.014	2.90 %
$f_{MSY}(1)$	47280	2.19 %	41520	50520	39300	53310	4649	9.80 %
$f_{MSY}(2)$	133900	1.73 %	120700	146800	114100	155300	14540	10.90 %
$f_{MSY}(3)$	7980000	3.06 %	6878000	8909000	6422000	9716000	1145000	14.40 %
$f_{MSY}(4)$	12010000	1.26 %	10800000	13200000	10190000	13990000	1285000	10.70 %
B_{2011}/B_{MSY}	0.71	3.93 %	0.56	0.86	0.48	0.96	0.16	22.50 %
F_{2010}/F_{MSY}	1.01	0.33 %	0.84	1.25	0.77	1.39	0.22	21.50 %
Ye_{2011}/MSY	0.92	-0.24 %	0.81	0.98	0.73	1.00	0.09	10.30 %
q2/q1	0.353	0.99 %	0.308	0.401	0.287	0.433	0.049	13.90 %
q3/q1	0.006	0.18 %	0.005	0.007	0.005	0.008	0.001	16.60 %
q4/q1	0.004	1.49 %	0.003	0.004	0.003	0.005	0.001	13.80 %

En la Figura 7.4 se muestra la evolución histórica de los ratios de la mortalidad por pesca y la biomasa. La F estuvo por encima de la F_{MSY} a lo largo de toda la serie histórica con fluctuaciones acusadas, aunque la tendencia desde 2007 es decreciente, tomando en 2010 un valor muy próximo a F_{MSY} . La B se mantuvo siempre por debajo de la B_{MSY} con fluctuaciones menos acusadas que la F y con una tendencia general creciente, aunque en 2011 su valor todavía se encuentra un 29 % por debajo de B_{MSY} . Los intervalos de confianza del 80 % también indican que la F estuvo siempre por encima de la F_{MSY} (excepto en 2009 y 2010) y que la B nunca ha estado por encima de la B_{MSY} .

Para examinar la variación de la biomasa y la captura de rape en el futuro, se realizaron proyecciones a medio plazo (2011 - 2020), empleando el mismo modelo, en 3 escenarios diferentes: F *statu quo* (F_{sq}), F_{MSY} y el 90 % de F_{sq} ($F_{0.9}$). Las proyecciones de la B/B_{MSY} y las capturas se presentan en la Tabla 7.6, donde cada columna corresponde a un escenario de la mortalidad por pesca. Se espera que la biomasa de *L. piscatorius* aumente en todos los escenarios alcanzando la B_{MSY} para F_{MSY} en 2020 y para $F_{0.9}$ en 2015.

Los resultados presentados del ejercicio de evaluación de *L. piscatorius* considerando un único stock en las aguas del suroeste europeo, indicaron que en 2010 el stock fue explotado a niveles coincidentes con F_{MSY} y que la biomasa es el 71 % de la B_{MSY} . Si se comparan los resultados obtenidos con los publicados por el WGHMM en 2011 para el stock sur de rape (ICES 2011b), se observa que siguen la misma tendencia; la tasa de mortalidad por pesca descende en los últimos años (desde el 2007 y 2005, respectivamente), alcanzando valores inferiores a la F_{MSY} en 2010. La biomasa aumenta desde 2009 en ambos ejercicios, aunque la biomasa estimada para el stock sur es menor que la estimada para un único stock (29 % y 71 %, respectivamente). La comparación cuantitativa de la evaluación del stock norte con los resultados obtenidos en este ejercicio no fue posible, ya que en ese stock no se realiza una evaluación analítica (ICES 2011b). Sin embargo, en función de las tendencias de los índices de biomasa de la campaña EVHOE, la biomasa en este stock decrece desde 2008, contrariamente a lo observado en este trabajo, aunque se espera que ésta aumente, puesto que se han señalado evidencias de buenos reclutamientos en el periodo 2008-2010.

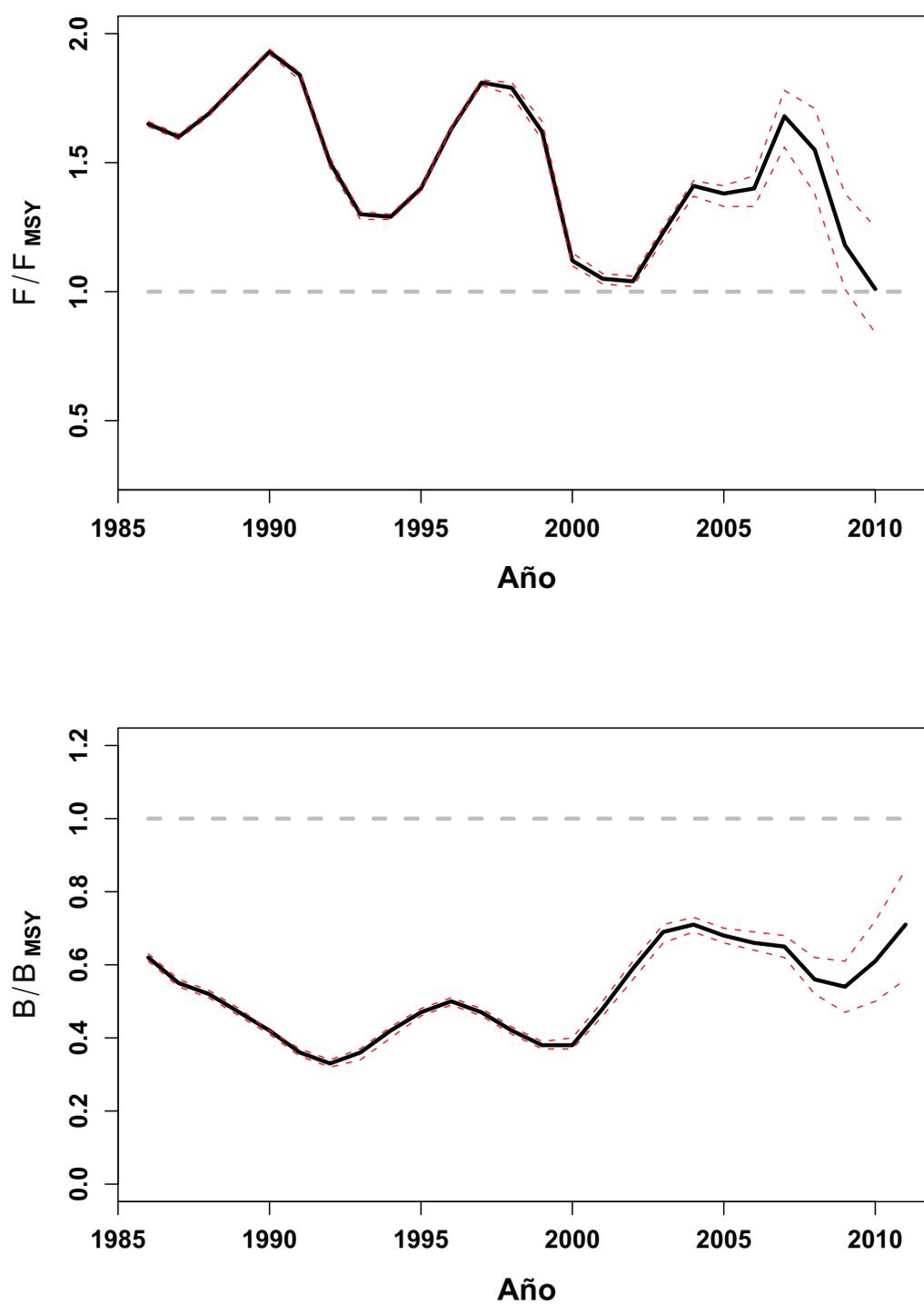


Figura 7.4: Evolución histórica de F/F_{MSY} (arriba) y B/B_{MSY} (abajo) (línea sólida negra) e intervalos de confianza del 80% (línea discontinua roja).

Tabla 7.6: Valores estimados de B/B_{MSY} , F/F_{MSY} y capturas desde 2011 a 2020 para proyecciones con F *statu quo* (F_{sq}), F_{MSY} y el 90% de F_{sq} ($F_{0.9}$).

Año	F/F_{MSY}			B/B_{MSY}			Capturas (t)		
	F_{sq}	F_{MSY}	$F_{0.9}$	F_{sq}	F_{MSY}	$F_{0.9}$	F_{sq}	F_{MSY}	$F_{0.9}$
2011	1.01	1.01	1.01	0.71	0.71	0.71	24230	24230	24230
2012	1.01	1.00	0.91	0.80	0.80	0.80	26640	26500	24510
2013	1.01	1.00	0.91	0.87	0.87	0.90	28380	28290	26960
2014	1.01	1.00	0.91	0.91	0.92	0.97	29560	29510	28640
2015	1.01	1.00	0.91	0.94	0.95	1.02	30340	30310	29720
2016	1.01	1.00	0.91	0.96	0.97	1.05	30830	30820	30390
2017	1.01	1.00	0.91	0.97	0.98	1.07	31150	31140	30790
2018	1.01	1.00	0.91	0.98	0.99	1.08	31340	31340	31030
2019	1.01	1.00	0.91	0.99	0.99	1.09	31460	31460	31180
2020	1.01	1.00	0.91	0.99	1.00	1.09	31540	31540	31260

7.4. Implicaciones en la evaluación de rape *L. piscatorius*

En este capítulo se ha determinado el estado de la población de rape en el suroeste de Europa atendiendo a la hipótesis de una estructura única de stock y se han presentado los principales fundamentos y resultados de la evaluación que se realizó (considerando la hipótesis actual de 2 stocks) en el WGHMM (ICES 2011b). La trayectoria histórica de la biomasa presentó patrones similares en la evaluación de único stock y en el stock sur. Desde el inicio de la serie temporal hasta el año 2000 se observó un descenso de la biomasa, con una tendencia general ascendente desde ese año, pero pasando por un periodo de relativa estabilidad a mediados de la década de 2000. Sin embargo, la estimación de la biomasa en el stock sur se situó a lo largo de toda la serie en valores inferiores a los determinados por el modelo de único stock. En el caso del stock norte, aunque no se ha determinado cuantitativamente el estado de la biomasa, se concluyó que la biomasa ha aumentado desde 2001 hasta 2008 (ICES 2011b), lo cual podría estar en línea con las estimaciones del modelo de único stock, si bien la tendencia decreciente de la biomasa del stock norte en los 3 últimos años no coincide con la del estado definido como único stock.

Bajo la evaluación de único stock, se considera que el stock de rape se está explotando en valores correspondientes al rendimiento máximo sostenible

($F_{2010}/F_{MSY}=1.01$) lo cual difiere del nivel de explotación actual del stock sur que se estimó ligeramente inferior al punto de referencia ($F_{2010}/F_{MSY}=0.85$), pero sí podría coincidir con la inferencia cualitativa de que el stock norte se está explotando a niveles que no deberían dañar el stock (ICES 2011b).

Como no se dispone de una evaluación analítica formal para el stock norte resulta difícil la comparación de los resultados de las 2 hipótesis de estructura de stock. Aun así, ambas coinciden al determinar que la población de rape se encuentra explotada a niveles iguales o inferiores a la mortalidad por pesca correspondiente al máximo rendimiento sostenible y que la biomasa actual se encuentra en niveles altos con relación a los de la serie histórica, y con tendencia a incrementarse en caso de mantener el nivel de explotación actual.

Los resultados de los estudios de identificación de stocks de rape sugieren que, desde una perspectiva biológica, existe un único stock de rape en el suroeste europeo y que el cañón del Cape Bretón no constituye una barrera geográfica entre poblaciones. Sin embargo, existen diferencias fenotípicas (morfometría corporal y otolitos, carga parasitaria y merística) y genéticas entre los rapes procedentes de ambos stocks (ver referencias en el capítulo anterior). Estas diferencias, aunque no sostienen la actual estructura de stock de rape, indicaron que podría no tratarse de una única población totalmente panmíctica y existir subpoblaciones dentro de la población de rape de las aguas del suroeste europeo. Estas subpoblaciones serían grupos semiindependientes con capacidad de reproducción propia que tienen un intercambio limitado con otras subpoblaciones vecinas.

La distribución espacial de los stocks es una respuesta a los requerimientos del ciclo vital de las especies, estableciéndose estructuras espaciales complejas que complican el proceso de evaluación del estado de los stocks. En los modelos de evaluación tradicionales, como es el caso del modelo de producción empleado en la evaluación de rape, se asume implícitamente la homogeneidad espacial del stock. Una de las implicaciones de las conclusiones de los estudios de identificación de stocks sería realizar la evaluación de estos 2 stocks como un único stock. La dinámica de este único stock probablemente estará dirigida por el stock norte al ser el componente más importante en términos de biomasa y desembarcos.

Aunque los estudios de identificación de stocks han aportado pruebas de que la población de rape en el suroeste europeo presenta una cierta estructura espacial, probablemente con subpoblaciones dentro de un único stock, no existe información sobre 2 aspectos claves en la determinación de la organización espacial: las tasas de

intercambio de individuos entre esas subpoblaciones y el aislamiento reproductivo. Solamente existen algunos datos que avalan la migración de ejemplares entre el stock norte y sur (Landa et al. 2008a), pero el número de observaciones fue bajo y las tasas de intercambio de ejemplares entre stocks no han sido estimadas.

Estudios de simulación han demostrado que la incorporación, en los procesos de evaluación, de la estructura espacial del stock, mediante las tasas de inmigración, tiene un efecto significativo en las estimas del tamaño del stock y de la mortalidad por pesca (Punt & Butterworth 1995, Porch et al. 2001, Hart & Cadrin 2004, Goethel et al. 2011). Se ha sugerido que sólo en el caso de existir altas tasas de migración entre subpoblaciones, el stock debería evaluarse como una unidad (Aldenberg 1975), mientras que ante tasas intermedias o bajas de intercambio entre subpoblaciones el modelo de evaluación debería incluir los movimientos entre subpoblaciones.

Otro aspecto a tener en cuenta es que diferentes subpoblaciones reaccionan de distinta manera a la explotación pesquera, por lo que una evaluación como un único stock que considere la estructura espacial aseguraría una gestión pesquera más precisa.

Sin embargo, la incorporación de la estructura espacial en el análisis de la evaluación es todavía poco frecuente debido a la no disponibilidad de suficientes datos y la complejidad de los modelos (Quinn II & Deriso 1999). A pesar de que en los últimos años se han desarrollado y simplificado los modelos de evaluación que integran información espacial (tales como: *integrated tagging catch-age analysis* (ITCAAN), *multifan-CL*, *multi-stock age-structured tag-integrated assessment model* (MAST) y *stock synthesis 3* (SS3)), los aspectos clave sobre aislamiento reproductivo y los patrones de movimiento de la población de rape siguen siendo desconocidos impidiendo esta evaluación integrada.

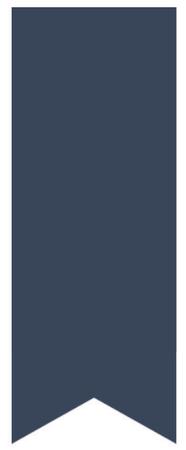
Considerar la población de rape como un único stock, que cubre un área geográfica muy amplia y del que hay evidencias de la presencia de subpoblaciones, tiene el riesgo de que si ocurren depleciones locales del stock, no serían detectadas por modelos de evaluación tradicionales y esto implicaría una disminución de su biomasa general (Smedbol & Stephenson 2001). La diferente reacción de los componentes del stock a la explotación pesquera debería ser un factor a considerar en la evaluación y gestión de rape. Un posible ejemplo de este efecto en el rape podría ser las tendencias de disminución de los desembarcos en el stock sur durante 1986-1995 y 1997-2001, que ocurrió de manera más brusca y hasta valores relativos mucho más bajos que en el stock norte (ICES 2012a). Esto podría explicar la peor situación de la biomasa estimada para el stock sur, que se recuperó desde niveles más bajos, con

respecto a la biomasa estimada para un único stock. Esta observación muestra que las depleciones locales pueden tener lugar de forma independiente en el stock único de rape, e indicarían la necesidad de una gestión diferenciada entre zonas basada en evaluaciones que modelen las subpoblaciones dentro del stock. Por lo tanto, si se evalúa y gestiona un recurso pesquero asumiendo un único stock complejo, el objetivo principal es la conservación de todas sus unidades poblacionales. Esto implicaría el mantenimiento de una biomasa frezante mínima en cada subpoblación, además de no alterar su composición de edades y la distribución temporal de la época de puesta. Si no se conoce en detalle la estructura poblacional de una especie explotada, como es el caso del rape, la peor estrategia de conservación y gestión sería asumir una población panmíctica, cuando en realidad presenta una organización espacial formada por diferentes subpoblaciones (Waples et al. 2008). Por el contrario, la gestión de las poblaciones por separado tendría un impacto menor sobre la sostenibilidad de la población total, aún en el caso de que el stock no fuese complejo (Viñas et al. 2011).

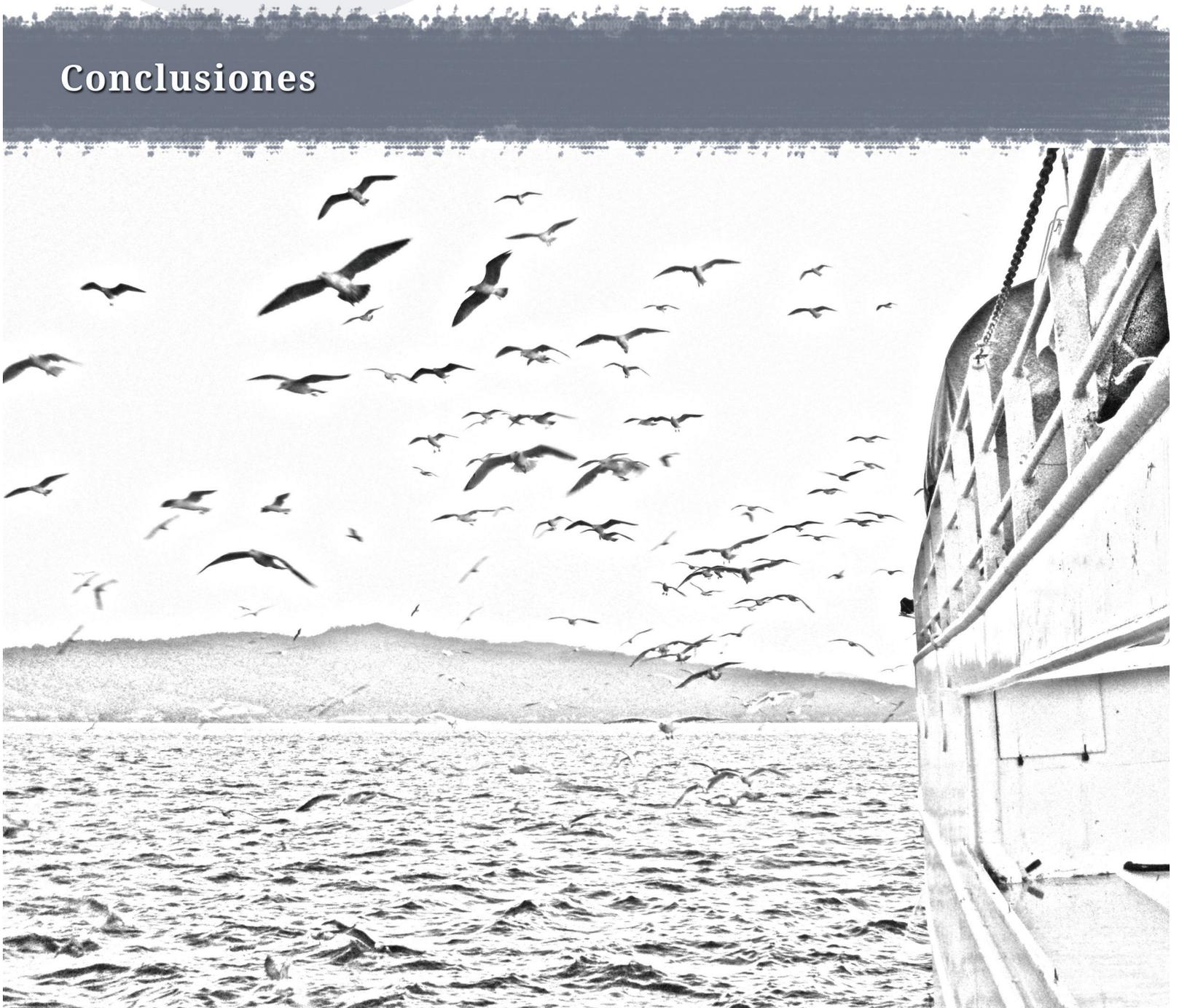
Incluir la estructura espacial en la evaluación es un aspecto clave, que permite reducir el sesgo en las estimas de biomasa y mortalidad por pesca. En casos en los que aún conociéndola, no se pudo incorporar en la evaluación la estructura espacial, se han realizado evaluaciones separadas a una escala espacial inferior, obteniéndose estimas más precisas del estado del stock que si se evaluara una región amplia (Punt 2003). Sin embargo la evaluación a una escala más fina no siempre ofrece unos resultados más precisos, ya que el intercambio de ejemplares entre áreas puede afectar al ajuste del modelo.

Teniendo en cuenta el conocimiento actual de la estructura de stock de rape y las posibles implicaciones de evaluar y gestionar la población como un único stock, se considera que los stocks de rape establecidos por el ICES en el suroeste europeo para la evaluación deberían ser mantenidos. En el caso de que en un futuro se cuente con un conocimiento más preciso de su estructura poblacional se debería realizar una aproximación con modelos de evaluación integrados que incorporen información de la estructura espacial.

8



Conclusiones



En este trabajo se han aplicado dos técnicas de identificación de stocks de rape, análisis morfométrico de otolitos y análisis parasitológico, para evaluar si la actual estructura de stock de esta especie en las aguas del suroeste europeo presenta una base biológica. En la aplicación de ambas se han empleado muestras de los mismos individuos, capturados en los stocks norte y sur en años consecutivos, 2008 y 2009. Considerando los resultados obtenidos en este estudio y en trabajos previos, se evaluó el estado del stock de rape, bajo la hipótesis de un único stock, y se comparó con la evaluación oficial realizada por el ICES en 2011, considerando dos stocks. A continuación se detallan las conclusiones obtenidas en este estudio:

1. El análisis morfométrico indicó que la forma del otolito varía con el tamaño del rape. El otolito se hace más alargado, a medida que el rape se desarrolla, a la vez que su anchura disminuye y su rostro se pronuncia. La longitud de esta estructura calcárea, anchura, perímetro, peso y área, están correlacionadas positivamente con la talla del pez. El sexo y el año no influyen significativamente sobre la forma del otolito. Los otolitos de los rapes del stock sur son morfológicamente más complejos, es decir, con un contorno más irregular, y más alargados, que los del stock norte.
2. Las diferencias morfológicas entre los otolitos de rape del stock norte y sur no son suficientes para sostener la separación entre stocks. No hay evidencias que soporten la actual estructura de stock de rape en aguas del suroeste europeo, aunque tampoco se espera una población totalmente panmíctica, ya que hay indicios de la existencia de subpoblaciones en esta área.
3. La caracterización morfológica y genética de los nematodos indican que las muestras examinadas se incluyen en los géneros *Anisakis*, *Pseudoterranova* e *Hysterothylacium*. Estas muestras pertenecen, respectivamente, a *Anisakis* larva Tipo I (*sensu* Berland 1961), en su mayoría a la especie *A. simplex* (*s.s.*), *Pseudoterranova decipiens* (*s.l.*) asumiendo que son *P. krabbei* o *P. decipiens* (*s.s.*) o una combinación de ambas, y a *Hysterothylacium rigidum*.
4. La variación de los niveles de infestación de los parásitos estudiados está principalmente determinada por el área geográfica y la longitud total del rape. El sexo del hospedador, año, estación, profundidad, latitud y longitud geográfica no presentan, en general, un efecto significativo sobre la prevalencia e intensidad de los parásitos.

5. *Anisakis* Tipo I es un parásito con una prevalencia elevada en todo el suroeste de Europa, siendo del 100 % para rapas mayores de 42 cm de longitud total. Es más abundante en el stock sur y divisiones ICES pertenecientes a éste. Su prevalencia e intensidad están correlacionadas positivamente con el tamaño del hospedador.
6. *P. decipiens* (*s.l.*) tiene una mayor presencia en el stock norte que en el sur (51 y 4%), pero la intensidad, aunque superior en el norte, no es significativamente diferente entre stocks (4 y 2). La prevalencia presenta una correlación significativa positiva con la longitud total del rape.
7. *H. rigidum* tiene una mayor presencia en el stock sur que en el norte (15 y 7%), aunque la diferencia entre stocks es menor que en el caso de *P. decipiens* (*s.l.*). La intensidad es semejante en toda la plataforma sur. El tamaño del hospedador no influyó sobre los niveles de infestación de este parásito.
8. La prevalencia de *Chondracanthus lophii* es mayor en el stock norte que en el stock sur (32 y 14%). Este parásito presenta una mayor prevalencia en aguas poco profundas (100 - 450 m) y existe un gradiente latitudinal ascendente en el stock norte, siendo las divisiones ICES VIIb y VIIc (10 y 6, respectivamente) el origen de los rapas más parasitados. Existe una correlación significativa positiva entre la prevalencia e intensidad de *C. lophii* y el tamaño del rape.
9. La presencia de *Spraguea lophii* fue superior al 50 % en ambos stocks de rape. La prevalencia de este parásito parece no estar influenciada ni por la zona de captura ni por cambios estacionales o interanuales. El tamaño del rape tampoco es un factor determinante para la presencia del parásito.
10. *Anisakis* Tipo I, *P. decipiens* (*s.l.*), *H. rigidum* y *C. lophii* son buenos biomarcadores para estudios de identificación de stocks de rape, en función de los resultados obtenidos en el análisis espacio-temporal y de las características de sus ciclos de vida. El protozoo parásito *S. lophii* no se valoró como buen biomarcador, debido a que no se obtuvieron datos concluyentes con respecto a su distribución espacial y al desconocimiento general sobre su transmisión y permanencia en el hospedador.
11. Los modelos estadísticos GLM, GAM y ZAM resultan adecuados para estudios parasitológicos en el campo de la identificación de stocks. En este estudio

permitieron definir los patrones de distribución espacial y temporal de los niveles de infestación de *Anisakis* Tipo I y *C. lophii* en rape mediante el análisis de datos con distribuciones agregadas y con gran cantidad de ceros.

12. El análisis multivariante indica que los parásitos que más aportan a la discriminación entre los stocks norte y sur son *Anisakis* Tipo I (40%), *C. lophii* (38%) y *P. decipiens* (*s.l.*) (19%), pero las diferencias entre las abundancias de los parásitos seleccionados no fueron suficientes para sostener la actual estructura de stock de rape en aguas del suroeste europeo. Sin embargo, sí hay indicios de la presencia de subpoblaciones en esta área, aunque de este estudio no se extrajo información suficiente para determinar la posición y límites geográficos de las poblaciones locales.
13. Valorando conjuntamente los resultados obtenidos en este trabajo (morfología de otolitos y parásitos) y los resultados de estudios previos (genética, morfometría del cuerpo, merística y marcado-recaptura), se concluye que no hay pruebas biológicas, ni genéticas ni fenotípicas, que apoyen la separación entre los stocks norte y sur establecidos por el ICES en la plataforma sur del Atlántico Norte. Sin embargo, hay información suficiente para afirmar que la población de rape que habita esta área está formada por subpoblaciones cuyos límites no se pueden determinar actualmente.
14. La evaluación del estado de la población de rape, considerando un único stock homogéneo indica que, el nivel de explotación actual del recurso se corresponde al rendimiento máximo sostenible ($F_{2010}/F_{MSY} = 1.01$) y que la biomasa del stock, con una tendencia creciente desde 2009, se estima que en 2011 sea de un 71% de la biomasa correspondiente al rendimiento máximo sostenible. La mortalidad por pesca estimada para un único stock está próxima, tanto a la del stock sur ($F_{2010}/F_{MSY} = 0.85$), como a la percepción cualitativa del stock norte. La trayectoria histórica de la biomasa presenta patrones similares entre el stock sur y el stock único, si bien la estima para 2011 en el stock sur es muy inferior ($B_{2011}/B_{MSY} = 0.29$).
15. Teniendo en cuenta el conocimiento actual de la estructura de stock de rape y las posibles implicaciones de evaluar y gestionar la población como un único stock, es preferible mantener los stocks de rape establecidos por el ICES en el suroeste europeo que iniciar un cambio en el proceso de evaluación que asuma un stock homogéneo sin considerar la variabilidad espacial del stock.

Bibliografía

- Abaunza, P. 2008. *Teoría y práctica en la identificación de stocks de peces de interés comercial. El jurel (Trachurus trachurus) como ejemplo de una aproximación holística a la identificación de stocks*. Tesis Doctoral, Universidad del País Vasco, España.
- Abaunza, P., A. G. Murta, N. Campbell, R. Cimmaruta, A. S. Comesaña, G. Dahle, E. Gallo, M. T. García Santamaría, L. S. Gordo, S. A. Iversen, K. MacKenzie, A. Magoulas, S. Mattiucci, J. Molloy, G. Nascetti, A. L. Pinto, R. Quinta, P. Ramos, A. Ruggi, A. Sanjuan, A. T. Santos, C. Stransky & C. Zimmermann. 2008b. “Considerations on sampling strategies for an holistic approach to stock identification: the example of the HOMSIR project.” *Fisheries Research* 89:104–113.
- Abaunza, P., A. G. Murta, N. Campbell, R. Cimmaruta, A. S. Comesaña, G. Dahle, M. T. García Santamaría, L. S. Gordo, S. A. Iversen, K. MacKenzie, A. Magoulas, S. Mattiucci, J. Molloy, G. Nascetti, A. L. Pinto, R. Quinta, P. Ramos, A. Sanjuan, A. T. Santos, C. Stransky & C. Zimmermann. 2008a. “Stock identity of horse mackerel (*Trachurus trachurus*) in the Northeast Atlantic and Mediterranean Sea: integrating the results from different stock identification approaches.” *Fisheries Research* 89:196–209.
- Abaunza, P., B. Villamor & J. R. Pérez. 1995. “Infestation by larvae of *Anisakis simplex* (Nematoda, Ascaridata) in horse mackerel, *Trachurus trachurus*, and Atlantic mackerel, *Scomber scombrus*, in ICES Divisions VIIIb, VIIIc and IXa (N-NW of Spain).” *Scientia Marina* 59:223–233.
- Abaunza, P., L. S. Gordo, M. T. García Santamaría, S. A. Iversen, A. G. Murta & E. Gallo. 2008c. “Life history parameters as basis for the initial recognition of stock

- management units in horse mackerel (*Trachurus trachurus*)." *Fisheries Research* 89:167–180.
- Abollo, E., C. Gestal & S. Pascual. 2001. "Anisakis infestation in marine fish and cephalopods from Galician waters: an updated perspective." *Parasitology Research* 87:492–499.
- Abramoff, M. D., P. J. Magalhães & S. J. Ram. 2004. "Image Processing with ImageJ." *Biophotonics International* 11:36–42.
- Afonso-Dias, I., C. Kalavati, K. MacKenzie & K. S. MacKenzie. 2007. "Three new species of Myxosporea (Bivalvulida: Ceratomyxidae: Alatasporidae) from the gall bladders of anglerfishes *Lophius* spp. (Teleostei: Lophiidae) in the Northeast Atlantic Ocean." *Zootaxa* 1466:35–46.
- Afonso-Dias, I. & K. MacKenzie. 2004. "A checklist of the protozoan and metazoan parasites reported from the anglerfishes *Lophius piscatorius* L. and *L. budegassa* Spinola." *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists* 24:246–252.
- Afonso-Dias, I. P. & J. R. G. Hislop. 1996. "The reproduction of anglerfish *Lophius piscatorius* Linnaeus from the north-west coast of Scotland." *Journal of Fish Biology* 49, Supplement A:18–39.
- Agnew, D. J., T. R. Marlow, K. Lorenzen, J. Pompert, R. C. Wakeford & G. A. Tingley. 2003. "Influence of Drake Passage oceanography on the parasitic infection of individual year-classes of southern blue whiting *Micromesistius australis*." *Marine Ecology Progress Series* 254:281–291.
- Aguirre-Macedo, M. L. & C. R. Kennedy. 1999. "Diversity of metazoan parasites of the introduced oyster species *Crassostrea gigas* in the Exe Estuary." *Journal of the Marine Biological Association of United Kingdom* 79:57–63.
- Aldenberg, T. 1975. "Virtual population analysis and migration, a theoretical treatment." ICES Document CM 1975/F: 32.
- Altschul, S. F., W. Gish, W. Miller, E. W. Myers & D. J. Lipman. 1990. "Basic local alignment search tool." *Journal of Molecular Biology* 215:403–410.
- Amigó, J. M., M. P. Gracia, H. Salvadó & M. Rius. 1993. "Preliminary report on elementary microanalysis of cysts of *Spraguea lophii* (Doflein, 1898) Weissenberg

- 1976, (Protozoa, Microspora) a microsporidian parasite of *Lophius piscatorius* L. (Teleostei: Lophiidae)." *Historia Animalium* 2:13–19.
- Anderson, R. C. 1992. *Nematode parasites of vertebrates: their development and transmission*. CAB International, Wallingford, Inglaterra.
- Anderson, R. M. & D. M. Gordon. 1982. "Processes influencing the distribution of parasite numbers within host populations with special emphasis on parasite-induced host mortalities." *Parasitology* 85:373–398.
- Arkhipkin, A. I., P. C. Schuchert & L. Danyushevsky. 2009. "Otolith chemistry reveals fine population structure and close affinity to the Pacific and Atlantic oceanic spawning grounds in the migratory southern blue whiting (*Micromesistius australis australis*)." *Fisheries Research* 96:188–194.
- Arronte, J. C., J. Höfer, C. Lobón, N. Rodríguez & C. Pérez. 2008. "Avistamientos, varamientos y capturas de mamíferos y quelonios marinos en Asturias." Informe Técnico contratado por la Consejería de Medio Ambiente del Principado de Asturias.
- Azevedo, M. & P. Pereda. 1997. "Anglerfish southern stocks assessment: state-of-the-art." *Working Document to the ICES Working Group on the Assessment of Southern Demersal Stocks* .
- Baer, J. G. 1971. *El parasitismo animal*. Ediciones Guadarrama, Madrid, España.
- Bartoli, P., D. I. Gibson & R. A. Bray. 2006. "*Prosorhynchoides gracilescens* (Rudolphi, 1819) (Digenea: Bucephalidae) from *Lophius piscatorius* L. is a species complex: a redescription of this species (*sensu stricto*) from the western Mediterranean and the description of *P. borealis* n. sp. from the northern North-East Atlantic." *Systematic Parasitology* 63:203–221.
- Begg, G. A. & J. R. Waldman. 1999. "An holistic approach to fish stock identification." *Fisheries Research* 43:35–44.
- Begg, G. A., K. D. Friedland & J. B. Pearce. 1999. "Stock identification and its role in stock assessment and fisheries management: an overview." *Fisheries Research* 43:1–8.

- Begg, G. A., W. J. Overholtz & N. J. Munroe. 2001. "The use of internal otolith morphometrics for identification of haddock (*Melanogrammus aeglefinus*) stocks on Georges Bank." *Fishery Bulletin* 99:1–14.
- Berg, E., T. H. Sarvas, A. Harbitz, S. E. Fevolden & A. B. Salberg. 2005. "Accuracy and precision in stock separation of north-east Arctic and Norwegian coastal cod by otoliths - comparing readings, image analyses and a genetic method." *Marine and Freshwater Research* 56:753–762.
- Berland, B. 1961. "Nematodes from some Norwegian marine fishes." *Sarsia* 2:1–50.
- Berryman, A. A. 2002. "Population: a central concept for ecology?" *Oikos* 97:439–442.
- Bigelow, K. A., C. H. Boggs & X. He. 1999. "Environmental effects on swordfish and blue shark catch rates in the US North Pacific longline fishery." *Fisheries Oceanography* 8:178–198.
- Blanco, G., Y. J. Borrell, M. E. Cagigas, E. Vázquez & J. A. Sánchez Prado. 2008. "Microsatellites-based genetic analysis of the Lophiidae fish in Europe." *Marine and Freshwater Research* 59:865–875.
- Boily, F. & D. J. Marcogliese. 1995. "Geographical variations in abundance of larval anisakine nematodes in Atlantic cod (*Gadus morhua*) and American plaice (*Hippoglossoides platessoides*) from the Gulf of St. Lawrence." *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 52, Supplement 1:105–115.
- Boje, J., F. Riget & M. Kjøie. 1997. "Helminth parasites as biological tags in population studies of Greenland halibut (*Reinhardtius hippoglossoides* (Walbaum)), in the North-west Atlantic." *ICES Journal of Marine Science* 54:886–895.
- Bolles, K. L. & G. A. Begg. 2000. "Distinction between silver hake (*Merluccius bilinearis*) stocks in U.S. waters of the Northwest Atlantic based on whole otolith morphometrics." *Fishery Bulletin* 98:451–462.
- Bortone, S. A., W. K. Bradley & J. L. Oglesby. 1978. "The host-parasite relationship of two copepod species and two fish species." *Journal of Fish Biology* 13:337–350.
- Brickle, P., K. MacKenzie & A. Pike. 2006. "Variations in the parasite fauna of the Patagonian toothfish (*Dissostichus eleginoides* Smitt, 1898), with length, season, and depth of habitat around the Falkland Islands." *Journal of Parasitology* 92:282–291.

- Burke, N., D. Brophy & P. A. King. 2008. "Otolith shape analysis: its application for discriminating between stocks of Irish Sea and Celtic Sea herring (*Clupea harengus*) in the Irish Sea." *ICES Journal of Marine Science* 65:1670–1675.
- Bush, A. O., K. D. Lafferty, J. M. Lotz & A. W. Shostak. 1997. "Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis et al. revisited." *Journal of Parasitology* 83:575–583.
- Cadrin, S. X. & K. D. Friedland. 1999. "The utility of image processing techniques for morphometric analysis and stock identification." *Fisheries Research* 43:129–139.
- Cadrin, S. X. & K. D. Friedland. 2005. Morphometric outlines. In *Stock identification methods: applications in fishery science*, ed. S. X. Cadrin, K. D. Friedland & J. R. Waldman. Elsevier Academic Press, Amsterdam, Holanda pp. 173–183.
- Cadrin, S. X., K. D. Friedland & J. R. Waldman. 2005. *Stock identification methods: applications in fishery science*. Elsevier Academic Press, Amsterdam, Holanda.
- Campana, S. E. 1999. "Chemistry and composition of fish otoliths: pathways, mechanisms and applications." *Marine Ecology Progress Series* 188:263–297.
- Campana, S. E., G. A. Chouinard, J. M. Hanson, A. Fréchet & J. Brattey. 2000. "Otolith elemental fingerprints as biological tracers of fish stocks." *Fisheries Research* 46:343–357.
- Campana, S. E. & J. M. Casselman. 1993. "Stock discrimination using otolith shape analysis." *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 50:1062–1083.
- Campbell, R. A. 1983. Parasitism in the deep sea. In *The sea, Volume 8*, ed. G. T. Rowe. Wiley-Interscience, Nueva York, Estados Unidos pp. 473–552.
- Campbell, R. A., R. L. Haedrich & T. A. Munroe. 1980. "Parasitism and ecological relationships among deep-sea benthic fishes." *Marine Biology* 57:301–313.
- Canning, U. E. & J. Lom. 1986. *The microsporidia of vertebrate*. Academic Press, Londres, Reino Unido.
- Capoccioni, F., C. Costa, J. Aguzzi, P. Menesatti, A. Lombarte & E. Ciccotti. 2011. "Ontogenetic and environmental effects on otolith shape variability in three Mediterranean European eel (*Anguilla anguilla*, L.) local stocks." *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 397:1–7.

- Cardinale, M., P. Doering-Arjes, M. Kastowsky & H. Mosegaard. 2004. "Effects of sex, stock, and environment on the shape of known-age Atlantic cod (*Gadus morhua*) otoliths." *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 61:158–167.
- Caruso, J. H. 1983. "The systematics and distribution of the Lophiid anglerfishes: II. Revisions of the genera *Lophiomus* and *Lophius*." *Copeia* 1983:11–30.
- Caruso, J. H. 1986. Lophiidae. In *Fishes of the north-eastern Atlantic and the Mediterranean, Volume 3*, ed. P. J. P. Whitehead, M. L. Bauchot, J. C. Hureau, J. Nielsen & E. Tortonese. UNESCO, Paris, Francia pp. 1362–1363.
- Carvalho, A. R. & J. L. Luque. 2011. "Seasonal variation in metazoan parasites of *Trichiurus lepturus* (Perciformes: Trichiuridae) of Rio de Janeiro, Brazil." *Brazilian Journal of Biology* 71:771–782.
- Carvalho, G. R. & L. Hauser. 1994. "Molecular genetics and the stock concept in fisheries." *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 4:326–350.
- Cañas, L., M. P. Sampedro & A. C. Fariña. 2010. "Influence of host biological features on macroparasites of the two European anglerfish species, *Lophius piscatorius* and *Lophius budegassa*, off North and Northwest Spain." *Journal of Parasitology* 96:191–193.
- Castonguay, M., P. Simard & P. Gagnon. 1991. "Usefulness of Fourier analysis of otolith shape for Atlantic mackerel (*Scomber scombrus*) stock discrimination." *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 48:296–302.
- Castro, J. 2011. *Gestión de pesquerías mixtas de la flota española de aguas europeas atlánticas no ibéricas*. Tesis Doctoral, Universidad de Vigo, España.
- Chambers, J. M. & T. J. Hastie. 1993. *Statistical models in S*. Chapman & Hall, Nueva York, Estados Unidos.
- Charrier, G., S. H. Coombs, I. H. McQuinn & J. Laroche. 2007. "Genetic structure of whiting *Merlangius merlangus* in the Northeast Atlantic and adjacent waters." *Marine Ecology Progress Series* 330:201–211.
- Charrier, G., T. Chenel, J. D. Durand, M. Girard, L. Quiniou & J. Laroche. 2006. "Discrepancies in phylogeographical patterns of two European anglerfishes (*Lophius budegassa* and *Lophius piscatorius*)." *Molecular Phylogenetics and Evolution* 38:742–754.

- Chikarmane, H. M., A. M. Kuzirian, R. Kozlowski, M. Kuzirian & T. Lee. 2000. "Population genetic structure of the goosfish, *Lophius americanus*." *The Biological Bulletin* 199:227–228.
- Clarke, K. R. 1993. "Non-parametric multivariate analyses of changes in community structure." *Australian Journal of Ecology* 18:117–143.
- Clarke, K. R. & R. M. Warwick. 2001. *Change in marine communities: an approach to statistical analysis and interpretation*. PRIMER-E, Plymouth, Reino Unido.
- Comisión Europea. 2006. "Comunicación de la Comisión al Consejo y al Parlamento Europeo: aplicación de la sostenibilidad de la pesca en la UE a través del rendimiento máximo sostenible." Bruselas, 4.7.2006, COM (2006) 360 final.
- Comisión Europea. 2011a. *Reglamento (UE) nº 57/2011 del Consejo, de 18 de enero de 2011, por el que se establecen, para 2011, las posibilidades de pesca para determinadas poblaciones y grupos de poblaciones de peces, aplicables en aguas de la UE y, en el caso de los buques de la UE, en determinadas aguas no pertenecientes a la UE*.
- Comisión Europea. 2011b. "Comunicación de la Comisión relativa a una consulta sobre las posibilidades de pesca." Bruselas, 25.5.2011, COM (2011) 298 final.
- Comisión Europea. 2012. *Reglamento (UE) nº 43/2012 del Consejo, de 17 de enero de 2012, por el que se establecen, para 2012, las posibilidades de pesca disponibles para los buques de la UE en lo que respecta a determinadas poblaciones y grupos de poblaciones de peces que no están sujetas a negociaciones o acuerdos internacionales*.
- Cordero del Campillo, M. & F. A. Rojo. 2007. *Parasitología general*. McGraw-Hill-Interamericana, Madrid, España.
- Crofton, H. D. 1971. "A quantitative approach to parasitism." *Parasitology* 62:179–193.
- Crozier, W. W. 1985. "Observations on the food and feeding of the angler-fish, *Lophius piscatorius* L., in the northern Irish Sea." *Journal of Fish Biology* 27:655–665.
- Crozier, W. W. 1987. "Biochemical genetic variation and population structure in angler-fish *Lophius piscatorius* L. from the Irish Sea and west of Scotland." *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 106:125–136.

- Crozier, W. W. 1988. "Comparative electrophoretic examination of the two European species of angler-fish (Lophiidae): *Lophius piscatorius* (L.) and *Lophius budegassa* (Spinola) and assessment of their genetic relationship." *Comparative Biochemistry and Physiology B* 90:95–98.
- Crozier, W. W. 1989. "Age and growth of angler-fish (*Lophius piscatorius* L.) in the north Irish Sea." *Fisheries Research* 7:267–278.
- Csirke, J. 1989. Changes in the catchability coefficient in the Peruvian anchoveta (*Engraulis ringens*) fishery. In *The Peruvian upwelling ecosystem: dynamics and interactions*, ed. D. Pauly, P. Muck, J. Mendo & I. Tsukayama. ICLARM Conference Proceedings 18, Instituto del Mar del Perú (IMARPE), Callso, Perú pp. 207–219.
- D'Amelio, S., K. D. Mathiopoulos, C. P. Santos, O. N. Pugachev, S. C. Webb, M. Picanço & L. Paggi. 2000. "Genetic markers in ribosomal DNA for the identification of members of the genus *Anisakis* (Nematoda: Ascaridoidea) defined by polymerase-chain-reaction-based restriction fragment length polymorphism." *International Journal for Parasitology* 30:223–226.
- Des Clers, S. 1991. "Functional relationship between sealworm (*Pseudoterranova decipiens*, Nematoda, Ascaridoidea) burden and host size in Atlantic cod (*Gadus morhua*)." *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 245:85–89.
- Duarte-Neto, P., R. Lessa, B. Stosic & E. Morize. 2008. "The use of sagittal otoliths in discriminating stocks of common dolphinfish (*Coryphaena hippurus*) off northeastern Brazil using multishape descriptors." *ICES Journal of Marine Science* 65:1144–1152.
- Duarte, R., I. Bruno, I. Quincoces, A. C. Fariña & J. Landa. 2004. "Morphometric and meristic study of white and black anglerfish (*Lophius piscatorius* and *L. budegassa*) from the south-west of Ireland to the south-western Mediterranean." ICES Document CM 2004/EE: 22.
- Duarte, R., J. Landa, C. Morgado, A. Marçal, S. Warne, E. Barcala, E. Bilbao, J. Dimeet, H. Djurhuus, E. Jónsson, H. McCormick, L. Ofstad, I. Quincoces, H. Rasmussen, A. Thaarup, T. Vidarsson & S. Walmsley. 2005. "Report of the Anglerfish *Illicia*/Otoliths Ageing Workshop." IPIMAR (Lisbon).

- Duarte, R., M. Azevedo, J. Landa & P. Pereda. 2001. "Reproduction of anglerfish (*Lophius budegassa* Spinola and *Lophius piscatorius* Linnaeus) from the Atlantic Iberian coast." *Fisheries Research* 51:349–361.
- Duarte, R., M. Azevedo & P. Pereda. 1997. "Study of the growth of southern black and white monkfish stocks." *ICES Journal of Marine Science* 54:866–874.
- Dupouy, H., R. Pajot & B. Kergoat. 1986. "Étude de la croissance des baudroies, *Lophius piscatorius* et *L. budegassa*, de L' Atlantique nord-est obtenue à partir de l' illicium." *Revue des Travaux de l' Institut des Pêches Maritimes* 48:107–131.
- Efron, B. & R. J. Tibshirani. 1993. *An introduction to the bootstrap*. Chapman & Hall, Nueva York, Estados Unidos.
- Etchegoin, J. A. & N. H. Sardella. 1990. "Some ecological aspects of the copepod parasites of the common hake, *Merluccius hubbsi*, from the Argentine-Uruguayan coasts." *International Journal for Parasitology* 20:1009–1014.
- FAO. 2012. *The state of world fisheries and aquaculture*. FAO Fisheries and Aquaculture Department, Roma, Italia.
- Fariña, A. C. (coord). 2002. "Genetic Characterization and Stock Structure of the Two Species of Anglerfish (*Lophius piscatorius* and *L. budegassa*) of the Northeast Atlantic (GESSAN)." Final Report to European Commission, DG XIV Study contract 99/013.
- Fariña, A. C., M. Azevedo, J. Landa, R. Duarte, P. Sampedro, G. Costas, M. A. Torres & L. Cañás. 2008. "*Lophius* in the world: a synthesis on the common features and life strategies." *ICES Journal of Marine Science* 65:1272–1280.
- Fariña, A. C., R. Duarte, J. Landa, I. Quincoces & J. A. Sánchez. 2004. "Multiple stock identification approaches of anglerfish (*Lophius piscatorius* and *L. budegassa*) in western and southern European waters." ICES Document CM 2004/EE: 25.
- Farias, I., A. R. Vieira, L. S. Gordo & I. Figueiredo. 2009. "Otolith shape analysis as a tool for stock discrimination of the black scabbardfish, *Aphanopus carbo* Lowe, 1839 (Pisces: Trichiuridae), in Portuguese waters." *Scientia Marina* 73, S2:47–53.
- Felsenstein, J. 1985. "Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap." *Evolution* 39:783–791.

- Ferguson, G. J., T. M. Ward & B. M. Gillanders. 2011. "Otolith shape and elemental composition: complementary tools for stock discrimination of mullet (*Argyrosomus japonicus*) in southern Australia." *Fisheries Research* 110:75–83.
- Fernández, M., F. J. Aznar, F. E. Montero, B. B. Georgiev & J. A. Raga. 2004. "Gastrointestinal helminths of Cuvier's beaked whales, *Ziphius cavirostris*, from the western Mediterranean." *Journal of Parasitology* 90:418–420.
- Fernández, M., F. J. Aznar, F. E. Montero & J. A. Raga. 2005. "Endoparasites of the blue whiting, *Micromesistius poutassou* from north-west Spain." *Journal of Helminthology* 79:15–21.
- Ferrer-Castelló, E., J. A. Raga & F. J. Aznar. 2007. "Parasites as fish population tags and pseudoreplication problems: the case of striped red mullet *Mullus surmuletus* in the Spanish Mediterranean." *Journal of Helminthology* 81:169–178.
- Ferson, S., F. J. Rohlf & R. K. Koehn. 1985. "Measuring shape variation of two-dimensional outlines." *Systematic Zoology* 34:59–68.
- Freeman, M. A., H. Yokoyama & K. Ogawa. 2004. "A microsporidian parasite of the genus *Spraguea* in the nervous tissues of the Japanese anglerfish *Lophius litulon*." *Folia Parasitologica* 51:167–176.
- Froese, R. & D. Pauly. 2012. *FishBase*. World Wide Web electronic publication. www.fishbase.org, version(08/2012).
- García, A., S. Mattiucci, S. Damiano, M. N. Santos & G. Nascetti. 2011. "Metazoan parasites of swordfish, *Xiphias gladius* (Pisces: Xiphiidae) from the Atlantic Ocean: implications for host stock identification." *ICES Journal of Marine Science* 68:175–182.
- Goethel, D. R., T. J. Quinn II & S. X. Cadrin. 2011. "Incorporating spatial structure in stock assessment: movement modeling in marine fish population dynamics." *Reviews in Fisheries Science* 19:119–136.
- González, M. T. & M. E. Oliva. 2009. "Is the nestedness of metazoan parasite assemblages of marine fishes from the southeastern Pacific coast a pattern associated with the geographical distributional range of the host?" *Parasitology* 136:401–409.

- González, M. T. & R. Poulin. 2005. "Spatial and temporal predictability of the parasite community structure of a benthic marine fish along its distributional range." *International Journal for Parasitology* 35:1369–1377.
- Grainger, J. N. R. 1959. "The identity of the larval nematodes found in the body muscles of the cod (*Gadus callarias* L.)." *Parasitology* 49:121–131.
- Gutiérrez-Galindo, J. F., A. C. Osanz-Mur & M. T. Mora-Ventura. 2010. "Occurrence and infection dynamics of anisakid larvae in *Scomber scombrus*, *Trachurus trachurus*, *Sardina pilchardus*, and *Engraulis encrasicolus* from Tarragona (NE Spain)." *Food Control* 21:1550–1555.
- Hart, D. R. & S. X. Cadrin. 2004. Yellowtail flounder (*Limanda ferruginea*) off the northeastern United States: implications of movement among stocks. In *Species conservation and management: case studies*, ed. H. R. Akçakaya, M. A. Burgman, O. Kindvall, C. C. Wood, P. Sjögren-Gulve, J. S. Hatfield & M. A. McCarthy. Oxford University Press, Nueva York, Estados Unidos pp. 230–243.
- Hartwich, G. 1974. Keys to genera of the Ascaridoidea. In *CIH keys to the nematode parasites of vertebrates, no. 2*, ed. R.C. Anderson, A.G. Chabaud & S. Willmott. Commonwealth Agricultural Bureaux, Bucks, Inglaterra pp. 1–15.
- Hastie, T. J. & R. J. Tibshirani. 1990. *Generalized additive models. Monographs on statistics and applied probability, 43*. Chapman & Hall, Londres, Reino Unido.
- Hayward, C. J., H. M. Aiken & B. F. Nowak. 2008. "Epizootics of metazoan gill parasites did not threaten feasibility of farming southern bluefin tuna (*Thunnus maccoyii*) in a trial extending over summer months." *Veterinary Parasitology* 154:122–128.
- Heilbron, D. C. 1994. "Zero-altered and other regression models for count data with added zeros." *Biometrical Journal* 36:531–547.
- Higgins, R. M., B. S. Danilowicz, J. A. Balbuena, A. K. Daniélsdóttir, A. J. Geffen, W. G. Meijer, J. Modin, F. E. Montero, C. Pampoulie, D. Perdiguero-Alonso, A. Schreiber, M. Ö. Stefánsson & B. Wilson. 2010. "Multi-disciplinary fingerprints reveal the harvest location of cod *Gadus morhua* in the Northeast Atlantic." *Marine Ecology Progress Series* 404:197–206.

- Hislop, J. R. G., A. Gallego, M. R. Heath, F. M. Kennedy, S. A. Reeves & P. J. Wright. 2001. "A synthesis of the early life history of the anglerfish, *Lophius piscatorius* (Linnaeus, 1758) in northern British waters." *ICES Journal of Marine Science* 58:70–86.
- Hüssy, K. 2008. "Otolith shape in juvenile cod (*Gadus morhua*): ontogenetic and environmental effects." *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 364:35–41.
- ICES. 1986. "Report of the Working Group on Fisheries Units in ICES Sub-areas VII and VIII." ICES Document CM 1986/Assess: 5.
- ICES. 1987. "Report of the Working Group on Fisheries Units in ICES Sub-areas VII and VIII." ICES Document CM 1987/Assess: 3.
- ICES. 1988. "Report of the Working Group on Fisheries Units in ICES Sub-areas VII and VIII." ICES Document CM 1988/Assess: 25.
- ICES. 1990. "Report of the Working Group on the Assessment of the Stocks of hake." ICES Document CM 1990/Assess: 22.
- ICES. 1999. "Report of the Working Group on the Assessment of Southern Shelf Demersal Stocks." ICES Document CM 1999/ACFM: 04.
- ICES. 2000. "Report of the Working Group on the Assessment of Southern Shelf Demersal Stocks." ICES Document CM 2000/ACFM: 04.
- ICES. 2001. "Report of the Working Group on the Assessment of Southern Shelf Demersal Stocks." ICES Document CM 2001/ACFM: 05.
- ICES. 2007. "Report of the Working Group on the Assessment of Southern Shelf Stocks of Hake, Monk and Megrin." ICES Document CM 2007/ACFM: 21.
- ICES. 2008. "Report of the Working Group on the Assessment of Southern Shelf Stocks of Hake, Monk and Megrin." ICES Document CM 2008/ACOM: 07.
- ICES. 2009. "Report of the Workshop on Anglerfish and Megrin." ICES Document CM 2009/ACOM: 28.
- ICES. 2010a. "Manual for the International Bottom Trawl Surveys in the Western and Southern Areas Revision III Agreed during the meeting of the International

- Bottom Trawl Survey Working Group 22-26 March 2010, Lisbon.” Addendum 2: ICES Document CM 2010/SSGESST: 06.
- ICES. 2010b. “Report of the Working Group on the Assessment of Southern Shelf Stocks of Hake, Monk and Megrim.” ICES Document CM 2010/ACOM: 11.
- ICES. 2011a. “Report of the ICES Advisory Committee.” ICES Advice 2011, Book 5. ICES, Copenhagen, Denmark.
- ICES. 2011b. “Report of the Working Group on the Assessment of Southern Shelf Stocks of Hake, Monk and Megrim.” ICES Document CM 2011/ACOM: 11.
- ICES. 2011c. “Report of the Working Group on Widely Distributed Stocks.” ICES Document CM 2011/ACOM: 15.
- ICES. 2012a. “Report of the Working Group on the Assessment of Southern Shelf Stocks of Hake, Monk and Megrim.” ICES Document CM 2012/ACOM: 11.
- ICES. 2012b. “Report of the Benchmark Workshop on Flatfish Species and Anglerfish.” ICES Document CM 2012/ACOM: 46.
- Ihssen, P. E., H. E. Booke, J. M. Casselman, J. M. McGlade, N. R. Payne & F. M. Utter. 1981. “Stock identification: materials and methods.” *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 38:1838–1855.
- Izawa, K. 1986. “On the development of parasitic Copepoda. IV. Ten species of Poecilostome Cyclopoids, belonging to Taeniacanthidae, Tegobomolochidae, Lichomolgidae, Philoblennidae, Mycolidae, and Chondracanthidae.” *Publications of the Seto Marine Biological Laboratory* 31:81–162.
- Kabata, Z. 1963. “Parasites as biological tags.” *ICNAF Special Publication* 4:31–37.
- Kabata, Z. 1979. *Parasitic copepoda of British fishes*. The Ray Society, Londres, Reino Unido.
- Kabata, Z. 1981. “Copepoda (Crustacea) parasitic on fishes: problems and perspectives.” *Advances in Parasitology* 19:1–71.
- Kabata, Z. 1992. *Copepods parasitic on fishes: keys and notes for identification of the species*. Universal Book Services, Oegstgeest, Holanda.

- Karl, H. & A. Levsen. 2011. "Occurrence and distribution of anisakid nematodes in Grey gurnard (*Eutrigla gurnardus* L.) from the North Sea." *Food Control* 22:1634–1638.
- Katahira, H., K. Mizuno & K. Nagasawa. 2011. "Host size and habitat-dependent intensity of *Heliconema longissimum* (Nematoda: Physalopteridae) in the Japanese eel (*Anguilla japonica*)." *Journal of Parasitology* 97:994–998.
- Khul, F. P. & C. R. Giardina. 1982. "Elliptic Fourier features of a closed contour." *Computer Graphics and Image Processing* 18:236–258.
- Kimura, D. K. & S. Chikuni. 1987. "Mixture of empirical distributions: an iterative application of the age-length key." *Biometrics* 43:23–35.
- Klecka, W. R. 1980. *Discriminant analysis*. Sage Publications, California, Estados Unidos.
- Klimpel, S., H. W. Palm, S. Rückert & U. Piatkowski. 2004. "The life cycle of *Anisakis simplex* in the Norwegian Deep (northern North Sea)." *Parasitology Research* 94:1–9.
- Køie, M. 1993a. "Nematode parasites in teleosts from 0 to 1540 m depth off the Faroe Islands (the North Atlantic)." *Ophelia* 38:217–243.
- Køie, M. 1993b. "Aspects of the life cycle and morphology of *Hysterothylacium aduncum* (Rudolphi, 1802) (Nematoda, Ascaridoidea, Anisakidae)." *Canadian Journal of Zoology* 71:1289–1296.
- Kreis, H. A. 1952. "Beiträge zur kenntnis parasitischer nematoden. X. Parasitische nematoden aus der umgebung der Färöer." *Videnskabelige Meddelelser Naturhistorisk Forening i Kobenhavn* 114:251–307.
- Kruskal, J. B. 1964. "Nonmetric multidimensional scaling: a numerical method." *Psychometrika* 29:115–129.
- Kruskal, J. B. & M. Wish. 1978. *Multidimensional scaling*. Sage Publications, California, Estados Unidos.
- Landa, J., I. Quincoces, R. Duarte, A. C. Fariña & H. Dupouy. 2008a. "Movements of black and white anglerfish (*Lophius budegassa* and *L. piscatorius*) in the Northeast Atlantic." *Fisheries Research* 94:1–12.

- Landa, J., J. C. Arronte, P. Abaunza & A. C. Fariña. 2005. "Calliobdella lophii (Hirudinea: Piscicolidae) parasitizing white anglerfish *Lophius piscatorius* off the north of Spain." *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 85:1297–1300.
- Landa, J., P. Pereda, R. Duarte & M. Azevedo. 2001. "Growth of anglerfish (*Lophius piscatorius* and *L. budegassa*) in Atlantic Iberian waters." *Fisheries Research* 51:363–376.
- Landa, L., R. Duarte & I. Quincoces. 2008b. "Growth of white anglerfish (*Lophius piscatorius*) tagged in the Northeast Atlantic, and a review of age studies on anglerfish." *ICES Journal of Marine Science* 65:72–80.
- Laurenson, C. H. 2006. "A note on the development of the embryos of anglerfish *Lophius piscatorius*." *Journal of Fish Biology* 68:1287–1290.
- Laurenson, C. H., A. Johnson & I. G. Priede. 2005. "Movements and growth of monkfish *Lophius piscatorius* tagged at the Shetland Islands, northeastern Atlantic." *Fisheries Research* 71:185–195.
- Laurenson, C. H. & I. G. Priede. 2005. "The diet and trophic ecology of anglerfish *Lophius piscatorius* at the Shetland Islands, UK." *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 85:419–424.
- Laurenson, C. H., I. G. Priede, L. W. Bullough & I. R. Napier. 2001. "Where are the mature anglerfish? The population biology of *Lophius piscatorius* in northern European waters." ICES Document CM 2001/J: 27.
- Laurenson, C. H., I. R. Hudson, D. O. B. Jones & I. G. Priede. 2004. "Deep water observations of *Lophius piscatorius* in the north-eastern Atlantic Ocean by means of a remotely operated vehicle." *Journal of Fish Biology* 65:947–960.
- Lefebvre, F., P. Contournet, F. Priour, O. Soulas & A. J. Crivelli. 2002. "Spatial and temporal variation in *Anguillicola crassus* counts: results of a 4 year survey of eels in Mediterranean lagoons." *Diseases of Aquatic Organisms* 50:181–188.
- Lehnert, K., J. A. Raga & U. Siebert. 2005. "Macroparasites in stranded and bycaught harbour porpoises from German and Norwegian waters." *Diseases of Aquatic Organisms* 64:265–269.

- Leslie, R. W. & W. S. Grant. 1990. "Lack of congruence between genetic and morphological stock structure of the southern African anglerfish *Lophius vomerinus*." *South African Journal of Marine Science* 9:379–398.
- Lester, R. J. G. 1990. "Reappraisal of the use of parasites for fish stock identification." *Australian Journal of Marine and Freshwater Research* 41:855–864.
- Lester, R. J. G. & K. MacKenzie. 2009. "The use and abuse of parasites as stock markers for fish." *Fisheries Research* 97:1–2.
- Lestrel, P. E. 1989. "Method for analyzing complex two-dimensional forms: elliptical Fourier functions." *American Journal of Human Biology* 1:149–164.
- Lestrel, P. E. 1997. *Fourier descriptors and their applications in biology*. Cambridge University Press, Cambridge, Reino Unido.
- Li, L., R. An & L. Zhang. 2007. "A new species of *Hysterothylacium* (Nematoda: Anisakidae) from marine fishes from Yellow Sea, China, with a key to the species of the genus *Hysterothylacium*." *Zootaxa* 1614:43–52.
- Lom, J. & F. Nilsen. 2003. "Fish microsporidia: fine structural diversity and phylogeny." *International Journal for Parasitology* 33:107–127.
- Lombarte, A. & J. Leonart. 1993. "Otolith size changes related with body growth, habitat depth and temperature." *Environmental Biology of Fishes* 37:297–306.
- Longmore, C., K. Fogarty, F. Neat, D. Brophy, C. Trueman, A. Milton & S. Mariani. 2010. "A comparison of otolith microchemistry and otolith shape analysis for the study of spatial variation in a deep-sea teleost, *Coryphaenoides rupestris*." *Environmental Biology of Fishes* 89:591–605.
- López, E. I. & C. J. López. 2000. "Health hazards related to occurrence of parasites of the genera *Anisakis* and *Pseudoterranova* in fish." *Food Science and Technology International* 6:183–195.
- MacCall, A. D. 1976. "Density dependence of catchability coefficient in the California Pacific sardine, *Sardinops sagax caerulea*, purse seine fishery." *California Cooperative Oceanic Fisheries Investigations. Report* 18:136–148.
- MacKenzie, K. 1983. "Parasites as biological tags in fish population studies." *Advances in Applied Biology* 7:251–331.

- MacKenzie, K. 1987. "Parasites as indicators of host populations." *International Journal for Parasitology* 17:345–52.
- MacKenzie, K. 1990. "Cestode parasites as biological tags for mackerel (*Scomber scombrus* L.) in the Northeast Atlantic." *Journal du Conseil International pour l'Exploration de la Mer* 46:155–166.
- MacKenzie, K. 2002. "Parasites as biological tags in population studies of marine organisms: an update." *Parasitology* 124:153–163.
- MacKenzie, K., H. H. Williams, B. Williams, A. H. McVicar & R. Siddall. 1995. "Parasites as indicators of water quality and the potential use of helminth transmission in marine pollution studies." *Advances in Parasitology* 35:85–144.
- MacKenzie, K. & M. Longshaw. 1995. "Parasites of the hakes *Merluccius australis* and *Merluccius hubbsi* in the waters around the Falkland Islands, southern Chile, and Argentina, with an assessment of their potential value as biological tags." *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 52, Supplement 1:213–224.
- MacKenzie, K., N. Campbell, S. Mattiucci, P. Ramos, A. L. Pinto & P. Abaunza. 2008. "Parasites as biological tags for stock identification of Atlantic horse mackerel *Trachurus trachurus* L." *Fisheries Research* 89:136–145.
- MacKenzie, K. & P. Abaunza. 1998. "Parasites as biological tags for stock discrimination of marine fish: a guide to procedures and methods." *Fisheries Research* 38:45–56.
- MacKenzie, K. & P. Abaunza. 2005. Parasites as biological tags. In *Stock identification methods: applications in fishery science*, ed. S. X. Cadrin, K. D. Friedland & J. R. Waldman. Elsevier Academic Press, Amsterdam, Holanda pp. 211–226.
- Margolis, L. 1963. "Parasites as indicators of the geographical origin of sockeye salmon, *Oncorhynchus nerka* (Walbaum), occurring in the North Pacific Ocean and adjacent seas." *Bulletin of the International North Pacific Fisheries Commission* 11:101–156.
- Mathews, C. P. & M. Samuel. 1987. "The incidence of *Livoneca* sp. (Isopoda) on *Helotes sexlineatus* (Pisces) in Kuwait waters." *Journal of Applied Ichthyology* 3:142–144.

- Mattiucci, S. & G. Nascetti. 2006. "Molecular systematics, phylogeny and ecology of anisakid nematodes of the genus *Anisakis* Dujardin, 1845: an update." *Parasite* 13:99–113.
- Mattiucci, S. & G. Nascetti. 2008. "Advances and trends in the molecular systematics of anisakid nematodes, with implications for their evolutionary ecology and host-parasite co-evolutionary processes." *Advances in Parasitology* 66:47–148.
- Mattiucci, S., G. Nascetti, M. Dailey, S. C. Webb, N. B. Barros, R. Cianchi & L. Bullini. 2005. "Evidence for a new species of *Anisakis* Dujardin, 1845: morphological description and genetic relationships between congeners (Nematoda: Anisakidae)." *Systematic Parasitology* 61:157–171.
- Mattiucci, S., P. Abaunza, L. Ramadori & G. Nascetti. 2004. "Genetic identification of *Anisakis* larvae in European hake from Atlantic and Mediterranean waters for stock recognition." *Journal of Fish Biology* 65:495–510.
- Mattiucci, S., P. Abaunza, S. Damiano, A. García, M. N. Santos & G. Nascetti. 2007. "Distribution of *Anisakis* larvae, identified by genetic markers, and their use for stock characterization of demersal and pelagic fish from European waters: an update." *Journal of Helminthology* 81:117–127.
- McClelland, G. 2002. "The trouble with sealworms (*Pseudoterranova decipiens* species complex, Nematoda): a review." *Parasitology* 124:183–203.
- McClelland, G. & D. J. Marcogliese. 1994. "Larval anisakine nematodes as biological indicators of cod (*Gadus morhua*) populations in the southern Gulf of St. Lawrence and on the Breton Shelf, Canada." *Bulletin of the Scandinavian Society for Parasitology* 4:97–116.
- McClelland, G. & J. Melendy. 2007. "Use of endoparasitic helminths as tags in delineating stocks of American plaice (*Hippoglossoides platessoides*) from the southern Gulf of St. Lawrence and Cape Breton Shelf." *Fishery Bulletin* 105:180–188.
- McClelland, G. & J. Melendy. 2011. "Use of parasites as tags in delineating stocks of Atlantic cod (*Gadus morhua*) from the southern Gulf of St. Lawrence and the Cape Breton Shelf." *Fisheries Research* 107:233–238.

- Mérigot, B., Y. Letourneur & R. Lecomte-Finiger. 2007. "Characterization of local populations of the common sole *Solea solea* (Pisces, Soleidae) in the NW Mediterranean through otolith morphometrics and shape analysis." *Marine Biology* 151:997–1008.
- Methot, R. D. 2000. "Technical Description of the Stock Synthesis Assessment Program." NOAA Technical Report, NMFS-NWFSC-43.
- Midtgaard, T., K. Andersen & O. Halvorsen. 2003. "Population dynamics of sealworm, *Pseudoterranova decipiens* sensu lato, in sculpins, *Myoxocephalus scorpius*, from two areas in Norway between 1990 and 1996." *Parasitology Research* 89:387–392.
- Monteiro, L. R., A. P. M. Di Benedetto, L. H. Guillermo & L. A. Rivera. 2005. "Allometric changes and shape differentiation of sagitta otoliths in sciaenid fishes." *Fisheries Research* 74:288–299.
- Moore, B. R., J. Stapley, Q. Allsop, S. J. Newman, A. Ballagh, D. J. Welch & R. J. G. Lester. 2011. "Stock structure of blue threadfin *Eleutheronema tetradactylum* across northern Australia, as indicated by parasites." *Journal of Fish Biology* 78:923–936.
- Moore, B. R., R. C. Buckworth, H. Moss & R. J. G. Lester. 2003. "Stock discrimination and movements of narrow-barred Spanish mackerel across northern Australia as indicated by parasites." *Journal of Fish Biology* 63:765–779.
- Muñoz, G. & H. S. Randhawa. 2011. "Monthly variation in the parasite communities of the intertidal fish *Scartichthys viridis* (Blenniidae) from central Chile: are there seasonal patterns?" *Parasitology Research* 109:53–62.
- Murta, A. G., A. L. Pinto & P. Abaunza. 2008. "Stock identification of horse mackerel (*Trachurus trachurus*) through the analysis of body shape." *Fisheries Research* 89:152–158.
- Myers, R. A. & B. Worm. 2003. "Rapid worldwide depletion of predatory fish communities." *Nature* 423:280–283.
- Nadler, S. A., S. D'Amelio, M. D. Dailey, L. Paggi, S. Siu & J. A. Sakanari. 2005. "Molecular phylogenetics and diagnosis of *Anisakis*, *Pseudoterranova* and *Contracaecum* from northern Pacific marine mammals." *Journal of Parasitology* 91:1413–1429.

- Neves, A., V. Sequeira, I. Farias, A. R. Vieira, R. Paiva & L. S. Gordo. 2011. "Discriminating bluemouth, *Helicolenus dactylopterus* (Pisces: Sebastidae), stocks in Portuguese waters by means of otolith shape analysis." *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 91:1237–1242.
- Oliva, M. E. & I. Ballón. 2002. "Metazoan parasites of the Chilean hake *Merluccius gayi gayi* as a tool for stock discrimination." *Fisheries Research* 56:313–320.
- Oliva, M. E. & M. T. González. 2004. "Metazoan parasites of *Sebastes capensis* from two localities in northern Chile as tools for stock identification." *Journal of Fish Biology* 64:170–175.
- Orts, E., V. Muñoz, J. P. Fernández & E. Carbonell. 1988. "Presencia de larvas de cestodos sobre *Conger conger* (L.) y *Lophius piscatorius* (L.) del litoral valenciano." *Revista Ibérica de Parasitología* 48:165–166.
- Østergaard, P. 2004. "Does male *Chondracanthus lophii* (Crustacea: Copepoda) feed?" *Journal of the Marine Biological Association of United Kingdom* 84:711–716.
- Østergaard, P. & G. A. Boxshall. 2004. "Giant females and dwarf males: a comparative study of nuptial organs in female Chondracanthidae (Crustacea: Copepoda)." *Zoologischer Anzeiger* 243:65–74.
- Paggi, L., G. Nascetti, S. C. Webb, S. Mattiucci, R. Cianchi & L. Bullini. 1998. "A new species of *Anisakis* Dujardin, 1845 (Nematoda, Anisakidae) from beaked whales (Ziphiidae): allozyme and morphological evidence." *Systematic Parasitology* 40:161–174.
- Parisi-Baradad, V., A. Lombarte, E. García-Ladona, J. Cabestany, J. Piera & O. Chic. 2005. "Otolith shape contour analysis using affine transformation invariant wavelet transforms and curvature scale space representation." *Marine and Freshwater Research* 56:795–804.
- Pascual, S., A. F. González & A. Guerra. 2007. "Parasite recruitment and oceanographic regime: evidence suggesting a relationship on a global scale." *Biological Reviews* 82:257–263.
- Pascual, S., A. F. González & A. Guerra. 2005. "The recruitment of gill-infesting copepods as a categorical predictor of size-at-age data in squid populations." *ICES Journal of Marine Science* 62:629–633.

- Perdiguero-Alonso, D. 2008. *Comunidades parásitas del bacalao en aguas de Europa*. Tesis Doctoral, Universidad de Valencia, España.
- Pereda, P. & J. Landa. 1997. “Recuperación de dos ejemplares de rape *Lophius piscatorius* Linnaeus, 1758 en el stock norte (divisiones VIII a y b del CIEM) tras ser marcados en el stock sur (división VIIIc).” *Boletín Instituto Español de Oceanografía* 13:91–94.
- Pérez del Olmo, A. 2008. *Biodiversity and structure of parasite communities in Boops boops (Teleostei: Sparidae) from the western Mediterranean and off the North East Atlantic coasts of Spain*. Tesis Doctoral, Universidad de Valencia, España.
- Pérez del Olmo, A., M. Fernández, J. A. Raga, A. Kostadinova & S. Morand. 2009. “Not everything is everywhere: the distance decay of similarity in a marine host-parasite system.” *Journal of Biogeography* 36:200–209.
- Petter, A. J. & J. Cabaret. 1995. “Ascaridoid nematodes of teleostean fishes from the eastern North Atlantic and seas of the north of Europe.” *Parasite* 2:217–230.
- Pita, A., M. Pérez, S. Cerviño & P. Presa. 2011. “What can gene flow and recruitment dynamics tell us about connectivity between European hake stocks in the eastern North Atlantic?” *Continental Shelf Research* 31:376–387.
- Pitcher, T. J. & P. J. B. Hart. 1982. *Fisheries ecology*. Chapman & Hall, Londres, Reino Unido.
- Podolska, M. & J. Horbowy. 2003. “Infection of Baltic herring (*Clupea harengus membras*) with *Anisakis simplex* larvae, 1992-1999: a statistical analysis using generalized linear models.” *ICES Journal of Marine Science* 60:85–93.
- Podolska, M., J. Horbowy & M. Wyszynski. 2006. “Discrimination of Baltic herring populations with respect to *Anisakis simplex* larvae infection.” *Journal of Fish Biology* 68:1241–1256.
- Porch, C. E., S. C. Turner & J. E. Powers. 2001. “Virtual population analyses of Atlantic bluefin tuna with alternative models of transatlantic migration: 1970-1997.” *ICCAT, Collective Volume of Scientific Papers* 52:1022–1045.
- Posada, D. 2008. “jModelTest: phylogenetic model averaging.” *Molecular Biology and Evolution* 25:1253–1256.

- Postuma, K. H. 1974. "The nucleus of the herring otolith as a racial character." *Journal du Conseil International pour l'Exploration de la Mer* 35:121–129.
- Poulin, R. 2000. "Variation in the intraspecific relationship between fish length and intensity of parasitic infection: biological and statistical causes." *Journal of Fish Biology* 56:123–137.
- Poulin, R. 2003. "The decay of similarity with geographical distance in parasite communities of vertebrate hosts." *Journal of Biogeography* 30:1609–1615.
- Poulin, R., B. R. Krasnov, D. Mouillot & D. W. Thieltges. 2011. "The comparative ecology and biogeography of parasites." *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Science* 366:2379–2390.
- Poulin, R., M. A. Curtis & M. E. Rau. 1990. "Responses of the fish ectoparasite *Salmincola edwardsii* (Copepoda) to stimulation, and their implication for host-finding." *Parasitology* 100:417–421.
- Poulin, R., M. A. Curtis & M. E. Rau. 1991. "Size, behaviour, and acquisition of ectoparasitic copepods by brook trout, *Salvelinus fontinalis*." *Oikos* 61:169–174.
- Power, A. M., J. A. Balbuena & J. A. Raga. 2005. "Parasite infracommunities as predictors of harvest location of bogue (*Boops boops* L.): a pilot study using statistical classifiers." *Fisheries Research* 72:229–239.
- Prager, M. H. 1994. "A suite of extensions to a nonequilibrium surplus-production model." *Fishery Bulletin* 92:374–389.
- Punt, A. 1941. "Recherches sur quelques nématodes parasite de poissons de la mer du nord." *Mémoires du Musée Royal D'Histoire Naturelle de Belgique* 98:1–109.
- Punt, A. E. 2003. "The performance of a size-structured stock assessment method in the face of spatial heterogeneity in growth." *Fisheries Research* 65:391–409.
- Punt, A. E. & D. S. Butterworth. 1995. "Use of tagging data within a VPA formalism to estimate migration rates of bluefin tuna across the North Atlantic." *ICCAT, Collective Volume of Scientific Papers* 44:166–182.
- Quincoces, I. 2002. *Crecimiento y reproducción de las especies Lophius budegassa Spinola 1807, y Lophius piscatorius Linneo 1758, del Golfo de Vizcaya*. Tesis Doctoral, Universidad del País Vasco, España.

- Quincoces, I., M. Santurtún & P. Lucio. 1998. "Biological aspects of white anglerfish (*Lophius piscatorius*) in the Bay of Biscay (ICES Division VIIIa,b,d), in 1996-1997." ICES Document CM 1998/O: 48.
- Quinn II, T. J. & R. B. Deriso. 1999. *Quantitative fish dynamics*. Oxford University Press, Nueva York, Estados Unidos.
- Quinteiro, P. 1990. *Helminfos parásitos de peces de las costas gallegas*. Tesis Doctoral, Universidad de Santiago de Compostela, España.
- Quinteiro, P., J. Tojo, A. Núñez, M. T. Santamarina & M. L. Sanmartín. 1993. "Stephanostomum lophii sp. nov. (Digenea: Acanthocolpidae), intestinal parasite of *Lophius piscatorius*, with reference to seasonal fluctuations of metacercariae in intermediate second hosts (Gadidae)." *Journal of Fish Biology* 42:421-433.
- R Development Core Team. 2009. *R: a language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Viena, Austria.
- Reiczigel, J. 2003. "Confidence intervals for the binomial parameter: some new considerations." *Statistics in Medicine* 22:611-621.
- Reig-Bolaño, R., P. Marti-Puig, A. Lombarte, J. A. Soria & V. Parisi-Baradad. 2010. "A new otolith image contour descriptor based on partial reflection." *Environmental Biology of Fishes* 89:579-590.
- Reiss, H., G. Hoarau, M. Dickey-Collas & W. J. Wolff. 2009. "Genetic population structure of marine fish: mismatch between biological and fisheries management units." *Fish and Fisheries* 10:361-395.
- Reist, J. D. 1985. "An empirical evaluation of several univariate methods that adjust for size variation in morphometric data." *Canadian Journal of Zoology* 63:1429-1439.
- Rello, F. J., A. Valero & F. J. Adroher. 2008. "Anisakid parasites of the pouting (*Trisopterus luscus*) from the Cantabrian Sea coast, Bay of Biscay, Spain." *Journal of Helminthology* 82:287-291.
- Rello, F. J., F. J. Adroher, R. Benítez & A. Valero. 2009. "The fishing area as a possible indicator of the infection by anisakids in anchovies (*Engraulis encrasicolus*) from southwestern Europe." *International Journal of Food Microbiology* 129:277-281.

- Ridgway, S. H. & R. J. Harrison. 1981. *Handbook of marine mammals. Seals, Volume 2*. Academic Press, Londres, Reino Unido.
- Rohde, K. 1988. "Gill Monogenea of deepwater and surface fish in southeastern Australia." *Hydrobiologia* 160:271–283.
- Rohde, K. 1993. *Ecology of marine parasites: an introduction to marine parasitology*. CAB International, Wallingford, Reino Unido.
- Rousset, F., F. Thomas, T. De Meeûs & F. Renaud. 1996. "Inference of parasite-induced host mortality from distributions of parasite loads." *Ecology* 77:2203–2211.
- Rózsa, L., J. Reiczigel & G. Majoros. 2000. "Quantifying parasites in samples of hosts." *Journal of Parasitology* 86:228–232.
- Sambrook, J., E. F. Fritsch & T. Maniatis. 1989. *Molecular cloning: a laboratory manual*. Cold Spring Harbor, Nueva York, Estados Unidos.
- Sanger, F., S. Nicklen & A. R. Coulson. 1977. "DNA sequencing with chain-terminating inhibitors." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 74:5463–5467.
- Sanmartín, M. L. 1994. *Nematodos parásitos en peces de las costas gallegas*. Ediciones Díaz de Santos, Madrid, España.
- Sanmartín, M. L., M. F. Álvarez, D. Peris, R. Iglesias & J. Leiro. 2000. "Helminth parasite communities of the conger eel in the estuaries of Arousa and Muros (Galicia, north-west Spain)." *Journal of Fish Biology* 57:1122–1133.
- Schuchert, P. C., A. I. Arkhipkin & A. E. Koenig. 2010. "Traveling around Cape Horn: otolith chemistry reveals a mixed stock of Patagonian hoki with separate Atlantic and Pacific spawning grounds." *Fisheries Research* 102:80–86.
- Schulz-Mirbach, T., C. Stransky, J. Schlickeisen & B. Reichenbacher. 2008. "Differences in otolith morphologies between surface- and cave-dwelling populations of *Poecilia mexicana* (Teleostei, Poeciliidae) reflect adaptations to life in an extreme habitat." *Evolutionary Ecology Research* 10:537–558.
- Shaw, D. J., B. T. Grenfell & A. P. Dobson. 1998. "Patterns of macroparasite aggregation in wildlife host populations." *Parasitology* 117:597–610.

- Shotter, R. A. 1973. "Changes in the parasite fauna of whiting *Odontogadus merlangus* L. with age and sex of host, season, and from different areas in the vicinity of the Isle of Man." *Journal of Fish Biology* 5:559–573.
- Sindermann, C. J. 1983. "Parasites as natural tags for marine fish: a review." *NAFO Scientific Council Studies* 6:63–71.
- Smedbol, R. K. & R. Stephenson. 2001. "The importance of managing within-species diversity in cod and herring fisheries of the north-western Atlantic." *Journal of Fish Biology* 59, Supplement A:109–128.
- Smith, J. W. 1983. "*Anisakis simplex* (Rudolphi, 1809, det. Krabbe, 1878) (Nematoda: Ascaridoidea): morphology and morphometry of larvae from euphausiids and fish, and a review of the life-history and ecology." *Journal of Helminthology* 57:205–224.
- Smith, J. W. & R. Wootten. 1975. "Experimental studies on the migration of *Anisakis* sp. larvae (Nematoda: Ascaridida) into the flesh of herring, *Clupea harengus* L." *International Journal for Parasitology* 5:133–136.
- Smith, P. J. & Y. Fujio. 1982. "Genetic variation in marine teleosts: high variability in habitat specialists and low variability in habitat generalists." *Marine Biology* 69:7–20.
- Smith, S. W. 1997. *The scientist and engineer's guide to digital signal processing*. California Technical Publishing, San Diego, Estados Unidos.
- Solmundsson, J., E. Jonsson & H. Bjornsson. 2010. "Phase transition in recruitment and distribution of monkfish (*Lophius piscatorius*) in Icelandic waters." *Marine Biology* 157:295–305.
- SPSS Inc. 1999. *SYSTAT 9, Statistics I*. SPSS Inc, Illinois, Estados Unidos.
- Stephenson, R. L. 2002. "Stock structure and management structure: an ongoing challenge for ICES." *ICES Marine Science Symposia* 215:305–314.
- Stransky, C. 2005. "Geographic variation of golden redfish (*Sebastes marinus*) and deep-sea redfish (*S. mentella*) in the North Atlantic based on otolith shape analysis." *ICES Journal of Marine Science* 62:1691–1698.

- Stransky, C., A. G. Murta, J. Schlickeisen & C. Zimmermann. 2008a. "Otolith shape analysis as a tool for stock separation of horse mackerel (*Trachurus trachurus*) in the Northeast Atlantic and Mediterranean." *Fisheries Research* 89:159–166.
- Stransky, C., H. Baumann, S. E. Fevolden, A. Harbitz, H. Høie, K. H. Nedreaas, A. B. Salberg & T. H. Skarstein. 2008b. "Separation of Norwegian coastal cod and Northeast Arctic cod by outer otolith shape analysis." *Fisheries Research* 90:26–35.
- Stransky, C. & S. E. MacLellan. 2005. "Species separation and zoogeography of redfish and rockfish (genus *Sebastes*) by otolith shape analysis." *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 62:2265–2276.
- Swain, D. P. & C. J. Foote. 1999. "Stocks and chameleons: the use of phenotypic variation in stock identification." *Fisheries Research* 43:113–128.
- Swain, D. P., J. A. Hutchings & C. J. Foote. 2005. Environmental and genetic influences on stock identification characters. In *Stock identification methods: applications in fishery science*, ed. S. X. Cadrin, K. D. Friedland & J. R. Waldman. Elsevier Academic Press, Amsterdam, Holanda pp. 45–85.
- Swan, S. C., P. J. Wright, D. A. Woodroffe, J. D. M. Gordon & T. Shimmield. 2004. "Evidence for geographical isolation of the early life stages of the white anglerfish, *Lophius piscatorius*, based on otolith microchemistry." *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 84:827–830.
- Tamura, K., J. Dudley, M. Nei & S. Kumar. 2007. "MEGA 4: molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) software version 4.0." *Molecular Biology and Evolution* 24:1596–1599.
- Thompson, J. D., T. J. Gibson, F. Plewniak, F. Jeanmougin & D. G. Higgins. 1997. "The ClustalX windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools." *Nucleic Acids Research* 24:4876–4882.
- Timi, J. T. 2003. "Parasites of Argentine anchovy in the south-west Atlantic: latitudinal patterns and their use for discrimination of host populations." *Journal of Fish Biology* 63:90–107.
- Timi, J. T. 2007. "Parasites as biological tags for stock discrimination in marine fish from South American Atlantic waters." *Journal of Helminthology* 81:107–111.

- Timi, J. T. & A. L. Lanfranchi. 2006. "Size relationships between the parasitic copepod, *Lernanthropus cynoscicola*, and its fish host, *Cynoscion guatucupa*." *Parasitology* 132:207–213.
- Timi, J. T., A. L. Lanfranchi & J. A. Etchegoin. 2009. "Seasonal stability and spatial variability of parasites in Brazilian sandperch *Pinguipes brasilianus* from the Northern Argentine Sea: evidence for stock discrimination." *Journal of Fish Biology* 74:1206–1225.
- Tolstov, G. P. 1962. *Fourier series*. Prentice-Hall, Nueva Jersey, Estados Unidos.
- Torres, G. J., A. Lombarte & B. Morales-Nin. 2000. "Variability of the sulcus acusticus in the sagittal otolith of the genus *Merluccius* (Merlucciidae)." *Fisheries Research* 46:5–13.
- Torres, G. J., W. Norbis & M. I. Lorenzo. 1996. "Variations in the measures of argentine hake (*Merluccius hubbsi*) rings otoliths during their first-year: evidence for stocks separation?" *Scientia Marina* 60:331–338.
- Tracey, S. R., J. M. Lyle & G. Duhamel. 2006. "Application of elliptical Fourier analysis of otolith form as a tool for stock identification." *Fisheries Research* 77:138–147.
- Tsimenidis, N. C. & J. C. Ondrias. 1980. "Growth studies on the angler-fishes *Lophius piscatorius* L., 1758 and *Lophius budegassa* Spinola, 1807 in Greek waters." *Thalassographica* 3:63–94.
- Turan, C. 2006. "The use of otolith shape and chemistry to determine stock structure of Mediterranean horse mackerel *Trachurus mediterraneus* (Steindachner)." *Journal of Fish Biology* 69, Supplement C:165–180.
- Tuset, V. M., I. J. Lozano, J. A. González, J. F. Pertusa & M. M. García-Díaz. 2003. "Shape indices to identify regional differences in otolith morphology of comber, *Serranus cabrilla* (L., 1758)." *Journal of Applied Ichthyology* 19:88–93.
- Ulltang, Ø. 1976. "Catch per unit of effort in the Norwegian purse seine fishery for Atlanto-Scandian (Norwegian spring spawning) herring." *FAO Fisheries Technical Paper* 155:91–101.

- Valdivia, I. M., R. A. Chávez & M. E. Oliva. 2007. "Metazoan parasites of *Engraulis ringens* as tools for stock discrimination along the Chilean coast." *Journal of Fish Biology* 70:1504–1511.
- Valentini, A., S. Mattiucci, P. Bondanelli, S. C. Webb, A. A. Mignucci-Giannone, M. M. Colom-Llavina & G. Nascetti. 2006. "Genetic relationships among *Anisakis* species (Nematoda: Anisakidae) inferred from mitochondrial *cox2* sequences, and comparison with allozyme data." *Journal of Parasitology* 92:156–166.
- Valero, A., M. I. Paniagua, I. Hierro, V. Díaz, M. J. Valderrama, R. Benítez & F. J. Adroher. 2006. "Anisakid parasites of two forkbeards (*Phycis blennoides* and *Phycis phycis*) from the Mediterranean coasts of Andalucía (Southern Spain)." *Parasitology International* 55:1–5.
- Vales, D. G., N. A. García, E. A. Crespo & J. T. Timi. 2011. "Parasites of a marine benthic fish in the southwestern Atlantic: searching for geographical recurrent patterns of community structure." *Parasitology Research* 108:261–272.
- Velasco, F., J. Landa, J. Barrado & M. Blanco. 2008. "Distribution, abundance, and growth of anglerfish (*Lophius piscatorius*) on the Porcupine Bank (west of Ireland)." *ICES Journal of Marine Science* 65:1316–1325.
- Viñas, J., A. Gordo, R. Fernández-Cebrián, C. Pla, Ü. Vahdet & R. M. Araguas. 2011. "Facts and uncertainties about the genetic population structure of Atlantic bluefin tuna (*Thunnus thynnus*) in the Mediterranean. Implications for fishery management." *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 21:527–541.
- Vignon, M. 2012. "Ontogenetic trajectories of otolith shape during shift in habitat use: interaction between otolith growth and environment." *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 420-421:26–32.
- Vignon, M. & F. Morat. 2010. "Environmental and genetic determinant of otolith shape revealed by a non-indigenous tropical fish." *Marine Ecology Progress Series* 411:231–241.
- Villamor, B. 2007. *La caballa (Scomber scombrus, L. 1758) del Atlántico Nordeste: estudio biológico y de la población en aguas del norte y noroeste de la península ibérica*. Tesis Doctoral, Universidad de Cantabria, España.

- Waldman, J. R., R. A. Richards, W. B. Schill, I. Wirgin & M. C. Fabrizio. 1997. "An empirical comparison of stock identification techniques applied to striped bass." *Transactions of the American Fisheries Society* 126:369–385.
- Waples, R. S., A. E. Punt & J. M. Cope. 2008. "Integrating genetic data into management of marine resources: how can we do it better?" *Fish and Fisheries* 9:423–449.
- Waples, R. S. & O. Gaggiotti. 2006. "What is a population? An empirical evaluation of some genetic methods for identifying the number of gene pools and their degree of connectivity." *Molecular Ecology* 15:1419–1439.
- Ward, R. D. 2000. "Genetics in fisheries management." *Hydrobiologia* 420:191–201.
- Ward, R. D., M. Woodwark & D. O. F. Skibinski. 1994. "A comparison of genetic diversity levels in marine, freshwater, and anadromous fishes." *Journal of Fish Biology* 44:213–232.
- Weidner, E. & T. King. 1998. "*In vivo* and *in vitro* growth of nerve parasite from *Lophius americanus*." *The Biological Bulletin* 195:227–228.
- Williams, H. H. & A. Jones. 1994. *Parasitic worms of fish*. Taylor & Francis, Londres, Reino Unido.
- Williams, H. H., K. MacKenzie & A. M. McCarthy. 1992. "Parasites as biological indicators of the population biology, migrations, diet and phylogenetics of fish." *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 2:144–176.
- Wilson, K. & B. T. Grenfell. 1997. "Generalized linear modelling for parasitologists." *Parasitology Today* 13:33–38.
- Wilson, K., B. T. Grenfell & D. J. Shaw. 1996. "Analysis of aggregated parasite distributions: a comparison of methods." *Functional Ecology* 10:592–601.
- Wright, P. J., D. A. Woodroffe, F. M. Gibb & J. D. M. Gordon. 2002. "Verification of first annulus formation in the illicia and otoliths of white anglerfish, *Lophius piscatorius* using otolith microstructure." *ICES Journal of Marine Science* 59:587–593.

- Yanagimoto, T. & K. Konishi. 2004. “*Acanthochondria priacanthi* (Copepoda: Chondracanthidae) as a biological indicator for stock identification of sandfish *Arctoscopus japonicus* (Steindachner).” *Fisheries Science* 70:336–338.
- Zabel, R. W., K. Haught & P. M. Chittaro. 2010. “Variability in fish size/otolith radius relationships among populations of Chinook salmon.” *Environmental Biology of Fishes* 89:267–278.
- Zhu, X. Q., M. Podolska, J. S. Liu, H. Q. Yu, H. H. Chen, Z. X. Lin, C. B. Luo, H. Q. Song & R. Q. Lin. 2007. “Identification of anisakid nematodes with zoonotic potential from Europe and China by single-strand conformation polymorphism analysis of nuclear ribosomal DNA.” *Parasitology Research* 101:1703–1707.
- Zhu, X. Q., S. D’Amelio, H. W. Palm, L. Paggi, M. George-Nascimento & R. B. Gasser. 2002. “SSCP-based identification of members within the *Pseudoterranova decipiens* complex (Nematoda: Ascaridoidea: Anisakidae) using genetic markers in the internal transcribed spacers of ribosomal DNA.” *Parasitology* 124:615–623.
- Zhu, X., R. B. Gasser, M. Podolska & N. B. Chilton. 1998. “Characterisation of anisakid nematodes with zoonotic potential by nuclear ribosomal DNA sequences.” *International Journal for Parasitology* 28:1911–1921.
- Zuur, A. F., E. N. Ieno, N. J. Walker, A. A. Saveliev & G. M. Smith. 2009. *Mixed effects models and extensions in ecology with R*. Springer, Nueva York, Estados Unidos.

Anexo A

Estudio genético de los nematodos parásitos

A.1. Métodos

- Extracción del ADNr

Para la obtención de ADN de los diferentes individuos analizados se utilizó el kit NucleoSpin ®Tissue de Machery-Nagel siguiendo el protocolo estándar de extracción de ADN de tejidos humanos o animales y células cultivadas descrito por el fabricante. Los tejidos conservados en etanol de 70 % se lavaron previamente con agua destilada. Aproximadamente 2 mg de tejido se homogeneizaron con 180 μ l de buffer T1, se añadieron 25 μ l de solución proteinasa k/SDS y se incubaron en un baño a 56°C durante toda la noche. Tras la incubación, se extrajo el ADN añadiendo 200 μ l de buffer B3. El ADN extraído se precipitó sobre una membrana de sílice añadiendo etanol absoluto. Para el lavado de la membrana de sílice se añadieron dos reactivos en pasos sucesivos: 500 μ l de buffer BW y 600 μ l de buffer B5. Tras secar el precipitado, se resuspendió en 100 μ l de buffer de separación BE precalentado a 70°C.

La calidad y concentración del ADN se valoró mediante electroforesis horizontal en geles de agarosa al 0.8 % en tampón 1xTAE (tris-acetato 40 mM, EDTA 1 mM pH 8.0 en agua miliQ) siguiendo el protocolo descrito por Sambrook et al. (1989). Como control de peso molecular se utilizó el ADN marcador XIV de Roche.

- Amplificación del ADNr (PCR)

Para la amplificación de la región seleccionada de ADNr (ITS1, 5.8S, ITS2 y sobre 70 pares de bases de 28S) se usaron en la PCR los primers NC5 (5'-GTA GGT GAA CCT GCG GAA GGA TCA TT-3' y NC2 (5'-TTA GTT TCT TTT CCT CCG CT-3') (Zhu et al. 1998).

Las mezclas de reacciones se realizaron en un volumen de 25 μ l, utilizando en todos los casos una concentración final de 1 ng/ μ l de ADN, 1.5 mM $C l_2$ Mg, 200 μ M dNTPs, 0.5 μ M de cada primer y 1.25U de Taq Polimerasa (Roche) en el tampón facilitado

por el fabricante. El protocolo de PCR fue realizado empleando un termociclador MJ Research PTC-200. Para la amplificación de los fragmentos específicos (ITS1-5.8S-ITS2) se llevó a cabo una desnaturalización inicial a 95°C durante 10 minutos, seguido de 35 ciclos que comprenden una desnaturalización a 95°C durante 30 segundos, una fase de hibridación a 55°C durante 30 segundos, una extensión a 72°C durante 75 segundos, seguido de una elongación final a 72°C durante 7 minutos. La eficacia de la amplificación se verificó mediante electroforesis en geles de agarosa al 1.5 % en tampón TAE.

- Purificación de los productos de la PCR

La purificación de los productos de PCR se realizó empleando la ExoSAP-IT (*USB Corporation, Amersham Pharmacia Biothech*) que utiliza dos enzimas hidrolíticas, la exonucleasa I y la fosfatasa alcalina *Shrimp*, que eliminan los restos de dNTPs, primers y ADN monocatenario que puedan interferir en la posterior reacción de secuenciación.

- Secuenciación

Las reacciones de secuenciación se realizaron según una adaptación del método enzimático de Sanger et al. (1977) en un secuenciador de electroforesis capilar CEQTM8000 *Genetic Analysis System* utilizando el sistema CEQTMDTCS (*Dye Terminator Cycle Sequencing*) *Quick Start Kit*, en los Servicios Xerais de Apoio á Investigación de la Universidade da Coruña.

- Análisis de secuencias

Se empleó la herramienta BLAST (*basic local alignment search tool*) (Altschul et al. 1990), que ofrece el NCBI a través de su página web, para buscar secuencias nucleotídicas similares a las nuestras. Se encontró coincidencia con secuencias de especies pertenecientes al género *Anisakis*, *Hysterothylacium*, *Pseudoterranova* y *Contracaecum*, las cuales fueron posteriormente extraídas (Tabla A.7).

Para el análisis comparativo de las distintas secuencias extraídas de la web NCBI y las secuencias objeto de estudio, se realizó un alineamiento múltiple mediante el programa Clustal X v2.0 (Thompson et al. 1997). La selección del modelo de distancias genéticas más adecuado para nuestros datos se llevó a cabo utilizando el programa JModelTest 0.1.1 (Posada 2008). Las distancias genéticas dentro y entre grupos se calcularon según el método de máxima verosimilitud, utilizando el programa MEGA

4 (Tamura et al. 2007) y para construir las filogenias se usó el servicio informático de *Montpellier Bioinformatics Platform* (www.atgc-montpellier.fr). Los niveles de fiabilidad de los clados filogenéticos se determinaron por la técnica de remuestreo *bootstrap* (Felsenstein 1985) con 100 réplicas.

A.2. Resultados en detalle del estudio genético

Los productos de amplificación de 6 de las 16 muestras de estudio mostraron un tamaño entre 800 y 1000 pares de bases (pb) (Figura A.1).

En el examen pormenorizado de las secuencias, después de eliminar los primers, se observó que éstas tenían una longitud que fluctuó entre 383-478 pb (ITS1), 76-157 pb (5.8S) y 315-408 pb (ITS2) (Tabla A.1). El análisis de la composición nucleotídica de las secuencias mostró un contenido equilibrado de AT y CG.

■ Distancias genéticas

Los resultados de las comparaciones entre los grupos considerados en el estudio por género se muestran en la Tabla A.2. Los valores más bajos de distancia genética se observaron entre los géneros *Anisakis*, *Pseudoterranova* e *Hysterothylacium* presentes en el GenBank y las muestras analizadas correspondientes a estos géneros, tanto para ITS1 como para ITS2.

En las comparaciones realizadas dentro de los grupos, los mayores valores de distancias se observaron en *Anisakis* y *Contracaecum* (Tabla A.3). Con respecto a las secuencias estudiadas, fue en *Anisakis* M. 1 - 4 donde se obtuvo la mayor distancia para ITS1 (0.013), mientras que en ITS2 las distancias fueron 0.000 para todas las muestras (Tabla A.3).

Los resultados obtenidos por género, muestran que las variaciones aparecen preferentemente entre los grupos y no dentro de ellos.

En el estudio por especie, el análisis entre grupos muestra que los menores valores de distancias para *Anisakis* M. 1 - 4 se obtuvieron con las especies gemelas *A. pegreffii*, *A. simplex* (s.s.) y *A. simplex* C, mientras que *Pseudoterranova* M. 1 - 4 presentó una distancia de 0.000 con *P. krabbei* (Tabla A.4). En el caso de *Hysterothylacium* M. 1 - 4, a pesar de que los valores más bajos de distancias se obtuvieron con las dos especies del género *Hysterothylacium*, son relativamente altas con respecto a las obtenidas en las otras muestras.

En el análisis dentro de los grupos, se observan distancias muy bajas en todas las especies, tanto para ITS1 como para ITS2 (Tabla A.5). Por lo tanto, y al igual que

en el estudio por género, se observa que la mayor fuente de variación tiene lugar entre grupos y no dentro de ellos.

En la Tabla A.6 se muestran los valores de distancias entre grupos y se puede observar como los valores más bajos corresponden con las especies gemelas *A. pegreffii* (0.007), *A. simplex* (*s.s.*) (0.004) y *A. simplex* C (0.006), coincidiendo con los resultados del estudio anterior. *A. typica*, a pesar de pertenecer al morfotipo Tipo I de *Anisakis* (*sensu* Berland 1961) presenta valores de distancias altos, tanto con la muestra como con el resto de especies pertenecientes a este morfotipo. *A. brevispiculata*, *A. paggiae* y *A. physeteris* pertenecen al morfotipo Tipo II (*sensu* Berland 1961) y muestran valores de distancias con la muestra mayores que los encontrados para los miembros del morfotipo Tipo I, excepto con *A. typica*.

Tabla A.1: Composición nucleotídica expresada como porcentaje de Adenina y Timina de las muestras analizadas *Anisakis* M. 1 - 4, *Pseudoterranova* M. 1 - 4 e *Hysterothylacium* M. 1 - 4. (M. = Muestras).

Muestras	ITS1		5.8S		ITS2	
	A + T	Tamaño	A + T	Tamaño	A + T	Tamaño
<i>Anisakis</i> M. 1	53.7	453	54.0	76	54.5	408
<i>Anisakis</i> M. 2	52.6	441	54.0	76	55.1	401
<i>Anisakis</i> M. 3	52.4	424	54.0	76	54.9	399
<i>Anisakis</i> M. 4	52.5	450	54.0	76	55.1	407
<i>Pseudoterranova</i> M. 1	52.2	408	54.0	76	52.9	404
<i>Pseudoterranova</i> M. 2	51.9	405	54.0	76	54.3	403
<i>Pseudoterranova</i> M. 3	52.8	383	54.0	76	54.0	398
<i>Pseudoterranova</i> M. 4	51.1	415	54.0	76	54.0	398
<i>Hysterothylacium</i> M. 1	48.1	472	49.7	157	47.3	323
<i>Hysterothylacium</i> M. 2	49.4	478	49.7	157	47.2	318
<i>Hysterothylacium</i> M. 3	49.6	478	49.7	157	48.3	315
<i>Hysterothylacium</i> M. 4	48.3	457	49.7	157	47.6	319

Tabla A.2: Distancias genéticas para ITS1 (bajo la diagonal) e ITS2 (sobre la diagonal) entre los géneros *Anisakis*, *Pseudoterranova*, *Hysterothylacium* y *Contracaecum*, presentes en el GenBank, y las muestras *Anisakis* M. 1 - 4, *Pseudoterranova* M. 1 - 4 e *Hysterothylacium* M. 1 - 4 (M. = Muestra).

	<i>Anisakis</i>	<i>Pseudoterranova</i>	<i>Hysterothylacium</i>	<i>Contracaecum</i>	<i>Anisakis</i> M. 1-4	<i>Pseudoterranova</i> M. 1-4	<i>Hysterothylacium</i> M. 1-4
<i>Anisakis</i>		0.350	1.063	1.086	0.156	0.345	1.075
<i>Pseudoterranova</i>	0.074		1.222	1.200	0.387	0.009	1.126
<i>Hysterothylacium</i>	0.297	0.306		0.851	0.969	1.222	0.295
<i>Contracaecum</i>	0.292	0.277	0.286		1.076	1.200	0.798
<i>Anisakis</i> M. 1-4	0.048	0.083	0.317	0.307		0.378	0.947
<i>Pseudoterranova</i> M. 1-4	0.080	0.010	0.307	0.290	0.095		1.126
<i>Hysterothylacium</i> M. 1-4	0.300	0.302	0.068	0.255	0.310	0.303	

Tabla A.3: Distancias genéticas dentro de los géneros *Anisakis*, *Pseudoterranova*, *Hysterothylacium* y *Contracaecum*, presentes en el GenBank, y de las muestras *Anisakis* M. 1 - 4, *Pseudoterranova* M. 1 - 4 e *Hysterothylacium* M. 1 - 4. (M. = Muestra, n = número de secuencias analizadas).

Género	Distancias			
	ITS1	n	ITS2	n
<i>Anisakis</i>	0.052	22	0.215	22
<i>Pseudoterranova</i>	0.007	9	0.005	9
<i>Hysterothylacium</i>	0.006	14	0.007	14
<i>Contracaecum</i>	0.078	33	0.248	34
<i>Anisakis</i> M. 1-4	0.013	4	0.000	4
<i>Pseudoterranova</i> M. 1-4	0.000	4	0.000	4
<i>Hysterothylacium</i> M. 1-4	0.007	4	0.000	4

Tabla A.4: Distancias genéticas para ITS1 (bajo la diagonal) e ITS2 (sobre la diagonal) entre las especies de los géneros *Anisakis*, *Pseudoterranova* e *Hysterothylacium*, presentes en el GenBank, y las muestras *Anisakis* M. 1 - 4, *Pseudoterranova* M. 1 - 4 e *Hysterothylacium* M. 1 - 4. (M. = Muestra).

	<i>A. pegreffii</i>	<i>A. simplex (s.s.)</i>	<i>A. simplex C</i>	<i>A. ziphidarum</i>	<i>A. typica</i>	<i>A. brevispiculata</i>	<i>A. paggiae</i>	<i>A. physeteris</i>	<i>P. decipiens (s.s.)</i>	<i>P. krabbei</i>	<i>P. bulbosa</i>	<i>P. cattani</i>	<i>P. azarasi</i>	<i>H. aduncum</i>	<i>H. bidentatum</i>	<i>Anisakis M. 1-4</i>	<i>Pseudoterranova M. 1-4</i>	<i>Hysterothylacium M. 1-4</i>
<i>A. pegreffii</i>		0.018	0.018	0.084	0.323	0.297	0.320	0.363	0.554	0.542	0.565	0.535	0.572	3.328	3.526	0.018	0.542	3.444
<i>A. simplex (s.s.)</i>	0.006		0.000	0.062	0.301	0.262	0.287	0.324	0.520	0.509	0.531	0.503	0.538	3.160	3.340	0.000	0.509	3.278
<i>A. simplex C</i>	0.006	0.000		0.062	0.301	0.262	0.287	0.324	0.520	0.509	0.531	0.503	0.538	3.160	3.340	0.000	0.509	3.278
<i>A. ziphidarum</i>	0.025	0.027	0.027		0.296	0.268	0.311	0.299	0.501	0.490	0.512	0.484	0.484	3.061	3.487	0.062	0.490	3.620
<i>A. typica</i>	0.124	0.117	0.117	0.113		0.423	0.479	0.414	0.667	0.679	0.679	0.645	0.645	4.376	5.207	0.301	0.679	4.694
<i>A. brevispiculata</i>	0.092	0.085	0.085	0.081	0.137		0.159	0.086	0.382	0.372	0.392	0.368	0.396	3.622	4.128	0.262	0.372	4.071
<i>A. paggiae</i>	0.077	0.079	0.079	0.074	0.134	0.040		0.204	0.347	0.338	0.357	0.335	0.335	3.617	4.208	0.287	0.338	3.657
<i>A. physeteris</i>	0.080	0.082	0.082	0.069	0.132	0.023	0.033		0.433	0.422	0.443	0.418	0.449	3.424	3.861	0.324	0.422	3.787
<i>P. decipiens (s.s.)</i>	0.086	0.079	0.079	0.087	0.150	0.072	0.063	0.073		0.006	0.006	0.006	0.006	3.355	3.946	0.520	0.006	3.523
<i>P. krabbei</i>	0.094	0.087	0.087	0.087	0.149	0.072	0.062	0.073	0.007		0.011	0.011	0.011	3.355	3.946	0.509	0.000	3.523
<i>P. bulbosa</i>	0.077	0.070	0.070	0.079	0.140	0.064	0.054	0.065	0.007	0.015		0.011	0.011	3.355	3.946	0.531	0.011	3.523
<i>P. cattani</i>	0.082	0.075	0.075	0.083	0.154	0.068	0.067	0.069	0.004	0.011	0.011		0.011	3.355	3.946	0.503	0.011	3.523
<i>P. azarasi</i>	0.086	0.079	0.079	0.087	0.150	0.072	0.063	0.073	0.000	0.007	0.007	0.004		3.406	3.999	0.538	0.011	3.470
<i>H. aduncum</i>	0.301	0.303	0.303	0.299	0.364	0.317	0.309	0.313	0.324	0.324	0.324	0.319	0.324		0.102	3.160	3.355	0.523
<i>H. bidentatum</i>	0.301	0.303	0.303	0.299	0.364	0.307	0.309	0.313	0.324	0.324	0.324	0.319	0.324	0.046		3.340	3.946	0.599
<i>Anisakis M. 1-4</i>	0.016	0.009	0.009	0.036	0.128	0.096	0.089	0.093	0.090	0.098	0.081	0.085	0.090	0.316	0.316		0.509	3.278
<i>Pseudoterranova M. 1-4</i>	0.094	0.087	0.087	0.087	0.149	0.072	0.062	0.073	0.007	0.000	0.015	0.011	0.007	0.324	0.324	0.098		3.523
<i>Hysterothylacium M. 1-4</i>	0.295	0.296	0.296	0.299	0.359	0.302	0.304	0.308	0.312	0.312	0.311	0.306	0.312	0.085	0.075	0.309	0.312	

Tabla A.5: Distancias genéticas para las especies de los géneros *Anisakis*, *Pseudoterranova*, e *Hysterothylacium*, presentes en el GenBank, y para las muestras *Anisakis* M. 1 - 4, *Pseudoterranova* M. 1 - 4 e *Hysterothylacium* M. 1 - 4. (M. = Muestra, n = número de secuencias analizadas).

Especie	Distancias			
	ITS1	n	ITS2	n
<i>A. pegreffii</i>	0.005	3	0.037	3
<i>A. simplex (s.s.)</i>	0.000	4	0.000	4
<i>A. simplex</i> C	0.000	2	0.000	2
<i>A. zhipidarum</i>	0.000	2	0.000	2
<i>A. typica</i>	0.010	3	0.000	3
<i>A. brevispiculata</i>	0.004	2	0.006	2
<i>A. paggiae</i>	0.000	3	0.000	3
<i>A. physeteris</i>	0.005	3	0.015	3
<i>P. decipiens (s.s.)</i>	0.000	3	0.000	3
<i>P. bulbosa</i>	0.000	2	0.000	2
<i>P. cattani</i>	0.000	2	0.000	2
<i>H. aduncum</i>	0.000	13	0.000	13
<i>Anisakis</i> M. 1-4	0.015	4	0.000	4
<i>Pseudoterranova</i> M. 1-4	0.000	4	0.000	4
<i>Hysterothylacium</i> M. 1-4	0.006	4	0.000	4

Tabla A.6: Distancias genéticas entre las 8 especies del género *Anisakis*, presentes en el GenBank, y las muestras *Anisakis* M. 1 - 4, analizando ITS1-5.8S-ITS2. (M. = Muestra).

	<i>A. pegreffii</i>	<i>A. simplex (s.s.)</i>	<i>A. simplex C</i>	<i>A. zhipidarum</i>	<i>A. typica</i>	<i>A. brevispiculata</i>	<i>A. paggiae</i>	<i>A. physeteris</i>	<i>Anisakis</i> M. 1-4
<i>A. pegreffii</i>									
<i>A. simplex (s.s.)</i>	0.006								
<i>A. simplex C</i>	0.008	0.005							
<i>A. zhipidarum</i>	0.046	0.046	0.043						
<i>A. typica</i>	0.178	0.175	0.171	0.156					
<i>A. brevispiculata</i>	0.142	0.138	0.135	0.136	0.183				
<i>A. paggiae</i>	0.127	0.127	0.125	0.111	0.178	0.054			
<i>A. physeteris</i>	0.140	0.140	0.138	0.130	0.196	0.040	0.059		
<i>Anisakis</i> M. 1-4	0.007	0.004	0.006	0.047	0.176	0.140	0.128	0.142	

Tabla A.7: Referencias del GenBank de las secuencias usadas en el estudio genético para ITS1, ITS2 e ITS1-5.8S-ITS2. Las secuencias subrayadas se cortaron en el punto medio del gen 5.8S para dividir la región ITS1 e ITS2.

Especie	Referencias GenBank		
	ITS1	ITS2	ITS1-5.8S-ITS2
<i>A. pegreffii</i>	AM706346.1; EU933997.1 AY603531.1	AM706346.1; EU933997.1 AY603531.1	<u>AM706346.1</u> ; <u>EU933997.1</u> GQ131688.1; EU624343.1 EU933998.1; AY826720.1 AB277823.1; EU718479.1 <u>AY603531.1</u>
<i>A. simplex (s.s.)</i>	AJ225065.1; AJ937669.1 AJ937670.1; AJ937671.1	AJ225066.1; AJ937669.1 AJ937670.1; AJ937671.1	<u>AJ937669.1</u> ; <u>AJ937670.1</u> <u>AJ937671.1</u>
<i>A. simplex C</i>	AY821736.1; AY821739.1	AY821736.1; AY821739.1	<u>AY821736.1</u> ; <u>AY821739.1</u> AY826722.1; GQ167200.1 GQ131689.1
<i>A. ziphidarum</i>	EU718473.1 ; AY826725.1	EU718473.1 ; AY826725.1	<u>EU718473.1</u> ; <u>AY826725.1</u>
<i>A. typica</i>	AM706345.1; AY826724.1 AB479120.1	AM706345.1; AY826724.1 AB479120.1	<u>AM706345.1</u> ; <u>AY826724.1</u> <u>AB479120.1</u> ; AB432909.1 AB432908.1; EU327688.1 EU327689.1; EU327687.1 EU327686.1
<i>A. brevispiculata</i>	AY826719.1 ; EU624344.1	AY826719.1; EU624344.1	<u>AY826719.1</u> ; <u>EU624344.1</u>
<i>A. paggiae</i>	GU295974.1; GU295975.1 GU295976.1	GU295974.1; GU295975.1 GU295976.1	GU295973.1; <u>GU295974.1</u> <u>GU295975.1</u> ; <u>GU295976.1</u> EU624345.1
<i>A. physeteris</i>	AY826721.1; EU327690.1 EU327691.1	AY826721.1; EU327690.1 EU327691.1	AB277821.1; <u>AY826721.1</u> <u>EU327690.1</u> ; <u>EU327691.1</u>
<i>P. decipiens (s.s.)</i>	AJ413968.1; AJ413975.1 AJ413976.1	AJ413967.1; AJ413977.1 AJ413978.1	
<i>P. krabbei</i>	AJ413965.1	AJ413966.1	
<i>P. bulbosa</i>	AJ413969.1; AJ413970.1	AJ413971.1; AJ413972.1	
<i>P. cattani</i>	AJ413981.1; AJ413982.1	AJ413983.1; AJ413984.1	
<i>P. azarasi</i>	AJ413973.1	AJ413974.1	
<i>H. aduncum</i>	<u>AB277826.1</u> ; AJ225068.1 AM503955.1; <u>AJ937672.1</u> <u>AJ937673.1</u> ; GQ118683.1-90.1	<u>AB277826.1</u> ; AJ225069.1 AM503956.1; <u>AJ937672.1</u> <u>AJ937673.1</u> ; GQ118691.1-98.1	
<i>H. bidentatum</i>	AY603539.1	AY603539.1	

Continuación de la Tabla A.7

Especie	Referencias GenBank		
	ITS1	ITS2	ITS1-5.8S-ITS2
<i>Contracaecum</i> spp.	FM210432.1; FM177544.1	FM210429.1; FM210428.1	
	FM210430.1; FM177546.1	DQ316970.1; AJ634786.1	
	AJ291469.1; AJ291470.1	FM210425.1; DQ316969.1	
	FM210422.1; AJ783845.1	AJ634785.1; FM210272.1	
	DQ316967.1; FM210260.1	FM210273.1; FM210418.1	
	FM210258.1; FM210256.1	FM210412.1; FM177529.1	
	FM210254.1; FM210252.1	FM210411.1; FM177888.1	
	FM210417.1; FM210414.1	FM177881.1; FM177884.1	
	FM210410.1; FM177524.1	FM177887.1; FM177578.1	
	EU839571.1; EU839567.1	FM177566.1; FM177564.1	
	FM177561.1; FM177553.1	FM177570.1; FM177541.1	
	FM177536.1; FM177535.1	FM177540.1; AJ634787.1	
	AM940065.1; AJ634784.1	AJ250421.1; AJ250417.1	
	AJ250415.1; AJ250412.1	AJ250420.1; AM940060.1	
	<u>AY603535.1</u> ; <u>AY603529.1</u>	AM940061.1; <u>AY603535.1</u>	
	<u>AJ937674.1</u> ; <u>AF411203.1</u>	<u>AY603529.1</u> ; <u>AJ937674.1</u>	
	<u>AF411204.1</u>	<u>AF411203.1</u> ; <u>AF411204.1</u>	



Figura A.1: Electroforesis de los productos de la amplificación por PCR de la región de ADN_r (ITS1-5.8S-ITS2) de *Anisakis* M. 1 - 2 (1), *Hysterothylacium* M. 1 - 2 (2) y *Pseudoterranova* M. 1 - 2 (3). (M = ADN marcador XIV de Roche).

Las secuencias nucleotídicas correspondientes a las especies analizadas en este trabajo se muestran en la Figura A.2.

Figura A.2: Secuencias nucleotídicas de ITS1-5.8S-ITS2 pertenecientes a las muestras *Anisakis* M. 1 - 4, *Pseudoterranova* M. 1 - 4 e *Hysterothylacium* M. 1 - 4.

```

                *      20      *      40      *      60
Anisakis M. 1   : -----T.G.GTG.....T...GAA.G.A.....A..... : 54
Anisakis M. 2   : ----T.A.....G..A...TG.AG.----TCA...-..... : 48
Anisakis M. 3   : -----T.A.....G..A...TG.AG.----TCA...-..... : 27
Anisakis M. 4   : -A....AGAGA...AA.....T.T..... : 56
Pseudoterranova M. 1 : -----TA.G....A...T.....-.....A-- : 47
Pseudoterranova M. 2 : -----TA.G.....-.....-.....A-- : 45
Pseudoterranova M. 3 : -----TA.G.....-.....CG.GC..-ACGA...T-- : 22
Pseudoterranova M. 4 : T.G....A.TG.A.A..G.....CGCCG.....-.....A-- : 55
Hysterothylacium M. 1 : -----G.A..G.GTGA..T.....-.....T.T...G---T.GGG-- : 42
Hysterothylacium M. 2 : --.G.TAT.G...A....T.T.....TCA.----T.T...G---T...GA- : 50
Hysterothylacium M. 3 : .AA.TCGT..A.ACA...TTTTT..TAGT..GC..CG..-AT.T.....T..G--- : 52
Hysterothylacium M. 4 : -----T.TT.AGTGA.GGG....C--.C.AG...-----T.T...G---T.G.--- : 40

                *      80      *      100      *      120
Anisakis M. 1   : .....G.....-.....A... : 112
Anisakis M. 2   : .....-.....-.....A... : 100
Anisakis M. 3   : .....C.....-.....A... : 82
Anisakis M. 4   : .....-.....-.....G.A... : 108
Pseudoterranova M. 1 : .....-.....A.....T..... : 102
Pseudoterranova M. 2 : .....-.....A.....-..... : 99
Pseudoterranova M. 3 : .....-T.....-.....T..... : 77
Pseudoterranova M. 4 : .....-.....A.....-..... : 109
Hysterothylacium M. 1 : --CC.....T.G.....AG.T.G...A...GC..T.AA...G..G...GC : 98
Hysterothylacium M. 2 : --C.....GA-C.....G.T...A...GC...A-.....G...GC : 103
Hysterothylacium M. 3 : ---TCG.....-G-.....G.T.C...A...GC...A-.....G...GC : 104
Hysterothylacium M. 4 : ---C.....-G-.....G.T--...A...GC...A-.....G...GC : 87
    
```

```

*          140          *          160          *          180
Anisakis M. 1 : G.....C.....---.....CT..... : 169
Anisakis M. 2 : G.....C.....---..... : 157
Anisakis M. 3 : G.....C.....---..... : 139
Anisakis M. 4 : G.....C.....---..... : 165
Pseudoterranova M. 1 : .....A.....G.....---.....A.....A.C-GT..... : 158
Pseudoterranova M. 2 : .....A.....G.....---.....A.....A.C-GT..... : 155
Pseudoterranova M. 3 : .....A.....G.....---.....A.....A.C-GT..... : 133
Pseudoterranova M. 4 : .....A.....G.....---.....A.....A.C-GT..... : 165
Hysterothylacium M. 1 : ..C..G.T.C.....T..TG.....A..C.....--..... : 156
Hysterothylacium M. 2 : ..C..G.T.C.....TG.....A..C.....-..... : 162
Hysterothylacium M. 3 : ..C..G.T.C.....TG.....A..C.....--..... : 162
Hysterothylacium M. 4 : ..C.G--T.C.....-..T..TG.....A..C.....--..... : 141

```

```

*          200          *          220          *          240
Anisakis M. 1 : .....C.....C-.....C.....---A..... : 225
Anisakis M. 2 : .....C.....C-.....C.....---..... : 213
Anisakis M. 3 : .....C.....C.....C.....---..... : 196
Anisakis M. 4 : .....C.....C.....C.....---..... : 222
Pseudoterranova M. 1 : .....-.....-.....-..... : 214
Pseudoterranova M. 2 : .....-.....-.....-..... : 211
Pseudoterranova M. 3 : .....-.....-.....-..... : 189
Pseudoterranova M. 4 : .....-.....-.....-..... : 221
Hysterothylacium M. 1 : ..TC.G.AGC.T.....T.GAGG.GGG.TA.....GT.C.G..T...AG.AAA : 215
Hysterothylacium M. 2 : ..TC.G.AGC.T.....T.GAGG.GGG.TA.....GT.C.G..T...AG.AA- : 220
Hysterothylacium M. 3 : ..TC.G.AGC.T.....T.GAGG.GGG.TA.....GT.C.G..T...AG.AA- : 220
Hysterothylacium M. 4 : ..TC.G.AGC.T.....T.GAGG.GGG.TA.....GT.C.G..T...AG.AA- : 199

```

```

*          260          *          280          *          300
Anisakis M. 1 : .....-.....-.....T..... : 282
Anisakis M. 2 : .....-.....-.....T..... : 270
Anisakis M. 3 : .....-.....-.....T..... : 253
Anisakis M. 4 : .....-.....-.....T..... : 279
Pseudoterranova M. 1 : .....-.....G..... : 271
Pseudoterranova M. 2 : .....-.....G..... : 268
Pseudoterranova M. 3 : .....-.....G..... : 246
Pseudoterranova M. 4 : .....-.....G..... : 278
Hysterothylacium M. 1 : G...CG.C...AGC...A...AC...T.T.C.TA.AA.CG.TAT.CACTTTG.CGT.. : 275
Hysterothylacium M. 2 : G...CG.C...AGC...A...AC...T.T.C.TA.AA.CG.TAT.CACTTTG.CGT.. : 280
Hysterothylacium M. 3 : G...CG.C...AGC...A...AC...T.T.C.TA.AA.CG.TAT.CACTTTG.CGT.. : 280
Hysterothylacium M. 4 : G...CG.C...AGC...A...AC...T.T.C.TA.AA.CG.TAT.CACTTTG.CGT.. : 259

```

```

*          320          *          340          *          360
Anisakis M. 1 : T.....G.T...T...T.TG.....-.....G...- : 327
Anisakis M. 2 : T.....G.T...T...T.TG.....-.....G...- : 315
Anisakis M. 3 : T.....G.T...T...T.TG.....-.....G...- : 298
Anisakis M. 4 : T.....G.T...T...T.TG.....-.....G...- : 324
Pseudoterranova M. 1 : C.....-.....-.....CGC.....-.....C...- : 292
Pseudoterranova M. 2 : C.....-.....-.....CGC.....-.....C...- : 289
Pseudoterranova M. 3 : C.....-.....-.....CGC.....-.....C...- : 267
Pseudoterranova M. 4 : C.....-.....-.....CGC.....-.....C...- : 299
Hysterothylacium M. 1 : .C.CC.CAC...G.T..TG..-.....GT.G.....T..... : 333
Hysterothylacium M. 2 : .C.CC.CAC...G.T..TG..-.....GT.G.....T..... : 339
Hysterothylacium M. 3 : .C.CC.CAC...G.T..TG..-.....GT.G.....T..... : 339
Hysterothylacium M. 4 : .C.CC.CAC...G.T..TG..-.....GT.G.....T..... : 318

```

```

*          380          *          400          *          420
Anisakis M. 1 : -----.....-..... : 378
Anisakis M. 2 : -----.....-..... : 366
Anisakis M. 3 : -----.....-..... : 349
Anisakis M. 4 : -----.....-..... : 375
Pseudoterranova M. 1 : -----.....T...T..... : 343
Pseudoterranova M. 2 : -----.....T...T..... : 340
Pseudoterranova M. 3 : -----.....T...T..... : 318
Pseudoterranova M. 4 : -----.....T...T..... : 350
Hysterothylacium M. 1 : .....C...T.....T.....A.....G.....-..... : 392
Hysterothylacium M. 2 : .....C...T.....T.....A.....G.....-..... : 398
Hysterothylacium M. 3 : .....C...T.....T.....A.....G.....-..... : 398
Hysterothylacium M. 4 : .....C...T.....T.....A.....G.....-..... : 377

```

```

*           440           *           460           *           480
Anisakis M. 1      : .....G.....C.....TA-----T..G..... : 426
Anisakis M. 2      : .....G.....C.....TA-----T..G..... : 414
Anisakis M. 3      : .....G.....C.....TA-----T..G..... : 397
Anisakis M. 4      : .....G.....C.....TA-----T..G..... : 423
Pseudoterranova M. 1 : .....AAC-----G..... : 381
Pseudoterranova M. 2 : .....AAC-----G..... : 378
Pseudoterranova M. 3 : .....AAC-----G..... : 356
Pseudoterranova M. 4 : .....AAC-----G..... : 388
Hysterothylacium M. 1 : .....G.....G.G.....C...CA.CCT...GTGG... : 452
Hysterothylacium M. 2 : .....G.....G.G.....C...CA.CCT...GTGG... : 458
Hysterothylacium M. 3 : .....G.....G.G.....C...CA.CCT...GTGG... : 458
Hysterothylacium M. 4 : .....G.....G.G.....C...CA.CCT...GTGG... : 437
    
```

```

*           500           *           520           *           540
Anisakis M. 1      : ----- : 468
Anisakis M. 2      : ----- : 456
Anisakis M. 3      : ----- : 439
Anisakis M. 4      : ----- : 465
Pseudoterranova M. 1 : ----- : 423
Pseudoterranova M. 2 : ----- : 420
Pseudoterranova M. 3 : ----- : 398
Pseudoterranova M. 4 : ----- : 430
Hysterothylacium M. 1 : .....T.....A..... : 512
Hysterothylacium M. 2 : .....T.....A..... : 518
Hysterothylacium M. 3 : .....T.....A..... : 518
Hysterothylacium M. 4 : .....T.....A..... : 497
    
```

```

*           560           *           580           *           600
Anisakis M. 1      : ..... : 528
Anisakis M. 2      : ..... : 516
Anisakis M. 3      : ..... : 499
Anisakis M. 4      : ..... : 525
Pseudoterranova M. 1 : ..... : 483
Pseudoterranova M. 2 : ..... : 480
Pseudoterranova M. 3 : ..... : 458
Pseudoterranova M. 4 : ..... : 490
Hysterothylacium M. 1 : .....T..... : 572
Hysterothylacium M. 2 : .....T..... : 578
Hysterothylacium M. 3 : .....T..... : 578
Hysterothylacium M. 4 : .....T..... : 557
    
```

```

*           620           *           640           *           660
Anisakis M. 1      : ..... : 588
Anisakis M. 2      : ..... : 576
Anisakis M. 3      : ..... : 559
Anisakis M. 4      : ..... : 585
Pseudoterranova M. 1 : ..... : 543
Pseudoterranova M. 2 : ..... : 540
Pseudoterranova M. 3 : ..... : 518
Pseudoterranova M. 4 : ..... : 550
Hysterothylacium M. 1 : .....C.....T..... : 632
Hysterothylacium M. 2 : .....C.....T..... : 638
Hysterothylacium M. 3 : .....C.....T..... : 638
Hysterothylacium M. 4 : .....C.....T..... : 617
    
```

```

*           680           *           700           *           720
Anisakis M. 1      : CG..G...G...AC..TT...C..-A.....C.....C.A.T..... : 647
Anisakis M. 2      : CG..G...G...AC..TT...C..-A.....C.....C.A.T..... : 635
Anisakis M. 3      : CG..G...G...AC..TT...C..-A.....C.....C.A.T..... : 618
Anisakis M. 4      : CG..G...G...AC..TT...C..-A.....C.....C.A.T..... : 644
Pseudoterranova M. 1 : .....T.....A...TC.....-A..C : 602
Pseudoterranova M. 2 : .....T.....A...TC.....-A..C : 599
Pseudoterranova M. 3 : .....T.....A...TC.....-A..C : 577
Pseudoterranova M. 4 : .....T.....A...TC.....-A..C : 609
Hysterothylacium M. 1 : .C.AC..TC...CGT-----GA..A...TC.CTC..G.GAT.G.AGC.....CA. : 686
Hysterothylacium M. 2 : .C.AC..TC...CGT-----GA..A...TC.CTC..G.GAT.G.AGC.....CA. : 692
Hysterothylacium M. 3 : .C.AC..TC...CGT-----GA..A...TC.CTC..G.GAT.G.AGC.....CA. : 692
Hysterothylacium M. 4 : .C.AC..TC...CGT-----GA..A...TC.CTC..G.GAT.G.AGC.....CA. : 671
    
```

```

*           740           *           760           *           780
Anisakis M. 1 : .....GG...TC...C...AC..T.....G...T.....GT..TG.C : 707
Anisakis M. 2 : .....GG...TC...C...AC..T.....G...T.....GT..TG.C : 695
Anisakis M. 3 : .....GG...TC...C...AC..T.....G...T.....GT..TG.C : 678
Anisakis M. 4 : .....GG...TC...C...AC..T.....G...T.....GT..TG.C : 704
Pseudoterranova M. 1 : .GA.....T..G.C..TC.....-----..TTG...CGG.C.A.C...A..... : 655
Pseudoterranova M. 2 : .GA.....T..G.C..TC.....-----..TTG...CGG.C.A.C...A..... : 652
Pseudoterranova M. 3 : .GA.....T..G.C..TC.....-----..TTG...CGG.C.A.C...A..... : 630
Pseudoterranova M. 4 : .GA.....T..G.C..TC.....-----..TTG...CGG.C.A.C...A..... : 662
Hysterothylacium M. 1 : .C.G...A..C.GC..-GC.....CT.T--..G..CA.....--G.T.G : 741
Hysterothylacium M. 2 : .C.G...A..C.GC..-GC.....CT.T--..G..CA.....--G.T.G : 747
Hysterothylacium M. 3 : .C.G...A..C.GC..-GC.....CT.T--..G..CA.....--G.T.G : 747
Hysterothylacium M. 4 : .C.G...A..C.GC..-GC.....CT.T--..G..CA.....--G.T.G : 726
    
```

```

*           800           *           820           *           840
Anisakis M. 1 : ...G.....C.C.G.A.C.....A.TAC..G...A..G..G.G...CT : 767
Anisakis M. 2 : ...G.....C.C.G.A.C.....A.TAC..G...A..G..G.G...CT : 755
Anisakis M. 3 : ...G.....C.C.G.A.C.....A.TAC..G...A..G..G.G...CT : 738
Anisakis M. 4 : ...G.....C.C.G.A.C.....A.TAC..G...A..G..G.G...CT : 764
Pseudoterranova M. 1 : TTC.G..G.TC.TTGC.T.G...GT.C..G..---T...C.C..G.AC..TA... : 713
Pseudoterranova M. 2 : TTC.G..G.TC.TTGC.T.G...GT.C..G..---T...C.C..G.AC..TA... : 710
Pseudoterranova M. 3 : TTC.G..G.TC.TTGC.T.G...GT.C..G..---T...C.C..G.AC..TA... : 688
Pseudoterranova M. 4 : TTC.G..G.TC.TTGC.T.G...GT.C..G..---T...C.C..G.AC..TA... : 720
Hysterothylacium M. 1 : CC...TT...GC.....T...CT.C..G.G--G...G..GG.C--..C..... : 795
Hysterothylacium M. 2 : CC...TT...GC.....T...CT.C..G.G--G...G..GG.C--..C..... : 801
Hysterothylacium M. 3 : CC...TT...GC.....T...CT.C..G.G--G...G..GG.C--..C..... : 801
Hysterothylacium M. 4 : CC...TT...GC.....T...CT.C..G.G--G...G..GG.C--..C..... : 780
    
```

```

*           860           *           880           *           900
Anisakis M. 1 : T...G.GG..AC...A.T.....T...A.....A.....A..... : 825
Anisakis M. 2 : T...G.GG..AC...A.T.....T...A.....A.....A..... : 813
Anisakis M. 3 : T...G.GG..AC...A.T.....T...A.....A.....A..... : 796
Anisakis M. 4 : T...G.GG..AC...A.T.....T...A.....A.....A..... : 822
Pseudoterranova M. 1 : .....G.TG.T...G..T.....C...AT..... : 773
Pseudoterranova M. 2 : .....G.TG.T...G..T.....C...AT..... : 770
Pseudoterranova M. 3 : .....G.TG.T...G..T.....C...AT..... : 748
Pseudoterranova M. 4 : .....G.TG.T...G..T.....C...AT..... : 780
Hysterothylacium M. 1 : ----.C.C.C...TGC...TC.G...C.T...G.T..TT..TG.TG.TAT.TGA.A : 850
Hysterothylacium M. 2 : ----.C.C.C...TGC...TC.G...C.T...G.T..TT..TG.TG.TAT.TGA.A : 856
Hysterothylacium M. 3 : ----.C.C.C...TGC...TC.G...C.T...G.T..TT..TG.TG.TAT.TGA.A : 856
Hysterothylacium M. 4 : ----.C.C.C...TGC...TC.G...C.T...G.T..TT..TG.TG.TAT.TGA.A : 835
    
```

```

*           920           *           940           *           960
Anisakis M. 1 : -.G..A.--.....C.G.....A.--.....A...C.....T..... : 879
Anisakis M. 2 : -.G..A.--.....C.G.....A.--.....A...C.....T..... : 867
Anisakis M. 3 : -.G..A.--.....C.G.....A.--.....A...C.....T..... : 850
Anisakis M. 4 : -.G..A.--.....C.G.....A.--.....A...C.....T..... : 876
Pseudoterranova M. 1 : .....G.G--C... : 831
Pseudoterranova M. 2 : .....T...G.G--C... : 828
Pseudoterranova M. 3 : .....T...G.G--C... : 806
Pseudoterranova M. 4 : .....T...G.G--C... : 838
Hysterothylacium M. 1 : G.TTG.GGCA.GCA.C..CA.G..GT.T-----TGA...G.....G : 898
Hysterothylacium M. 2 : G.TTG.GGCA.GCA.C..CA.G..GT.T-----TGA...G.....G : 904
Hysterothylacium M. 3 : G.TTG.GGCA.GCA.C..CA.G..GT.T-----TGA...G.....G : 904
Hysterothylacium M. 4 : G.TTG.GGCA.GCA.C..CA.G..GT.T-----TGA...G.....G : 883
    
```

```

*           980           *           1000           *           1020
Anisakis M. 1 : ..A-.T..A.....GA...AG...G...TG.G.C- : 937
Anisakis M. 2 : ..A-.T..A.....GCTT..T..... : 918
Anisakis M. 3 : ..A-.T..A.....A..G.T.A.ATGC----- : 899
Anisakis M. 4 : ..A-.T..A.....AGT...ATTA..C.TG.. : 933
Pseudoterranova M. 1 : ...T...T..A.....A...G..G..T.C..C.C-- : 888
Pseudoterranova M. 2 : ...T...T..A.....T...G.TTGA..T.A-- : 884
Pseudoterranova M. 3 : ...T...T..A.....A.....AT----- : 857
Pseudoterranova M. 4 : ...T...T..A.....A.....ATT----- : 889
Hysterothylacium M. 1 : TG.C-----C.T.G.....GC.GGGA..GG...A.GGGG.G : 952
Hysterothylacium M. 2 : TG.C-----C..G.....CAGA.GT.G..TCG.GCG---- : 953
Hysterothylacium M. 3 : TG.C-----C.T.G.....C.A...GAT...C----- : 950
Hysterothylacium M. 4 : TG.C-----C.T.G.....C.AG...CC.CG---- : 933
    
```

Anexo B

Salida *bootstrap* del modelo ASPIC

Combined assessment anglerfish - 2011 Page 1
 Thursday, 17 Nov 2011 at 20:59:06

ASPIC -- A Surplus-Production Model Including Covariates (Ver. 5.34)

Author: Michael H. Prager; NOAA Center for Coastal Fisheries and Habitat Research BOT program mode
 101 Pivers Island Road; Beaufort, North Carolina 28516 USA LOGISTIC model mode
 Mike.Prager@noaa.gov YLD conditioning
SSE optimization

Reference: Prager, M. H. 1994. A suite of extensions to a nonequilibrium ASPIC User's Manual is available
 surplus-production model. Fishery Bulletin 92: 374-389. gratis from the author.

CONTROL PARAMETERS (FROM INPUT FILE) Input file: c:\...sis\evaluacion\aspic\pruebas\aspic_sincoruna2_2011.inp

Operation of ASPIC: Fit logistic (Schaefer) model by direct optimization with bootstrap.
 Number of years analyzed: 25 Number of bootstrap trials: 1000
 Number of data series: 4 Bounds on MSY (min, max): 1.500E+04 7.000E+04
 Objective function: Least squares Bounds on K (min, max): 8.000E+04 5.000E+05
 Relative conv. criterion (simplex): 1.000E-08 Monte Carlo search mode, trials: 1 10000
 Relative conv. criterion (restart): 3.000E-08 Random number seed: 1964185
 Relative conv. criterion (effort): 1.000E-04 Identical convergences required in fitting: 6
 Maximum F allowed in fitting: 8.000

PROGRAM STATUS INFORMATION (NON-BOOTSTRAPPED ANALYSIS) error code 0

Normal convergence

CORRELATION AMONG INPUT SERIES EXPRESSED AS CPUE (NUMBER OF PAIRWISE OBSERVATIONS BELOW)

	1	2	3	4
1 Vigo	1.000 25			
2 FranciaFU04	0.640 23	1.000 23		
3 EVHOE	0.643 14	0.793 12	1.000 14	
4 Demersales	0.435 23	0.558 21	0.632 14	1.000 23

GOODNESS-OF-FIT AND WEIGHTING (NON-BOOTSTRAPPED ANALYSIS)

Loss component number and title	Weighted SSE	N	Weighted MSE	Current weight	Inv. var. weight	R-squared in CPUE
Loss(-1) SSE in yield	0.000E+00					
Loss(0) Penalty for B1 > K	0.000E+00	1	N/A	1.000E+00	N/A	
Loss(1) Vigo	2.759E+00	25	1.199E-01	1.000E+00	8.759E-01	0.352
Loss(2) FranciaFU04	1.337E+00	23	6.366E-02	1.000E+00	1.650E+00	0.554
Loss(3) EVHOE	1.315E+00	14	1.096E-01	1.000E+00	9.588E-01	0.253
Loss(4) Demersales	4.329E+00	23	2.062E-01	1.000E+00	5.096E-01	0.126
.....						
TOTAL OBJECTIVE FUNCTION, MSE, RMSE:	9.73976385E+00		1.249E-01	3.534E-01		
Estimated contrast index (ideal = 1.0):	0.1934		C* = (Bmax-Bmin)/K			
Estimated nearness index (ideal = 1.0):	0.8574		N* = 1 - min(B-Bmsy) /K			

Combined assessment anglerfish - 2011 Page 2

MODEL PARAMETER ESTIMATES (NON-BOOTSTRAPPED)

Parameter	Estimate	User/pgm guess	2nd guess	Estimated	User guess
B1/K Starting relative biomass (in 1986)	3.104E-01	5.000E-01	4.000E-01	1	1
MSY Maximum sustainable yield	3.166E+04	2.500E+04	2.001E+04	1	1
K Maximum population size	1.285E+05	2.500E+05	1.200E+05	1	1
phi Shape of production curve (Bmsy/K)	0.5000	0.5000	----	0	1

----- Catchability Coefficients by Data Series -----

q	Series	Estimate	User/pgm guess	2nd guess	Estimated	User guess
q(1)	Vigo	1.042E-05	6.488E-06	6.164E-04	1	1
q(2)	FranciaFU04	3.678E-06	2.245E-06	2.133E-04	1	1
q(3)	EVHOE	6.172E-08	3.868E-08	3.675E-06	1	1
q(4)	Demersales	4.102E-08	2.627E-08	2.496E-06	1	1

MANAGEMENT and DERIVED PARAMETER ESTIMATES (NON-BOOTSTRAPPED)

Parameter	Estimate	Logistic formula	General formula
MSY Maximum sustainable yield	3.166E+04	----	----
Bmsy Stock biomass giving MSY	6.427E+04	K/2	$K*n** (1/(1-n))$
Fmsy Fishing mortality rate at MSY	4.926E-01	MSY/Bmsy	MSY/Bmsy
n Exponent in production function	2.0000	----	----
g Fletcher's gamma	4.000E+00	----	$[n** (n/(n-1))]/[n-1]$
B./Bmsy Ratio: B(2011)/Bmsy	7.147E-01	----	----
F./Fmsy Ratio: F(2010)/Fmsy	1.007E+00	----	----
Fmsy/F. Ratio: Fmsy/F(2010)	9.931E-01	----	----
Y. (Fmsy) Approx. yield available at Fmsy in 2011	2.410E+04	MSY*B./Bmsy	MSY*B./Bmsy
...as proportion of MSY	7.612E-01	----	----
Ye. Equilibrium yield available in 2011	2.908E+04	$4*MSY*(B/K-(B/K)**2)$	$g*MSY*(B/K-(B/K)**n)$
...as proportion of MSY	9.186E-01	----	----
----- Fishing effort rate at MSY in units of each CE or CC series -----			
fmsy(1) Vigo	4.728E+04	Fmsy/q(1)	Fmsy/q(1)

Combined assessment anglerfish - 2011

Page 3

ESTIMATED POPULATION TRAJECTORY (NON-BOOTSTRAPPED)

Obs	Year	Estimated total F mort	Estimated starting biomass	Estimated average biomass	Observed total yield	Model total yield	Estimated surplus production	Ratio of F mort to Fmsy	Ratio of biomass to Bmsy
1	1986	0.813	3.990E+04	3.758E+04	3.054E+04	3.054E+04	2.618E+04	1.650E+00	6.208E-01
2	1987	0.787	3.555E+04	3.436E+04	2.705E+04	2.705E+04	2.480E+04	1.598E+00	5.531E-01
3	1988	0.831	3.329E+04	3.178E+04	2.642E+04	2.642E+04	2.356E+04	1.687E+00	5.180E-01
4	1989	0.893	3.044E+04	2.853E+04	2.547E+04	2.547E+04	2.186E+04	1.813E+00	4.736E-01
5	1990	0.949	2.683E+04	2.480E+04	2.354E+04	2.354E+04	1.970E+04	1.928E+00	4.174E-01
6	1991	0.904	2.299E+04	2.199E+04	1.987E+04	1.987E+04	1.795E+04	1.835E+00	3.577E-01
7	1992	0.738	2.107E+04	2.195E+04	1.620E+04	1.620E+04	1.793E+04	1.499E+00	3.279E-01
8	1993	0.639	2.280E+04	2.474E+04	1.581E+04	1.581E+04	1.967E+04	1.297E+00	3.547E-01
9	1994	0.635	2.666E+04	2.856E+04	1.813E+04	1.813E+04	2.188E+04	1.288E+00	4.148E-01
10	1995	0.688	3.041E+04	3.133E+04	2.156E+04	2.156E+04	2.334E+04	1.398E+00	4.732E-01
11	1996	0.803	3.219E+04	3.124E+04	2.510E+04	2.510E+04	2.329E+04	1.631E+00	5.008E-01
12	1997	0.890	3.038E+04	2.852E+04	2.538E+04	2.538E+04	2.186E+04	1.806E+00	4.727E-01
13	1998	0.880	2.686E+04	2.564E+04	2.255E+04	2.255E+04	2.022E+04	1.786E+00	4.180E-01
14	1999	0.798	2.453E+04	2.452E+04	1.956E+04	1.956E+04	1.955E+04	1.619E+00	3.817E-01
15	2000	0.553	2.452E+04	2.755E+04	1.523E+04	1.523E+04	2.130E+04	1.123E+00	3.815E-01
16	2001	0.517	3.058E+04	3.413E+04	1.763E+04	1.763E+04	2.466E+04	1.049E+00	4.759E-01
17	2002	0.513	3.761E+04	4.093E+04	2.099E+04	2.099E+04	2.745E+04	1.041E+00	5.853E-01
18	2003	0.604	4.408E+04	4.494E+04	2.714E+04	2.714E+04	2.879E+04	1.226E+00	6.858E-01
19	2004	0.693	4.573E+04	4.456E+04	3.087E+04	3.087E+04	2.868E+04	1.407E+00	7.115E-01
20	2005	0.679	4.353E+04	4.300E+04	2.919E+04	2.919E+04	2.819E+04	1.378E+00	6.773E-01
21	2006	0.687	4.253E+04	4.200E+04	2.886E+04	2.886E+04	2.786E+04	1.395E+00	6.618E-01
22	2007	0.827	4.153E+04	3.866E+04	3.197E+04	3.197E+04	2.661E+04	1.679E+00	6.462E-01
23	2008	0.763	3.618E+04	3.528E+04	2.692E+04	2.692E+04	2.521E+04	1.549E+00	5.629E-01
24	2009	0.579	3.447E+04	3.681E+04	2.130E+04	2.130E+04	2.586E+04	1.175E+00	5.363E-01
25	2010	0.496	3.903E+04	4.258E+04	2.112E+04	2.112E+04	2.802E+04	1.007E+00	6.073E-01
26	2011		4.593E+04						7.147E-01

Combined assessment anglerfish - 2011

Page 4

RESULTS FOR DATA SERIES # 1 (NON-BOOTSTRAPPED)

Vigo

Data type CC: CPUE-catch series

Series weight: 1.000

Obs	Year	Observed CPUE	Estimated CPUE	Estim F	Observed yield	Model yield	Resid in log scale	Statist weight
1	1986	2.859E-01	3.914E-01	0.8126	3.054E+04	3.054E+04	0.31417	1.000E+00
2	1987	2.352E-01	3.579E-01	0.7873	2.705E+04	2.705E+04	0.41963	1.000E+00
3	1988	1.822E-01	3.311E-01	0.8311	2.642E+04	2.642E+04	0.59741	1.000E+00
4	1989	2.103E-01	2.972E-01	0.8928	2.547E+04	2.547E+04	0.34600	1.000E+00
5	1990	2.065E-01	2.583E-01	0.9495	2.354E+04	2.354E+04	0.22403	1.000E+00
6	1991	1.836E-01	2.291E-01	0.9036	1.987E+04	1.987E+04	0.22102	1.000E+00
7	1992	1.880E-01	2.286E-01	0.7381	1.620E+04	1.620E+04	0.19566	1.000E+00
8	1993	2.681E-01	2.577E-01	0.6390	1.581E+04	1.581E+04	-0.03955	1.000E+00
9	1994	2.888E-01	2.976E-01	0.6346	1.813E+04	1.813E+04	0.02984	1.000E+00
10	1995	4.097E-01	3.263E-01	0.6884	2.156E+04	2.156E+04	-0.22751	1.000E+00
11	1996	5.200E-01	3.254E-01	0.8033	2.510E+04	2.510E+04	-0.46867	1.000E+00
12	1997	4.397E-01	2.971E-01	0.8896	2.538E+04	2.538E+04	-0.39186	1.000E+00
13	1998	4.507E-01	2.671E-01	0.8795	2.255E+04	2.255E+04	-0.52320	1.000E+00
14	1999	4.282E-01	2.555E-01	0.7977	1.956E+04	1.956E+04	-0.51646	1.000E+00
15	2000	2.029E-01	2.870E-01	0.5529	1.523E+04	1.523E+04	0.34643	1.000E+00
16	2001	2.386E-01	3.555E-01	0.5166	1.763E+04	1.763E+04	0.39870	1.000E+00
17	2002	4.688E-01	4.264E-01	0.5129	2.099E+04	2.099E+04	-0.09477	1.000E+00
18	2003	5.980E-01	4.682E-01	0.6039	2.714E+04	2.714E+04	-0.24462	1.000E+00
19	2004	5.629E-01	4.642E-01	0.6928	3.087E+04	3.087E+04	-0.19287	1.000E+00
20	2005	5.915E-01	4.480E-01	0.6787	2.919E+04	2.919E+04	-0.27789	1.000E+00
21	2006	5.692E-01	4.376E-01	0.6871	2.886E+04	2.886E+04	-0.26125	1.000E+00
22	2007	6.274E-01	4.027E-01	0.8268	3.197E+04	3.197E+04	-0.44321	1.000E+00
23	2008	4.648E-01	3.675E-01	0.7631	2.692E+04	2.692E+04	-0.23474	1.000E+00
24	2009	3.391E-01	3.835E-01	0.5787	2.130E+04	2.130E+04	0.12291	1.000E+00
25	2010	3.208E-01	4.435E-01	0.4960	2.112E+04	2.112E+04	0.32385	1.000E+00

Combined assessment anglerfish - 2011

Page 5

RESULTS FOR DATA SERIES # 2 (NON-BOOTSTRAPPED)

FranciaFU04

Data type I1: Abundance index (annual average)

Series weight: 1.000

Obs	Year	Observed effort	Estimated effort	Estim F	Observed index	Model index	Resid in log index	Statist weight
1	1986	1.000E+00	1.000E+00	--	1.429E-01	1.382E-01	0.03326	1.000E+00
2	1987	1.000E+00	1.000E+00	--	1.415E-01	1.264E-01	0.11323	1.000E+00
3	1988	1.000E+00	1.000E+00	--	1.318E-01	1.169E-01	0.11967	1.000E+00
4	1989	1.000E+00	1.000E+00	--	1.024E-01	1.049E-01	-0.02430	1.000E+00
5	1990	1.000E+00	1.000E+00	--	1.040E-01	9.121E-02	0.13106	1.000E+00
6	1991	1.000E+00	1.000E+00	--	8.183E-02	8.088E-02	0.01173	1.000E+00
7	1992	1.000E+00	1.000E+00	--	5.615E-02	8.073E-02	-0.36306	1.000E+00
8	1993	1.000E+00	1.000E+00	--	6.005E-02	9.101E-02	-0.41578	1.000E+00
9	1994	1.000E+00	1.000E+00	--	1.113E-01	1.051E-01	0.05732	1.000E+00
10	1995	1.000E+00	1.000E+00	--	1.308E-01	1.152E-01	0.12697	1.000E+00
11	1996	1.000E+00	1.000E+00	--	1.166E-01	1.149E-01	0.01450	1.000E+00
12	1997	1.000E+00	1.000E+00	--	1.054E-01	1.049E-01	0.00449	1.000E+00
13	1998	1.000E+00	1.000E+00	--	9.547E-02	9.432E-02	0.01209	1.000E+00
14	1999	1.000E+00	1.000E+00	--	5.198E-02	9.021E-02	-0.55135	1.000E+00
15	2000	1.000E+00	1.000E+00	--	8.670E-02	1.013E-01	-0.15581	1.000E+00
16	2001	1.000E+00	1.000E+00	--	1.025E-01	1.255E-01	-0.20274	1.000E+00
17	2002	1.000E+00	1.000E+00	--	1.383E-01	1.506E-01	-0.08474	1.000E+00
18	2003	1.000E+00	1.000E+00	--	1.912E-01	1.653E-01	0.14530	1.000E+00
19	2004	1.000E+00	1.000E+00	--	1.339E-01	1.639E-01	-0.20191	1.000E+00
20	2005	1.000E+00	1.000E+00	--	1.697E-01	1.582E-01	0.07006	1.000E+00
21	2006	1.000E+00	1.000E+00	--	1.831E-01	1.545E-01	0.17004	1.000E+00
22	2007	1.000E+00	1.000E+00	--	2.333E-01	1.422E-01	0.49512	1.000E+00
23	2008	1.000E+00	1.000E+00	--	2.137E-01	1.298E-01	0.49882	1.000E+00
24	2009	0.000E+00	0.000E+00	--	*	1.354E-01	0.00000	1.000E+00
25	2010	0.000E+00	0.000E+00	--	*	1.566E-01	0.00000	1.000E+00

* Asterisk indicates missing value(s).

Combined assessment anglerfish - 2011

Page 6

RESULTS FOR DATA SERIES # 3 (NON-BOOTSTRAPPED)

EVHOE

Data type I2: Abundance index (end of year)

Series weight: 1.000

Obs	Year	Observed effort	Estimated effort	Estim F	Observed index	Model index	Resid in log index	Statist weight
1	1986	0.000E+00	0.000E+00	-- *	2.194E-03	0.00000	1.000E+00	
2	1987	0.000E+00	0.000E+00	-- *	2.055E-03	0.00000	1.000E+00	
3	1988	0.000E+00	0.000E+00	-- *	1.879E-03	0.00000	1.000E+00	
4	1989	0.000E+00	0.000E+00	-- *	1.656E-03	0.00000	1.000E+00	
5	1990	0.000E+00	0.000E+00	-- *	1.419E-03	0.00000	1.000E+00	
6	1991	0.000E+00	0.000E+00	-- *	1.301E-03	0.00000	1.000E+00	
7	1992	0.000E+00	0.000E+00	-- *	1.407E-03	0.00000	1.000E+00	
8	1993	0.000E+00	0.000E+00	-- *	1.646E-03	0.00000	1.000E+00	
9	1994	0.000E+00	0.000E+00	-- *	1.877E-03	0.00000	1.000E+00	
10	1995	0.000E+00	0.000E+00	-- *	1.986E-03	0.00000	1.000E+00	
11	1996	0.000E+00	0.000E+00	-- *	1.875E-03	0.00000	1.000E+00	
12	1997	1.000E+00	1.000E+00	--	1.530E-03	1.658E-03	-0.08041	1.000E+00
13	1998	1.000E+00	1.000E+00	--	2.010E-03	1.514E-03	0.28338	1.000E+00
14	1999	1.000E+00	1.000E+00	--	1.250E-03	1.513E-03	-0.19113	1.000E+00
15	2000	1.000E+00	1.000E+00	--	9.400E-04	1.888E-03	-0.69722	1.000E+00
16	2001	1.000E+00	1.000E+00	--	2.340E-03	2.322E-03	0.00790	1.000E+00
17	2002	1.000E+00	1.000E+00	--	2.460E-03	2.720E-03	-0.10062	1.000E+00
18	2003	1.000E+00	1.000E+00	--	2.270E-03	2.822E-03	-0.21775	1.000E+00
19	2004	1.000E+00	1.000E+00	--	3.440E-03	2.687E-03	0.24713	1.000E+00
20	2005	1.000E+00	1.000E+00	--	2.770E-03	2.625E-03	0.05366	1.000E+00
21	2006	1.000E+00	1.000E+00	--	3.170E-03	2.563E-03	0.21244	1.000E+00
22	2007	1.000E+00	1.000E+00	--	3.450E-03	2.233E-03	0.43507	1.000E+00
23	2008	1.000E+00	1.000E+00	--	3.180E-03	2.128E-03	0.40191	1.000E+00
24	2009	1.000E+00	1.000E+00	--	2.600E-03	2.409E-03	0.07628	1.000E+00
25	2010	1.000E+00	1.000E+00	--	1.850E-03	2.835E-03	-0.42687	1.000E+00

* Asterisk indicates missing value(s).

Combined assessment anglerfish - 2011

Page 7

RESULTS FOR DATA SERIES # 4 (NON-BOOTSTRAPPED)

Demersales

Data type I2: Abundance index (end of year)

Series weight: 1.000

Obs	Year	Observed effort	Estimated effort	Estim F	Observed index	Model index	Resid in log index	Statist weight
1	1986	0.000E+00	0.000E+00	-- *	1.458E-03	0.00000	1.000E+00	
2	1987	0.000E+00	0.000E+00	-- *	1.366E-03	0.00000	1.000E+00	
3	1988	1.000E+00	1.000E+00	--	3.330E-03	1.249E-03	0.98094	1.000E+00
4	1989	1.000E+00	1.000E+00	--	4.400E-04	1.100E-03	-0.91667	1.000E+00
5	1990	1.000E+00	1.000E+00	--	1.190E-03	9.430E-04	0.23267	1.000E+00
6	1991	1.000E+00	1.000E+00	--	7.100E-04	8.644E-04	-0.19674	1.000E+00
7	1992	1.000E+00	1.000E+00	--	7.600E-04	9.352E-04	-0.20749	1.000E+00
8	1993	1.000E+00	1.000E+00	--	8.800E-04	1.094E-03	-0.21738	1.000E+00
9	1994	1.000E+00	1.000E+00	--	1.660E-03	1.248E-03	0.28565	1.000E+00
10	1995	1.000E+00	1.000E+00	--	2.190E-03	1.320E-03	0.50606	1.000E+00
11	1996	1.000E+00	1.000E+00	--	1.540E-03	1.246E-03	0.21156	1.000E+00
12	1997	1.000E+00	1.000E+00	--	1.690E-03	1.102E-03	0.42758	1.000E+00
13	1998	1.000E+00	1.000E+00	--	1.400E-03	1.006E-03	0.33025	1.000E+00
14	1999	1.000E+00	1.000E+00	--	7.500E-04	1.006E-03	-0.29342	1.000E+00
15	2000	1.000E+00	1.000E+00	--	5.700E-04	1.255E-03	-0.78893	1.000E+00
16	2001	1.000E+00	1.000E+00	--	1.090E-03	1.543E-03	-0.34754	1.000E+00
17	2002	1.000E+00	1.000E+00	--	1.340E-03	1.808E-03	-0.29958	1.000E+00
18	2003	1.000E+00	1.000E+00	--	1.670E-03	1.876E-03	-0.11617	1.000E+00
19	2004	1.000E+00	1.000E+00	--	2.090E-03	1.786E-03	0.15735	1.000E+00
20	2005	1.000E+00	1.000E+00	--	3.050E-03	1.745E-03	0.55849	1.000E+00
21	2006	1.000E+00	1.000E+00	--	1.880E-03	1.704E-03	0.09851	1.000E+00
22	2007	1.000E+00	1.000E+00	--	1.650E-03	1.484E-03	0.10601	1.000E+00
23	2008	1.000E+00	1.000E+00	--	1.852E-03	1.414E-03	0.26977	1.000E+00
24	2009	1.000E+00	1.000E+00	--	1.069E-03	1.601E-03	-0.40369	1.000E+00
25	2010	1.000E+00	1.000E+00	--	1.290E-03	1.884E-03	-0.37873	1.000E+00

* Asterisk indicates missing value(s).

Combined assessment anglerfish - 2011

Page 8

ESTIMATES FROM BOOTSTRAPPED ANALYSIS

Param name	Point estimate	Estimated bias in pt estimate	Estimated relative bias	Bias-corrected approximate confidence limits				Inter-quartile range	Relative IQ range
				80% lower	80% upper	95% lower	95% upper		
B1/K	3.104E-01	2.202E-03	0.71%	3.034E-01	3.157E-01	2.755E-01	3.330E-01	4.278E-03	0.014
K	1.285E+05	1.582E+03	1.23%	1.241E+05	1.334E+05	1.138E+05	1.473E+05	3.027E+03	0.024
q(1)	1.042E-05	-2.738E-07	-2.63%	9.660E-06	1.195E-05	9.099E-06	1.259E-05	1.195E-06	0.115
q(2)	3.678E-06	-7.782E-08	-2.12%	3.325E-06	4.151E-06	3.055E-06	4.394E-06	4.416E-07	0.120
q(3)	6.172E-08	-1.700E-09	-2.76%	5.437E-08	7.179E-08	4.919E-08	7.886E-08	9.659E-09	0.156
q(4)	4.102E-08	-6.466E-10	-1.58%	3.710E-08	4.606E-08	3.397E-08	4.901E-08	4.983E-09	0.121
MSY	3.166E+04	-1.439E+02	-0.45%	3.122E+04	3.220E+04	2.984E+04	3.407E+04	3.597E+02	0.011
Ye (Fmsy)	2.908E+04	-2.165E+02	-0.74%	2.584E+04	3.097E+04	2.373E+04	3.163E+04	2.920E+03	0.100
Y. (Fmsy)	2.423E+04	-2.483E+02	-1.02%	2.349E+04	2.457E+04	2.282E+04	2.479E+04	4.936E+02	0.020
Bmsy	6.427E+04	7.911E+02	1.23%	6.206E+04	6.670E+04	5.691E+04	7.363E+04	1.514E+03	0.024
Fmsy	4.926E-01	-5.231E-03	-1.06%	4.732E-01	5.129E-01	4.268E-01	5.333E-01	1.413E-02	0.029
fmsy(1)	4.728E+04	1.034E+03	2.19%	4.152E+04	5.052E+04	3.930E+04	5.331E+04	4.649E+03	0.098
fmsy(2)	1.339E+05	2.313E+03	1.73%	1.207E+05	1.468E+05	1.141E+05	1.553E+05	1.454E+04	0.109
fmsy(3)	7.980E+06	2.439E+05	3.06%	6.878E+06	8.909E+06	6.422E+06	9.716E+06	1.145E+06	0.144
fmsy(4)	1.201E+07	1.508E+05	1.26%	1.080E+07	1.320E+07	1.019E+07	1.399E+07	1.285E+06	0.107
B./Bmsy	7.147E-01	2.811E-02	3.93%	5.606E-01	8.624E-01	4.807E-01	9.641E-01	1.608E-01	0.225
F./Fmsy	1.007E+00	3.367E-03	0.33%	8.442E-01	1.247E+00	7.689E-01	1.386E+00	2.166E-01	0.215
Ye./MSY	9.186E-01	-2.197E-03	-0.24%	8.072E-01	9.801E-01	7.303E-01	9.956E-01	9.466E-02	0.103
q2/q1	3.531E-01	3.501E-03	0.99%	3.082E-01	4.012E-01	2.871E-01	4.327E-01	4.909E-02	0.139
q3/q1	5.925E-03	1.069E-05	0.18%	5.068E-03	6.835E-03	4.623E-03	7.518E-03	9.844E-04	0.166
q4/q1	3.938E-03	5.885E-05	1.49%	3.434E-03	4.441E-03	3.161E-03	4.783E-03	5.444E-04	0.138

INFORMATION FOR REPAST (Prager, Porch, Shertzer, & Caddy. 2003. NAJFM 23: 349-361)

Unitless limit reference point in F (F_{msy}/F): 0.9931
CV of above (from bootstrap distribution): 0.1719

NOTES ON BOOTSTRAPPED ESTIMATES:

- Bootstrap results were computed from 1000 trials.
- Results are conditional on bounds set on MSY and K in the input file.
- All bootstrapped intervals are approximate. The statistical literature recommends using at least 1000 trials for accurate 95% intervals. The default 80% intervals used by ASPIC should require fewer trials for equivalent accuracy. Using at least 500 trials is recommended.
- Bias estimates are typically of high variance and therefore may be misleading.

Trials replaced for lack of convergence:	0	Trials replaced for MSY out of bounds:	8
Trials replaced for q out-of-bounds:	0		
Trials replaced for K out-of-bounds:	0	Residual-adjustment factor:	1.0439

Elapsed time: 1 hours, 47 minutes, 44 seconds.