

Universidad Nacional del Comahue
Centro Regional Universitario Bariloche



**ESTUDIOS DE ECOLOGÍA TRÓFICA Y GENÉTICA DE POBLACIONES
APLICADOS AL USO SUSTENTABLE DE DOS ESPECIES DE DELFINES
SIMPÁTRICOS Y SU HÁBITAT EN PATAGONIA**

Trabajo de Tesis para optar al Título de Doctor en Biología



Lic. Cristian Alberto Durante

Director: Dr. Enrique Alberto Crespo

Codirectora: Dra. Rocío Loizaga de Castro

2022

"Lo que sabemos es una gota de agua, lo que ignoramos es el océano"

Isaac Newton

INDICE

AGRADECIMIENTOS	1
RESUMEN	5
ABSTRACT	7
CAPÍTULO I <i>Introducción general</i>	9
MARCO TEÓRICO	10
OBJETOS DE ESTUDIO	14
La tonina overa	14
El delfín austral	19
OBJETIVO GENERAL	22
OBJETIVOS PARTICULARES	22
HIPÓTESIS Y PREDICCIONES	22
ÁREA DE ESTUDIO	24
OBTENCIÓN DE MUESTRAS	27
CAPÍTULO II <i>Segregación de nicho isotópico de dos especies de pequeños cetáceos</i>	30
INTRODUCCIÓN	31
MATERIALES Y MÉTODOS	36
Área de estudio y toma de muestras	36
Análisis de isótopos estables	39
Análisis de datos	41
Consideraciones para la comparación e interpretación de las composiciones isotópicas	41
Efecto Suess	41
Factor de discriminación trófica	42
Análisis de la variación isotópica intra e interespecífica	42
Estimación del nicho isotópico	44
Modelos de mezcla isotópica	45
Prueba de sensibilidad	46
Paisajes isotópicos	47
RESULTADOS	49
Variación isotópica intra e interespecífica	49
Amplitud y solapamiento de nicho isotópico	56
Modelos de mezcla isotópica	61
DISCUSIÓN	66
CAPÍTULO III <i>Historias microevolutivas: genética poblacional de dos especies simpátricas de delfines</i>	72
INTRODUCCIÓN	73
MATERIALES Y MÉTODOS	77
Área de estudio, muestreo y extracción de ADN	77

Protocolo molecular.....	78
ADN mitocondrial.....	78
Microsatélites	79
Diseño	79
Amplificación	81
Análisis	82
ADN Mitocondrial	82
Variabilidad genética	82
Estructura poblacional, flujo génico y modelo de aislamiento por distancia	83
Red de haplotipos	84
Análisis demográficos	85
Pruebas de neutralidad	85
Distribución de las diferencias pareadas o Curvas de Mismatch	86
Reconstrucción histórica	87
Microsatélites	87
Variabilidad genética	89
Estructura poblacional, flujo génico y modelo de aislamiento por distancia.	90
RESULTADOS.....	91
ADN mitocondrial	91
Microsatélites	103
DISCUSIÓN	109
CAPÍTULO IV Consideraciones finales	119
ANEXO I.....	125
ANEXO II.....	130
REFERENCIAS	135
TRABAJOS DE RESPALDO.....	168

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecerle a todas aquellas instituciones, organismos y personas que colaboraron para que la presente Tesis Doctoral fuera posible:

A mis directores, mentores y amigos. Gracias Kike y Ro por haberme dado la oportunidad de trabajar con los mamíferos marinos, aprender a su lado día a día tanto en lo profesional como en lo personal, por la paciencia a lo largo de todos estos años, el incentivo constante y el compromiso para con mi formación. Les agradezco por estar presentes en situaciones personales, constantemente pendientes de mi bienestar, y por los momentos compartidos. Soy afortunado de haberlos tenido como directores y de continuar juntos.

Al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) por brindarme una beca doctoral, al Centro para el Estudio de Sistemas Marinos del Centro Nacional Patagónico (CESIMAR - CCT CENPAT - CONICET) por darme el lugar de trabajo, al gobierno de Canadá por otorgarme una beca (The Emerging Leaders in the Americas Program, ELAP) para desarrollar la estadía de trabajo en la ciudad de Halifax y a Dalhousie University por recibirme para llevar a cabo dicha estadía.

A la Universidad Nacional del Comahue Centro Regional Universitario Bariloche por permitirme llevar a cabo mi carrera de doctorado y al personal del Departamento de Postgrado por haber estado siempre disponible frente a las necesidades e inquietudes del alumnado.

A todas las organizaciones y proyectos que financiaron esta tesis: Programa Small Grants in Aid of Research de la Society for Marine Mammalogy. Lerner Gray Fund for Marine Research Grants 2017 del American Museum of Natural History. IDEA WILD 2019. ANDES LINEAS AEREAS 2016. ALUAR 2017. *Investigador responsable Cristian A. Durante.* Consultoría “Estudio de la línea de base de los mamíferos marinos del Parque Nacional Monte León”. International Fund for Animal Welfare. Mohamed bin Zayed

Species Conservation Fund. Fundación BBVA. PNUD ARG-02/018. CONICET-PIP 0742/98. Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (01-04030 A y 11679). Proyecto GEF CNP-BB 27. *Investigador responsable Enrique A. Crespo*. PADI Foundation Grant Nº 31802. Beca de Investigación Fulbright-CONICET 2018. *Investigador responsable Rocio Loizaga de Castro*.

Al Gobierno de Argentina a través de los siguientes organismos reguladores para la autorización de muestreo y de investigación: Dirección de Fauna y Flora Silvestre, Subsecretaría de Recursos Naturales, Ministerio de Industria, Agricultura y Ganadería, Subsecretaría de Conservación y Áreas Protegidas, Secretaría de Turismo y Administración de Parques Naturales.

A la Prefectura Naval Argentina, es especial a todo el personal de las delegaciones Caleta Olivia y Puerto Deseado, por brindarnos apoyo logístico para la navegación durante el trabajo de campo.

A los miembros del jurado: Dra. Viviana Confalonieri, Dr. Pablo Denuncio y Dr. Luciano Valenzuela, por sus valiosos aportes durante la corrección de esta tesis.

Al Dr. Daniel Ruzzante por brindarme la oportunidad de desarrollar los estudios genéticos en su laboratorio, poniendo a disposición todos sus recursos. Agradecerle también por el recibimiento, la presencia constante durante mi estadía en Canadá y por la inclusión dentro del grupo de trabajo, haciéndome sentir como uno más ustedes.

A la Dra. Haydee Cunha del Laboratorio de Mamíferos Acuáticos e Bioindicadores Professora Izabel Gurgel (MAQUA), Faculdade de Oceanografia, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Brazil, por su colaboración con la secuenciación de marcadores mitocondriales.

Al personal de la Fundación Cethus, en especial a Marta Hevia y Miguel Iñíguez por las muestras de hueso cedidas.

Al Laboratorio de Mamíferos Marinos del CESIMAR por el apoyo otorgado y por haberme integrado desde el primer día; en especial a Néstor, Silvina, Damián, Nicolás, Federico y Valeria por su amistad y ayuda desinteresada siempre que la necesité. También a todos los integrantes del laboratorio del Dr. Ruzzante por su cálido trato, en especial a James Kho, Lisette Delgado y Sarah Salisbury, por su paciencia con el idioma, ayuda constante, salidas, reuniones, cenas y festejos.

Al mejor compañero de oficina, con el que fue imposible aburrirme durante todo el doctorado. Gracias Néstor por tu ayuda constante, consejos, amistad, compañía y por los mates al compás de Cacho Castaña, Mercedes Sosa, Nino Bravo, Horacio Guarany y otros tantos.

A mis tíos Maia, Luchi, Fran y Lole con toda su descendencia por acompañarme y estar siempre para lo que necesite.

A mis hermanos del alma: Nico, Gabi, Rodri y Rami por estar siempre. Gracias Rodri por abrirme las puertas de tu oficina todo el año de pandemia en el cual no podía volver al laboratorio, fue fundamental para terminar la tesis.

A los amigos de siempre, Facu, Migue, Fede, Mari, Cyn, Pablito y Ema por brindarme su amistad sincera y poder contar con ustedes en todo momento.

A Lau, los Cohen (Ale, Pia, Luchi, Agus) y la casi-Cohen de Mili por haberme hecho sentir parte de su familia, compartiendo mates, comidas y todos los partidos de nuestra querida banda. Fueron un abrazo al alma y me teletransportaron a Argentina.

A la persona que me acompaña día a día, me trae paz, me apoya, me cuida y me motiva a perseguir todas mis metas. Gracias Den por aparecer en mi vida, te amo.

Finalmente, agradecerle a los de siempre, los que estuvieron, están y se que siempre estarán, Mamá, Papá, Aylén, Bauti y Beni por ser mi sostén y estar incondicionalmente a mi lado a pesar de la distancia. Como hace 5 años, hoy cumplo otro sueño y es gracias a ustedes. Los amo.

Estudios de ecología trófica y genética de poblaciones aplicados al uso sustentable de dos especies de delfines simpátricos y su hábitat en Patagonia.

RESUMEN

El Mar Argentino es uno de los ecosistemas marinos más impactados en las últimas décadas por diversas actividades humanas. A lo largo de la costa habitan dos especies de pequeños cetáceos endémicas de la costa de Sudamérica, la tonina overa (*Cephalorhynchus commersonii*) y el delfín austral (*Lagenorhynchus australis*). Ambas son depredadores de alto nivel trófico, viven en simpatria e interactúan con actividades humanas como la pesca y el turismo en Patagonia. En el marco de una gestión ecosistémica del mar son consideradas prioritarias las acciones orientadas a conferir sustentabilidad a las actividades basadas en el aprovechamiento de la biodiversidad y el hábitat. Entre esas acciones se destacan los estudios dirigidos a mejorar el conocimiento de la biología y ecología de las especies, en aspectos tales como la identificación y caracterización de unidades poblacionales y el rol de las mismas en la trama trófica. El objetivo general de esta tesis fue investigar la ecología trófica y determinar la estructura genética de la población de dos especies simpátricas a lo largo de la costa de Patagonia, mediante la utilización de isótopos estables y marcadores moleculares neutros. El área de estudio abarcó más de 1.600 km de costa entre los 43°S y 55°S, en la cual se incluyeron un total de 70/22 y 42/4 muestras de piel/hueso para la tonina overa y el delfín austral, respectivamente. A partir de ambos tejidos se analizaron los isótopos estables ^{13}C , ^{12}C , ^{15}N y ^{14}N , mientras que a partir de muestras de piel se amplificó la región control del ADN mitocondrial (ADNmt) y loci microsatélites diseñados específicamente para cada especie (28 en la tonina overa y 20 en el delfín austral). Los análisis de isótopos estables mostraron una segregación espacial intra e interespecífica, identificándose diferentes grupos de alimentación para el delfín austral. La amplitud del nicho isotópico varió entre especies y grupos de alimentación, exhibiendo menor variación en la selección de presas para la tonina overa. Los modelos de mezcla sugieren que la tonina overa tiene una dieta, a corto y largo plazo, basada predominantemente en peces pelágicos mientras que el delfín austral se alimenta de peces bentónicos y pelágicos dependiendo del grupo de alimentación. Los análisis basados en marcadores moleculares, sugirieron para ambas especies una baja diversidad genética, pero en el mismo orden que otras especies del género. La tonina overa mostró ser una especie panmíctica, es decir no presenta una estructura génica poblacional; mientras que el delfín austral presenta una fuerte estructura genética poblacional. Las pruebas demográficas variaron entre especies sugiriendo, por un lado, una expansión poblacional reciente para la tonina overa a

fines del Pleistoceno, mientras que por otro lado, la población de delfines australes se habría mantenido estable a lo largo del tiempo. Los resultados obtenidos en la presente tesis son inéditos y constituyen un avance en el conocimiento de estas dos especies de la región. Cabe destacar que la información acerca de su diversidad y estructura génica así como también sus estrategias de forrajeo deben tenerse en cuenta al momento de delinear estrategias de conservación y manejo para ambas especies endémicas frente a un escenario de cambio climático.

Trophic ecology and population genetics studies applied for sustainable use of two sympatric dolphins' species and their habitat in Patagonia.

ABSTRACT

The Argentine Sea is one of the most impacted marine ecosystems in recent decades by several human activities. Along the South American coast, two endemic species of small cetaceans can be found, Commerson's dolphin (*Cephalorhynchus commersonii*) and Peale's dolphin (*Lagenorhynchus australis*). Both are top predators, live in sympatry, and interact with human activities such as fisheries and tourism in Patagonia. In the context of ecosystem management, actions focused on conferring sustainability to activities based on the use of biodiversity and habitat are considered a priority. Among these actions, studies aimed at improving the knowledge of biology and ecology of the species are highlighted, such as identification and characterization of population units and their role in the trophic web. The general aim of this thesis was to investigate the trophic ecology and determine the population genetic structure of two sympatric species along the Patagonia coast, using stable isotopes and neutral molecular markers. The study area covered over 1,600 km of coastline between 43°S to 55°S, in which a total of 70/22 and 42/4 skin/bone samples were used for Commerson's and Peale's dolphin, respectively. From both tissues, stable isotopes of ^{13}C , ^{12}C , ^{15}N and ^{14}N were analyzed; while only skin samples were used to amplify the control region of mitochondrial DNA (mtDNA) and microsatellite loci species-specific, designed here for each species (Commerson's dolphin = 28, Peale's dolphin = 20). Stable isotopes analysis showed intra and interspecific spatial trophic resource partition, identifying different Peale's dolphin feeding groups. Isotopic niche breadth varied between species and feeding groups, exhibiting less variation in prey selection among Commerson's dolphins. Mixing models suggested that Commerson's dolphins feed predominantly on pelagic fish, while Peale's dolphins feed on benthic and pelagic fish according to the feeding group. Molecular markers analysis showed low genetic diversity in both species. Commerson's dolphin showed to be a panmictic species, which means that it does not present a genetic population structure, while the southern dolphin exhibited a strong population genetic structure. Historical demographic analysis varied between species suggesting, a recent demographic expansion of Commerson's dolphins at the late Pleistocene, while Peale's dolphin seems to have shown no changes in its population size over time. The results obtained in the present thesis suggested a clear segregation in the use of trophic resources between two dolphin species that promote sympatry, with a previously unknown ecological complexity in Peale's dolphin. The results obtained in the present thesis are novel and represent an advance in the knowledge of these two species of the region. Finally, in a climate change scenario, it is recommended to consider the

information about their diversity and genetic structure as well as their foraging strategies to design conservation and management strategies for both endemic species.

CAPÍTULO I

Introducción general



MARCO TEÓRICO

La conservación de los cetáceos y otras especies marinas requiere de políticas que revisen e incorporen nuevos enfoques para hacer frente a amenazas que eran desconocidas o inexistentes hasta hace poco tiempo (Reeves et al. 2003). Es por ello, que el propósito de la conservación fue variando, con cambios orientados principalmente a la forma en que se ven las relaciones entre las personas y la naturaleza, en la cual se reconocen las relaciones dinámicas y bidireccionales entre ambas partes (Mace 2014). A pesar de ello, los impactos humanos sobre el ecosistema marino han aumentado considerablemente en las últimas décadas, siendo la explotación directa por pesquerías a través de la extracción de biomasa y el cambio climático los principales motores de cambio global del siglo XXI, afectando sobre todo a especies de alto nivel trófico (Diaz et al., 2019).

Cada población puede responder de manera diferente frente a una amenaza en común, siendo más vulnerables a la extinción aquellas de tamaño poblacional reducido (Hartl et al., 1997). En la actualidad, muchas especies de mamíferos marinos están amenazadas por la interacción directa con pesquerías (Baillie et al., 2004). Este tipo de actividad antrópica genera cambios directos sobre los mamíferos marinos, principalmente mediante la reducción del número de individuos por mortalidad directa o incidental (Reeves et al., 2003), aunque también de manera indirecta. Algunos trabajos indican que la actividad pesquera podría afectar la biomasa de diferentes presas de los mamíferos marinos produciendo cambios en la dieta y, en consecuencia, en el uso del hábitat (Campagna et al. 2005, Koen-Alonso & Yodzis 2005, Drago et al. 2009a, Secchi et al. 2016). El calentamiento global también afecta a las especies de alto nivel trófico, ya sea de manera directa, como el aumento de la temperatura y del nivel del mar, y por ende, la distribución de las especies y los sitios

de reproducción y/o alimentación (MacLeod et al. 2005, Learmonth et al. 2006); o de manera indirecta, a través de cambios en la disponibilidad y abundancia de presas, cambios en la estructura de la comunidad o susceptibilidad a contaminantes y enfermedades (Aguilar & Raga 1993, Loizaga de Castro et al. 2011). Por lo tanto, para entender el impacto que pueden generar las fluctuaciones en la disponibilidad de los recursos o la remoción de individuos sobre una especie, es esencial conocer el uso de hábitat, ecología trófica, la estructura génica poblacional y por ende los patrones de movimiento de las mismas.

Los isótopos estables y los marcadores moleculares, en forma individual o combinada, son algunas de las herramientas de análisis que más se han utilizado en el estudio de la ecología de los predadores de alto nivel trófico (Webster et al. 2002, Rubenstein & Hobson 2004). Por un lado, los análisis de dieta basados en el análisis de isótopos estables brindan información integrada acerca de todas las presas asimiladas durante períodos prolongados de tiempo de acuerdo al tejido utilizado (Michener 1994). Los isótopos estables más utilizados para estudiar la ecología trófica en mamíferos marinos son ^{13}C , ^{12}C , ^{15}N y ^{14}N (Newsome et al. 2010). La abundancia relativa de los isótopos estables del elemento carbono ($\delta^{13}\text{C}$) permite separar entre ambientes, discriminando en el ecosistema marino entre hábitats de plataforma y "offshore" o costeros e "inshore", dependiendo del origen de las fuentes de carbono orgánico (Rubenstein & Hobson 2004, Fry et al. 2006); mientras que la abundancia relativa de los isótopos estables del elemento nitrógeno ($\delta^{15}\text{N}$) es indicadora del nivel trófico (Cabana & Rasmussen 1996), debido a que la abundancia relativa aumenta de presa a depredador por la excreción preferencial del isótopo liviano (Caut et al. 2009).

Los estudios genéticos permiten comprender la variabilidad genética en una población o especie. La genética de poblaciones cuantifica la variabilidad genética que está presente en una población, como varía con el tiempo y que procesos biológicos

y/o evolutivos subyacen o moldean a los patrones de distribución espaciotemporal que las especies exhiben (Hamilton 2009). Los marcadores moleculares más utilizados para estudios poblacionales son la región control del ADN mitocondrial (ADNmt) y los microsatélites. El primero, es una región de alrededor de 900 pares de bases (pb) en cetáceos, haploide y sin recombinación (Hoelzel et al. 1991, Ballard & Whitlock 2004). Su herencia está dada por las hembras, por lo que representa solo la filogenia matriarcal, permitiendo así una evaluación directa de los patrones de dispersión de las hembras (Hoelzel et al. 1998a, Berta et al. 2005). Debido a ello y a una moderada tasa de mutación (5-10 veces más rápida que el ADN genómico nuclear), la región control del ADNmt es utilizado ampliamente en el estudio tanto de procesos macro como microevolutivos (Avice 2000, Bertorelle et al. 2009). Los microsatélites, en cambio, son marcadores nucleares diploides, ubicados mayormente en regiones no codificantes del genoma (Tóth et al. 2000, Hamilton 2009). Son de naturaleza codominante regidos bajo las leyes de herencia mendeliana simple, por lo que sufren recombinación y presentan herencia biparental (Berta et al. 2005). Además, debido a su elevada tasa de mutación son altamente polimórficos, lo que permite responder a procesos microevolutivos (Bertorelle et al. 2009, Hoelzel 2009).

En el mundo, varias especies de pequeños cetáceos han mostrado un patrón de diferenciación poblacional a escala regional (Hoelzel et al. 1998b, Coscarella et al. 2008). Esto ha llevado a inferir que la especialización en recursos locales, debido a diferentes estrategias de alimentación entre grupos, podría favorecer la filopatría, y progresivamente dirigir una divergencia genética (Baker et al. 1990, Baker et al. 1993, Hoelzel et al. 1998b, Natoli et al. 2004). A su vez, existe evidencia que sugiere un uso diferencial de hábitats entre sexos en pequeños cetáceos, a nivel intraespecífico, donde las hembras muestran una mayor diversidad trófica en comparación con los machos (Loizaga de Castro et al. 2015, Rossman et al. 2015). En delfines nariz de botella,

Tursiops sp., de la costa australiana, se ha demostrado que el uso de esponjas como una nueva estrategia de forrajeo tiene una transmisión vertical social exclusiva dentro de una misma matrilinea y que su herencia es materna, es decir, de madres a hijas (Krützen et al. 2005). Para la misma especie, pero en otras regiones del globo, se ha encontrado diferenciación genética asociada a un uso diferencial del hábitat a través del análisis combinado de isótopos estables y marcadores moleculares (Segura et al. 2006, Genoves et al. 2020).

En la región del Atlántico Suroccidental, Valenzuela et al. (2009) fueron los únicos en combinar el análisis de marcadores genéticos e isotópicos aplicándolo en el estudio de la ballena franca austral (*Eubalaena australis*) que reproducen en Península Valdés, Chubut, Argentina. Los autores encontraron la existencia de herencia materna directa para los sitios de alimentación, pudiendo correlacionar las diferentes matrilineas a partir del ADNmt y las diferentes señales isotópicas. De las 46 especies restantes de mamíferos marinos que habitan en el Mar Argentino, solo en unas pocas se han realizado este tipo de estudios y han sido abordados en forma individual (Mendez et al. 2008, Drago et al. 2009a, Riccialdelli et al. 2010, Túnez et al. 2010, Cipriano et al. 2011, Pimper et al. 2012, Loizaga de Castro 2013, Riccialdelli et al. 2013, Vighi et al. 2014, Loizaga de Castro et al. 2016a, Loizaga de Castro et al. 2017, Grandi et al. 2018, Loizaga et al. 2020, Vales et al. 2020, Grandi et al. 2021).

En la actualidad, las interacciones entre los cetáceos y las actividades humanas en Argentina se relacionan principalmente al desarrollo de pesquerías, que provocan mortalidad incidental (Crespo et al. 1997, Crespo et al. 2000), y al turismo basado en el avistaje de fauna, actividad que provoca cambios a corto y largo plazo en el comportamiento de las especies (Coscarella et al. 2003, Dans et al. 2012). Ambas actividades han crecido en gran medida, generando importantes beneficios económicos, tanto regionales como locales, particularmente en Patagonia (Tagliorette

& Losano 1996). Sin embargo, hasta finales del siglo XX la interacción con las pesquerías fue mayor, dado que, además de una mortalidad incidental más elevada, muchas especies de cetáceos fueron cazadas intencionalmente (Goodall & Schiavini 1994, Lescrauwaet & Gibbons 1994).

La tonina overa, *Cephalorhynchus commersonii*, y el delfín austral, *Lagenorhynchus australis*, son dos de las especies de delfines más abundantes del Mar Argentino y de las más afectadas por la caza directa y la mortalidad incidental a finales del siglo pasado (Goodall et al. 1988a, Goodall 1994, Goodall & Schiavini 1994, Lescrauwaet & Gibbons 1994, Brownell Jr et al. 1999, Crespo et al. 2017). A pesar de ello, poco se sabe sobre los efectos que pudo haber tenido este impacto sobre las especies. Los estudios isotópicos son escasos para ambas especies (Riccialdelli et al. 2010, Riccialdelli et al. 2013), mientras que los enfoques genéticos son nulos para el delfín austral y solo se reportan unos pocos para la tonina overa (Pimper et al. 2010, Cipriano et al. 2011), todos ellos enfocados al sur de sus distribuciones. Por lo tanto, y teniendo en cuenta la importancia de la integración de los enfoques moleculares e isotópicos, es esencial conocer los hábitos y la dinámica poblacional de las dos especies, que aporten información relevante y complementaria a la existente y permitan así abordar estrategias de conservación y manejo.

OBJETOS DE ESTUDIO

La tonina overa

El género *Cephalorhynchus* está compuesto por cuatro especies de delfines: delfín de Heaviside *C. heavisidii*, delfín de Héctor *C. hectori*, delfín chileno *C. eutropia* y tonina overa *C. commersonii*. Son delfines robustos, con cabeza roma y aletas redondeadas, siendo el rasgo más característico del género la aleta dorsal, la cual es proporcionalmente grande y redondeada con un borde frontal recto que termina en

una curva (Dawson 2018). A su vez, los delfines del género se caracterizan por presentar un tamaño corporal pequeño (siendo de los más pequeños en el mundo), baja fecundidad y abundancia poblacional (Cipriano et al. 2011, Dawson 2018). Cada una de las especies habita aguas costeras templadas del hemisferio sur (Fig. 1), todas ellas aisladas entre si por grandes distancias geográficas, con excepción de la tonina overa y el delfín chileno en América del Sur, cuyas distribuciones presentan potencialmente cierto grado de solapamiento en el Estrecho de Magallanes (Jefferson et al. 1993). Entre las especies del género, la tonina overa exhibe el mayor área de distribución con dos subespecies, *C. commersonii commersonii* en América del Sur y *C. commersonii kerguelenensis* en las islas Kerguelen, las cuales difieren genética y morfológicamente (Rice 1989, Pichler et al. 2001, Robineau et al. 2007).

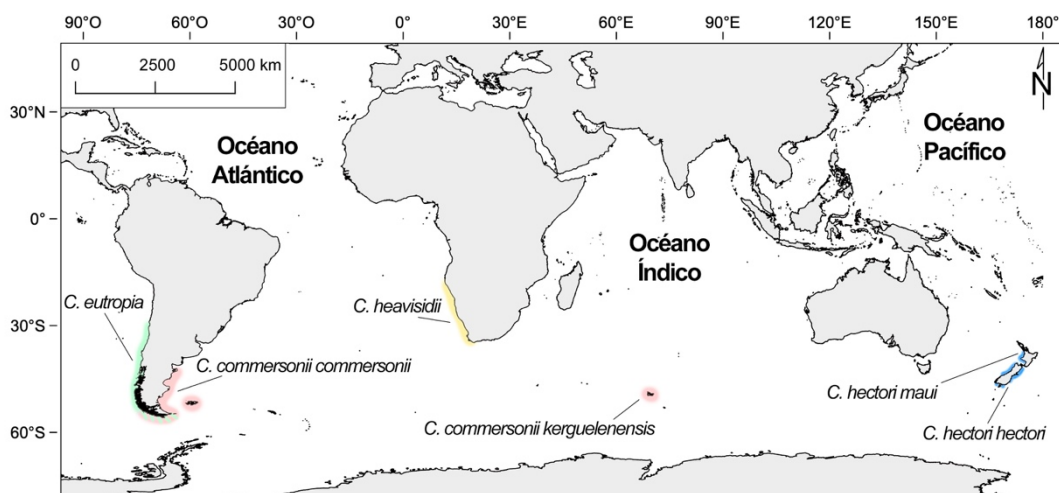


Fig. 1: Distribución de delfines del género *Cephalorhynchus*: delfín de Heaviside (*C. heavisidii*), delfín de Héctor (*C. hectori hectori* y *C. hectori maui*), delfín chileno (*C. eutropia*) y tonina overa (*C. commersonii commersonii* y *C. commersonii kerguelenensis*).

La tonina overa (Fig. 2) se caracteriza por un escasa o nula presencia de pico, con una línea de la boca relativamente recta, y cuya aleta dorsal es baja y redondeada con un borde de salida convexo (Jefferson et al. 1993). A diferencia de los animales de las Islas Kergüelen, los cuales presentan un tamaño corporal mayor y una pigmentación gris oscura y clara, el patrón de coloración de la subespecie

sudamericana es el más contrastante del género, siendo blanco y negro (Robineau et al. 2007). Posee una banda blanca que rodea el cuerpo dorsalmente entre la región anterior de la aleta dorsal y el orificio nasal, y ventralmente entre la región posterior de las aletas pectorales hasta detrás del área genital (Jefferson et al. 1993). Presenta además dos manchas distintivas, una blanca en la garganta y una negra alrededor de los genitales; esta última con forma ovalada en las hembras y de corazón en los machos (Robineau et al. 2007).

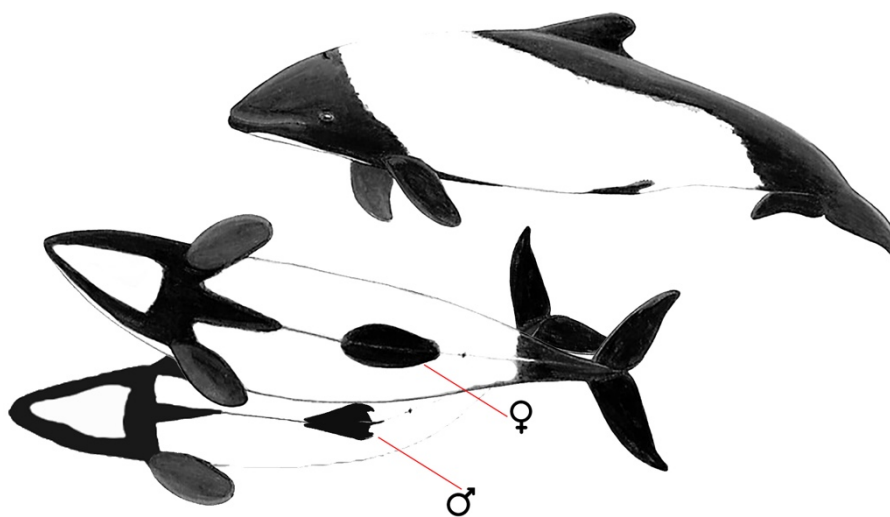


Fig. 2: Tonina overa (*Cephalorhynchus comersonii comersonii*) en Sudamérica. Fuente: www.google.com

La subespecie sudamericana es uno de los delfines más comúnmente avistados en la región, siendo endémica de Argentina y Chile. Ha sido catalogada como “Preocupación menor” (Coscarella et al. 2019) en la última Lista de Roja de Mamíferos de Argentina 2019 (SAREM-Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible de Argentina). Se distribuye entre los 42°S y los 56°S a lo largo de la costa del Océano Atlántico, incluyendo las Islas Malvinas y en la zona central y oriental del Estrecho de Magallanes (Dawson 2018). Prefiere áreas donde la plataforma continental es ancha y plana, con ciclos de marea amplios y aguas frías influenciadas por la Corriente de Malvinas, por lo que la mayor frecuencia de avistamientos ocurre en aguas de la plataforma continental (<200 m de profundidad) y cerca de la costa

(<60 km de la costa argentina y <25 km de las Islas Malvinas; sin embargo, se la ha avistado también en aguas oceánicas sobre el talud (Goodall et al. 1988b, Goodall 1994, White 2002, Coscarella 2005, Loizaga de Castro et al. 2013a, Loizaga de Castro et al. 2013b, Dellabianca et al. 2016). Habita en diferentes hábitats costeros, incluyendo fiordos, bahías, golfos y desembocaduras de ríos, encontrándose en estas últimas áreas las mayores densidades poblacionales (Garaffo et al. 2011).

Existen unas pocas estimaciones de abundancia que, debido a diferencias metodológicas y de enfoques analíticos, dificultan llegar a una conclusión sobre la tendencia poblacional. En Chile, las estimaciones aéreas realizadas en el Estrecho de Magallanes entre 1984 y 1996 varían entre 313 ± 99 y 3.211 ± 1168 individuos (Venegas Canelo & Atalah 1987, Leatherwood et al. 1988, Venegas Canelo 1996, Lescrauwaet et al. 2000). En Argentina, una serie de estudios aéreos entre mediados de 1990 y mediados de 2000 arrojaron estimaciones de 40.000 individuos a lo largo de su distribución en el Océano Atlántico en una franja comprendida entre la línea de costa y la isobata de 100 m (Pedraza 2008). Más recientemente, entre 2009 y 2015 mediante el avistamiento desde cruceros a lo largo de la plataforma continental, se estimó una abundancia de 21.933 individuos con un intervalo de confianza del 95% de 6.013 – 80.012 (Dellabianca et al. 2016). A pesar de que la metodología difiere a las anteriores en la zona, abarca una menor área geográfica y con avistamientos realizados a una distancia no mayor a 60 km de la costa, las estimaciones se mantienen en el mismo orden de magnitud.

Si bien en la actualidad no es capturada intencionalmente y, a pesar de carecer de estimaciones oficiales, las muertes incidentales (Fig. 3A) parecen no ser significativas. Hasta finales de 1990, la especie fue cazada para la utilización como carnada en la pesca de la centolla *Lithodes santolla* en Tierra del Fuego, Argentina (Goodall 1994). A su vez, fue uno de los pequeños cetáceos más afectados por la

muerte incidental de diferentes artes de pesca, probablemente debido a su distribución costera (Crespo et al. 1997, Crespo et al. 2017). Se desconoce con precisión cuantos individuos murieron en las redes de pesca, aunque se estima que en algunas regiones de la costa argentina estos números ascendían hasta 180 animales por año en la década de 1990 (Goodall 1994, Crespo et al. 1997, Dans et al. 2003, Iñiguez et al. 2003). El turismo es otra actividad antrópica con la cual interactúa la tonina overa en Argentina (Fig. 3B), actividad que ha crecido exponencialmente en las últimas décadas generando importantes beneficios económicos (Tagliorette & Losano 1996). Sin embargo, dicha actividad basada en el avistaje de individuos en silvestría no posee efectos comportamentales a largo plazo en la especie (Coscarella et al 2003).

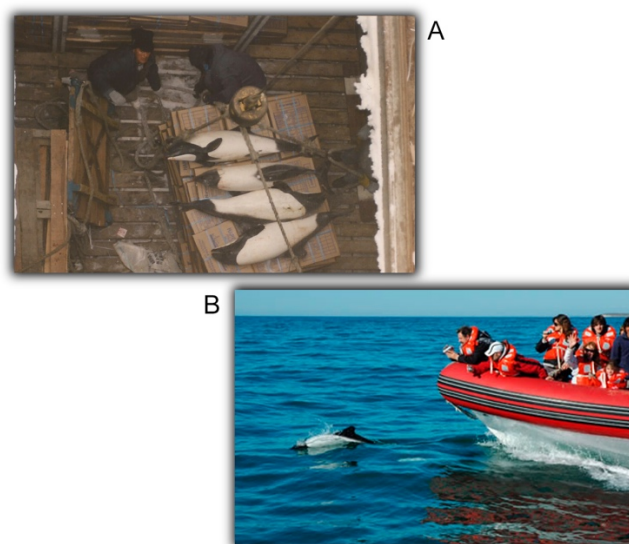


Fig. 3: Interacción con actividades antrópicas de la tonina overa (*Cephalorhynchus comersonii*) en Argentina. A- Captura incidental en 1993 durante la pesquería comercial del langostino (*Pleoticus muelleri*) en el Golfo San Jorge (Foto: LAMAMA – CESIMAR – CCT CENPAT - CONICET). A- Fotografía de avistaje de toninas overas en Rawson, Chubut, Argentina (Foto: www.interpatagonia.com)

El delfín austral

El género *Lagenorhynchus* se compone de seis especies de delfines, tres de los cuales habitan aguas costeras y profundas del Hemisferio norte (*L. acutus*, *L. albirostris*

y *L. obliquidens*) y las restantes en aguas oceánicas (*L. cruciger*) y costeras (*L. australis* y *L. obscurus*) del Hemisferio sur (Vollmer et al. 2019). La clasificación de especies dentro del género se encuentra cuestionada debido a que, a pesar de presentar diferencias morfológicas, las relaciones filogenéticas a partir de análisis moleculares sugieren una revisión taxonómica (LeDuc et al. 1999, Harlin-Cognato & Honeycutt 2006, May-Collado & Agnarsson 2006, Banguera-Hinestroza et al. 2014, Vollmer et al. 2019). Recientemente, se ha sugerido la reasignación de cinco de las especies a otros géneros ya existentes, entre los cuales se encuentra el delfín austral (Vollmer et al. 2019); sin embargo, al mismo tiempo se plantea la necesidad de más análisis que permitan una mejor comprensión de las relaciones filogenéticas, por lo que la resolución taxonómica permanece inconclusa, manteniéndose la nomenclatura tradicional (Goodall et al. 1997).

El delfín austral es ventralmente de color claro y dorsalmente de color gris oscuro o negro, con dos áreas más claras a ambos lados (Fig. 4). Uno de los parches es curvo y se extiende entre la zona caudal hasta debajo de la zona anterior de la aleta dorsal, mientras que el otro parche se ubica en la región torácica delineada por una línea oscura en su superficie inferior, coincidente con las aletas pectorales. Estas últimas y la aleta dorsal son de color oscuro con zonas claras en el lado posterior. Posee un parche negro en la garganta que varía individualmente en su forma, y que al igual que la única línea clara lateral, es una característica que permite diferenciarlo del delfín oscuro *L. obscurus* (Goodall et al. 1997, Cipriano 2018).

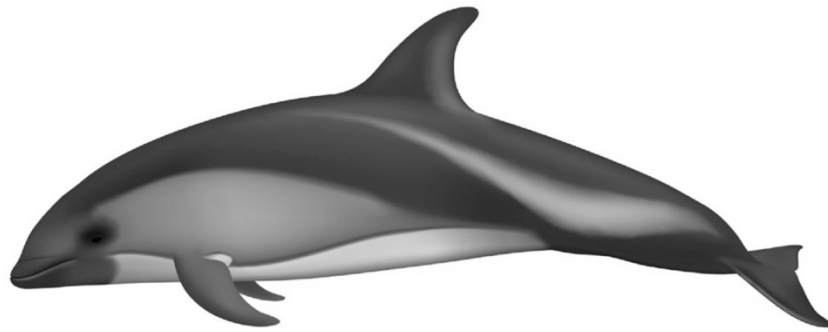


Fig. 4: Ilustración del delfín austral (*Lagenorhynchus australis*). Fuente: Encyclopedia of Marine Mammals 3^{ra} Edición.

El delfín austral es una especie endémica que se encuentra confinada en las aguas de la plataforma de América del Sur. La especie se distribuye comúnmente entre 38°S y 59°S en el Océano Pacífico y con límite norte a los 44°S en el Océano Atlántico, incluidas las Islas Malvinas, con registros extraordinarios de 33°S y 38°S en el Océano Pacífico y Atlántico, respectivamente (Cipriano 2018) (Fig. 5). Frecuenta diferentes hábitats costeros que incluyen bosques de macroalgas marinas (ej., *Macrocystis pyrifera*), fiordos y bahías profundas (de Haro & Iñiguez 1997, Goodall et al. 1997, Lesrauwaet 1997, Brownell Jr et al. 1999, Dellabianca et al. 2016), aunque también se pueden encontrar hasta los 300 km mar adentro (Dellabianca et al. 2016).

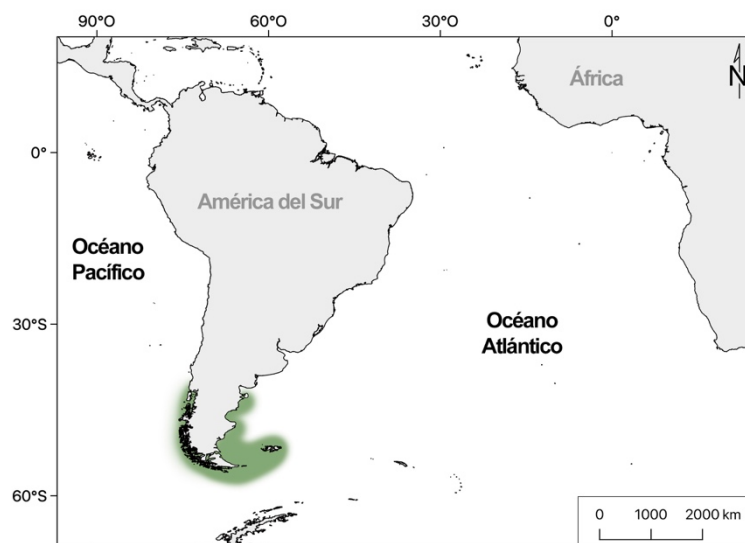


Fig. 5: Distribución del delfín austral (*Lagenorhynchus australis*).

Existen muy pocos estudios sobre la abundancia del delfín austral a lo largo de su distribución, y cuyas estimaciones no son comparables a ambos lados del continente debido a diferencias en la metodología, modelado y área geográfica. En la región atlántica, entre 2009 y 2015 mediante el avistamiento con embarcaciones a lo largo de la plataforma continental, se estimó la presencia 19.924 individuos, con un coeficiente de variación (CV) de 0.2 (Dellabianca et al. 2016). A su vez, en aguas costeras de las Islas Malvinas se estimaron 1.896 animales (CV = 0.33) a través de censos aéreos durante el 2017 (Costa et al. 2018). Del lado pacífico, los estudios realizados son a escala regional y están sesgados a la región de los fiordos chilenos (sur de la distribución), siendo la especie más avistada en la región (Goodall et al. 1997, Brownell Jr et al. 1999). Las estimaciones a través de tasas de encuentro rondan los 2400 individuos en la región de Magallanes, y de 200 individuos cerca de la Isla de Chiloé, mediante foto-identificación y modelos de captura-recaptura (Heinrich & Dellabianca 2019).

La especie se vio afectada por una sola pesquería dirigida a dos especies, la centolla y el centollón *Paralomis granulosa*, durante las décadas de 1970 y 1980 al ser utilizado como cebo (Goodall et al. 1988a, Goodall & Schiavini 1994, Lescrauwaet & Gibbons 1994). A pesar de la falta de información sobre cuántos individuos fueron extraídos durante esta pesquería, se cree que la explotación fue lo suficientemente intensa como para que el delfín austral estuviera en riesgo de extinción local (Goodall et al. 1988a). Actualmente, la especie está expuesta a la degradación del hábitat debido principalmente al aumento de las actividades de exploración y explotación de petróleo (de Haro 2003) y, en menor medida, a actividades humanas como la pesca y el turismo. En cuanto a su estado de conservación, la especie se encuentra categorizada como “Preocupación menor” (Hevia et al. 2019) en la última Lista de Roja de Mamíferos de Argentina 2019 (SAREM-Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible de Argentina).

OBJETIVO GENERAL

Determinar la estructura genética de la población e investigar la ecología trófica de dos especies simpátricas, la tonina overa y el delfín austral, a lo largo de la costa de Patagonia, mediante la utilización de isótopos estables y marcadores moleculares neutros.

OBJETIVOS PARTICULARES

- Estudiar de forma comparativa el uso de hábitat y nivel trófico de las dos especies de cetáceos *Lagenorhynchus australis* y *Cephalorhynchus commersonii* por medio de técnicas de isótopos estables de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ en muestras de tejido de renovación rápida (piel).

- Explorar cambios en la dieta de las dos especies a lo largo de las últimas décadas, con el fin de utilizar estas especies como indicadoras de cambios a largo plazo en el medio ambiente por medio de técnicas de isótopos estables de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ en muestras de tejido de renovación lenta (hueso).

- Evaluar el grado de aislamiento poblacional a lo largo del litoral argentino. Estimar la diversidad génica, documentar el flujo génico y patrones de migración entre poblaciones. Integrar ambas herramientas, genéticas e isotópicas, para definir, delimitar y caracterizar las unidades poblacionales y las relaciones inter-específicas de estas especies.

HIPÓTESIS Y PREDICCIONES

- El hábitat y sus presas condicionan el uso de recursos por parte de los delfines australes y las toninas overas.

Predicciones:

i- La señal isotópica de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ será igual cuando ambas especies usen el hábitat de manera similar y diferirá intra e interespecíficamente cuando exista segregación de hábitat y un uso diferencial de los recursos tróficos.

ii- Se detectarán diferentes estrategias de forrajeo entre ambientes (costero vs. oceánico; pelágico vs. bentónico; bosque de macroalgas (ej., *Macrocystis pyrifera*) vs. descargas de aguas continentales vs. rías) dentro y entre las especies bajo estudio.

iii- Se detectarán diferentes estrategias de forrajeo entre macho y hembra intra e interespecíficamente.

- Existen cambios en la dieta de ambas especies en las últimas décadas, producto de cambios en los recursos tróficos que afectan a las dos especies.

Predicción: Los valores isotópicos de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ en las muestras de hueso variarán en el transcurso del tiempo.

- La divergencia genética ocurre en escalas geográficas pequeñas y el flujo génico está limitado tanto por la heterogeneidad de recursos, como por la especialización de hábitat.

Predicciones:

i- Ambas especies presentarán una estructura genética poblacional alta a lo largo del litoral argentino (bajo flujo génico, baja tasa de migración).

ii- La estructura génica poblacional de cada especie estará condicionada a cambios demográficos históricos ocurridos en un pasado reciente.

iii- Los individuos que pertenecen a la misma matrilinea tendrán valores isotópicos similares de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$.

iv- Se detectarán diferentes estrategias de forrajeo (costero, pelágico) entre las diferentes matrilineas.

ÁREA DE ESTUDIO

El área de estudio abarca el sector del Océano Atlántico Sudoccidental entre Península Valdés (42°S) y el Canal de Beagle (56°S), delimitado longitudinalmente por la línea de costa y el talud (Fig. 6A). Dicha región forma el gran sector patagónico-fueguino, el cual cubre una superficie de 750.000 km² aproximadamente (Piola 2008). Las aguas subantárticas del extremo norte del Pasaje de Drake y de la corriente de Malvinas (Fig. 6B) son la principal fuente de agua del Mar Patagónico (Guerrero & Piola 1997). Esta última corriente, fría y rica en nutrientes, ingresa por el sur siguiendo el contorno del talud y es el eje funcional del sistema (Piola & Rivas 1997). En la Zona de Confluencia, choca con aguas cálidas y con baja concentración de nutrientes de la corriente de Brasil, produciendo uno de los frentes marinos más importante del ecosistema (Acha et al. 2004). Además, a lo largo de la región se encuentran otros frentes marinos, como el frente de talud (ocasionado por la surgencia o “*upwelling*” de masas de agua de la corriente de Malvinas), el frente de mareas patagónico (debido a la amplitud de mareas) y los frentes estuariales (por aporte de aguas continentales) (Acha et al. 2004). Todos ellos, en mayor o menor medida, son los responsables de que el Mar Patagónico sea el área de mayor productividad del Atlántico sudoccidental (Acha et al. 2004, Falabella et al. 2009). En cuanto a su batimetría, comprende en su totalidad a la plataforma continental, una provincia fisiogeográfica caracterizada por tener suaves pendientes, escaso relieve y de un ancho variable que en general crece de norte a sur. La misma se desarrolla desde la línea de costa hasta el quiebre que la separa del talud (área donde la pendiente desciende bruscamente) ubicado entre los 120 y 240 m de profundidad dependiendo de la región (Parker et al. 1997). Incluye, además, dos de las tres regiones que componen al Gran Ecosistema Marino Patagónico, diferenciadas entre sí por características topográficas, oceanográficas y biológicas (Hempel & Sherman 2003) y en las cuales quedan contenidos regímenes

oceanográficos basados en las propiedades físicas del agua (temperatura y salinidad), los frentes oceánicos predominantes y la circulación marina (Falabella et al. 2009).

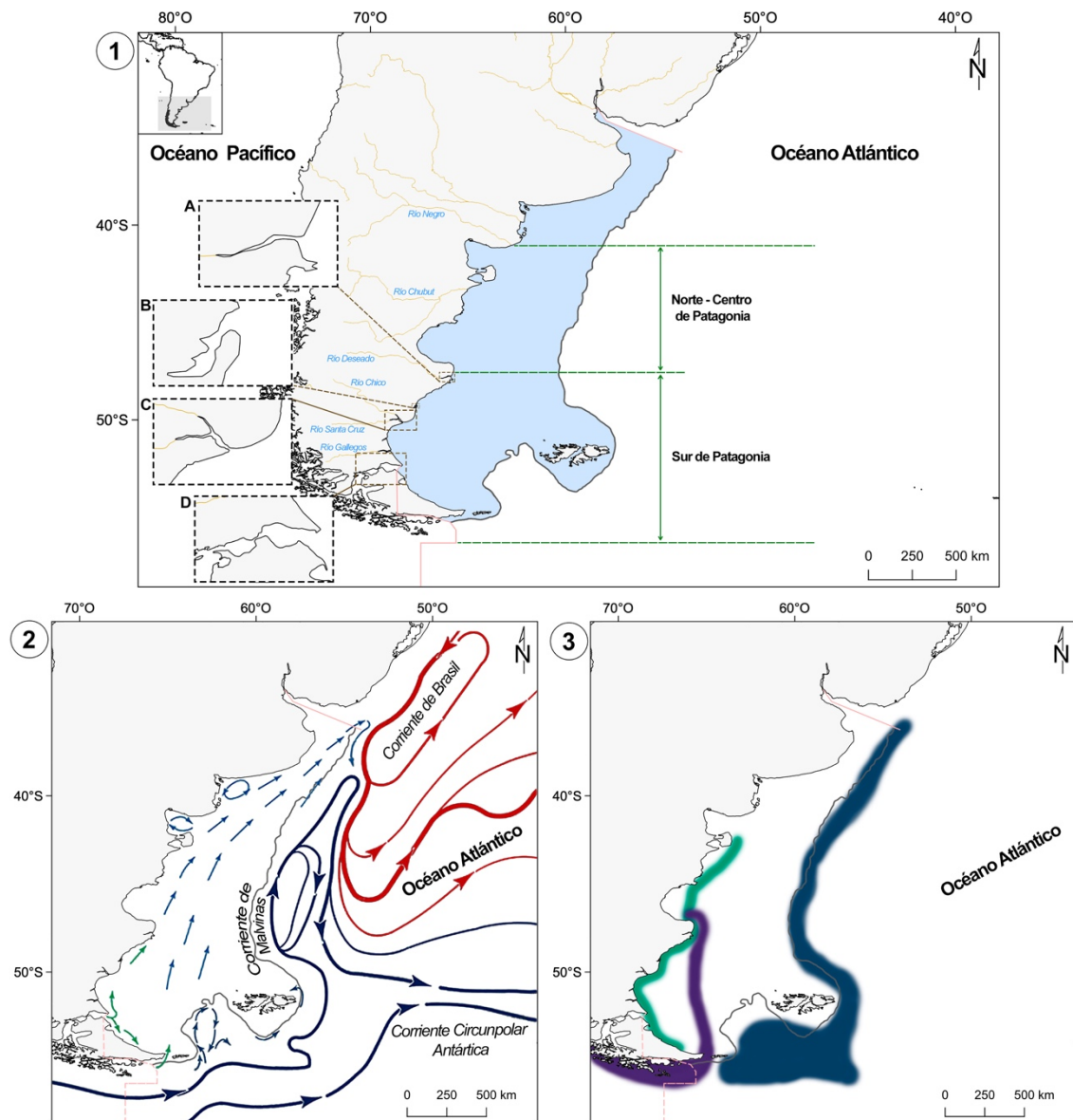


Fig. 6: 1- Mapa del sector patagónico-fueguino y sus respectivas regiones como área de estudio. Se detallan el Mar Argentino (celeste) delimitado por el borde externo de la plataforma continental (línea gris continua), los límites políticos internacionales (línea roja continua), los principales ríos de la región patagónica y los principales accidentes geográficos costeros (A: Ría Deseado, B: Bahía San Julián, C: Ría Santa Cruz y D: Estrecho de Magallanes). 2- Mapa con las principales corrientes marinas del Mar Patagónico. 3- Mapa con las principales áreas frontales: Frente del talud (Azul), Frente estuarial frío (Violeta) y Frente de marea (Verde). Mapas 2 y 3 adaptados de Falabella et al. (2009).

La región “centro-norte de Patagonia” se define entre la desembocadura del Río Negro en el Golfo San Matías (41°S) y Puerto Deseado (48°S), en la que se

incluyen los golfos norpatagónicos, y la desembocadura del Río Chubut y Deseado (Fig. 6A). Domina en su totalidad el régimen oceanográfico Plataforma (Fig. 6C) compuesto principalmente por aguas de origen subantártico diluidas por descargas continentales. La plataforma continental es amplia, de alrededor de 350 km de ancho, con dominancia de aguas frías y ricas en nutrientes (Guerrero & Piola 1997, Parker et al. 1997). Existe una alta productividad biológica debido al frente de mareas patagónico (Acha et al. 2004), destacándose a la anchoíta *Engraulis anchoita*, la merluza común *Merluccius hubbsi*, el langostino *Pleoticus muelleri* y el calamar común *Illex argentinus* como especies claves que sustentan a la comunidad marina y a la actividad pesquera comercial (Bertolotti et al. 2001, Martini 2001, Hansen et al. 2009, Salas et al. 2011, Romero et al. 2012, Cousseau & Perrotta 2013, Loizaga de Castro et al. 2016a, Pesquero 2016, Loizaga de Castro et al. 2017).

La región “sur de Patagonia” continúa hasta el Canal Beagle (56°S) e incluye a la Isla Grande de Tierra del Fuego, las Islas Malvinas e Islas de los Estados (Fig. 6A). Presenta en exclusividad el régimen Magallánico, el cual corresponde a frentes costeros asociados a descarga de agua dulce (Río Deseado, Chico, Santa Cruz y Gallego), y el régimen Plataforma en las áreas alejadas de la costa (Fig. 6C). La plataforma continental presenta su ancho máximo de 850 km frente a la Bahía Grande de Santa Cruz y luego disminuye a 10 km al sur de la Isla de los Estados (Parker et al. 1997). Entre los accidentes geográficos costeros se destacan al estrecho de Magallanes, una serie de cabos (Cabo Vírgenes, Cabo Espíritu Santo y Cabo Buen Suceso), la Ría Gallegos y la Bahía San Julián (Fig. 6A). La región sur se caracteriza además por una alta productividad biológica que sirve de sustento para las tramas tróficas y en la cual algunos depredadores tope presentan las abundancias más altas, entre los cuales se incluye la tonina overa (Pedraza 2008) y el delfín austral (Dellabianca et al. 2016). Entre las especies principales que componen los niveles tróficos medios (meso) se

destacan la sardina fueguina *Sprattus fuegensis*, la merluza de cola *Macruronus magellanicus*, los nototénidos *Patagonotothen spp.* y los atherínidos *Odonthestes spp.*, el calamar común y el calamarete del sur *Doryteuthis gahi* (Bastida et al. 1988, Thompson et al. 1998, Koen Alonso et al. 1999, Schiavini et al. 2005, Riccialdelli et al. 2013).

OBTENCIÓN DE MUESTRAS

Las muestras de piel y hueso obtenidas en esta tesis tienen diferentes orígenes, a partir de animales muertos varados en la costa o provenientes de captura incidental y de toma de biopsias de animales de vida libre. En cuanto a las muestras de potenciales presas de los delfines, las mismas fueron adquiridas a partir de donaciones de diferentes pesquerías (pesca recreativa, artesanal y comercial).

El muestreo de piel y hueso de individuos hallados muertos en la costa o en redes de pesca fue realizado mediante relevamientos terrestres por investigadores pertenecientes al Laboratorio de Mamíferos Marinos (LAMAMA) del Centro para el Estudio de Sistemas Marinos del Centro Nacional Patagónico (CESIMAR — CONICET), y por personal de la Fundación Cethus, quienes donaron material de su colección. Las necropsias llevadas a cabo por el LAMAMA fueron realizadas a campo o en laboratorio, siguiendo el método propuesto por Norris (1961). Durante las necropsias se registraron el sexo y el estado de descomposición del individuo. Todas las muestras de piel de individuos muertos fueron preservadas en cámara de frío a -20°C.

Las muestras de piel obtenidas a partir de biopsias se realizaron mediante relevamientos náuticos siguiendo el protocolo propuesto por Loizaga de Castro et al. (2013b). El mismo consiste en realizar transectas al azar en las diferentes localidades de muestreo, utilizando una embarcación del tipo semirrígido de alrededor de 6-7 metros de eslora y con motor fuera de borda. El método de toma de muestra consistió

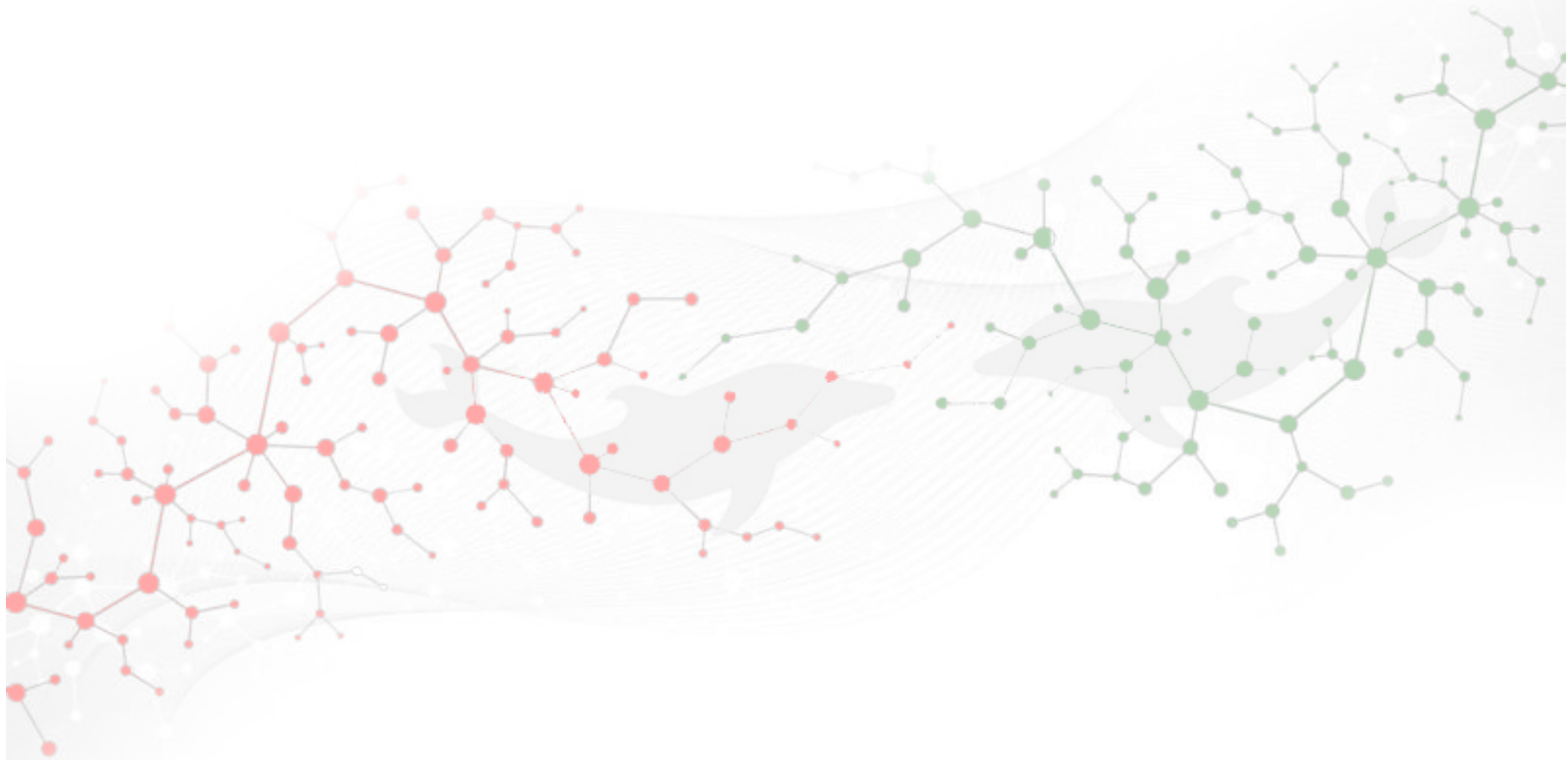
en estar ubicado sobre la proa de la embarcación y extraer piel de la región dorsal, alrededor de la aleta dorsal, al momento en que los individuos salen a respirar (Fig. 7). Para ello se utilizó un palo de madera (1,5 m de longitud) en cuyo extremo se ubica un sacabocado de acero inoxidable intercambiable, lo que permite utilizar un sacabocado por muestra. Previamente a su uso, las puntas de biopsias fueron cepilladas, hervidas durante 30 minutos, colocadas en un recipiente con etanol 96 % y flameadas con mechero, para finalmente ser conservadas en recipientes plásticos. Una vez extraída la muestra, la misma fue conservada inmediatamente en una solución al 20% de Dimetilsulfóxido saturada con NaCl (Amos & Hoelzel 1991) y luego, en el laboratorio, preservada a -20°C hasta ser utilizada. Para cada muestra se registró la coordenada geográfica mediante el uso de GPS y, una vez en el laboratorio, se les realizó un sexado molecular amplificando las regiones ZFX y ZFY de acuerdo con Bérubé y Palsbøll (1996), en conjunto con aquellas muestras de individuos muertos hallados en la costa a los cuales no se les pudo determinar el sexo.



Fig. 7: Imagen ilustrativa de toma de biopsia de un individuo adulto de delfín austral (*Lagenorhynchus australis*).

CAPÍTULO II

Segregación de nicho isotópico de
dos especies de pequeños cetáceos



INTRODUCCIÓN

La presencia de especies simpátricas implica la existencia de algún grado de repartición de recursos que, a través del proceso evolutivo, hayan reducido la competencia (Roughgarden 1976). De acuerdo con la teoría de nicho y como consecuencia de la exclusión competitiva, la segregación de nicho ha permitido la coexistencia de especies con requerimientos ecológicos similares (Pianka 1974, 2011). Particularmente en delfines, esta segregación usualmente se observa a nivel de nicho trófico relacionado a la disponibilidad de presas, lo que resulta en un uso de hábitat diferencial dentro del mismo hábitat (Bearzi 2005). Esto ocurre incluso en especies que forman grupos mixtos como una estrategia para mejorar sus eficiencias de alimentación (Loizaga de Castro et al. 2017). Por lo tanto, identificar los requerimientos de cada especie es el objetivo principal de estudios ecológicos para comprender los mecanismos de coexistencia y son, además, la clave para la conservación de la biodiversidad bajo un escenario de cambio climático y de aumento de las actividades desarrolladas por el hombre (Gavrilchuk et al. 2014).

Los delfines tienen un gran potencial de dispersión, pudiendo recorrer grandes distancias, lo que dificulta la observación directa de sus hábitos alimenticios (Boyd et al. 2010). El uso del contenido estomacal para estudiar la dieta de los mamíferos marinos se ha convertido en una práctica tradicional (Bowen & Iverson 2013). A pesar de las numerosas ventajas de este método, presenta algunas desventajas relacionadas, por un lado, a los sesgos en el muestreo, dado que la información se obtiene a partir de animales muertos (varados en las costas o mortalidad incidental); y por otro lado, de la naturaleza temporal de la información, ya que los datos proporcionados corresponden solo a los últimos eventos de alimentación y están limitados a presas con estructuras diagnósticas duras, que no hayan sido totalmente digeridas (Pasquaud et al. 2007). En este sentido, los análisis de isótopos estables son muy útiles para

comprender la ecología trófica de los delfines (Ambrose et al. 2013, Loizaga de Castro et al. 2016a, Giménez et al. 2017, Loizaga de Castro et al. 2017). Si bien la técnica no permite un poder de resolución a nivel taxonómico, a diferencia del análisis de contenido estomacal, los estudios de dieta basados en el análisis de isótopos estables requieren solo una pequeña muestra de tejido, utilizándose aproximadamente de 0,5-0,6 mg de muestra (Michener 1994). Asimismo, proporcionan información integrada de todas las presas asimiladas durante un período prolongado de tiempo, sin la necesidad de observaciones directas de los taxones marinos (Koch 2007, Kiszka et al. 2014). La escala temporal depende de la tasa de renovación del tejido utilizado para el análisis, que puede oscilar entre 2 y 6 meses en la piel (Caut et al. 2011, Browning et al. 2014, Giménez et al. 2016) y entre 5-10 años en el hueso (Koch 2007). De esta manera, se puede obtener información a corto y largo plazo sobre la dieta de un depredador que permita una mejor comprensión de los requerimientos tróficos de la especie.

Los isótopos se definen como diferentes formas del mismo elemento con diferente masa atómica, es decir contienen distinto número de neutrones en su núcleo y el mismo número de protones y electrones. El concepto de estables se debe a que el número de partículas subatómicas no se modifica con el paso del tiempo (Chang 2007). Aquellos con mayor masa atómica se los denomina isótopos pesados, mientras que los de menor masa son llamados isótopos livianos; y se los representa con el número de masa atómica (ej.: ^{13}C , ^{15}N o ^{12}C , ^{14}N , respectivamente) (Fry 2006). Estas diferencias en masa hacen que no reaccionen de la misma manera en los diferentes procesos fisiológicos y fisicoquímicos, siendo los isótopos estables livianos los que reaccionan con mayor rapidez y requieren menor energía de activación (Fry 2006). A este fenómeno se lo denomina fraccionamiento isotópico y es un de los causantes de las diferencias observadas entre las composiciones isotópicas de las fuentes (presas) y los consumidores (depredadores) (Schoeller 1999, Fry 2006).

Los isótopos del carbono ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) y del nitrógeno ($^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$) son los principales isótopos estables utilizados en el estudio de la ecología trófica de mamíferos marinos (Newsome et al. 2010). Por un lado, la relación $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ permite separar entre hábitats de plataforma/offshore y costeros/inshore, dependiendo si la fuente de carbono proviene del fitoplancton o de las macroalgas, respectivamente (Rubenstein & Hobson 2004, Fry 2006). Estas diferencias están también relacionadas a otros factores que pueden afectar los valores de $\delta^{13}\text{C}$ en el ambiente marino. Principalmente se destacan la concentración de CO_2 disuelto, la temperatura, la tasa de crecimiento de las algas, la fuente y suministro de carbono inorgánico, y la composición específica del productor primario, el tamaño y las tasas de crecimiento (O'Leary 1988, Goericke & Fry 1994, Laws et al. 1995, Popp et al. 1998). En consecuencia, lo que se observa es una variación espacial y temporal en los valores de $\delta^{13}\text{C}$ en el medio marino que genera un gradiente a escalas regionales, como lo es la variación en distancia a la costa, entre accidentes geográficos y en profundidad (Goericke & Fry 1994, Riccialdelli et al. 2017, Galvan et al. 2018) y a escalas globales, registrándose un aumento en los valores de ^{13}C del fitoplancton inversamente proporcional a la latitud (Michener & Kaufman 2007, McMahon et al. 2013). Por otro lado, la relación $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ es un indicador del nivel trófico dado que, producto de una excreción preferencial del isótopo estable liviano se produce un enriquecimiento del isótopo estable pesado que aumenta de presa a depredador (Caut et al. 2009). Existe también una variación ambiental en los valores de $\delta^{15}\text{N}$ dependiente de la fuente de nitrógeno disponible, destacándose en el medio marino la concentración y captación de nitrato (NO_3^-) y la fijación de nitrógeno molecular (N_2), seguido de escorrentías y deposición atmosférica (Montoya 2007). En regiones donde la fuente principal para los productores primarios es el NO_3^- debido a una alta concentración de nutrientes, se observan valores de $\delta^{15}\text{N}$ más altos; mientras que en zonas donde la concentración de NO_3^- es baja, la fijación de N_2 es fundamental y los valores de $\delta^{15}\text{N}$ son relativamente

más bajos (Montoya 2007, Sigman et al. 2009). La combinación de ambos isótopos estables permite estimar el nicho isotópico ocupado por una especie, incluida la superposición entre nichos intra e interespecíficos, y explorar la dieta de un depredador (Newsome et al. 2007).

En primer lugar, el nicho isotópico se puede definir como un área (en el espacio δ) con valores isotópicos (valores δ) como coordenadas, donde el espacio δ es comparable al espacio n-dimensional que contiene el nicho ecológico definido por Hutchinson (1957). Esta aproximación se basa en el supuesto de que la composición química de un consumidor se ve afectada directamente por lo que consume y su hábitat, siempre que sean diferentes en sus valores isotópicos (Newsome et al. 2007). De esta manera, quedan definidas variables asociadas a los recursos utilizados por los individuos y a las condiciones físicas y biológicas en las que habitan (Hutchinson 1978), permitiendo así comprender relaciones tróficas intra e interespecíficas. En segundo lugar, con base en la relación que existe entre la composición isotópica del consumidor y sus presas, se puede estimar la contribución relativa de las potenciales presas a la dieta de un depredador (Fry 2006).

Las dos especies de delfines estudiadas en esta tesis habitan en simpatria a lo largo del Océano Atlántico suroccidental. Sin embargo, y a pesar de encontrarse tanto en hábitats costeros como oceánicos, los requerimientos ecológicos parecerían ser diferentes, indicando algún grado de segregación en el uso del hábitat (Ver capítulo I). A lo largo de costa de Argentina, los delfines australes generalmente se encuentran asociados a ambientes costeros, incluso dentro de caletas y pequeñas bahías, dominados por bosques de macroalgas (de Haro & Iñíguez 1997, Goodall et al. 1997, Lescrauwaet 1997, Brownell Jr et al. 1999, Dellabianca et al. 2016); mientras que la tonina overa prefiere áreas donde la plataforma continental es ancha, con fuerte energía de mareas y en cercanía de las desembocaduras de ríos (Goodall et al. 1988b,

Goodall 1994, White 2002, Coscarella 2005, Garaffo et al. 2011, Loizaga de Castro et al. 2013a, Loizaga de Castro et al. 2013b, Dellabianca et al. 2016). Estos patrones de distribución y abundancia de ambas especies también se reportaron para las Islas Malvinas, donde las mayores concentraciones de delfines australes fueron encontradas en sitios con dominancia de macroalgas; mientras que las toninas overas fueron avistadas mayormente en áreas costeras con fuerte mezcla de mareas y próximo a las desembocaduras de ríos (Franchini et al. 2020).

En cuanto a los estudios de dieta basados en el análisis de contenidos estomacales a lo largo de la costa argentina, sugieren que la tonina overa prefiere peces demersales-pelágicos en hábitats costeros. Bastida et al. (1988) reportaron en Tierra del Fuego la presencia de misidáceos, peces (principalmente pelágicos), calamares y crustáceos en su dieta. Además, los análisis de isótopos estables llevados a cabo en la misma región son consistentes con los estudios de dieta tradicional y sugieren que la tonina overa consume principalmente peces pelágicos y costeros, seguido de especies bento-pelágicas, con una diferencia en la contribución relativa de cada presa de acuerdo a la clase de edad (Ricciardelli et al. 2013). Koen Alonso (1999) encontró en 9 contenidos estomacales del centro de Patagonia que las toninas overas se alimentan de peces pelágicos, calamares y crustáceos. Para los delfines australes, existe escasa información sobre su dieta a lo largo de la costa de Argentina. Pocos estudios reportaron las preferencias dietarias de la especie. Schiavini et al. (1997) encontraron en Tierra del Fuego que la especie parece alimentarse de presas demersales y de fondo asociadas a bosques de macroalgas. En Puerto Deseado, un estudio basado en 3 contenidos estomacales reveló que el delfín austral es un depredador generalista costero, destacando la presencia de huevos de mixines *Myxine sp.* (Iñiguez & de Haro 1994), lo que sugiere una estrategia de alimentación bentónica como fue informado por Schiavini et al. (1997). Finalmente, con base en un solo estómago de un individuo

del centro de Patagonia, se reportaron tres especies de presas que incluyen peces pelágicos-demersales, peces bentónicos-demersales y calamares (Lichter 1992).

Considerando la importancia de la aplicación de análisis de isótopos estables en el estudio de la ecología trófica de las especies, en conjunto con la información disponible a partir de estudios de dieta tradicional, y con el fin de comprender mejor las relaciones tróficas entre la tonina overa y el delfín austral; el objetivo de este capítulo es evaluar el uso del hábitat y explorar el nicho isotópico de estas dos especies de delfines endémicos que viven en simpatria a lo largo del Mar Argentino. La hipótesis de estudio es que ambas especies de delfines utilizan los recursos tróficos de manera diferencial evitando la competencia y promoviendo la vida en simpatria. En consecuencia, no se espera una superposición significativa en el nicho isotópico, dada la existencia esperada de diferentes estrategias de alimentación entre ambas especies.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio y toma de muestras

El área de estudio comprende las regiones oceanográficas Centro-Norte y Sur de Patagonia (Fig. 8) definiendo cinco sitios de muestreo. El sitio más austral corresponde al sur de la provincia de Santa Cruz (SSC), seguida de la localidad de Puerto Deseado (PD), en la que se destaca la ría de Puerto Deseado y actividad portuaria asociada principalmente a la actividad pesquera. Al norte de dicha localidad, se encuentra el Golfo San Jorge (GSJ) destacado por su alta productividad y en el cual se desarrollan dos de las principales pescas industriales de nuestro país asociadas a la merluza común, *Merluccius hubbsi*, y el langostino, *Pleoticus muelleri*. En la región norte del GSJ se ubica la localidad de Bahía Camarones (BC), la cual incluye el área natural protegida (ANP) Parque Interjurisdiccional Marino Costero Patagonia Austral (PIMCPA) donde se encuentra prohibida cualquier actividad extractiva, a excepción de la pesca deportiva bajo cierta regulación. Particularmente, esta área

cubre una superficie total de 132.124 hectáreas, incluyendo ecorregiones terrestres y marinas. El parque nacional protege alrededor de 180 km de costa marina (1,8 millas náuticas de la costa) y más de 55 islas, todas ellas caracterizadas por la presencia de numerosas caletas y pequeñas bahías (APN 2018). Al norte de BC, se encuentran la localidad de Playa Unión (PU) cuyo accidente geográfico a destacar es la desembocadura del Río Chubut. La zona está asociada al tráfico marítimo, producto de las pesquerías comerciales antes mencionadas y a las actividades turísticas, como el avistaje de tonina overa, desarrollado durante los meses de verano principalmente. Finalmente, al norte del área de estudio se destaca la localidad de Miramar, en la costa de la Provincia de Buenos Aires, donde el avistaje de cualquiera de las especies bajo estudio se considera inusual.

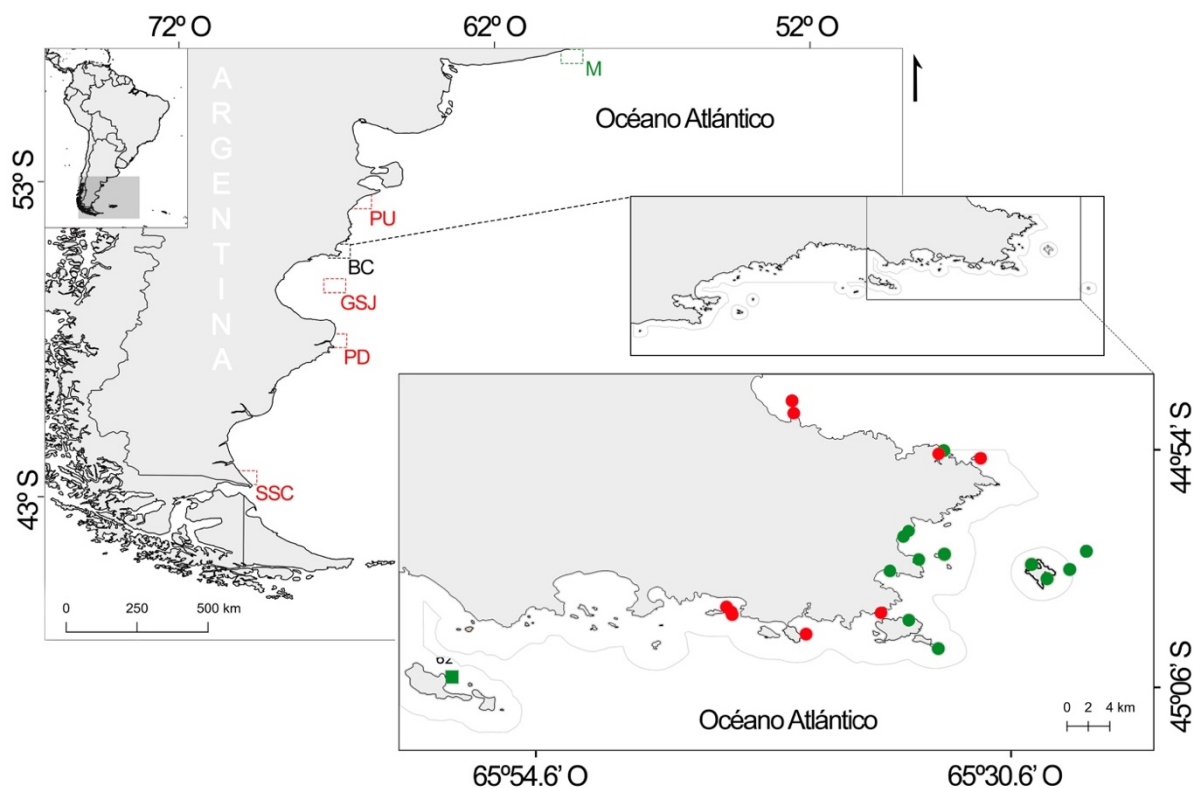


Fig. 8: Área de estudio con el detalle de los sitios de muestreo (M = Miramar, PU = Playa Unión, BC = Bahía Camarones, GSJ = Golfo San José, PD = Puerto Deseado, SSC = Sur de Santa Cruz) de las dos especies de delfines, cuyo formato de color corresponden a muestras de: rojo: *Cephalorhynchus commersonii*, verde: *Lagenorhynchus australis*, negro: ambas especies. Se amplía el sitio BC, detallando el Área Marina Protegida (línea gris continua) y los puntos de muestreo a partir de biopsia (círculos) y de individuos varados (cuadrados), manteniendo el formato de color de los sitios de muestreos.

Se recolectaron un total de 55/34 muestras de piel y 22/4 muestras de hueso de toninas overas y delfines australes, respectivamente, a lo largo del área de muestreo y en diferentes momentos del año, aunque mayormente pertenecieron a la estación primavera-verano (Tabla 1). Particularmente, para la localidad de BC, las muestras de ambas especies pertenecieron a muestreos realizados en diciembre de tres años consecutivos (2007 a 2009) y 2013 en el ANP (Fig. 8). Además, se le suma una sola muestra de piel de delfín austral de un individuo encontrado varado muerto en la costa en 2012. Las posibles especies presa se seleccionaron de acuerdo con la información publicada de contenidos estomacales y a la información ecológica de los delfines, considerando la región oceanográfica donde se obtuvo la muestra del depredador. De la literatura disponible, se tomaron valores ya reportados de isótopos estables del músculo blanco dorsal de peces pelágicos y del manto de cefalópodos (Forero et al. 2004, Drago et al. 2009a, Drago et al. 2009b, Vales et al. 2015). Para aquellas presas sin información previa, se obtuvieron muestras de pesquerías (n = 12) y se realizó el análisis isotópico correspondiente (ver apartado Análisis de isótopos estables).

Tabla 1: Resumen del muestreo para *Cephalorhynchus commersonii* y *Lagenorhynchus australis*, detallando el tamaño muestral (n), año de muestreo (año), tejido y sitio de muestro (localidad)

	Localidad	n	Tejido	Año
<i>Lagenorhynchus australis</i>				
	Bahía Camarones	34	Piel	2007-2013
	Miramar	1		-
	Bahía Camarones	1	Hueso	-
	Puerto Deseado	1		-
	Desconocido	1		-
<i>Cephalorhynchus commersonii</i>				
	Playa Unión	18		2008-2015
	Bahía Camarones	14	Piel	2007-2009
	Golfo San Jorge	8		1992-1993
	Puerto Deseado	15		2008
	Playa Unión	9		1985-2016
	Bahía Camarones	2	Hueso	2011
	Golfo San Jorge	8		1992-1993
	Sur de Santa Cruz	3		1981-2017

Análisis de isótopos estables

A las muestras de piel de delfín se las enjuagaron 5 veces con agua desionizada para evitar la posible influencia del DMSO en la composición isotópica de las muestras (Newsome et al. 2018). Luego, junto con las muestras de presas, se les extrajeron los lípidos con una solución 2: 1 de cloroformo: metanol en sucesivos lavados de 24 horas (3-5 veces) y se liofilizaron a -80 °C hasta la determinación de la composición isotópica (Newsome et al. 2018). Las muestras de hueso de delfines fueron primeramente descalcificadas con el fin de eliminar las variaciones indeseadas en los valores de $\delta^{13}\text{C}$ debido a la presencia de carbono inorgánico (Lorrain et al. 2003). Para ello, el tejido fue tratado con ácido clorhídrico (HCl) 0,5N en sucesivos lavados de 24hs cada uno a temperatura constante de 5°C en heladera, utilizando tubos de vidrio parcialmente tapados para permitir la liberación de CO₂. El tiempo de desmineralización completa varió entre muestras, tomándose como referencia la interrupción del burbujeo producto de la liberación de CO₂ y la flexibilidad de la

muestra, considerándose como óptimo el momento en el cual la muestra presentaba una textura esponjosa. Luego se la enjuagó 3-5 veces con agua destilada para eliminar el exceso de HCl (para más detalle ver Newsome et al. 2006). Finalmente se procedió a la extracción de lípidos siguiendo el mismo protocolo detallado para las muestras de piel y de presas, para luego ser liofilizadas.

Las proporciones de nitrógeno y carbono se midieron en aproximadamente 0,5-0,6 mg de muestra seca encapsuladas en cápsulas de estaño, usando el espectrómetro de masas de proporción de isótopos en modo de flujo continuo en el Centro de Isótopos Estables de la Universidad de Nuevo México (UNM-CSI siglas en inglés, EE. UU.). Todos los espectrómetros de masas están conectados a un analizador elemental (EA-IRMS). Los resultados se informan en notación δ en unidades por mil (‰) siendo Viena PeeDee Belemnite (V-PDB) y Atmospheric Isotope Reservoir (AIR) los estándares internacionalmente aceptados para $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$, respectivamente, como:

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

donde R representa la relación entre el isótopo pesado y liviano ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ o $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$) para la muestra y los estándares, y X es ^{13}C o ^{15}N (Peterson & Fry 1987). Se utilizaron cuatro estándares secundarios internos (caseína, proteínas de soja, atún y suero) de isótopos internacionales proporcionados por el Organismo Internacional de Energía Atómica (IAEA siglas en inglés) para calibrar las estimaciones de nitrógeno y carbono con una precisión de 0,30 ‰ y 0,20 ‰, respectivamente. Los estándares internos de laboratorio se calibraron contra IAEA N1, IAEA N2, USGS42 y USGS43 para $\delta^{15}\text{N}$ y USGS42, USGS43 y OAS Protein para $\delta^{13}\text{C}$. Además, se consideró la relación carbono: nitrógeno (C: N) de todas las muestras como indicador de una eficiente extracción de lípidos, tolerando variaciones de entre 2,8 y 3,5 para las muestras de hueso (Ambrose 1990) y de hasta 4 en las muestras de piel (Kiszka et al.

2010). Aquellas muestras que presentaron valores por fuera de los tolerados no fueron consideradas en el análisis.

Análisis de datos

Consideraciones para la comparación e interpretación de las composiciones isotópicas

Efecto Suess

Se denomina efecto Suess a los cambios en las relaciones isotópicas del Carbono producto de la liberación de CO₂ antropogénico a la atmósfera (Keeling 1979). Este fenómeno tiene sus orígenes en la revolución industrial, donde la combustión de combustibles fósiles ha aumentado la concentración de ¹²C en el CO₂ atmosférico debido a que están relativamente agotados en ¹³C, provocado así una disminución en la proporción de ¹³C/¹²C (Keeling et al. 2017). Este cambio también se ha observado en la reserva oceánica de carbono inorgánico disuelto (DIC), dado que existe un equilibrio entre el CO₂ atmosférico y el CO₂ acuoso basado en el ciclo del Carbono. Dicho equilibrio no es inmediato, ya que la absorción oceánica de CO₂ de combustibles fósiles presenta un desfase de alrededor de 10 años (Quay et al. 2003). El cambio ocurre inicialmente a nivel basal en las tramas tróficas, particularmente asociado al fraccionamiento del fitoplancton debido al empobrecimiento de ¹³C en el CO₂ acuoso (Laws et al. 1995). Ese efecto se traslada a lo largo de las tramas tróficas, por lo que se recomienda considerar el efecto Suess en los análisis basados en una escala temporal superior a los 10 años (Verburg 2007, Clark et al. 2021). Por lo tanto, para eliminar los cambios atmosféricos, se aplicó a los valores de isótopos estables una corrección del efecto Suess de 0,022 partes por mil/año (Loizaga de Castro et al. 2016a) utilizando como referencia el año promedio entre los años de muestreo de las potenciales presas (2005) de acuerdo con Vales et al. (2020).

Factor de discriminación trófica

El factor de discriminación trófica (TDF siglas en inglés) se define como la diferencia entre los valores isotópicos del tejido del consumidor y el valor isotópico de la presa promedio consumida (Post 2002). Por lo tanto, para permitir la comparación directa entre la composición isotópica de los consumidores y sus potenciales presas se debe aplicar una corrección de acuerdo con el TDF. Como consecuencia de diferentes procesos fisiológicos asociados a la asimilación del alimento, al metabolismo del organismo y a la tasa de renovación del tejido, el valor de TDF cambia entre tejidos (por ejemplo, piel, hueso, músculo) y entre taxones (Fry 2006, Caut et al. 2009); por lo que su elección es esencial a la hora de una correcta interpretación de los datos (Bond & Diamond 2011). Dado que se carece de un TDF específico para las especies bajo estudio, se utilizaron aquellos disponibles y estimados en especies lo más emparentadas filogenéticamente. Para los análisis a partir de muestra de piel, se utilizaron valores de TDF de $\delta^{13}\text{C} = 2,04 \text{ ‰} \pm 0,14$ y $\delta^{15}\text{N} = 2,96 \text{ ‰} \pm 0,12$, según los datos reportados para el delfín nariz de botella, *Tursiops truncatus* en experimentos controlados con una dieta enriquecida en lípidos (Browning et al. 2014), similar a lo esperado para las especies en estudio. Con relación a los análisis de individuos a través de muestras de hueso, se utilizaron valores de TDF de $\delta^{13}\text{C} = 3,8 \text{ ‰} \pm 0,5$ y $\delta^{15}\text{N} = 2,2 \text{ ‰} \pm 0,7$, estimados para la marsopa de puerto, *Phocoena phocoena* (Toperoff 2002).

Análisis de la variación isotópica intra e interespecífica

Se llevaron a cabo comparaciones intra e interespecífica de ambos cetáceos mediante las composiciones isotópicas medias de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$. En primera instancia, se pusieron a prueba la normalidad (Shapiro-Wilk) y la homocedasticidad (prueba de Levene) de los conjuntos de datos. En caso de cumplir con ambos supuestos, se procedió a realizar la prueba paramétrica correspondiente; mientras que, en caso de

no cumplir con alguno de los supuestos, se aplicó la prueba estadística no paramétrica pertinente.

La variabilidad isotópica entre especies en la localidad donde ambas especies fueron muestreadas (Bahía Camarones), fue evaluada utilizando un análisis de la varianza unidireccional (ANOVA) seguido de una prueba de Tukey a posteriori. A nivel intraespecífico, en la tonina overa se exploraron diferencias intraespecíficas a partir de muestras de piel y hueso entre las diferentes localidades utilizando una prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis seguido de una prueba de Tukey a posteriori; y entre sexos a través de comparaciones de medias para muestras independientes (prueba paramétrica t de Student). En el caso particular de los delfines australes, mediante el uso de IBM, SPSS Statistics (SPSS 2017), se desarrolló un Modelo Lineal Generalizado (GLM siglas en inglés) para comprender la variación isotópica ($\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$) en las muestras del 2007 al 2012 del delfín austral en la única localidad muestreada, debido a que se visualizó una tendencia al agrupamiento de los datos. El GLM es una generalización de la regresión lineal ordinal que permite analizar la variabilidad de datos cuando los errores de las observaciones siguen una distribución general perteneciente a la familia exponencial (normal, binomial, Poisson, geométrica, gamma, normal inversa, geométrica, exponencial, normal inversa, binomial negativa). Utiliza una función de enlace (identidad, logarítmica, inversa, inversa cuadrática, raíz cuadrada, etc.) y un predictor lineal. Este último se define como la suma lineal de los efectos de una o más variables explicativas o factores y, junto con la función de enlace, permite estimar los valores predichos por los modelos que lo explican. Estos son comparados con los valores observacionales y la diferencia entre ellos se mide en términos de devianza, definida como una medida de bondad de ajuste del modelo (Myers et al. 2010). Para el GLM se tomaron en consideración el año de muestreo, el sexo y la distancia a la costa como variables. Para esta última variable, se definieron dos hábitats diferentes de acuerdo con el sitio donde

los delfines fueron muestreados, dividiendo aquellas muestras que fueron tomadas cerca de la costa ($A = <200\text{m}$), incluso dentro de pequeñas bahías o caletas, y aquellas obtenidas lejos de la costa ($B = >200\text{m}$). Todos los posibles modelos fueron comparados con un modelo base (sin factores) usando la prueba Omnibus. La selección del modelo se realizó utilizando el Criterio de Información de Akaike para muestras pequeñas (AIC_c siglas en inglés) y con valores significativos de la prueba Omnibus.

Estimación del nicho isotópico

La estimación del ancho del nicho isotópico para cada especie y entre sexos, así como el solapamiento isotópico intra e interespecífico fue estimado a partir del área de la elipse estándar Bayesiana (SEA_B siglas en inglés), expresada en $\%0^2$. SEA_B contiene el 95% de los datos independientemente del tamaño de la muestra y permite la estimación de un rango de valores probables para la elipse estándar calculada (Jackson et al. 2011). La amplitud del nicho isotópico fue calculada utilizando el paquete SIBER (Stable Isotope Ellipses in R; Jackson et al. (2011)) en aquellos conjuntos de datos donde se contaron con un mínimo de 5 observaciones, dado que así lo requiere el modelo. La superposición de nichos intra e interespecífica se estimó mediante el paquete nicheROVER (Swanson et al. 2015). El método incorpora medidas de incertidumbre mediante matrices de covariancia e inferencia Bayesiana. De esta manera, se simulan elipses (SEA_B) que determinan un área a través del uso de Método de Monte Carlo basado en cadenas de Markov (MCMC siglas en inglés); pudiendo cuantificar las probabilidades de superposición dentro o entre especies. Por lo tanto, la métrica de superposición media es definida como la probabilidad del 95% de que una especie o grupo de alimentación se encuentre dentro de la región del nicho de otra especie/grupo (Swanson et al. 2015). La superposición en SEA_B intra e interespecífica se utilizó como una medida de partición del nicho isotópico, donde la

proporción del área de superposición entre dos SEA_B fue expresada en porcentaje (%), informando también la distribución posterior de la superposición probabilística del nicho y los intervalos de confianza del 95%. (Swanson et al. 2015, Garcia et al. 2018).

Modelos de mezcla isotópica

Para estimar la contribución proporcional de las potenciales presas (fuentes) a las dietas de los delfines (consumidores), se utilizaron modelos de mezcla implementados en el paquete MixSIAR (Bayesian Mixing Models in R: Stock y Semmens (2016)). Los modelos de mezcla son utilizados para estimar la contribución de diferentes fuentes a una mezcla. Por lo general, estos modelos requieren trazadores que permitan identificar las características químicas o físicas tanto de las fuentes como de la mezcla; se supone que estas características se transfieren de manera predecible de las fuentes a las mezclas a través de un proceso de mezcla. En ecología, la mayoría de las aplicaciones de modelos de mezcla utilizan valores de isótopos estables como marcadores/trazadores en un esfuerzo por evaluar la contribución de las presas (fuentes) a la dieta de un consumidor (mezcla). Todos los modelos de mezcla tienen sus raíces en la misma ecuación de mezcla fundamental:

$$Y_j = \sum_k p_k \mu_{jk}^s,$$

donde el valor del trazador de la mezcla, Y_j , para cada uno de los trazadores j es igual a la suma de los trazadores en la fuente, μ_{jk}^s , multiplicado por su contribución proporcional a la mezcla, p_k . Esta formulación básica supone que (1) todas las fuentes que contribuyen a la mezcla son conocidas y cuantificados, (2) los trazadores se conservan a través del proceso de mezcla, (3) mezcla fuente y los valores del trazador son fijos (conocidos e invariantes), (4) los términos p_k suman la unidad, y (5) los valores del trazador de cada fuente difieren (Stock et al. 2018).

El modelo MixSIAR utiliza estadística Bayesiana permitiendo estimar la dieta asimilada del consumidor considerando la incertidumbre en la variabilidad isotópica (consumidores y fuentes), TDF, múltiples fuentes e información previa denominada *priors* (Moore & Semmens 2008). En cuanto a las múltiples fuentes, al considerar dos variables ($\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$) se recomienda utilizar un máximo de siete fuentes (Phillips et al. 2014). Siguiendo a Stock et al., 2018, cada modelo se ejecutó con tres simulaciones de MCMC utilizando 1.000.000 de iteraciones con 500.000 de “*burn in*” y 500 de thinning (adelgazamiento). Se utilizaron las pruebas de diagnóstico Gelman-Rubin y Geweke, con el fin de evaluar si cada cadena de MCMC había convergido en la distribución posterior verdadera para cada variable en el modelo (Stock & Semmens 2016).

Prueba de sensibilidad

Debido a que en los modelos de mezcla los datos son distribuciones, y no valores promedios, estos modelos cuantifican las contribuciones de las fuentes incluso cuando la solución es improbable, por ello es importante realizar previamente una prueba de sensibilidad. La prueba de sensibilidad permite determinar si el diseño del modelo de mezcla para cada localidad o área de muestreo y el TDF utilizado son apropiados (Smith et al. 2013). El método consiste en una simulación de Monte Carlo de posibles polígonos de mezcla, incorporando la misma información de los modelos de mezcla. Lo que se obtiene es un espacio de probabilidad del 95% de que el valor isotópico de un consumidor pueda ser explicado por el modelo propuesto. Por lo tanto, esta prueba proporciona una base cuantitativa para la aceptación o el rechazo del modelo, basada en una probabilidad frecuentista de que el modelo de mezcla propuesto para calcular las contribuciones de las fuentes es el más apropiado para explicar el valor isotópico de un consumidor (Smith et al. 2013).

Paisajes isotópicos

Los paisajes isotópicos para cada especie o grupo de alimentación fueron contruidos con los valores isotópicos de las presas corregidos por el TDF y graficados en un *biplot* junto con los consumidores. Considerando el límite sugerido en la cantidad de fuentes para los modelos de mezcla, y debido a la falta de información sobre la ecología trófica en los delfines australes en la región bajo estudio, sus presas potenciales se agruparon según grupos ecológicos con el fin de definir cinco fuentes: crustáceos decápodos, peces bentónicos, peces demersales-bentónicos, peces pelágicos y calamares. Algo similar se aplicó en el paisaje isotópico de la región oceanográfica Sur de Patagonia para los análisis en la tonina overa, donde cuatro de las potenciales presas fueron agrupadas por sus grupos ecológicos y por su similitud en las composiciones isotópicas (Tabla 2).

Tabla 2: Composición isotópica de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ (Media \pm DE), relación C/N (Media \pm DE), tamaño muestral analizado (n) y año de muestreo (año) de las potenciales presas de *Cephalorhynchus commersonii* y *Lagenorhynchus australis* para cada región del Mar Argentino en el cual quedan incluidos los sitios de muestreo (PU = Playa Unión, BC = Bahía Camarones, GSJ = Golfo San José, PD = Puerto Deseado).

	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	$\delta^{13}\text{C}$ (‰) corregido por Suess	$\delta^{15}\text{N}$ (‰)	n	C/N	Año	Referencia	
Crustáceos decápodos								
	<i>*Pleoticus muelleri</i>	-15,9 \pm 0,4	-15,9 \pm 0,4	16,7 \pm 0,3	5	2,9 \pm 0,0	2010	Vales et al. (2015)
Peces bentónicos								
	<i>Genypterus blacodes</i>	-14,7 \pm 0,4	-14,7 \pm 0,4	18,0 \pm 0,3	5	3,1 \pm 0,0	2007	Tesis actual
Peces demersales-bentónicos								
	<i>*Patagonotothen ramsayi</i>	-16,1 \pm 0,2	-16,1 \pm 0,2	18,6 \pm 0,2	2	3,2 \pm 0,0	2010	Tesis actual
	<i>Riveiroclinus eigenmani</i>	-16,7 \pm 0,2	-16,7 \pm 0,2	17,9 \pm 0,2	8		2004	Forero et al. (2004)
		-16,4 \pm 0,2	-16,4 \pm 0,2	18,3 \pm 0,2				
Calamares								
	<i>*Illex argentinus</i>	-17,0 \pm 0,6	-17,0 \pm 0,6	13,7 \pm 0,8	5	3,0 \pm 0,0	2006	Drago et al. (2009b)
	<i>Doryteuthis gahi</i>	-17,6 \pm 0,4	-17,6 \pm 0,4	15,7 \pm 0,6	4	3,0 \pm 0,0	2007	Drago et al. (2009b)
		-17,3 \pm 0,5	-17,3 \pm 0,5	14,7 \pm 0,7				
Peces pelágicos								
	<i>Sprattus fueguensis</i>	-17,8 \pm 0,3	-17,8 \pm 0,3	17,2 \pm 0,2	5	3,5 \pm 0,1	2000	Tesis actual
	<i>Engraulis anchoíta</i>	-17,7 \pm 0,1	-17,7 \pm 0,1	16,4 \pm 0,1	18		2004	Forero et al. (2004)
	<i>*Merluccius hubbsi</i> <30 cm	-17,7 \pm 0,6	-17,7 \pm 0,6	15,9 \pm 0,5	5	3,1 \pm 0,0	2006	Drago et al. (2009a)
		-17,7 \pm 0,3	-17,7 \pm 0,3	16,5 \pm 0,3				
Peces pequeños pelágicos								
	<i>Sprattus fueguensis</i>	-18,1 \pm 0,3	-18,1 \pm 0,3	14,0 \pm 0,8	4	-	2011	Morgenthaler et al. (2016)
	<i>Engraulis anchoíta</i>	-18,1 \pm 0,2	-18,1 \pm 0,2	14,9 \pm 0,6	6	-	2001-2005	Ciancio et al. (2008)
		-18,1 \pm 0,2	-18,1 \pm 0,2	14,5 \pm 0,7				
Calamares								
	<i>Illex argentinus</i>	-17,0 \pm 0,6	-17,0 \pm 0,6	13,7 \pm 0,8	5	3,0 \pm 0,0	2006	Drago et al. (2009b)
	<i>Doryteuthis gahi</i>	-18,5 \pm 1,4	-18,5 \pm 1,4	13,7 \pm 1,9	6	-	2011	Morgenthaler et al. (2016)
		-17,8 \pm 1,0	-17,8 \pm 1,0	13,7 \pm 1,35				
	<i>Merluccius hubbsi</i> <30 cm	-17,7 \pm 0,6	-17,7 \pm 0,6	15,9 \pm 0,5	5	3,1 \pm 0,0	2006	Drago et al. (2009a)
	<i>Patagonotothen ramsayi</i>	-19,3 \pm 0,6	19,3 \pm 0,6	14,5 \pm 1,0	5	-	2001-2005	Ciancio et al. (2008)

*Especies presas seleccionadas para los paisajes de la región Centro-Norte de Patagonia de la tonina overa

RESULTADOS

Variación isotópica intra e interespecífica

De un total de 115 muestras, se analizaron finalmente 111 muestras de piel y hueso de individuos adultos de tonina overa y delfín austral en los distintos sitios de muestreo. Solo dos muestras de piel de tonina overa presentaron valores de C/N por encima de 4, indicando una deficiente extracción de lípidos. Por ello, fueron eliminados de los análisis posteriores, al igual que dos muestras de hueso que pertenecían a individuos juveniles.

Considerando las muestras de piel, en la tonina overa se encontraron diferencias significativas entre todas las localidades en ambos isótopos, a excepción del GSJ que presentó valores similares de $\delta^{15}\text{N}$ con los sitios de muestreo más próximos geográficamente (PD y BC; Fig. 9). En general, ambas proporciones de isótopos estables mostraron un gradiente latitudinal, exhibiendo valores más positivos de $\delta^{13}\text{C}$ (más enriquecidos en ^{13}C) y menos positivos de $\delta^{15}\text{N}$ (más empobrecidos en ^{15}N) en latitudes más bajas, con excepción del $\delta^{13}\text{C}$ en GSJ que exhibió los valores más negativos (Fig. 9). La variación en las composiciones isotópicas entre machos y hembras no pudieron ser evaluadas en el GSJ debido al bajo número de machos; mientras que en el resto de los sitios de muestreo no se encontraron diferencias significativas (Tabla 3). En cuanto a los valores isotópicos a partir de tejido de renovación lenta (hueso), las toninas overas mostraron valores medios característicos de ambientes pelágicos (Fig. 9), al igual que la piel, aunque más enriquecidos en ^{13}C para las mismas regiones de muestro (*t* de Student, $p < 0,05$). La única excepción es con respecto al $\delta^{15}\text{N}$ en PU (*t* de Student, $t=1,24$, $df=10,39$ $p=0,24$). A diferencia de la información obtenida a partir de la piel, la tonina overa no exhibió diferencias significativas entre localidades para el $\delta^{15}\text{N}$, y si mantuvo las diferencias en $\delta^{13}\text{C}$ para

los sitios PU y GSJ, aunque sin diferencias con respecto a las 3 muestras recolectadas al sur de Santa Cruz.

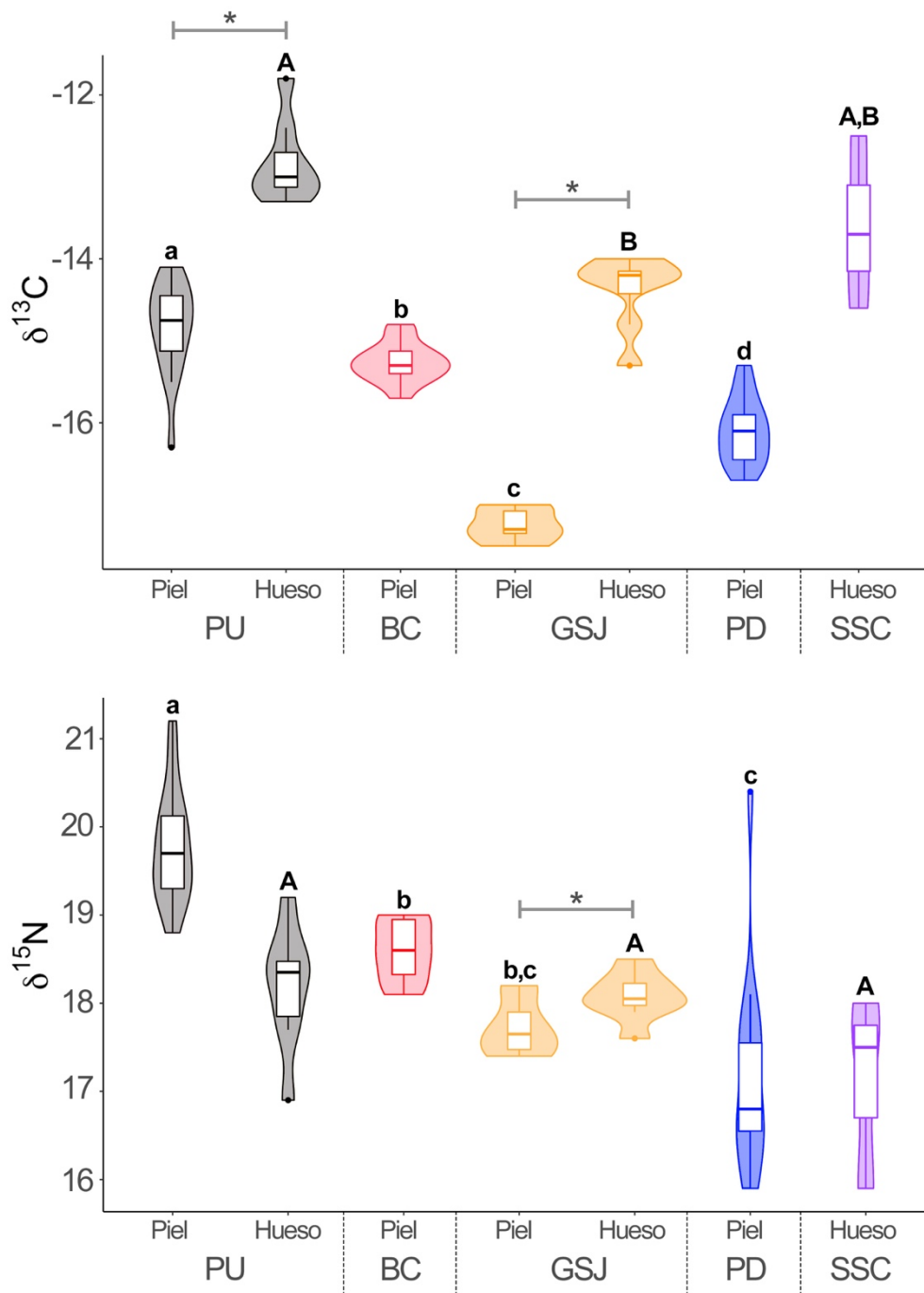


Fig. 9: Variación de los valores de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ en muestras de piel y hueso de tonina overa (*Cephalorhynchus commersonii*) por localidad (PU = Playa Unión, BC = Bahía Camarones, GSJ = Golfo San Jorge, PD = Puerto Deseado, SSC = sur de Santa Cruz). Los gráficos de violín muestran las medianas, desvío estándar, percentiles de 25 y 75 y describen la densidad de los datos. El asterisco y las letras diferentes (minúsculas = piel; mayúsculas = hueso) indican diferencias estadísticamente significativas a $p < 0.05$.

Tabla 3: Pruebas estadísticas de normalidad (Shapiro Wilk), homocedacia (prueba de Levene) y diferencia de medias (prueba de t) de las composiciones isotópicas entre sexos de muestras de piel de tonina overa (*Cephalorhynchus commersonii*) por localidad (PU = Playa Unión, BC = Bahía Camarones, GSJ = Golfo San Jorge, PD = Puerto Deseado) y delfín austral (*Lagenorhynchus australis*) por grupo de alimentación (GA). Se reportan el tamaño muestral (n), el valor medio y su desvío estándar (\bar{X} , DE y los estadísticos (W y F) con el correspondiente valor p ($\alpha = 0.05$).

Loc	Sexo	N	$\delta^{13}\text{C}$						$\delta^{15}\text{N}$							
			\bar{X} (DE)	Shapiro Wilk		Prueba de Levene		Prueba de t		\bar{X} (DE)	Shapiro Wilk		Prueba de Levene		Prueba de t	
				W	p	F	p	t	p		W	p	F	p	t	p
PU	M	8	-14,8 (0,5)	0,78	0,10					19,7 (0,7)	0,97	0,92				
	H	5	-14,7 (0,7)	0,97	0,85	0,01	0,94	0,51	0,62	19,8 (0,4)	0,98	0,91	1,45	0,25	0,61	0,55
BC	M	5	-15,4 (0,2)	0,99	0,99					18,6 (0,5)	0,82	0,11				
	H	8	-15,2 (0,2)	0,93	0,53	0,02	0,90	1,42	0,18	18,6 (0,3)	0,98	0,98	2,37	0,15	0,01	0,99
GSJ	M	2	-17,4 (0,1)	-	-					17,6 (0,4)	-	-				
	H	6	-17,2 (0,2)	-	-					17,8 (0,1)	-	-				
PD	M	7	-16,0 (0,4)	0,90	0,35					17,8 (0,6)	0,89	0,29				
	H	8	-16,2 (0,5)	0,95	0,75	0,13	0,72	0,76	0,46	16,7 (1,3)	0,94	0,62	1,50	0,24	2,17	0,05
GA1	M	6	-16,7 (0,2)	0,89	0,32					18,7 (0,2)	0,89	0,32				
	H	4	-16,5 (0,2)	0,96	0,80	0,01	0,91	1,61	0,15	18,2 (0,4)	0,76	0,05	0,48	0,51	2,35	0,05
GA2	M	8	-14,8 (0,3)	0,92	0,36					19,3 (0,5)	0,93	0,54				
	H	7	-14,8 (0,2)	0,92	0,47	0,47	0,50	0,48	0,64	19,0 (0,5)	0,91	0,38	0,01	0,91	0,97	0,35
GA3	M	1	-14,0	-	-					20,3	-	-				
	H	4	13,7 (0,5)	-	-					19,4 (0,2)	-	-				

En los delfines australes, se identificaron tres grupos de alimentación en la única localidad muestreada (BC) basados en los valores de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ (Fig. 10). Todas las muestras de piel del 2013 se agruparon en un solo grupo de alimentación (GA1) que muestra una posición extrema de plataforma/offshore. Alternativamente, las muestras tomadas entre 2007 y 2009, sumada a la única muestra del 2012, mostraron dos grupos de alimentación: GA2 más pelágico/costero y GA3 ocupando un hábitat

costero/inshore (Fig. 10). Considerando GA2 y GA3, el GLM con “Distancia a la costa” como único factor fue el modelo de mejor ajuste según AICc (Tabla 4), presentando diferencias significativas en ambos isótopos estables entre los hábitats A y B (Chi-cuadrado de Wald = 61,37, gl = 1, $p < 0,01$, Fig. 11). La variación en las composiciones isotópicas entre sexos fue similar, no pudiendo ser evaluada en el GA3 por el tamaño muestral de los machos (Tabla 3). Con respecto a las composiciones isotópicas de las muestras de hueso (Fig. 10), la especie pareciera presentar variación latitudinal en ambos isótopos, aunque solo se contó con una sola muestra de cada sitio de muestreo y se desconoce el año de recolección, por lo que no son comparables debido a la imposibilidad de aplicar la corrección de Suess.

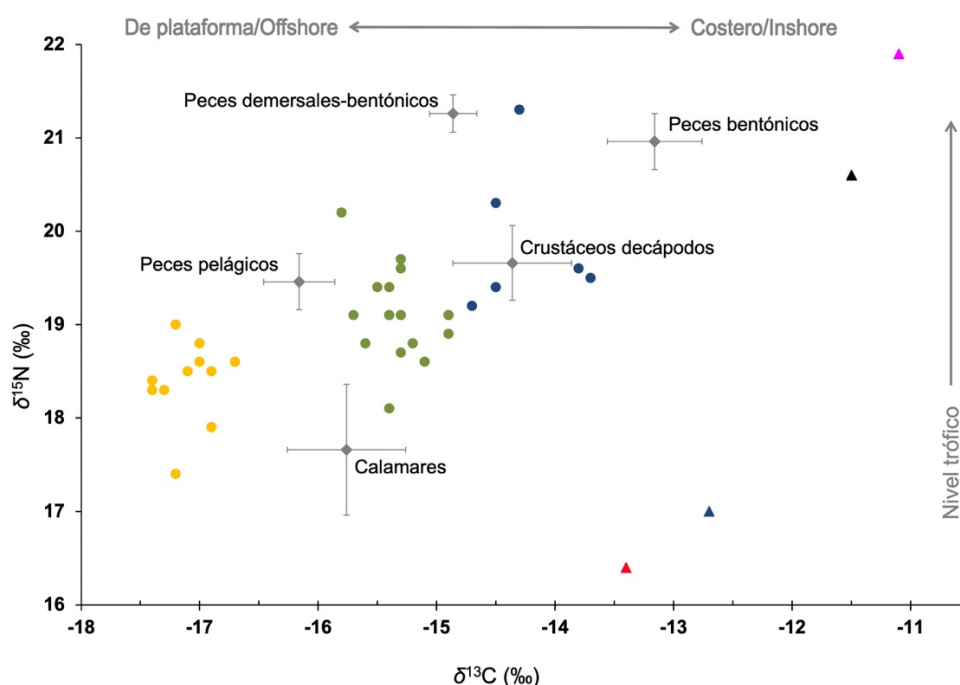


Fig.10: Proporciones isotópicas de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ de *Lagenorhynchus australis* en muestras de piel (puntos) discriminadas por grupo de alimentación de Bahía Camarones (naranja = GA1, verde = GA2, azul = GA3) y hueso (triángulos) por localidad de muestreo (negro = Miramar, rojo = Bahía Camarones, Azul = Puerto Deseado, violeta = origen desconocido). Se grafican, además, sus presas potenciales agrupadas por grupo ecológico (media \pm DE) después de ser corregidas por el factor de discriminación trófica para muestras de piel.

Tabla 4: Resultados de los Modelos Lineales Generalizados (GLMs) aplicados para los grupos de alimentación GA2 y GA3 del delfín austral (*Lagenorhynchus australis*), con información del Criterio de Akaike para tamaños muestrales pequeños (AICc) y los valores de p ($\alpha = 0.05$) de la prueba de Omnibus. Los modelos que mejor se ajustan están resaltados en negrita.

Variable dependiente	Modelos	AICc	Omnibus
$\delta^{13}\text{C} \text{ ‰}$	Distancia a la costa	20,02	$p < 0,001$
	Año	25,17	$p < 0,001$
	Sexo	48,91	$p = 0,532$
	Distancia a la costa + Año + Sexo	32,93	$p < 0,001$
$\delta^{15}\text{N} \text{ ‰}$	Distancia a la costa	37,35	$p < 0,001$
	Año	42,32	$P < 0,001$
	Sexo	54,07	$p = 0,467$
	Distancia a la costa + Año + Sexo	48,74	$p < 0,001$

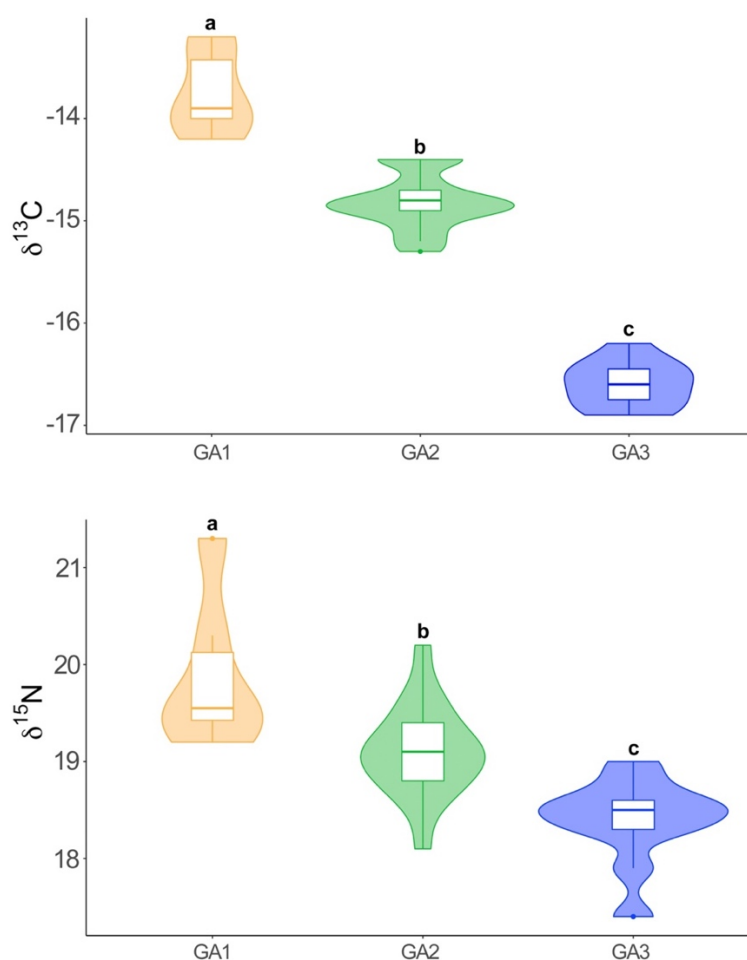


Fig. 11: Variación de los valores de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ en muestras de piel de delfín austral (*Lagenorhynchus australis*) en la localidad de Bahía Camarones por grupo de alimentación (GA). Los gráficos de violín muestran las medianas, desvío estándar, percentiles de 25 y 75 y describen la densidad de los datos. Las letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas a $p < 0.05$.

Finalmente, al evaluar las composiciones isotópicas intra e interespecíficamente en la localidad de Bahía Camarones, los resultados indicaron que los grupos de alimentación del delfín austral y la tonina overa están segregados por ambos isótopos estables en Bahía Camarones (ANOVA, $\delta^{13}\text{C}$: $F_{3,47}=153,8$, $p<0,05$; $\delta^{15}\text{N}$: $F_{3,47}=15,9$, $p<0,05$), excepto para GA1 y la tonina overa en valores de $\delta^{15}\text{N}$ (Tukey post hoc, $p = 0,74$). Las proporciones de isótopos estables por tejido de ambas especies se presentan en la Tabla 5 y se ilustran con sus potenciales presas en las Fig. 10 y 12.

Tabla 5: Composición isotópica de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ (Media \pm DE) para ambos tejidos y sitio de muestro, tamaño muestral analizado (n), año de muestreo (año) de los consumidores (*Cephalorhynchus commersonii* y *Lagenorhynchus australis* discriminado por los grupos de alimentación (GA) del sitio Bahía Camarones).

	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	$\delta^{13}\text{C}$ (‰) corregido por Suess	$\delta^{15}\text{N}$ (‰)	n	C/N	%C	%N	Año	Tejido
<i>Lagenorhynchus australis</i>									
GA1	-16,8 \pm 0,2	-16,6 \pm 0,2	18,4 \pm 0,4	11	3,2 \pm 0,0	43,4 \pm 1,4	13,5 \pm 0,5	2013	
GA2	-14,9 \pm 0,3	-14,8 \pm 0,3	19,1 \pm 0,5	17	3,2 \pm 0,1	45,9 \pm 1,5	14,1 \pm 0,6	2007-2009	Piel
GA3	-13,8 \pm 0,4	-13,7 \pm 0,4	19,9 \pm 0,8	6	3,2 \pm 0,1	41,9 \pm 9,9	13,2 \pm 3,0	2007-2012	
Miramar	-11,0	-	20,6	1	3,0	37,2	12,3	-	
Bahía Camarones	-12,9	-	16,4	1	2,9	38,5	13,2	-	Hueso
Puerto Deseado	-12,2	-	17,0	1	2,8	29,5	10,6	-	
Desconocido	-10,6	-	21,9	1	2,8	33,1	12,0	-	
<i>Cephalorhynchus commersonii</i>									
Playa Unión	-15,0 \pm 0,6	-14,8 \pm 0,6	19,8 \pm 0,6	16	3,2 \pm 0,1	45,4 \pm 1,4	14,3 \pm 0,6	2008-2015	
Bahía Camarones	-15,4 \pm 0,2	-15,3 \pm 0,2	18,6 \pm 0,3	14	3,2 \pm 0,1	46,6 \pm 0,8	14,4 \pm 0,2	2007-2009	Piel
Golfo San Jorge	-16,9 \pm 0,2	-17,3 \pm 0,2	17,7 \pm 0,3	8	3,5 \pm 0,2	48,9 \pm 3,2	14,1 \pm 0,7	1992-1993	
Puerto Deseado	-16,6 \pm 0,4	-16,1 \pm 0,4	17,2 \pm 1,1	15	3,2 \pm 0,1	42,5 \pm 1,0	13,1 \pm 0,4	2008	
Playa Unión	-13,0 \pm 0,7	-12,8 \pm 0,5	18,2 \pm 0,7	8	3,1 \pm 0,2	28,8 \pm 13,6	9,3 \pm 4,6	1985-2016	
Bahía Camarones	-12,7	-12,4	19,2	1	3,0	32,4	10,9	2011	Hueso
Golfo San Jorge	-14,0 \pm 0,4	-14,4 \pm 0,4	18,1 \pm 0,3	8	3,3 \pm 0,1	36,5 \pm 11,8	11,2 \pm 0,6	1992-1993	
Sur de Santa Cruz	-13,7 \pm 1,2	-13,6 \pm 1,0	17,1 \pm 1,1	3	3,0 \pm 0,1	41,0 \pm 8,7	13,9 \pm 3,3	1981-2017	

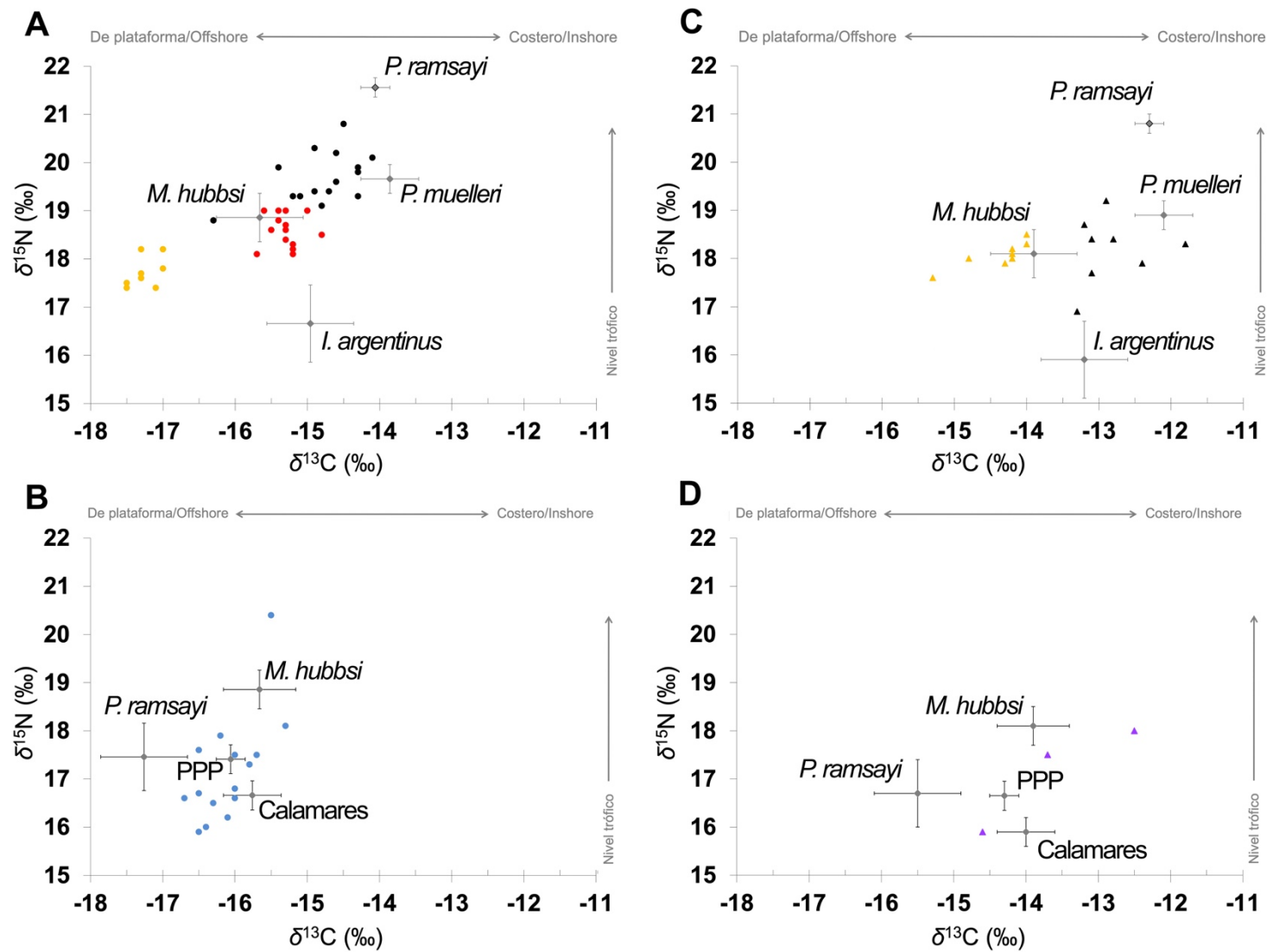


Fig. 12: Proporciones isotópicas de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ en muestras de piel (A y B) y hueso (C y D) de *Cephalorhynchus commersonii* y sus presas potenciales (media \pm DE) después de ser corregidas por el factor de discriminación trófica correspondiente al tejido. Algunas de ellas fueron agrupadas según grupo ecológico (PPP = Peces pequeños pelágicos). Cada punto o triángulo representa valores individuales y en color las distintas localidades (negro = Playa Unión, rojo = Bahía Camarones, naranja = Golfo San Jorge, azul = Puerto Deseado, Violeta = sur de Santa Cruz).

Amplitud y solapamiento de nicho isotópico

En ambas especies, la amplitud del nicho isotópico a partir de las muestras de piel varió en relación con el sitio de muestreo (Fig. 13 y 14). En particular, las toninas overas mostraron valores de SEA_B de 1,26 ‰² (GSJ), 1,61 ‰² (BC), 6,98 ‰² (PD) y 7,07 ‰² (PU), presentando esta especie el SEA_B más pequeños de ambos cetáceos; mientras que en el delfín austral los SEA_B fueron de 2,01 ‰² (GA1), 2,06 ‰² (GA1) y 9,37 ‰² (GA3) (Tabla 1 del Anexo I). A pesar de no observarse diferencias significativas entre sexos en las composiciones isotópicas de la piel de ambas especies, los machos de tonina overa exhibieron una mayor área de nicho en el cual quedan contenidas las hembras (Fig. 15). Este patrón no se presenta tan claramente en el delfín austral (Fig. 16). En cuanto al nicho isotópico estimado a partir de las muestras de hueso, estos presentaron un área de 7,51 ‰² en PU y de 1,46 ‰² en GSJ en la tonina overa.

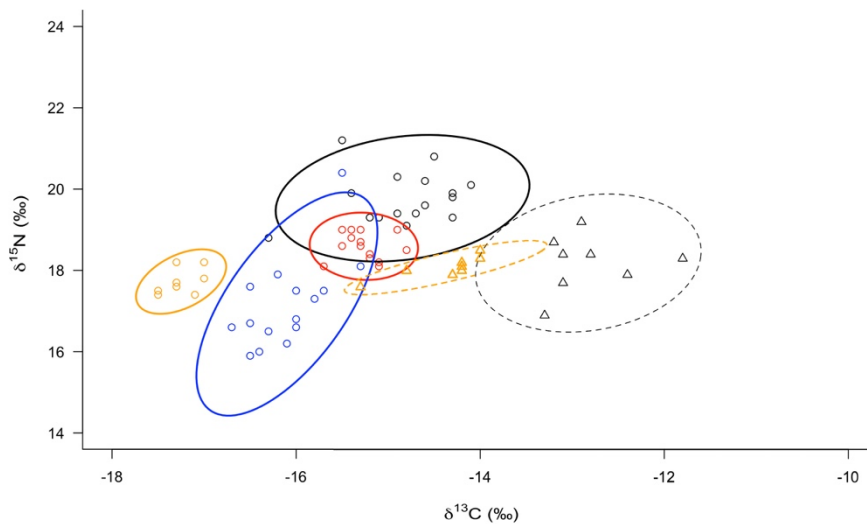


Fig. 13: $\delta^{13}C$ y $\delta^{15}N$ biplot ilustrando el nicho isotópico a partir de muestras de piel (puntos) y hueso (triángulos) para las distintas localidades de *Cephalorhynchus commersonii* (negro = PU, Playa Unión, rojo = BC, Bahía Camarones, amarillo = GSJ, Golfo San Jorge, azul = PD, Puerto Deseado). Cada punto representa un individuo y las elipses representan un área al 95% (SEA_B).

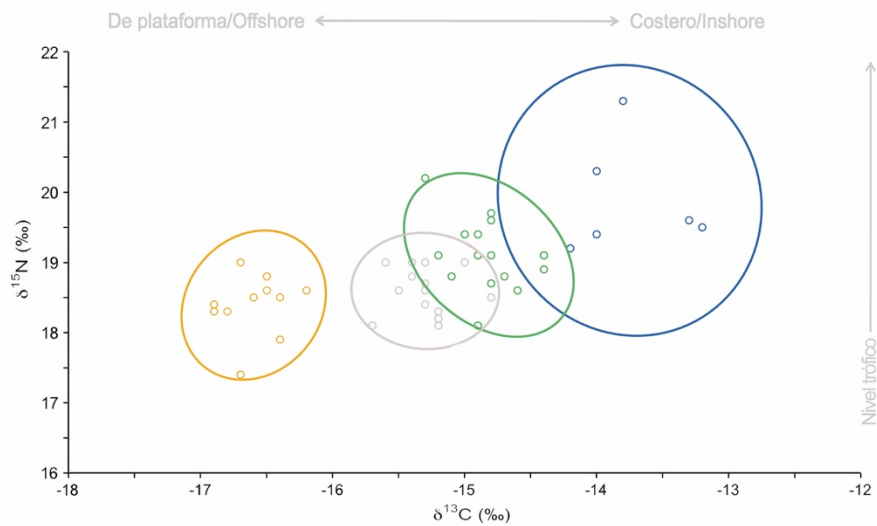


Fig. 14: $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ biplot ilustrando el nicho isotópico a partir de muestras de piel para los grupos de alimentación de *Lagenorhynchus australis* (naranja = GA1, verde = GA2, azul = GA3) y *Cephalorhynchus commersonii* (gris) en el sitio Bahía Camarones. Cada punto representa un individuo y las elipses representan un área al 95% (SEAB).

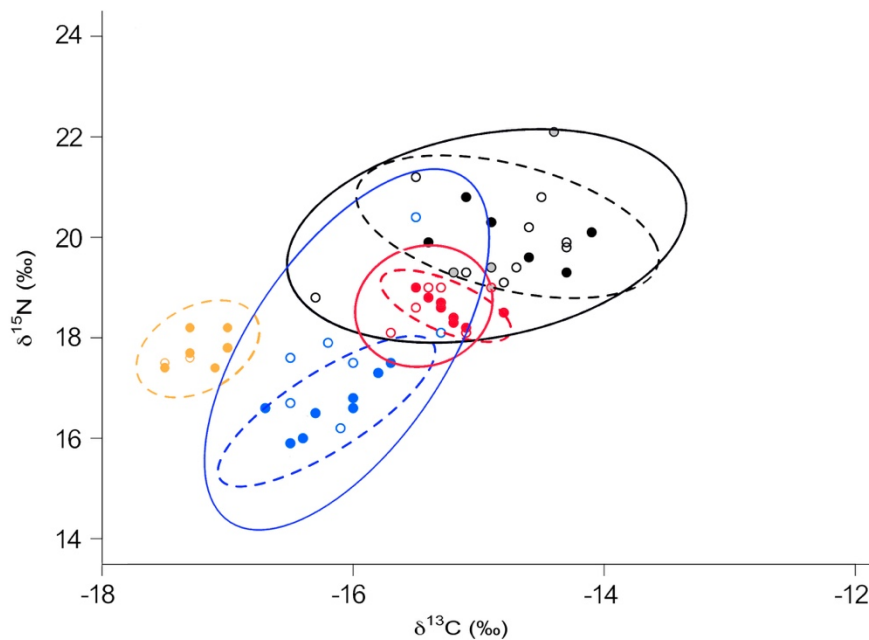


Fig. 15: $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ biplot ilustrando el nicho isotópico a partir de muestras de piel para las distintas localidades de *Cephalorhynchus commersonii* (negro = PU, Playa Unión, rojo = BC, Bahía Camarones, verde = GSJ, Golfo San Jorge, azul = PD, Puerto Deseado) y por sexo (macho = punto vacío y línea continua, hembra = punto relleno y línea discontinua). Cada punto representa un individuo y las elipses representan un área al 95% (SEAB).

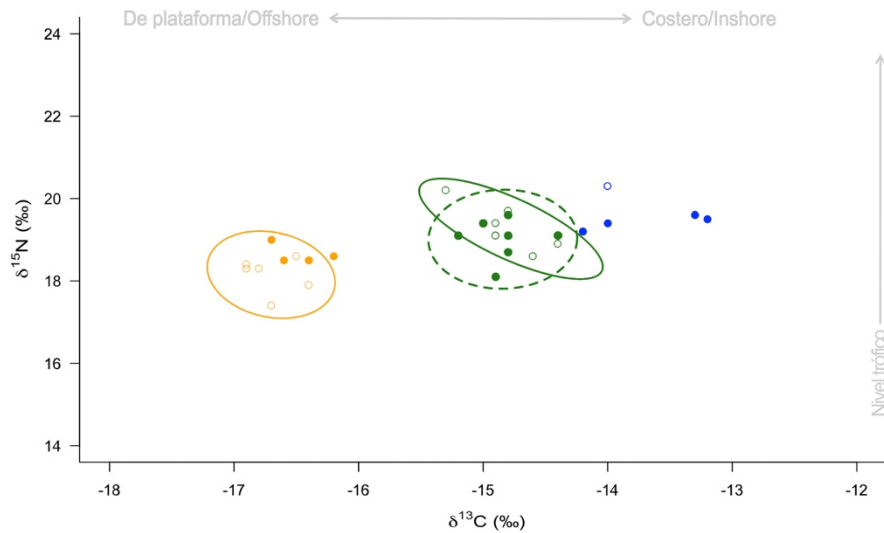


Fig. 16: $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ biplot ilustrando el nicho isotópico a partir de muestras de piel para los distintos grupos de alimentación de *Lagenorhynchus australis* (naranja = GA1, verde = GA2, azul = GA3) y por sexo (macho = punto vacío y línea continua, hembra = punto relleno y línea discontinua). Cada punto representa un individuo y las elipses representan un área al 95% (SEA_B).

Se observó solapamiento de nichos intra e interespecífica en ambas especies de delfines (Fig. 13 y 14). Las áreas de solapamiento estimadas para ambas especies y tejidos se muestran en la Tabla 6, mientras que la distribución posterior del solapamiento del nicho y los intervalos de confianza del 95% se presentan en las Fig. 17, 18 y 19. La tonina overa exhibió diferentes grados de solapamiento (<50%) entre PU-PD y BC-PD, mientras que fue superior al 50% entre PU-BC. Los delfines australes también mostraron solapamiento parcial entre dos de sus grupos de alimentación (GA2-GA3). Considerando la misma localidad, se observó solapamiento de nicho isotópico entre GA2 y las toninas overas. El porcentaje de solapamiento entre todos ellos (intra e interespecífica) fue asimétrico y varió del 8,2% al 78,8%, es decir que el área involucrada en el solapamiento representó una proporción diferente de cada nicho involucrado. Con relación a las muestras de hueso de toninas overas, los individuos de ambos sitios de muestreo mostraron bajo o moderado solapamiento de nicho isotópico (Tabla 6).

Tabla 6: Estimaciones de solapamiento de nicho isotópico (%) entre el área de las elipses bayesianas (SEA_B , 95%) calculadas a partir de muestras de piel y hueso en *Cephalorhynchus commersonii* (CC) y *Lagenorhynchus australis* (LA).

		CC				LA				
		Piel				Hueso		Piel		
		PU	BC	GSJ	PD	PU	GSJ	GA1	GA2	GA3
CC	Piel	PU	17,9	-	21,8					
		BC	78,8	-	67,2				40,0	
		GSJ	-	-	-					
		PD	22,1	15,5	-					
CC	Hueso	PU				7,1				
		GSJ				36,2				
LA	Piel	GA1						-	-	-
		GA2		31,3				-	37,1	
		GA3						-	8,2	

De fila a columna: el solapamiento de GA2 con CC representa el 31,3% de su nicho isotópico.

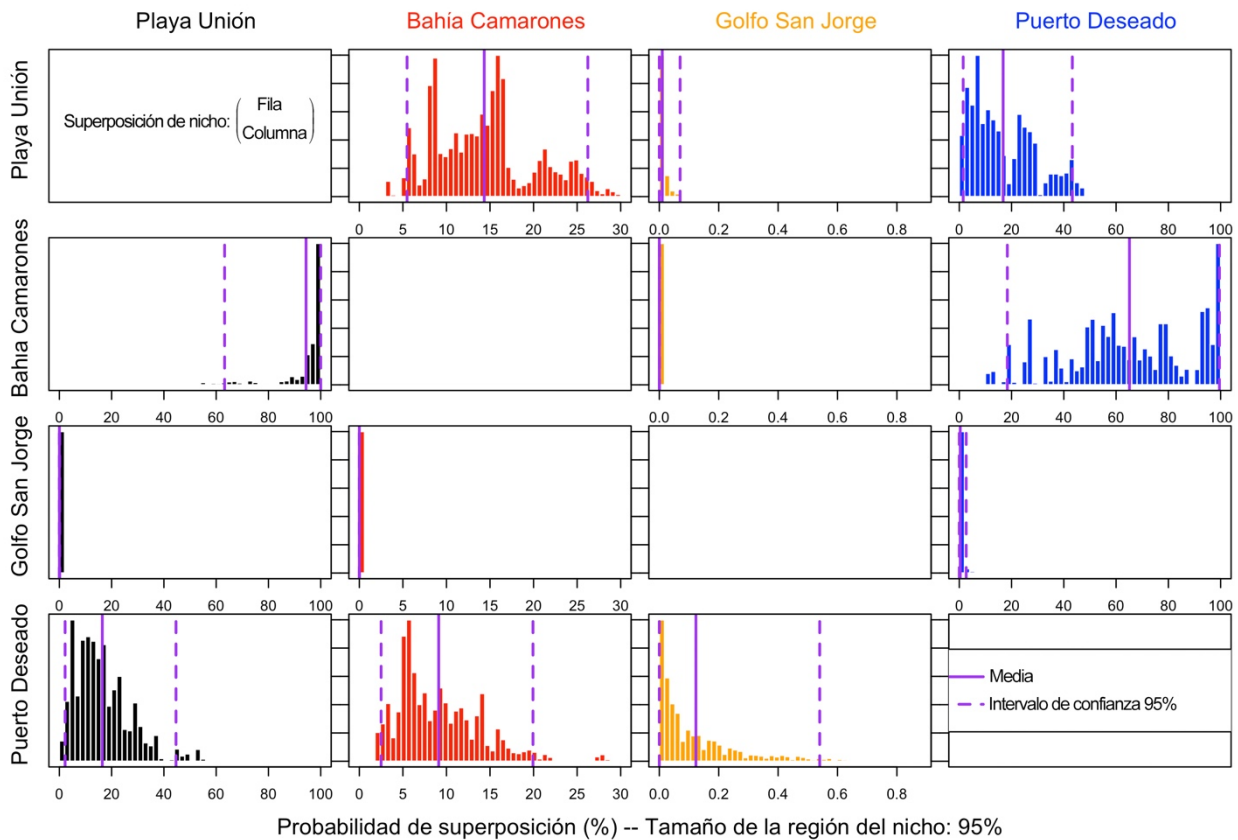


Fig. 17: Distribuciones posteriores de la probabilidad de solapamiento de nicho isotópico (%), la probabilidad de que las localidades representadas en filas se superpongan a las representadas en columnas. La media de las distribuciones posteriores y los intervalos de credibilidad del 95% se muestran en líneas violetas (completo y punteada respectivamente). Gráficas estimadas a partir de muestras de piel para las distintas localidades de *Cephalorhynchus commersonii*.

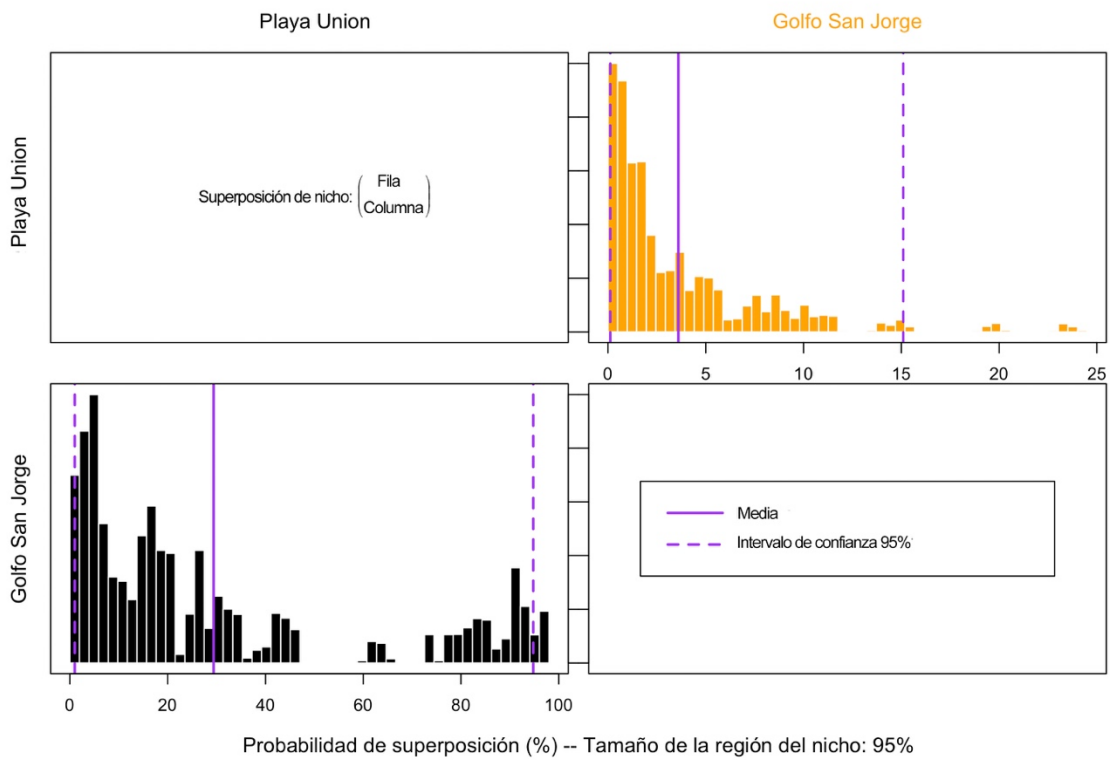


Fig. 18: Distribuciones posteriores de la probabilidad de solapamiento de nicho isotópico (%), la probabilidad de que las localidades representadas en filas se superpongan a las representadas en columnas. La media de las distribuciones posteriores y los intervalos de credibilidad del 95% se muestran en líneas violetas (completo y punteada respectivamente). Gráficas estimadas a partir de muestras de hueso para las distintas localidades de *Cephalorhynchus commersonii*.

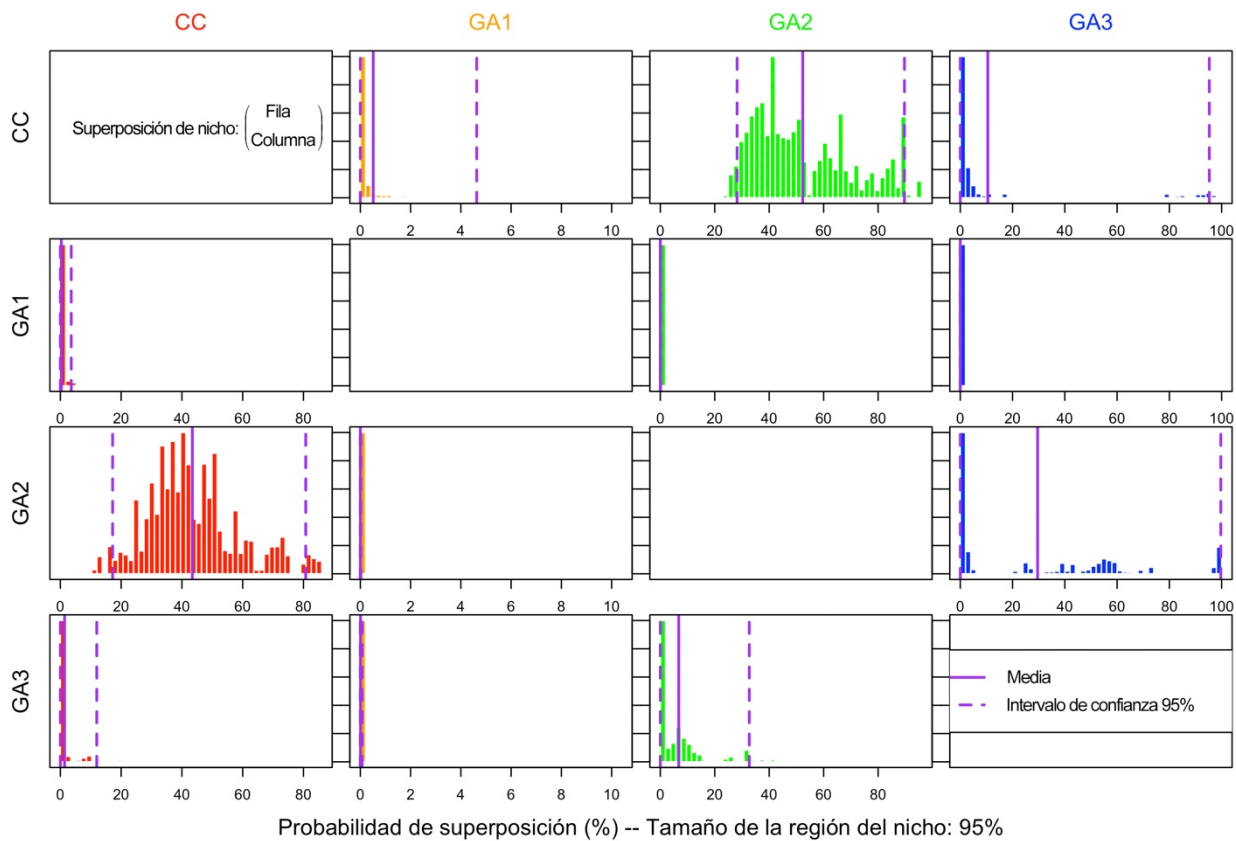


Fig. 19: Distribuciones posteriores de la probabilidad de solapamiento de nicho isotópico (%), la probabilidad de que las localidades representadas en filas se superpongan a las representadas en columnas. La media de las distribuciones posteriores y los intervalos de credibilidad del 95% se muestran en líneas violetas (completo y punteada respectivamente). Gráficas estimadas a partir de muestras de piel de *Cephalorhynchus commersonii* (CC) y grupos de alimentación de *Lagenorhynchus australis* (GA) en la localidad de Bahía Camarones.

Modelos de mezcla isotópica

Se realizó la prueba de sensibilidad (Smith et al. 2013) utilizando el TDF reportado por Giménez et al. (2016), Caut et al. (2011) y Browning et al. (2014) con el objetivo de seleccionar el TDF más apropiado para ejecutar los modelos a partir de las muestras de piel. El TDF elegido fue el informado por Browning, dado que todos los conjuntos de datos se ajustaron a los supuestos del modelo, a excepción del GA1 de los delfines australes y los individuos de toninas overas muestreados en GSJ (Fig. 1 del Anexo I). En cuanto al TDF disponible para hueso, todos los conjuntos de datos pertenecientes a la tonina overa (PU y GSJ) se ajustaron a los supuestos del modelo

(Fig. 2 del Anexo I). A su vez, las pruebas de diagnóstico de Gelman-Rubin y Geweke mostraron una convergencia de cada MCMC en la distribución posterior verdadera para cada variable en el modelo (Tabla 2 del Anexo I).

Las contribuciones relativas de las presas potenciales por especie y tejido estimadas a partir de MixSIAR se presentan en las Figuras 20, 21 y 22 y se detallan en las tablas 3 y 4 del Anexo I. Los modelos de mezcla isotópica a partir de las muestras de piel indicaron que, independientemente de la variación en el ítem presa principal de acuerdo a la región analizada, las especies de presas de la plataforma continental contribuyeron mayormente a la dieta de las toninas overas (entre el 48% y 81%), incluida la merluza común (<30 cm), los calamares (calamar argentino *Illex argentinus* y calamarete del sur *Doryteuthis gahi*) y las especies de pequeños peces pelágicos (anchoíta *Engraulis anchoita* y sardina fueguina *Sprattus fueguensis*). Estos resultados son consistentes con las estimaciones del modelo de mezcla a partir de muestras de hueso para la región del GSJ, donde la merluza común y el calamar argentino contribuyeron con el 80 % a la dieta. La excepción estuvo dada en la localidad de PU, dado que el modelo mostró una contribución equivalente (~25%) de cada presa potencial a la dieta a largo plazo para la especie.

Para los delfines australes, la contribución relativa de cada especie de presa potencial a la dieta varió según los grupos de alimentación. Los recursos pelágicos fueron la presa más importante según el modelo para GA2, con una contribución relativa del 41% y 28% para “peces pelágicos” y “calamares”, respectivamente. En contraste, los “peces bentónicos” fueron las presas potenciales con mayor contribución (37%) para GA3, seguido de los “crustáceos decápodos” (25%), los “calamares” (17%), los “peces pelágicos” (14%), y los “peces demersales-bentónicos” (7%).

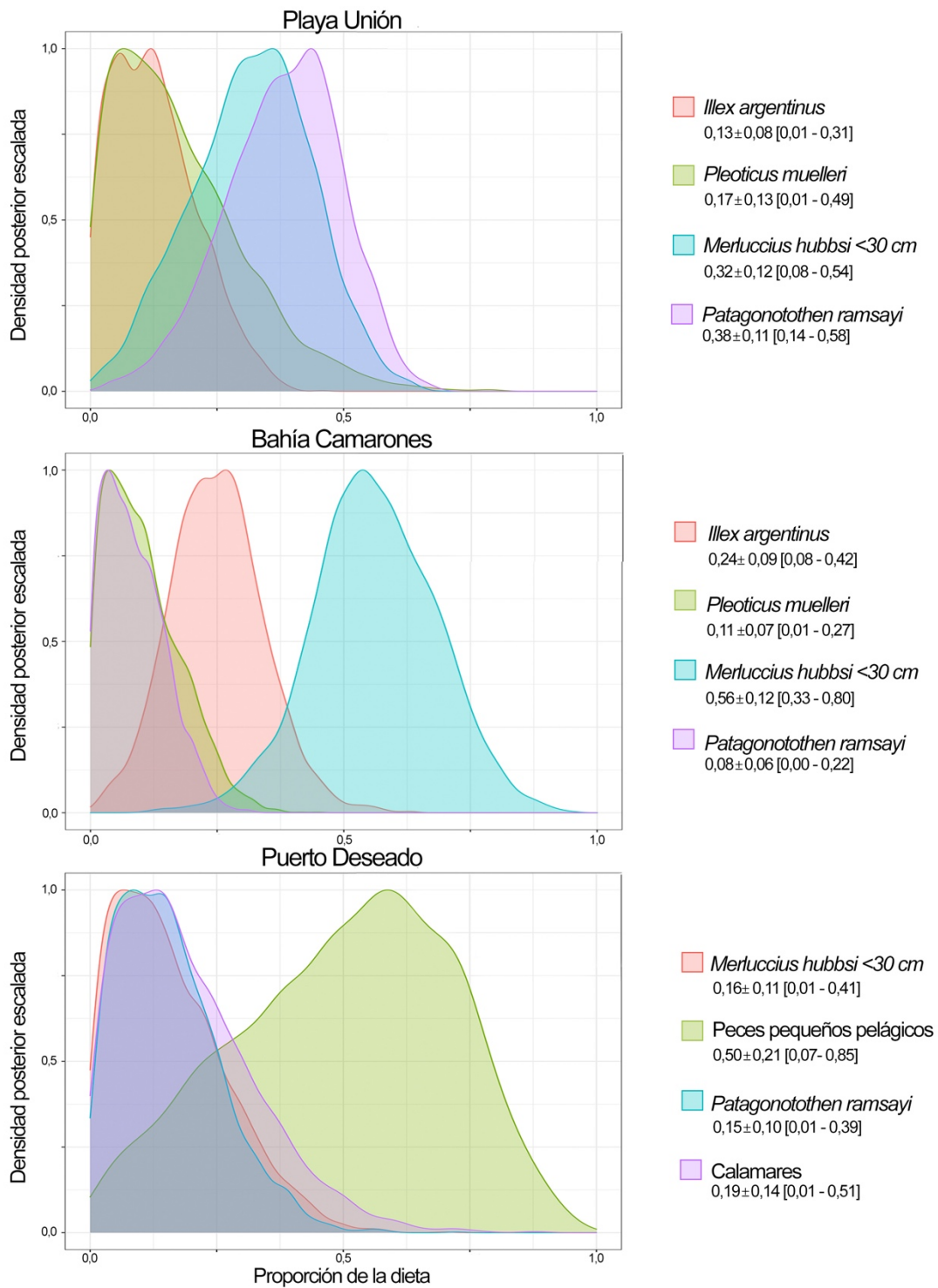


Fig. 20: Contribución relativa de las fuentes de presa a la dieta de *Cephalorhynchus commersonii* (muestras de piel) para los distintos sitios de muestreo según los modelos MixSIAR. Los valores corresponden a los valores medios \pm DE [Intervalo de confianza] de las especies presas.

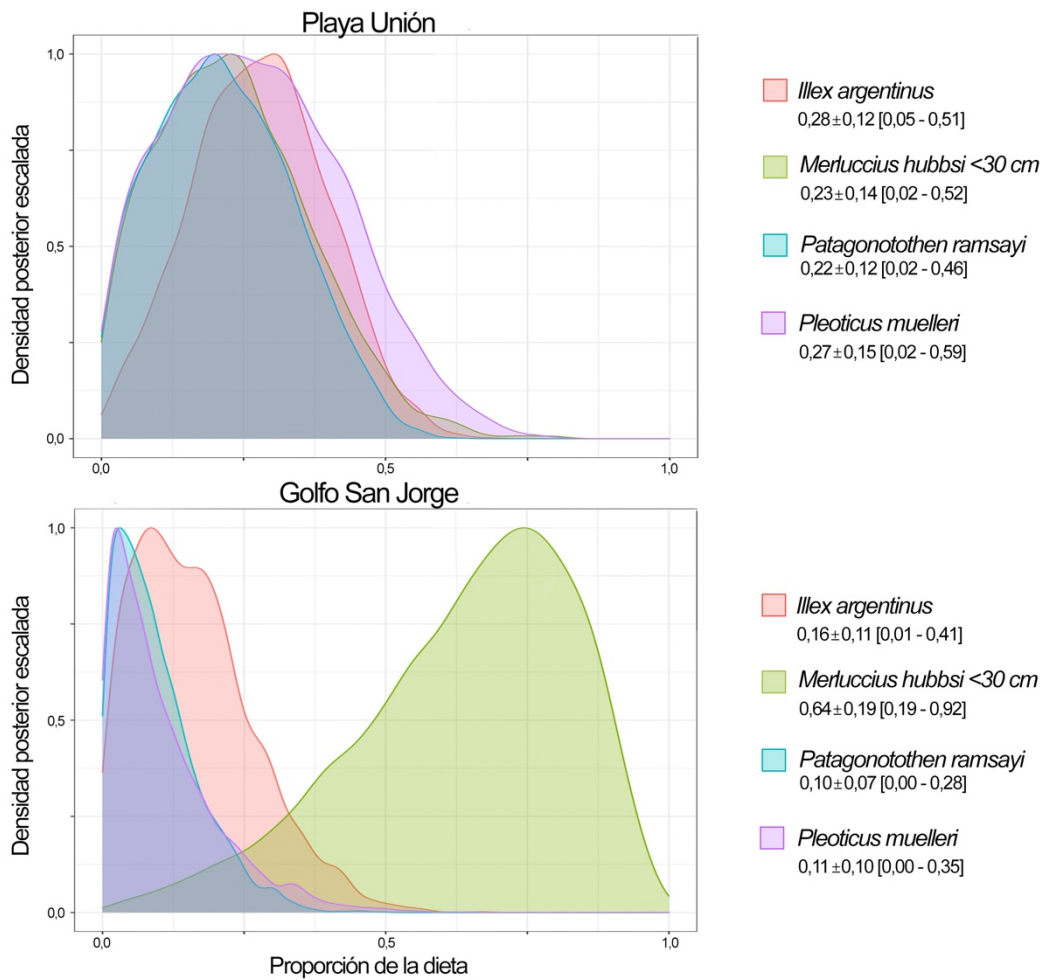


Fig. 21: Contribución relativa de las fuentes de presa a la dieta de *Cephalorhynchus commersonii* (muestras de hueso) para los distintos sitios de muestreo según los modelos MixSIAR. Los valores corresponden a los valores medios \pm DE [Intervalo de confianza] de las especies presas.

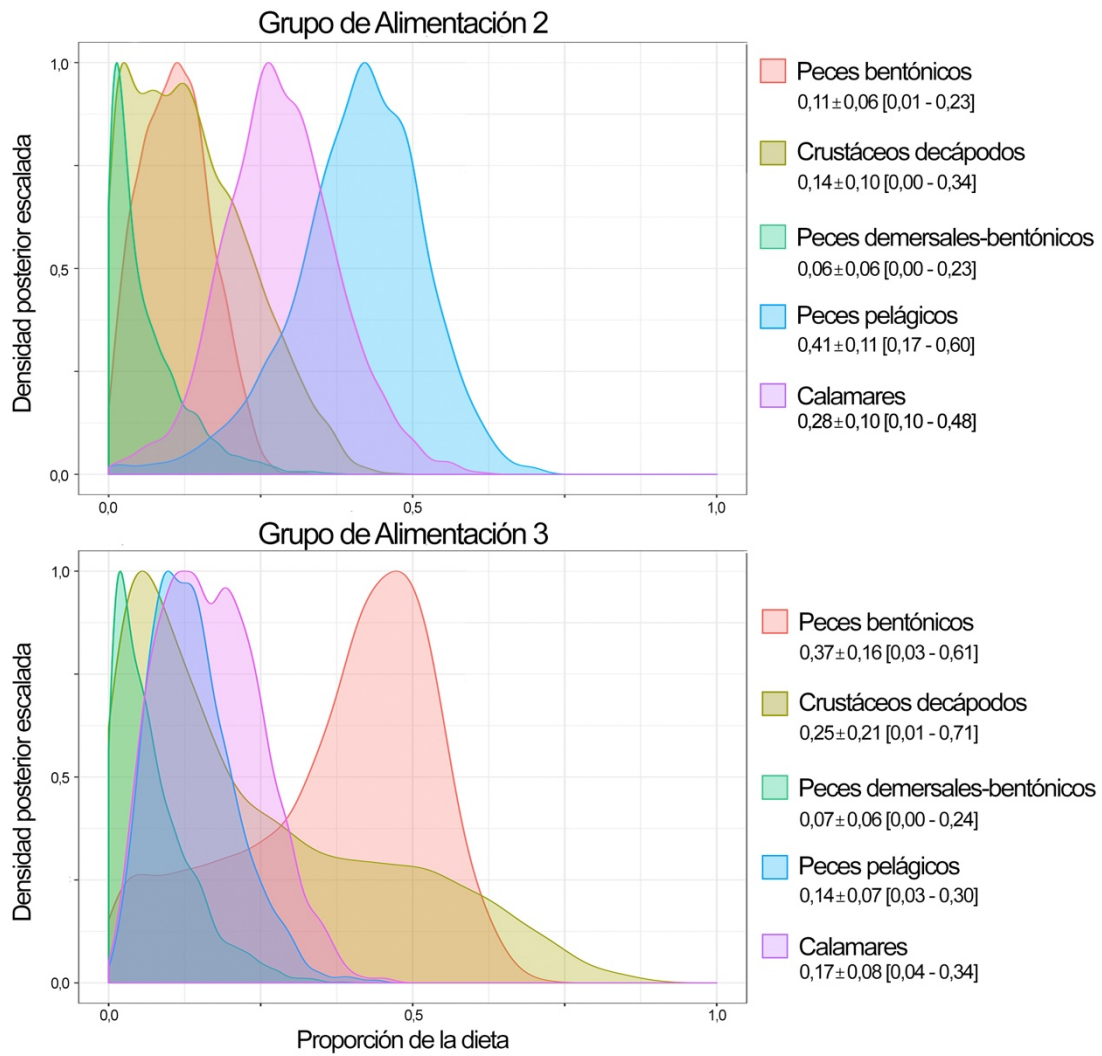


Fig. 22: Contribución relativa de las fuentes de presa a la dieta de los grupos de alimentación de *Lagenorhynchus australis* a partir de muestras de piel. Los valores corresponden a los valores medios \pm DE [Intervalo de confianza] de los grupos potenciales de presas.

DISCUSIÓN

Las especies simpátricas adoptan muchas estrategias diferentes para coexistir en un mismo hábitat en función de la disponibilidad de recursos y de la plasticidad que posea cada grupo de animales (Ruadreo et al. 2018). La partición del nicho trófico es uno de los mecanismos más frecuentes empleados por varios taxa para minimizar la competencia, incluidos los mamíferos marinos (Pinela et al. 2010, Gibbs et al. 2011, Méndez-Fernandez et al. 2013, Wilson et al. 2017, Giménez et al. 2018). A través del análisis de isótopos estables de carbono y nitrógeno, se estudió el uso de hábitat de dos delfines simpátricos para comprender la relación trófica entre ellos. Con base en la tasa de renovación de la piel del delfín, que se estima entre 2 y 6 meses (Caut et al. 2011, Browning et al. 2014, Giménez et al. 2016), se muestra claramente la segregación de dos especies de pequeños cetáceos costeros durante la estación cálida del hemisferio sur, permitiendo así la coexistencia.

Para la tonina overa, los resultados son consistentes con los estudios de contenido estomacal a lo largo de su distribución en Argentina, donde la dieta de la especie comprende principalmente peces pelágicos y calamares. En particular, los resultados de los modelos de mezcla están de acuerdo con la dieta identificada en la región por Koen Alonso (1999); en concreto, juveniles de merluza común (menor a 30 cm de longitud) y calamar argentino como presas principales. A su vez, las estimaciones son similares a las reportadas a partir de análisis de isótopos estables en muestras de hueso en la región de Tierra del Fuego, donde los mismos tipos de presa contribuyeron mayormente a la dieta de la especie (Ricciardelli et al. 2013). Dado que ambas técnicas ofrecen diferente información en lo que respecta a las escalas temporales, con un tiempo de integración más largo para los isótopos estables y la similitud entre ambas técnicas y tejidos (piel y hueso), indica una clara preferencia de alimentación por estas especies de presas que no parece haber variado en las últimas

décadas. Esto incluso se muestra en concordancia con los individuos pertenecientes a GSJ analizados a partir de muestras de piel, que a pesar de no poder estimar la contribución relativa de las potenciales presas, exhibieron composiciones isotópicas características de ambientes pelágicos. Además, el SEA_B observado, en general pequeño en términos de amplitud de nicho, indica una baja variabilidad en la selección de presas entre los individuos, lo que sugiere que esta especie tiene un uso específico de hábitats pelágicos. Estos resultados se acentúan si se analiza el nicho isotópico entre sexos, dado que, a pesar de no presentar diferencias significativas en sus composiciones isotópicas, las hembras parecen ocupar un nicho más reducido que los machos, indicando un uso aún más específico de los recursos. Por lo tanto, a pesar de ser una especie que parece encontrarse cerca de la costa (Dellabianca et al. 2016), explota recursos pelágicos a lo largo de su distribución, en particular peces pelágicos y calamares.

En cuanto a los delfines australes, los resultados revelaron tres grupos de alimentación diferentes independientemente del sexo, mostrando una partición de nicho isotópico intraespecífico en un área geográfica pequeña. Todos los grupos de alimentación mostraron diferencias significativas entre sus valores medios de $\delta^{13}C$. GA1 exhibió valores de $\delta^{13}C$ más bajos, lo que sugiere un hábitat de alimentación exclusivamente pelágico de plataforma. En contraste, GA3 presentó valores más altos de $\delta^{13}C$ como evidencia de más hábitats de alimentación bentónicos/costeros; mientras que GA2 mostró valores intermedios de $\delta^{13}C$. La amplitud de los nichos isotópicos de los tres grupos de alimentación fue pequeña, con cierto grado de superposición entre GA2 y GA3. Estos resultados sugieren que los delfines australes son capaces de mostrar diferentes estrategias de alimentación que se encuentran segregadas en el espacio. El nicho isotópico amplio de GA3, en términos de SEA_B , puede ser una consecuencia del tamaño reducido de la muestra y la geometría espacial de los datos, que, en algunos casos, podría estar sesgando el modelo (Jackson et al.

2011). De acuerdo con esto, la superposición espacial de SEA_B con GA2 no es necesariamente un indicativo de competencia trófica y, en cambio, puede explicarse por la sobreestimación del nicho isotópico. Sin embargo, los datos isotópicos indican que existen delfines de GA3 que presentan diferencias de 2 ‰ entre los valores de isótopos de nitrógeno, por lo que la variabilidad en GA3 es mayor en comparación con los otros grupos, independientemente del esfuerzo de muestreo.

Un resultado a destacar es que no existe correspondencia entre las señales de isótopos estables y el hábitat donde se muestrearon algunos delfines australes. Inesperadamente, el GA2 (más pelágico/costero) se muestreó más cerca de la costa (<200 m), incluso dentro de las caletas y pequeñas bahías, mientras que el GA3 (extremo costero) se muestreó lejos de la costa (> 200 m). Si se considera que la tasa de renovación de la piel de cetáceo es aproximadamente de 2 a 6 meses y que suelen tener un rango de dispersión alto, es muy poco probable que el muestreo de piel de la especie en un área específica refleje la alimentación que ocurre en ese hábitat. Por lo tanto, los resultados sugieren que a pesar de que el delfín austral se encuentra con frecuencia en ambientes costeros, dominados por bosques de macroalgas y pequeñas bahías, las estrategias de alimentación no son la única explicación para su presencia en estos hábitats y podrían estar explicadas por otros comportamientos, como por ejemplo la reproducción y lactancia (Hartman et al. 2008).

Los resultados del modelo de mezcla obtenidos en esta tesis representan una primera aproximación a la preferencia dietaria de los delfines australes y mostraron diferentes grupos ecológicos/taxonómicos como presas principales para GA2 y GA3. Sin embargo, potencialmente podrían estar alimentándose de la misma presa debido al solapamiento parcial. El grupo de alimentación restante (GA1) no pudo compararse directamente con las potenciales presas, probablemente debido a la falta de especies de presas potenciales que limitaron la selección de fuentes para los

modelos. Desafortunadamente, existe una falta de información sobre el contenido estomacal en la especie que proporcione una resolución de escala más fina de taxones presa (Di Benedetto et al. 2011). Por lo tanto, se necesitan más estudios basados en esta técnica para obtener una comprensión más completa de sus preferencias alimentarias. Además, vale la pena tener en cuenta que todas las muestras de GA1 corresponden al mismo año y los cambios en la línea de base del ecosistema pueden influir en los valores isotópicos de los depredadores.

El solapamiento espacial interespecífico parece ocurrir en hábitats de plataforma/offshore entre las toninas overas y los delfines australes (GA2) al norte del Golfo San Jorge. Sin embargo, no está necesariamente relacionado con la superposición ecológica o dietética, ya que diferentes especies de presas pueden exhibir firmas isotópicas similares (Ramírez et al. 2011, Giménez et al. 2018). Los recursos más importantes del Mar Argentino son la merluza argentina, la anchoíta, la sardina fueguina, el calamar argentino, el calamarete del sur y el langostino (Barón & Ré 2002, Hansen et al. 2009, Salas et al. 2011, Romero et al. 2012, Loizaga de Castro et al. 2016a, Loizaga de Castro et al. 2017). Todos estos taxones tienen características en común como su amplia distribución y disponibilidad, tamaño relativamente pequeño, tendencia a formar grandes grupos de individuos y su alto valor nutricional (Cousseau & Perrota 1998, Ciancio et al. 2007), características que son aprovechadas por los mamíferos marinos. Además, dentro de cada grupo ecológico, tienen una composición isotópica similar (Tabla 2), lo que hace imposible discriminar a nivel taxonómico el aporte de cada uno de ellos a la dieta de los delfines mediante el análisis de isótopos estables.

La presente tesis muestra que ambas especies de delfines se encuentran en el mismo hábitat, pero están segregadas en cuanto a los recursos tróficos que explotan. A lo largo de su distribución, la tonina overa es un depredador especializado que tiene

un nicho trófico estrecho; mientras que el delfín austral es un claro ejemplo de una especie que se puede considerar como generalista, que en conjunto ocupa un amplio nicho trófico (Bolnick et al. 2007), sustentado en una gran plasticidad reflejada en los diferentes grupos de alimentación que habitan en un área geográfica pequeña como se muestra en este capítulo. Esto representa una complejidad ecológica aún no descrita para los delfines australes a lo largo del Océano Atlántico suroccidental. Una especie endémica con alta filopatría en un área geográfica pequeña (Ver capítulo III), que desarrolla diferentes estrategias para reducir la competencia intra e interespecífica, sugiere una alta adaptabilidad de la especie en respuesta a la disponibilidad de presas y al hábitat local. Por lo tanto, se recomiendan futuros estudios comparativos sobre la ecología trófica de ambas especies de delfines a lo largo de su distribución, donde se consideren hábitats diferentes, variación en la composición isotópica de las presas y nuevos análisis de contenido estomacal. Además, es posible que la competencia no sea la única fuerza selectiva que estructura la comunidad biológica, y que la depredación también esté jugando un papel importante. Si este es el caso, la especie podría estar por debajo de la capacidad de carga de su población (K), con abundantes recursos alimenticios en el Mar Argentino y con nichos ecológicos que permitan cierto grado de superposición sin competencia como motor principal. Por lo tanto, se deben realizar estudios sobre la depredación en especies de pequeños cetáceos para tener una comprensión más amplia y completa de la estructura de la comunidad en ambientes complejos como lo son los ambientes marinos. Toda esta información permitirá tener un mejor conocimiento de su rol ecológico en los hábitats costeros y la dinámica de las interacciones tróficas intra e interespecíficas de estas especies. Además, en un escenario de cambio climático y desarrollo continuo de las pesquerías comerciales y locales, también ayudará a determinar el impacto de las amenazas potenciales a los principales depredadores y a llevar a cabo políticas de conservación que los preserven a ellos y su hábitat.

CAPÍTULO III

Historias microevolutivas: genética poblacional de
dos especies simpátricas de delfines



INTRODUCCIÓN

La genética de poblaciones estudia el origen, la cantidad y la distribución de la variación genética presente en las poblaciones de organismos y como varían en el tiempo y el espacio (Templeton 2006, Hamilton 2009). Esta variación genética constituye la base fundamental del cambio evolutivo, que a nivel intraespecífico es considerado como microevolución (Templeton 2006). La diversidad genética es una medida de la variación génica entre los individuos de una especie. Esta variación, resultado de mutaciones y cambios en las frecuencias alélicas, puede mantenerse o no debido a la acción de otras fuerzas evolutivas, como la migración, la deriva genética y la selección natural (Frankham et al. 2002). La diversidad genética es la materia prima sobre la cual opera la selección natural, proporcionando a las especies la capacidad de hacer frente a los cambios en el ambiente, es decir, su potencial evolutivo (Laikre 2010). Por esta razón, la preservación de la diversidad genética es considerada esencial por la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (IUCN, siglas en inglés) (McNeely et al. 1990, Willoughby et al. 2015), y los estudios genéticos, proporcionan datos indispensables para la conservación de la biodiversidad (Laikre 2010).

Caracterizar la diversidad génica de una especie es el primer paso para comprender mejor su historia evolutiva y el impacto de los cambios ambientales y demográficos que actúan sobre ella (Hartl et al. 1997). Por ejemplo, algunos estudios han podido inferir la historia demográfica de las especies de mamíferos marinos y relacionarla con los cambios climáticos ocurridos en el pasado (Fontaine et al. 2010, Hoelzel 2016). Otro estudio documenta la pérdida de diversidad genética en una población después de una disminución drástica de su tamaño poblacional causada por una alta captura incidental en redes de enmalle (Pichler & Baker 2000). Las especies endémicas o en peligro de extinción suelen tener una diversidad genética

reducida en relación con los taxones con amplia distribución o no amenazados (Frankham et al. 2002); el pequeño tamaño de la población, los cuellos de botella, la endogamia y el flujo génico restringido, son factores que, individualmente o combinados, afectan las frecuencias alélicas y, en consecuencia, pueden reducir la diversidad genética de una especie determinada (Branch & Jackson 2008, Bishop et al. 2009, De Bruyn et al. 2009).

Cuando existe una restricción al flujo génico y el sistema de apareamiento no es aleatorio, la distribución de la información genética no es homogénea y se torna indispensable comprender la estructura génica poblacional de las especies a fin de comprender su ecología y planear o diseñar estrategias de conservación (Waples & Gaggiotti 2006). A medida que mejoramos nuestra comprensión de la estructuración de las poblaciones naturales, se vuelve esencial comprender los procesos detrás de estos patrones (Mendez et al. 2010). La mayoría de las especies naturales se dividen en poblaciones, incluso en hábitats aparentemente continuos como lo es el medio marino, donde las barreras al flujo de genes suelen estar asociadas con barreras físicas como la temperatura, la salinidad o la productividad primaria (De Meeûs et al. 2007, Mendez et al. 2011, Amaral et al. 2012, Durigan et al. 2017).

A pesar de un amplio rango y una gran capacidad de dispersión, los mamíferos marinos suelen presentar una fuerte estructura poblacional (Natoli et al. 2004, Mendez et al. 2010, Oliveira et al. 2012, Vollmer & Rosel 2017, de los Angeles Bayas-Rea et al. 2018). Esta estructura poblacional tiene una influencia importante en la distribución de la información genética, la cual puede diferir entre poblaciones de diferentes localidades geográficas, tanto en el espacio como en el tiempo (Avisé et al. 1987). En este sentido, las poblaciones pueden responder de manera diferente a una amenaza en común (MacLeod 2009). El resultado dependerá de la cantidad de

variabilidad genética que posean y, por ende, de la capacidad para hacer frente a los cambios ambientales (Hartl et al. 1997, Thomas et al. 2004).

Las mayores amenazas para los mamíferos marinos actualmente incluyen el calentamiento global (Reeves et al. 2003), la pesca incidental, la sobrepesca, la exploración/explotación petrolera y la contaminación (Crespo et al. 1997, Crespo & Hall 2002, de Haro 2003). Pero, en este contexto, las especies móviles con alta capacidad de dispersión pueden simplemente trasladarse a donde las condiciones ambientales sean más adecuadas (por ejemplo, Root et al. (2003)) y/o responder a entornos cambiantes con adaptación local a las nuevas condiciones (Grant & Grant 2002). Otra respuesta, particularmente asociada al cambio climático, la proporciona la plasticidad fenotípica, en la que los aspectos de comportamiento, morfología o fisiología pueden cambiar para adaptarse a nuevas condiciones (Pigliucci 2001). Predecir cómo responderán las poblaciones al cambio climático es complejo y puede depender de qué factores dieron forma a sus patrones actuales de distribución y diversidad, como por ejemplo la distribución y disponibilidad de presas (Harlin-Cognato et al. 2007). Al examinar los cambios ambientales que ocurrieron en el transcurso del Pleistoceno y el Holoceno (incluido el cambio climático), se puede inferir cómo factores climáticos similares afectarán a las poblaciones contemporáneas (Hoelzel 2009).

El Último Máximo Glacial (LGM, siglas en inglés) al final del Pleistoceno, es uno de los mayores cambios ambientales globales que finalizó hace aproximadamente 18.000 años luego de un período estimado de entre 80.000 y 120.000 años, y que tuvo un impacto significativo en la diversidad genética de muchas poblaciones naturales de depredadores superiores (Fraser et al. 2012). Después del LGM, muchas poblaciones de mamíferos marinos mostraron expansión demográfica tanto en el hemisferio norte como en el sur, como es el caso de narvales *Monodon monoceros*

(Louis et al. 2020), belugas *Delphinapterus leucas* (Skovrind et al. 2021), ballenas de Groenlandia *Balaena mysticetus* (Foote et al. 2013), lobo fino austral *Arctocephalus australis* (Crespo et al. 2015), lobo marino común *Otaria flavescens* (Túnez et al. 2010, Feijoo et al. 2011), ballena franca austral *Eubalaena australis* (Oliveira et al. 2011), delfín oscuro *Lagenorhynchus obscurus* (Loizaga de Castro et al. 2016b) y marsopa de anteojos *Phocoena dioptrica* (Pimper et al. 2012). Se ha sugerido que estas fluctuaciones climáticas históricas, caracterizadas por períodos de contracción y retracción, son el factor principal que impulsa el origen y la radiación de algunas especies del hemisferio sur, por ejemplo, las que están involucradas en el género *Cephalorhynchus* (Pichler et al. 2001).

La tonina overa y el delfín austral se distribuyen en parcial simpatria a lo largo de la costa suroccidental del Océano Atlántico, siendo endémicas de dicha región (Ver capítulo I). Para el caso de la tonina overa, la estructura génica poblacional es poco conocida, y la información existente se centra principalmente en la extensión sur de su distribución (Pimper et al. 2010, Riccialdelli et al. 2010, Cipriano et al. 2011). En dichos estudios, se detectó cierto grado de diferenciación genética a escala regional, utilizando marcadores mitocondriales, que sugieren fidelidad al sitio por parte de las hembras (Pimper et al. 2010, Cipriano et al. 2011). Sin embargo, todavía hay un vacío de información en cuanto a la variación genética nuclear y a lo largo de su distribución en la costa argentina. En cuanto al delfín austral, no existen estudios genéticos en la especie, por lo que la variabilidad génica y la diferenciación poblacional siguen siendo desconocidas. La única información disponible para la especie en Argentina, se relaciona con la distribución, abundancia y preferencias de hábitat (Ver capítulo II). Un mayor enfoque en esta área del conocimiento conducirá a una mejor comprensión de cómo se distribuye la información genética y la cantidad de variación génica de ambas especies. Esta información permitirá, además, inferir sobre las tendencias evolutivas moldeadas por cambios ambientales y demográficos

(Hartl et al. 1997), y es crucial para desarrollar planes de manejo efectivos y sostenibles para las especies (O'Brien 1994). Por lo tanto, el objetivo del presente capítulo es investigar la genética poblacional de la tonina overa y el delfín austral a lo largo de sus distribuciones en América del Sur utilizando ADN mitocondrial y loci microsatélites específicos. La hipótesis de estudio es que la divergencia genética ocurre a escala geográfica pequeña, por lo que se espera encontrar bajo flujo génico y bajas tasas de migración entre poblaciones a lo largo de su distribución.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio, muestreo y extracción de ADN

Se recolectaron un total de 70 muestras de piel de la tonina overa y 42 del delfín austral entre 2007 y 2019, provenientes de cinco sitios de muestreo a lo largo de la costa patagónica: Playa Unión, Bahía Camarones, Caleta Olivia, Golfo San Jorge y Puerto Deseado (Fig. 23). Del total de muestras, 9 corresponden a individuos varados muertos en la costa (1 delfín austral y 8 toninas overas), 8 a captura incidental (todas toninas overas) y los 95 restantes a biopsias (41 delfines australes y 54 toninas overas). Se incluyeron además 266 secuencias (tonina overa = 253, delfín austral = 11) y 2 haplotipos (delfín austral) de la región control del ADN mitocondrial obtenidas a través de GenBank y cuyo origen de las muestras se detalla en la Fig. 23.

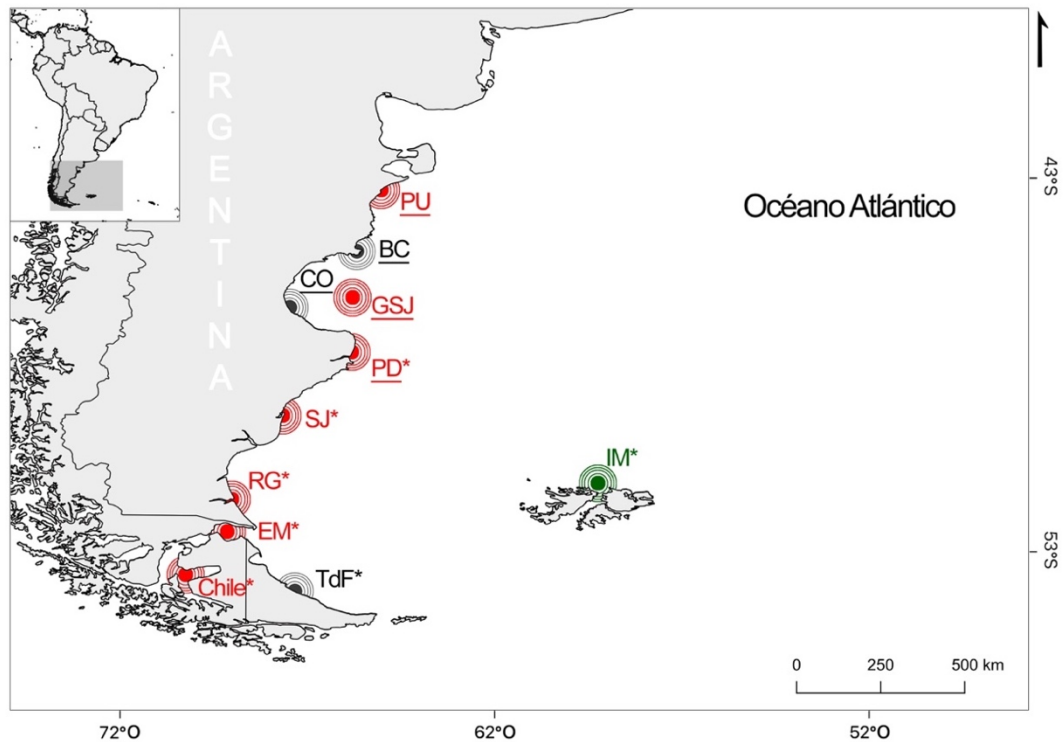


Fig. 23: Área de estudio con el detalle de los sitios de muestreo de las dos especies de delfines. Los sitios con formato subrayado corresponden a este estudio, aquellos con asterisco (*) indican las localidades con información de la región control del ADN mitocondrial disponibles en GenBank, y el color indica a que especie corresponde la muestra/secuencia (rojo: *Cephalorhynchus commersonii*, verde: *Lagenorhynchus australis*, negro: ambas especies) . PU = Playa Unión, BC = Bahía Camarones, CO = Caleta Olivia, GSJ = Golfo San José, PD = Puerto Deseado, SJ = San Julián, RG = Río Gallegos, EM = Estrecho de Magallanes, TdF = Tierra del Fuego, IM = Islas Malvinas.

El ADN genómico total se extrajo siguiendo el protocolo de “glass milk” modificado de Elphinstone et al. (2003) mediante el uso de un sistema robótico de manipulación de líquidos Perkin Elmer Multiprobe II Plus (Perkin Elmer, Waltham, MA). Antes de la extracción, los tejidos se digirieron a 55°C durante 2 días, agregando Proteinasa K (New England BioLabs Inc.) cada 8 horas, aproximadamente.

Protocolo molecular

ADN mitocondrial

Utilizando los cebadores MTCrf (5'-TTCCCCGGTCTTGTAACC) y MTCRr (5'-TTTTTCAGTGTCTTGCTTT) se amplificó la región de control del ADNmt (Hoelzel et al. 1991). La reacción se realizó en un volumen final de 20 µl que

incluía: 0,5 unidades de TSG (Bio Basic, Markham, ON, Canada); MgCl₂ 2,5 mM, 200 µM de dNTP 200 µM, buffer 10 mM (Tris-HCl, pH 8,4), 0,3 µM de cada cebador y 1 µl de ADN genómico total extraído (~50 ng). El perfil de PCR fue: 3 min a 93°C; luego 30 ciclos de 1 min a 92°C, 1 min a 48°C y 1 min a 72°C; finalmente una fase de extensión de 5 min a 72°C. Cada producto de PCR se purificó con limpieza de PCR enzimática a 37°C durante 30 min y luego a 80°C durante 20 min, previa reacción utilizando: 0,025 µl de Exonucleasa I, 0,25 µl de Driftcotia Fosfatasa, 2,5 µl de buffer fosfatasa alcalina y 7,225 µl de H₂O. Para todas las muestras, se secuenció un fragmento objetivo de alrededor de 900 pares de bases en MacroGenUSA (Rockville, MD), seguido de controles visuales y de alineación utilizando el programa MEGA7 (Kumar et al. 2016).

Microsatélites

Diseño

Se seleccionó una sola muestra de cada especie con la más alta calidad y cantidad de ADN extraído para la secuenciación masiva y posterior diseño de los microsatélites. La selección se realizó mediante visualización en gel de agarosa al 1% teñido con GelGreen (BioTium Fremont, CA) y la cuantificación del ADN genómico de cada muestra a través de Quant-it PicoGreen (Invitrogen, Carlsbad, California), para luego diluirlas a 0,2 ng/µl. El desarrollo de las bibliotecas genómicas para cada especie se llevó a cabo utilizando 1 ng de ADN genómico siguiendo el protocolo del kit de preparación de muestras Illumina Nextera (Illumina Inc., San Diego, California). Brevemente, este paso consistió en fragmentar el ADN (en amplicones de aproximadamente 500 pb), seguido de un etiquetado con adaptadores (Read1: CCCTACACGACGCTCTTCCGATCT and Read2: GTTCAGACGTGTGCTCTTCCGATCT) y amplificación de las bibliotecas con índices de identificación (index) por PCR, limpieza, normalización de la biblioteca

genómica (para garantizar una representación equitativa de cada biblioteca en la biblioteca agrupada) y, finalmente, secuenciación masiva (Fig. 24). Cada biblioteca fue cuantificada en una máquina Roche LC480 qPCR (Roche, Basilea, Suiza) utilizando el kit Kapa Library Quantification (Roche, Pleasanton, California) para su uso con la plataforma de secuenciación Illumina. Las bibliotecas fueron diluidas a 4 nM, unidas en una biblioteca conjunta tomando 5 µl de cada una y, luego, llevada a una concentración final de 18 pM para la secuenciación masiva en un secuenciador Illumina MiSeq (Illumina, San Diego, CA, EE. UU.). Las lecturas de secuenciación se analizaron utilizando el script de perl PAL_FINDER_v0.02.04, el cual crea un archivo FASTQ por individuo e identifica cada loci microsatélite sin la necesidad de un ensamblaje previo de las secuencias. Se identificaron 34.973 y 36.319 loci microsatélites en total para la tonina overa y el delfín austral, respectivamente, los cuales fueron ordenados por motivo. A partir de dicha información y utilizando el programa MSATCOMMANDER versión 1.0.8 (Faircloth 2008), se diseñaron los cebadores para di y trinucleótidos con un mínimo de 8 repeticiones, y tetranucleótidos con un mínimo de 6 repeticiones. Se estableció el tamaño del producto total entre 50–120pb, tamaño del cebador entre 18-22pb con un óptimo de 20pb, la temperatura de melting entre 58-62°C con un óptimo de 60°C y el resto de los parámetros por defecto. Posteriormente, se realizó otra clasificación para identificar aquellos microsatélites cuyos cebadores aparecieron por única vez en el conjunto de datos. Esta clasificación dio como resultado 4.862 (tonina overa) y 5.018 (delfín austral) conjuntos de cebadores, de los cuales se eligieron 70 al azar (por especie) en función del motivo (di-, tri-, o tetranucleótido) para la posterior amplificación.

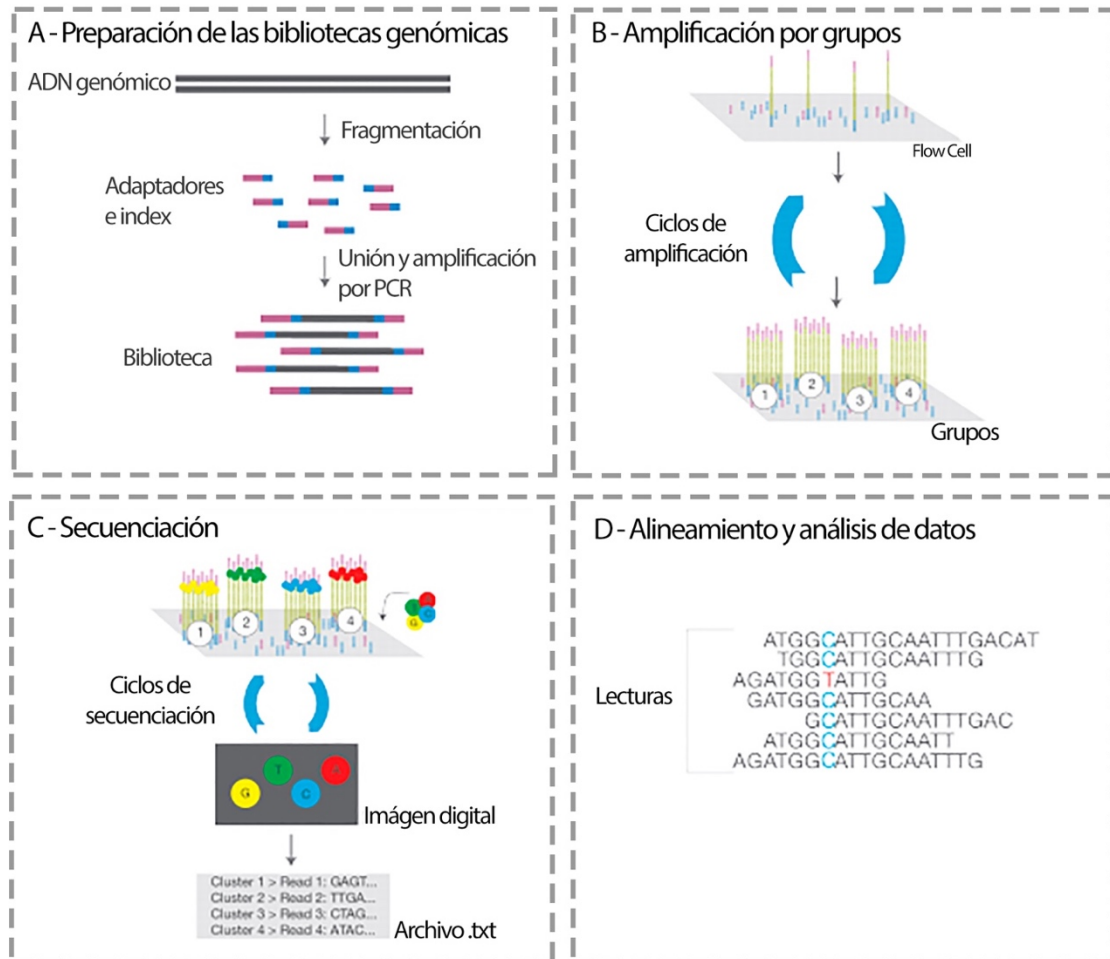


Fig. 24: Resumen del protocolo de Illumina Nextera para el diseño y/o amplificación de loci microsateélites. Imagen adaptada de: www.illumina.com.

Amplificación

La amplificación se realizó en dos reacciones de PCR multiplex de 35 cebadores directos (F: forward) e indirectos (R: reversed) cada una por individuo, utilizando el kit Qiagen Multiplex PCR (Qiagen Inc., Valencia, CA, EE. UU.). Cada cebador fue diluido a una concentración final de 2 μ M antes de confeccionar la reacción multiplex. En primer lugar se amplificaron los amplicones para cada muestra por PCR utilizando un volumen final de 5 μ l de reacción: 2,5 μ l de mastermix, 2 μ l de ADN, 0,25 μ l de multiplex y 0,25 μ l de H₂O; bajo los siguientes parámetros: 94°C por 15 min, 20 ciclos de 94°C por 30 seg, 57°C por 3 min, 72°C por 1 min, y una extensión final a 68°C por 30 min. Los productos de PCR fueron diluidos con 20 μ l

de agua ultra pura y se procedió a una segunda PCR para la incorporación de los índices de identificación (index) de las muestras (ver Zhan et al., 2017 para más detalles). La reacción se realizó en un volumen final de 5 µl que incluía: 1,95 µl de agua ultrapura, 0,05 µl de TSG (0,25 unidades; Bio Basic, Markham, ON, Canadá), 0,5 µl de dNTP (0,2 nM), 0,5 µl de MgCl₂ (2,5 mM), 0,5 µl de buffer 10x, 0,5 µl de cada índice y 0,5 µl de producto diluido de PCR. El perfil de PCR fue: 2 min a 95°C; luego 20 ciclos de 20 seg a 95°C, 1 min a 60°C y 1 min a 72°C; finalmente una fase de extensión de 10 min a 72°C. Luego, los productos de PCR se combinaron en igual proporción, se purificaron y normalizaron para combinarlos en la biblioteca de PCR, utilizando *beads* caseros creados de acuerdo a Faircloth et al. (2015) y de acuerdo al protocolo del kit de preparación de muestras Illumina Nextera (Illumina Inc., San Diego, California). Después de la cuantificación (ver sección “Diseño”), la biblioteca se diluyó a 15 pM y se secuenció en una sola dirección utilizando un secuenciador Illumina MiSeq (Illumina, San Diego, CA, EE. UU.), utilizando el kit de reactivos MiSeq 150 cycle V3 para doble indexado.

Las lecturas de secuenciación fueron individualizadas automáticamente utilizando el programa MiSeq Sequence Analysis, el cual crea un archivo FASTQ por individuo con las secuencias amplificadas de todos los microsatélites. Esta información se utilizó como información de entrada para el programa MEGASAT (Zhan et al. 2017), el cual genotipó automáticamente todos los loci y generó histogramas de puntajes (*scoring*) para la verificación manual.

Análisis

ADN Mitocondrial

Variabilidad genética

La variabilidad genética fue estimada con DNAsp (Librado & Rozas 2009), considerando a cada localidad de muestreo como una población separada. Se

obtuvieron los índices de diversidad estándares, el número de haplotipos, el número de sitios polimórficos y el tipo de mutaciones (transiciones, transversiones e indels). Entre los índices se incluyen la diversidad haplotípica (h) y diversidad nucleotídica (π). La primera se define como la probabilidad de que dos haplotipos al azar sean diferentes, mientras que π mide las diferencias nucleotídicas entre dos pares de secuencias tomadas al azar (Nei 1987).

Estructura poblacional, flujo génico y modelo de aislamiento por distancia

La estructura poblacional se infirió mediante el uso del Análisis Molecular de la Varianza (AMOVA) (Excoffier et al. 1992). Este análisis examina la varianza en las frecuencias génicas entre las poblaciones, considerando además el número de mutaciones entre los diferentes haplotipos. El método consiste en particionar la varianza total en diferentes componentes (diferencias entre poblaciones y diferencias entre individuos dentro de las poblaciones) de acuerdo a una asignación *a priori* de las poblaciones y poner así a prueba una estructura genética particular (H_0 : no hay diferencias genéticas entre poblaciones). Los estadísticos más utilizados para estimar la estructura poblacional son F_{ST} y el Φ_{ST} , ambos basados en el estadístico F desarrollado por Wright (1951). El F_{ST} considera la variancia de las frecuencias alélicas o génicas (haplotípicas) entre subpoblaciones, mientras que el Φ_{ST} incorpora, además, el número de mutaciones entre los haplotipos, por lo que es un estadístico más sensible a la hora de identificar las diferencias genéticas entre poblaciones. El resultado se reporta significativo a un valor de $\alpha = 0.05$, es decir, bajo la hipótesis nula de panmixia, cuando $p < 0,05$ se considera que la población está estructurada. El AMOVA utilizando ambos estadísticos, F_{ST} (usando solo las frecuencias de haplotipos) y Φ_{ST} (usando distancias genéticas bajo el modelo de Jukes y Cantor), se realizó en Arlequín (Excoffier & Lischer 2010), al igual que la estimación del nivel de

diferenciación genética entre sitios de muestreo mediante el cálculo pareado de los ambos estadísticos. La significancia de los resultados fue probada utilizando 10.000 permutaciones.

El flujo génico entre poblaciones se estimó en Arlequín (Excoffier & Lischer 2010) como el número efectivo de migrantes por generación (Nm), un método indirecto que utiliza las medidas de estructuración genética. La estimación de Nm se basa en el modelo de islas infinitas de Wright (1951) al lograr un equilibrio entre la deriva génica y la migración que se ve reflejado en los valores del estadístico F de Wright (estimados aquí a partir de Φ_{ST}). Por lo tanto, $Nm = (1 - \Phi_{ST}) / (2 \Phi_{ST})$.

Se realizó una prueba de Mantel (Mantel 1967) en Genalex 6 (Peakall & Smouse 2006) para examinar el modelo de aislamiento por distancia mediante el uso de los valores linealizados de $\Phi_{ST} [\Phi_{ST}/(1- \Phi_{ST})]$ y las distancias geográficas entre los sitios de muestro. Este análisis permite poner a prueba si existe una correlación entre las diferencias genéticas de las distintas poblaciones y sus distancias geográficas (Mantel 1967). La matriz de distancias geográficas fue construida en base a las distancias en línea recta expresadas en kilómetros entre pares de localidades de acuerdo con mapas tomados de Google Earth 6.0.3 (Keyhole, Inc.).

Red de haplotipos

Para describir las relaciones genealógicas entre los haplotipos se construyó una red de haplotipos en Network 5.0.1.0 (Bandelt et al. 1999) aplicando un algoritmo de median-joining y utilizando los parámetros predeterminados. Este análisis descriptivo permite visualizar como se distribuyen los haplotipos en el espacio, al mismo tiempo que permite inferir aspectos demográficos de acuerdo a su forma. Esto se debe a que la tasa de coalescencia es inversamente proporcional al tamaño poblacional, dado que en poblaciones grandes el tiempo transcurrido entre las nuevas variantes genéticas y el ancestro común es mayor (Avice 2009). De esta manera, si una población sufrió una

expansión demográfica reciente, la red de haplotipos adopta una forma de estrella, debido a una mayor longitud de sus ramas con un mayor número de mutaciones únicas.

Análisis demográficos

Los análisis demográficos fueron explorados a través de diferentes pruebas estadísticas. En ambas especies se aplicó la prueba de Fu (Fu 1997) y la prueba Distribución de las diferencias pareadas o Curvas de Mismatch (Rogers & Harpending 1992) utilizando el programa Arlequín (Excoffier & Lischer 2010). A su vez, se llevó a cabo el análisis Bayesian Skyline Plot, que permite estimar la dinámica poblacional a través del tiempo. Todas estas pruebas estadísticas están basadas en la teoría coalescente (Fu & Li 1999, Hamilton 2009), en la cual se plantea un modelo génico poblacional centrado principalmente en la evolución neutral de los árboles genéticos.

Pruebas de neutralidad

Las pruebas de neutralidad tienen como hipótesis nula que la variación molecular es producto de un balance entre mutaciones neutrales (o al azar) y la deriva génica, manteniendo así las frecuencias génicas en equilibrio (Kimura 1991). Existen más de una docena de pruebas, sin embargo la más potente en términos estadísticos frente a tamaños muestrales grandes ($N > 20$) es la prueba de Fu (Ramos-Onsins & Rozas 2002). Esta prueba se basa en la distribución de haplotipos para calcular el estadístico F_s (Fu 1997). El estadístico F_s de Fu tiende a ser negativo en presencia de un exceso de mutaciones recientes o alelos raros, situación consistente con una población en expansión demográfica (Fu 1997).

Distribución de las diferencias pareadas o Curvas de Mismatch

La distribución de diferencias pareadas se basa en la distribución del número observado de diferencias entre pares de haplotipos (Rogers & Harpending 1992, Rogers 1995). Este modelo asume la no recombinación, y que cada mutación entre dos individuos aumenta el número de diferencias entre ellos (Rogers & Harpending 1992) es decir se basa en el modelo de sitios infinitos (Kimura 1971). Basada en una hipótesis nula de expansión poblacional bajo la teoría coalescente, genera una distribución teórica de las diferencias de a pares entre haplotipos y la compara con la distribución real de los datos. Esta última se construye contando el número de diferencias de nucleótidos entre pares de individuos con diferentes haplotipos y utiliza un histograma para mostrar las frecuencias relativas de pares que difieren por sitios. Un período de crecimiento o disminución poblacional, incluyendo un evento de cuello de botella, resultará en una señal característica que se presente como una ola en el histograma. En poblaciones que muestran una expansión demográfica reciente o una expansión en el rango de distribución con altos niveles de migración entre los demos (Ray et al., 2003; Excoffier & Lischer 2010), la distribución suele ser una curva unimodal. Mientras que en poblaciones en equilibrio demográfico o constituidas por varias unidades (Rogers & Harpending 1992), muestran una curva multimodal. La construcción de la distribución se basa en tres parámetros: una teta inicial (θ_0), que es un valor dado antes de que la población se expandió, un valor de teta final (θ_1) alcanzado después de que la población creció y declinó, y τ (tau) que es el tiempo de expansión en unidades de mutaciones ($\tau = 2\mu t$, donde μ es igual a la tasa de sustitución ($\mu = \text{tasa de divergencia} * k$, donde k es la longitud del segmento de ADN) y t el tiempo de expansión por generación) (Rogers & Harpending 1992). Para evaluar el ajuste del modelo se utilizaron dos estadísticos, la suma de desviaciones cuadradas (SSD) y el índice de regularidad de Harpending (r). Este último, permite cuantificar la “suavidad” de las distribuciones y discriminar entre dos modelos demográficos,

valores bajos del índice ($r < 0.03$) indica una población en expansión y valores altos ($r > 0.03$) estabilidad poblacional (Rogers & Harpending 1992, Harpending 1994).

Reconstrucción histórica

El análisis Bayesian Skyline Plot (BSP) es un método coalescente que se basa en estadística bayesiana aplicando un procedimiento de muestreo estándar de cadenas de Markov Monte Carlo (MCMC, siglas en inglés). De esta manera, estima una distribución posterior del tamaño efectivo (N_e) de la población a lo largo del tiempo directamente a partir de una matriz de datos genéticos y permite determinar, por ejemplo, el tiempo en el cual se produjo un crecimiento/disminución poblacional o un cuello de botella (Drummond et al. 2005).

Para realizar el análisis BSP se utilizaron los programas BEAUTi v1.8.3 y BEAST v1.8.3 (Drummond & Rambaut 2007), y el modelo elegido fue lineal por partes ("*piecewise-linear*"). El modelo de sustitución seleccionado fue HKY según el criterio de información de Akaike (AIC) generado con jModelTest v2.1.10 (Darriba et al. 2012). Además, usamos una frecuencia de reloj relajada log normal (no correlacionado) con una tasa de mutación para la región control de ADNmt de 6.3×10^{-8} s/s/año derivada de *Lagenorhynchus obscurus* (Harlin et al. 2003). Se aplicaron treinta millones de iteraciones de MCMC, descartando los primeros 3.000.000 de pasos como "*burn in*" y realizando muestreos cada 1.000 iteraciones. Finalmente, se verificó la convergencia del modelo a través del tamaño de muestra efectivo ($ESS > 200$) y se construyó un diagrama de Bayesian Skyline mediante el uso de Tracer v1.6 (Rambaut et al. 2014).

Microsatélites

Previamente a realizar los análisis de microsatélites, se evaluó la presencia de posibles alelos nulos, desviaciones de las proporciones de Hardy-Weingberg (H-W) y desequilibrio por ligamiento (DL) entre pares de loci. El primer análisis fue llevado

acabo con el programa MICROCHECKER 2.2.3 (Van Oosterhout et al. 2004); mientras que los dos restantes se realizaron en Arlequin 3.5.2.2 (Excoffier & Lischer 2010) aplicando 1.000.000 pasos de MCMC con 100 pasos de desmemorización y 30.000 permutaciones. Los valores de p se ajustaron utilizando un ajuste falso de la tasa de descubrimiento (“*False discovery rate adjustment*” en inglés) (Rice 1989).

Los alelos nulos se producen por una mutación en la secuencia nucleotídica adyacente a los microsatélites que impide que los cebadores se unan a la secuencia molde en la PCR (Chapuis & Estoup 2007). Utilizando el programa MICROCHECKER 2.2.3 (Van Oosterhout et al. 2004), se puede identificar los errores de genotipado debido a la presencia de alelos nulos que dan lugar a falsos homocigotas pudiendo causar desviaciones de las proporciones de Hardy-Weinberg (Van Oosterhout et al. 2004).

En genética de poblaciones, uno de los supuestos más importantes es que las poblaciones naturales se encuentran en equilibrio H-W. Este modelo, permite predecir las frecuencias alélicas dadas las frecuencias genotípicas o viceversa, a partir de una ecuación global definida como: $p^2 + 2pq + q^2 = 1$; donde “p” y “q” son las frecuencias alélicas para un locus genético con dos alelos. El equilibrio H-W posee una serie de supuestos, entre los cuales se destacan: organismos diploides, reproducción sexual, generaciones discretas, efectos de las fuerzas evolutivas despreciables, población grande, cerrada (sin migración) y panmíctica (reproducción al azar). Cada una de estos supuestos representa una de las áreas conceptuales abordada por la genética de poblaciones, pudiendo poner a prueba diferentes hipótesis y distinguir así los procesos evolutivos que actúan sobre las poblaciones naturales (Hamilton 2009).

Se denomina desequilibrio de ligamiento al estado en el cual los alelos de los diferentes loci no están asociados aleatoriamente, es decir, no existe una segregación independiente de los alelos. En presencia de un desequilibrio, lo que se observa a nivel

poblacional es la presencia de genotipos comunes entre individuos, cuya frecuencias son diferentes a las esperadas bajo un estado de equilibrio (Hamilton 2009).

Variabilidad genética

Los niveles de variabilidad genética fueron estimados para cada sitio de muestreo a través de la frecuencia y riqueza alélica (A_R), utilizando el programa FSTAT 2.9.3 (Goudet 2001), y de la heterocigocis observada (H_o) y esperada (H_e), estimadas a partir del programa Arlequin 3.5.2.2 (Excoffier & Lischer 2010). La frecuencia alélica es simplemente la proporción de un alelo específico respecto de la totalidad de los alelos de un locus; mientras que A_R es el número promedio de alelos por locus, lo cual es independiente del tamaño muestral. La heterocigocidad es definida como la proporción de individuos heterocigotos para un locus respecto del total de individuos. La H_o se calcula a partir de los genotipos presentes en la muestra, mientras que la H_e se estima a partir del equilibrio H-W. Por último, se estimó el tamaño efectivo poblacional (N_e) a través del programa LDNe (Waples & Do 2008). Este parámetro proporciona el número de individuos reproductores en una población por lo que su magnitud es igual o menor al tamaño poblacional total. Su estimación es de gran importancia dado que explican la diversidad genética observada de una población, es decir el potencial evolutivo, el cual se ve disminuido en presencia de N_e pequeños. De este parámetro depende la intensidad de los cambios en las frecuencias génicas por acción de la deriva genética, siendo más rápidos en aquellas poblaciones con N_e pequeños. En este escenario, los efectos de la deriva genética son grandes, perdiéndose así alelos y, en consecuencia, reduciéndose la variación genética de la población (Hamilton 2009, Hare et al. 2011).

Estructura poblacional, flujo génico y modelo de aislamiento por distancia.

La estructura poblacional se analizó mediante un AMOVA utilizando los mismos parámetros descritos para el ADN mitocondrial, pero donde los valores de F_{ST} fueron estimados con un método de distancia basado en el número de alelos diferentes. A su vez, se llevó a cabo un método de asignación bayesiana implementado en el programa Structure 2.3.4 (Pritchard et al. 2000, Falush et al. 2003, Hubisz et al. 2009) bajo un modelo de mezcla, utilizando 5.000.000 MCMC, 1.500.000 pasos de “burn in” y 10 réplicas para cada K (de 1 a 8 en la tonina overa y de 1 a 5 en el delfín austral). A diferencia del AMOVA, donde las poblaciones son definidas *a priori*, este análisis aplica un método de agrupamiento a partir de los individuos, caracterizados por sus composiciones genéticas (genotipos), y los agrupa en clusters genéticos (K). La cantidad de K es desconocida y puede o no corresponderse con las potenciales poblaciones, dado que su valor indica el número más probable de poblaciones en la muestra. Se asumió correlación en las frecuencias alélicas entre las probables poblaciones y un modelo de mezcla (“*Admixture model*”). En el modelo propuesto, los individuos pueden tener ascendencia mixta, es decir, un individuo *i* ha heredado una fracción de su genoma a partir de ancestros de la población K. Es un modelo razonablemente flexible para hacer frente a muchas de las complejidades de las poblaciones reales (Pritchard et al. 2000, Falush et al. 2003, Hubisz et al. 2009). Para estimar el número más probables de K, se utilizó el método Evanno (Evanno et al. 2005) implementado en Structure Harvester (Earl 2012).

El flujo genético contemporáneo entre poblaciones fue estimado utilizando BayesAss Version 3 (Wilson & Rannala 2003), con parámetros de corrida de 150.000.000 de iteraciones, 10% de “burn in” y el resto de los parámetros como predeterminados. La convergencia del modelo fue testeado a través de los valores a

través del tamaño de muestra efectivo ($ESS > 200$) utilizando Tracer v1.6 (Rambaut et al. 2014).

Al igual que con las secuencias de ADN mitocondrial, se realizó una prueba de Mantel (Mantel 1967) en Genalex 6 (Peakall & Smouse 2006) utilizando los valores de diferenciación genética (F_{ST}) linealizados [$F_{ST}/(1 - F_{ST})$] y las distancias geográficas entre los sitios de muestreo para determinar la existencia de una estructura poblacional sujeta al aislamiento por distancia.

RESULTADOS

ADN mitocondrial

A partir de las 70 muestras analizadas para la tonina overa, se amplificó con éxito la región de control del ADNmt en 58 individuos, con la longitud total de las secuencias obtenidas en un rango de 326 a 698 pb, donde las secuencias más cortas pertenecieron a las muestras colectadas en la década del '90. Para el caso del delfín austral, la amplificación exitosa se dio en 41 individuos sobre el total de 42 muestras analizadas, con longitudes que oscilaron entre 368 y 730 pb. Para el análisis poblacional de la tonina overa, se utilizaron secuencias consenso de 423 pb haciendo posible su alineación con las secuencias disponibles en GenBank para la especie. La variabilidad genética del delfín austral se estimó a partir de las secuencias obtenidas en esta tesis (472 pb), mientras que el resto de los análisis poblacionales fueron realizados considerando todas las secuencias y haplotipos disponibles en GenBank (317 pb).

De un total de 311 secuencias utilizadas para los análisis de la tonina overa, se encontraron 26 sitios polimórficos que definieron 27 haplotipos distintos, 5 de los cuales son nuevos para la especie (Tabla 7). En el caso delfín austral, a partir de 41 secuencias analizadas aquí, se hallaron 15 haplotipos definidos por 28 sitios polimórficos, 13 de los cuales son nuevos para la especie (Tabla 8). La diversidad

haplotípica para la población total de tonina overa y el delfín austral fue $h = 0,803 \pm 0,014$ y $h = 0,888 \pm 0,028$, respectivamente; mostrando en ambos casos altos niveles de variabilidad genética (Tabla 9). La diversidad nucleotídica general fue moderada ($\pi = 0,00479 \pm 0,00973$) en la tonina overa y un orden de magnitud superior en el delfín austral ($\pi = 0,01267 \pm 0,00685$) (Tabla 9).

Tabla 7: Posición de los 26 sitios polimórficos definiendo 27 haplotipos (H) para 423 pb de la región control del ADN mitocondrial de la tonina overa (*Cephalorhynchus commersonii*), incluyendo la frecuencia por haplotipo (F) y el número de acceso de GenBank.

H	F	3	42	51	101	113	124	136	173	207	213	216	219	233	237	250	258	263	271	325	338	359	360	362	377	393	420	Número de GenBank
1	14	C	A	T	T	C	G	T	C	G	T	A	C	A	T	T	A	C	G	C	T	A	T	C	A	G	C	HM368541.1/HM749893.1
2	18	.	G	C	T	Tesis actual
3	1	.	G	.	C	A	C	.	T	.	C	C	G	T	.	T	.	.	.	T	.	.	T	Tesis actual
4	81	.	G	A	C	.	.	.	A	AF393538.2/HM749884.1/HM368540.1
5	101	.	G	C	AF393537.2/HM749881.1/HM368538.1
6	42	.	G	C	A	C	.	.	.	A	AF393539.2/HM748989.1
7	6	.	G	C	A	C	.	.	.	A	.	.	.	C	AF393540.2
8	1	.	G	A	C	.	.	.	A	.	C	AF393543.2
9	3	.	G	C	.	.	.	C	.	A	C	.	.	.	A	.	.	.	C	HM368539.1
10	1	.	G	.	.	.	A	C	HM368542.1
11	8	.	G	A	C	HM368543.1/HM749894.1
12	2	.	G	A	.	G	.	.	C	.	.	.	A	HM368544.1
13	2	.	G	A	C	.	.	.	A	T	T	HM368545.1
14	3	.	G	T	A	C	.	.	.	A	T	HM368546.1/HM749892.1
15	1	.	G	.	.	T	.	.	.	A	.	.	.	G	C	.	.	.	A	HM368550.1
16	1	.	G	C	T	HM368551.1
17	1	.	G	A	C	.	.	.	A	T	HM368548.1

Tabla 8: Posición de los 28 sitios polimórficos definiendo 15 haplotipos (H) para 472 pb de la región control del ADN mitocondrial del delfín austral (*Lagenorhynchus australis*), incluyendo la frecuencia por haplotipo (F). Las secuencias/haplotipos obtenidas de GenBank y sus sitios polimórficos exclusivos están en color rojo, así como también los 21 haplotipos (H*) definidos a partir de 22 sitios polimórficos (317 pb).

H	F	5	17	39	69	99	113	114	115	116	117	118	119	148	179	183	205	226	230	281	302	306	313	317	337	382	402	404	406	422	424	456	464	469	H*		
1	9	T	-	C	G	A	T	-	-	-	-	-	-	G	T	G	G	T	C	C	G	T	T	T	G	C	-	T	C	C	G	A	T	C	1		
2	5	A	.	.	T	C	2	
3	1	C	3	
4	3	A	T	A	C	A	C	.	.	.	A	.	.	T	C	4	
5	2	A	.	A	C	.	.	.	T	.	C	T	5	
6	1	.	T	.	.	.	-	C	T	T	.	C	6	
7	1	A	.	T	.	.	A	T	T	.	C	7	
8	1	A	A	C	8	
9	9	A	T	A	C	A	C	9
10	4	-	C	.	.	.	A	C	10	
11	1	A	T	A	C	A	C	A	C	.	.	A	T	G	.	.	T	A	.	C	T	11	
12	1	A	T	A	C	A	C	T	.	.	9	
13	1	A	T	A	C	A	C	.	.	.	A	T	.	C	12	
14	1	A	T	A	C	A	C	.	.	.	A	C	12
15	1	A	T	A	C	A	C	.	.	.	A	C	.	.	C	13	
16	1	A	T	A	C	A	C	.	.	C	14

Tabla 9: Información resumida de la región control del ADN mitocondrial de la tonina overa *Cephalorhynchus commersonii* (423 pb) y el delfín austral *Lagenorhynchus australis* (472 pb). La información correspondiente al delfín austral se muestra en negrita. N = tamaño muestral, H = Nº de haplotipos, h = diversidad haplotípica, π = diversidad nucleotídica, CG = porcentaje de citosina y guanina, Ts = transiciones, Tv = transversiones, I = indels, TdF = Tierra del Fuego.

Sitios de muestreo	N	H	Nº de sitios variantes	h	π (%)	CG (%)	Ts	Tv	I
Playa Unión	20	6	7	0,7895 ± 0,0641	0,5251 ± 0,3375	34,87	7	-	-
Bahía Camarones	16	5	13	0,6000 ± 0,1267	0,5831 ± 0,3724	34,93	13	-	-
	35	12	27	0,856 ± 0,036	1,264 ± 0,686	34,37	16	3	9
Caleta Olivia	7	3	3	0,6667 ± 0,1598	0,3602 ± 0,2799	34,95	3	-	-
	6	4	8	0,800 ± 0,172	0,908 ± 0,604	34,58	2	-	6
Golfo San Jorge	4	2	1	0,5000 ± 0,2652	0,1182 ± 0,1465	35,17	1	-	-
Puerto Deseado	19	6	11	0,6550 ± 0,1115	0,5696 ± 0,3614	35,13	11	-	-
San Julián	11	3	3	0,4727 ± 0,1617	0,1891 ± 0,1663	35,36	3	-	-
Río Gallegos	31	7	8	0,6946 ± 0,0738	0,3244 ± 0,2286	34,82	8	-	-
Estrecho de Magallanes	14	3	3	0,5604 ± 0,1245	0,2962 ± 0,2230	35,02	3	-	-
TdF_Norte	62	9	8	0,7335 ± 0,0302	0,3688 ± 0,2475	35,00	8	-	-
TdF_Centro	92	14	15	0,7484 ± 0,0299	0,4278 ± 0,2757	35,01	15	-	-
TdF_Sur	21	5	6	0,7476 ± 0,0517	0,3220 ± 0,2311	35,01	6	-	-
Chile	14	5	6	0,6593 ± 0,1227	0,3065 ± 0,2287	34,82	6	-	-
Total	311	27	26	0,803 ± 0,014	0,479 ± 0,973	35,00 ± 0,16	-	-	-
	41	15	28	0,888 ± 0,028	1,267 ± 0,685	34,48 ± 0,15	17	3	9

La representación geográfica de los diferentes haplotipos para ambas especies se muestra en la Fig. 25. Para la tonina overa, la red exhibe una típica configuración en estrella que sugiere una expansión demográfica para la especie, siendo H5 y H4 los haplotipos más frecuentes (H5 = 32,48%, H4 = 26,05%). Solo cuatro haplotipos fueron únicos y exclusivos de las poblaciones del norte, mientras que los 23 restantes se encontraron compartidos entre las poblaciones. Para el delfín austral, la red pareciera mostrar la misma configuración en forma de estrella con mayoría de haplotipos exclusivos de los sitios de muestreo del norte. Los haplotipos más frecuentes fueron H9 y H1 (H9 = 19,64%, H1 = 16,07%) y, de acuerdo al modelo, hay al menos 4 haplotipos faltantes necesarios para describir las relaciones genealógicas entre los haplotipos.

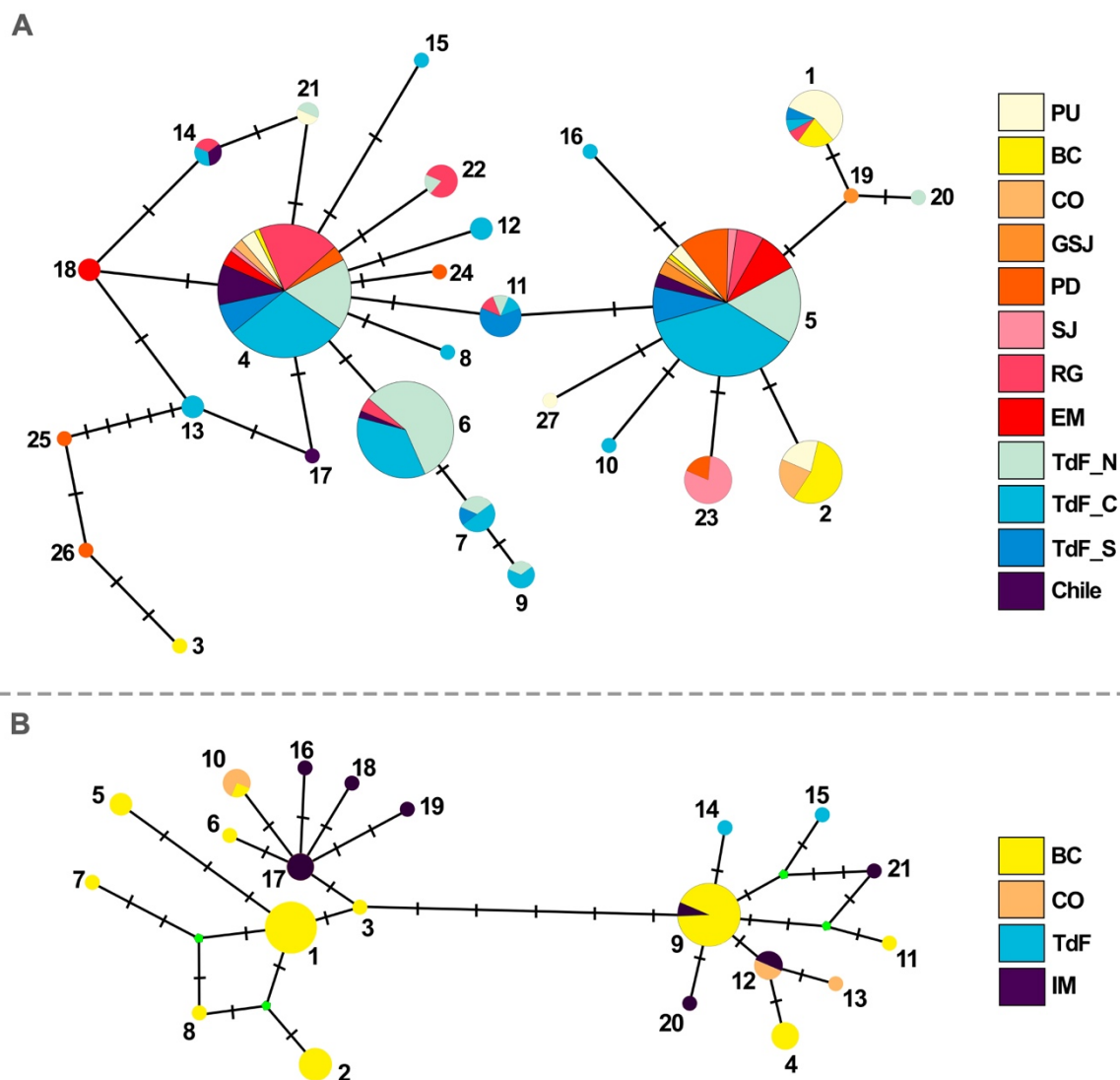


Fig. 25: Red de haplotipos de la región control del ADN mitocondrial de A- tonina overa (*Cephalorhynchus commersonii*, N = 311, 423 pb) y B- delfín austral (*Lagenorhynchus australis*, N = 54, 317 pb) construídas usando un algoritmo median-joining. El tamaño de los círculos es proporcional a la frecuencia de haplotipos, los guiones entre ellos representan un paso mutacional antes del próximo haplotipo y los puntos verdes indican un haplotipo faltante. PU = Playa Unión, BC = Bahía Camarones, CO = Caleta Olivia, GSJ = Golfo San José, PD = Puerto Deseado, SJ = San Julián, RG = Río Gallegos, EM = Estrecho de Magallanes, TdF = Tierra del Fuego (N = Norte, C = Centro, S = Sur), IM = Islas Malvinas .

Se realizaron pruebas de neutralidad para ambas especies con todas las muestras combinadas, obteniéndose resultados contrastantes. Por una lado, la tonina overa presentó un valor de F_s de F_u negativo y significativo para toda la población (F_s de $F_u = -13,506$; $p < 0,001$; $\alpha = 0,02$), lo que sugiere una posible expansión de la población. Además, la Curva de Mismatch reflejó una distribución unimodal sugiriendo un evento de expansión

poblacional reciente (Fig. 26a), con una bondad de ajuste del modelo que no muestra valores de p significativos ($\alpha = 0.05$): la suma de la desviación al cuadrado ($SSD = 0,004$, $p = 0,479$) y el índice de irregularidad de Harpending's ($r = 0,024$, $p = 0,704$). Por otro lado, el delfín austral presentó un valor no significativo para la prueba de neutralidad de Fu (F_s de Fu = $-5,263$; $p = 0,046$; $\alpha = 0,02$). Además, si bien los estadísticos SSD y r mostraron un buen ajuste al modelo teórico con valores no significativos ($SSD = 0,014$, $p = 0,412$; $r = 0,021$, $p = 0,605$; $\alpha = 0,05$) la distribución real fue bimodal, sugiriendo una población relativamente en equilibrio (Fig. 26b). En ambas especies, la reconstrucción histórica soporta dichos resultados, dado que el análisis de Bayesian skyline reveló, en la tonina overa, una expansión demográfica que comenzó hace unos 15 000 años (Fig. 27a), mientras que en el delfín austral no detectó una variación en el valor estimado del tamaño efectivo de la población (N_e) a lo largo del tiempo y, en consecuencia, una falta de evidencia de expansión poblacional (Fig. 27b).

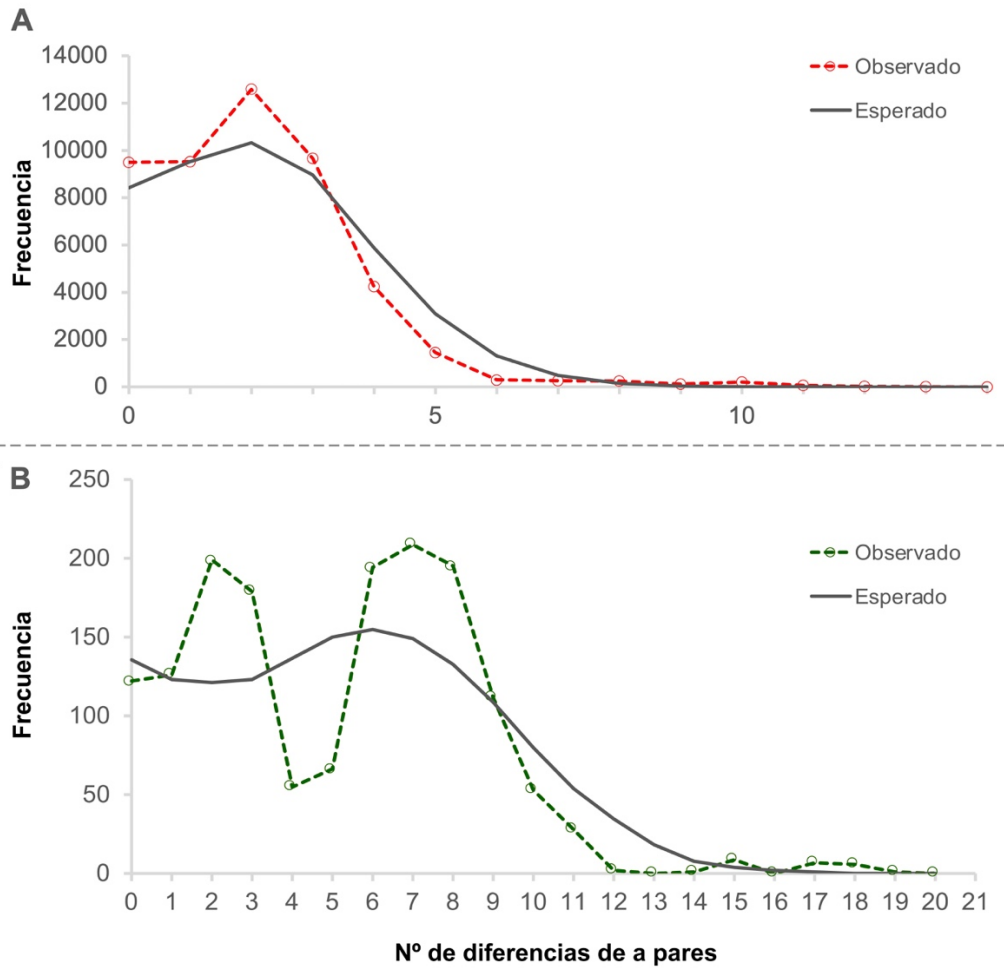


Fig. 26: Análisis de la distribución de Mismatch de acuerdo a un escenario de expansión poblacional de A – tonina overa (*Cephalorhynchus commersonii*) B- Delfín austral (*Lagenorhynchus australis*). En línea discontinua datos observados, en línea continua datos provenientes de la distribución teórica de un modelo de tamaño poblacional en expansión, con un $\theta_0 = 0,09$, $\theta_1 = 30,68$, $\tau = 2,70$ para la tonina overa y $\theta_0 = 0,27$, $\theta_1 = 21,00$, $\tau = 7,34$ para el delfín austral.

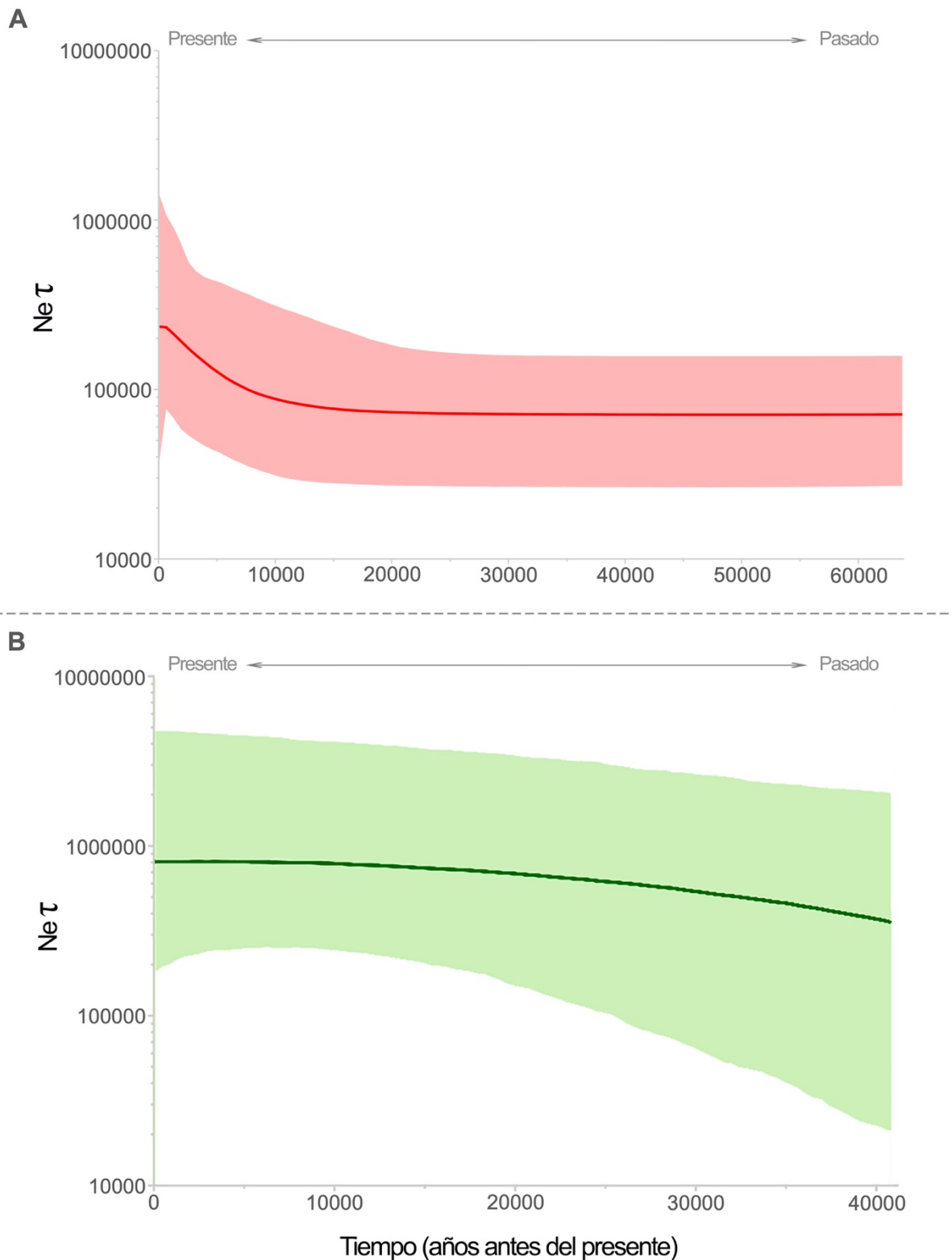


Fig. 27: Gráfico de Bayesian Skyline representando la tendencia demográfica histórica de A – tonina overa (*Cephalorhynchus commersonii*) B- Delfín austral (*Lagenorhynchus australis*). En el eje X se muestran los años calendario antes del presente y en el eje Y los cambios en el tamaño efectivo poblacional (expresado como el producto de Ne y el tiempo generacional τ). La línea sólida es la mediana estimada y el área coloreada corresponde al intervalo de credibilidad basado en el intervalo de densidad posterior más alto del 95%.

En ambas especies, el análisis AMOVA mostró una diferenciación genética significativa entre todas las áreas de muestreo (poblaciones definidas *a priori*), tanto para los valores de F_{ST} como de Φ_{ST} (Tabla 10). Basado en los valores de Φ_{ST} , el análisis indicó, para ambas especies, que la mayor parte de la división de la población (alrededor del 80%) es atribuible a diferencias dentro de las poblaciones; sin embargo, las diferencias entre poblaciones son significativas y representan casi el 20% de la variabilidad. Además, la mayoría de los valores de Φ_{ST} por pares fueron significativos, presentando generalmente mayores valores entre poblaciones alejadas del delfín austral y sin un patrón claro entre las poblaciones de la tonina overa (Tablas 11 y 12). Las tasas de migración calculadas con valores de Φ_{ST} variaron de 0,3 a infinito tanto para la tonina overa como el delfín austral; sin embargo, no se encontró un patrón claro en ambas especies (Tablas 11 y 12). La prueba de Mantel indicó un modelo de aislamiento por distancia significativo para la tonina overa ($R^2 = 0,13$; $p = 0,005$; Fig. 28a) pero no así para el delfín austral ($R^2 = 0,17$; $p = 0,140$; Fig. 28b).

Tabla 10: Análisis molecular de la varianza (AMOVA) a partir de la región control del ADN mitocondrial de la tonina overa (*Cephalorhynchus commersonii*, N = 311, 423 pb) y el delfín austral (*Lagenorhynchus australis*, N = 54, 317 pb) a lo largo de sus distribuciones en el Océano Atlántico suroccidental

Análisis	Fuente de variación	g.l.	Suma de cuadrados	Componentes de la varianza	Porcentaje de la variación	Estadístico	Valor p ($\alpha=0,05$)
<i>Cephalorhynchus commersonii</i>							
Frecuencia de Haplotipos	Entre poblaciones	11	19,18	0,059	14,25	$F_{ST} = 0,142$	<0,001
	Dentro de las poblaciones	299	105,26	0,362	85,75		
	Total	310	124,45	0,411			
Método de distancia: Jukes y Cantor	Entre poblaciones	11	63,42	0,207	19,66	$\Phi_{ST} = 0,196$	<0,001
	Dentro de las poblaciones	299	252,58	0,84	80,34		
	Total	310	316,01	1,05			
<i>Lagenorhynchus australis</i>							
Frecuencia de Haplotipos	Entre poblaciones	3	3,57	0,074	15,11	$F_{ST} = 0,151$	<0,001
	Dentro de las poblaciones	52	21,76	0,418	84,89		
	Total	55	25,32	0,493			
Método de distancia: Kimura 2P	Entre poblaciones	3	7,14	0,156	16,96	$\Phi_{ST} = 0,170$	<0,001
	Dentro de las poblaciones	52	39,73	0,764	83,04		
	Total	55	46,86	0,920			

Tabla 11: Diferenciación genética entre poblaciones pareadas de la tonina overa (*Cephalorhynchus commersonii*) y número de migrantes entre poblaciones (estimado a partir de medidas de estructura genética (Φ_{ST}) para todas las localidades de muestreo) utilizando la región control del ADN mitocondrial (423pb). Los valores de F_{ST} se informan por debajo de la diagonal, mientras que los valores de Φ_{ST} se informan por encima de la diagonal. Valores significativos ($\alpha = 0.05$) se presentan en negrita. PU = Playa Unión, BC = Bahía Camarones, CO = Caleta Olivia, GSJ = Golfo San José, PD = Puerto Deseado, SJ = San Julián, RG = Río Gallegos, EM = Estrecho de Magallanes, TdF = Tierra del Fuego.

		Método de distancia: Jukes y Cantor											
		PU	BC	CO	GSJ	PD	SJ	RG	SM	TdF_norte	TdF_centro	TdF_sur	Chile
Frecuencia de Haplotipos	PU		0,09991	0,11982	0,00365	0,11520	0,31468	0,34382	0,15052	0,37051	0,24077	0,17094	0,33430
	BC	0,10781		-0,01650	0,09502	0,12725	0,34855	0,44135	0,23607	0,45599	0,33390	0,28117	0,40635
	CO	0,10317	-0,02391		0,21241	0,03498	0,42921	0,32652	0,13758	0,32737	0,17091	0,16984	0,31192
	GSJ	0,22078	0,40267	0,32898		-0,01619	0,39781	0,44582	0,12587	0,41155	0,22350	0,19353	0,49742
	PD	0,18749	0,34114	0,24363	-0,04581		0,17594	0,22751	-0,01208	0,26174	0,11364	0,04087	0,20576
	SJ	0,32079	0,44748	0,41296	0,44211	0,28607		0,52741	0,36462	0,49317	0,35426	0,38876	0,56968
	RG	0,16014	0,31209	0,17133	0,25826	0,16183	0,33883		0,17770	0,07666	0,04930	0,11360	-0,03129
	SM	0,21782	0,38624	0,28553	-0,03408	-0,02437	0,39859	0,17083		0,20839	0,04023	-0,00208	0,18887
	TdF_norte	0,17978	0,29709	0,20876	0,17181	0,13316	0,31245	0,10931	0,14945		0,04112	0,15039	0,05849
	TdF_centro	0,14492	0,27680	0,17253	0,05623	0,02952	0,28071	0,06823	0,03381	0,03274		0,01917	0,03477
	TdF_sur	0,12772	0,28625	0,17329	0,08251	0,04454	0,30541	0,06392	0,05278	0,10377	0,02546		0,12684
	Chile	0,17504	0,33876	0,17812	0,27976	0,16374	0,37108	-0,03169	0,17560	0,10673	0,05838	0,06620	
	Número de migrantes	PU		4,50444	3,67278	136,50636	3,84023	1,0889	0,95426	2,82175	0,84948	1,57671	2,42507
BC				Infinito	4,76189	3,42933	0,93452	0,63289	1,618	0,59651	0,99746	1,2783	0,73047
CO					1,85399	13,79218	0,66494	1,03128	3,13423	1,02732	2,42545	2,44388	1,103
GSJ						Infinito	0,75687	0,62152	3,47225	0,71493	1,73712	2,0836	0,50518
PD							2,34187	1,6977	Infinito	1,41031	3,89998	11,73438	1,92998
SJ								0,44803	0,87128	0,51385	0,9114	0,78615	0,37769
RG									2,3138	6,02251	9,64196	3,90143	Infinito
SM										1,89931	11,92765	Infinito	2,14734
TdF_norte											11,65843	2,82479	8,04901
TdF_centro												25,57798	13,87926
TdF_sur													3,44189
Chile													

Tabla 12: Diferenciación genética entre poblaciones pareadas (F_{ST} y Φ_{ST}) y número de migrantes (M_n) entre poblaciones (estimado a partir de medidas de estructura genética (Φ_{ST}) para todas las localidades de muestreo) del delfín austral (*Lagenorhynchus australis*) utilizando la región control del ADN mitocondrial (317pb). Los valores de F_{ST} se informan por debajo de la diagonal, mientras que los valores de Φ_{ST} se informan por encima de la diagonal. Valores significativos de diferenciación genética ($\alpha = 0,05$) se presentan en negrita.

		Método de distancia: Kimura 2P			
		Playa Unión	Bahía Camarones	Tierra del Fuego	Islas Malvinas
Frecuencia de Haplotipos	Playa Unión		0,24189	0,28051	-0,00879
	Bahía Camarones	0,18793		0,62244	0,31581
	Tierra del Fuego	0,21534	0,29534		0,16005
	Islas Malvinas	0,09757	0,10505	0,17246	
Número de migrantes	Playa Unión		1,56703	1,28250	Infinito
	Bahía Camarones			0,30329	1,08321
	Tierra del Fuego				2,62410
	Islas Malvinas				

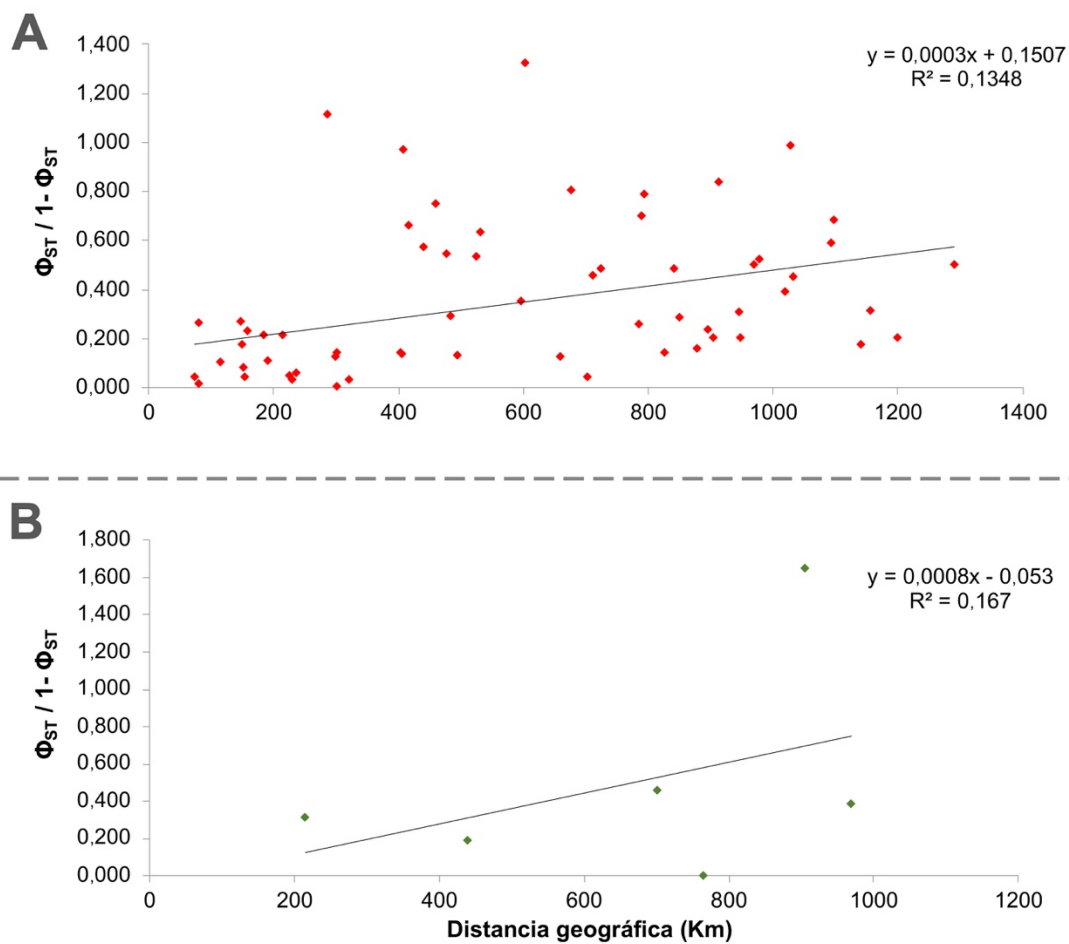


Fig. 28: Prueba de Mantel bajo el modelo de aislamiento por distancia a partir de secuencias de la región control del ADN mitocondrial de A- tonina overa (*Cephalorhynchus commersonii*, N = 311, 423 pb) y B- delfín austral (*Lagenorhynchus australis*, N = 54, 317 pb).

Microsatélites

De los 70 conjuntos de cebadores/microsatélites probados para cada especie, en la tonina overa se amplificaron 30 loci polimorficos con éxito en 53 muestras, mientras que en el delfín austral se amplificaron con éxito 20 microsatélites polimórficos en 28 muestras. No se detectó evidencia de desequilibrio de ligamiento, ni la presencia de alelos nulos. En la tonina overa, dos loci microsatélites mostraron una desviación significativa del equilibrio de Hardy-Weinberg después de un “*false Discovery rate adjustment*” y se eliminaron del análisis. Para el delfín austral, solo un locus microsatélites mostró una desviación del equilibrio significativa, sin embargo debido a que solo fue en una población se conservó en el análisis. Un resumen descriptivo de los loci microsatélites amplificados en cada población de la región centro-norte de Patagonia de ambas especies se presentan en las tablas 1 y 2 del ANEXO II, mientras que la diversidad genética dentro de las poblaciones se resume en la Tabla 13. Para la tonina overa, se detectaron un total de 100 alelos en todos los loci, de los cuales 16 fueron privados y se distribuyeron entre las poblaciones. CCo8 fue el locus más variable con 15 alelos, seguido de CCo52 con 8 alelos. Para el delfín austral, 63 fueron los alelos encontrados en todos los loci, de los cuales 24 fueron exclusivos. Lau30, Lau35 y Lau60 fueron los loci más variables con 5 alelos, seguido de Lau5, Lau28 y Lau52 con 4 alelos. La riqueza alélica total (A_R) por locus osciló entre 1,132 y 8,003 para la tonina overa y entre 1,452 y 3,791 en el delfín austral, mientras que para ambas especies los valores promedios más altos de A_R se encontraron en Caleta Olivia (3,053 y 3,397, respectivamente). En la tonina overa, el promedio de H_o y H_e osciló entre 0,311-0,345 y entre 0,315-0,338, respectivamente; mientras que en el delfín austral varió entre 0,416-0,427 (H_o) y entre 0,338-0,371 (H_e). No se encontraron diferencias significativas en A_R entre las poblaciones de ambas especies (prueba de Kruskal-Wallis, tonina overa: $gl = 3, p > 0,05$, delfín austral: $gl = 1, p > 0,05$).

Tabla 13: Resumen estadístico de los índices de diversidad genética de la tonina overa (*Cephalorhynchus commersonii*) y el delfín austral (*Lagenorhynchus australis*) para 28 y 20 loci microsatélites, respectivamente, por sitio de muestreo. N = tamaño muestral, Na = Nº de alelos, AR = riqueza alélica, Ne = Tamaño efectivo poblacional, I = índice de información, Ho = heterocigocidad observada, He = heterocigocidad esperada, F = índice de fijación. Para cada uno se reporta la media y el desvío estándar (DE), a excepción de Ne donde se exhibe el intervalo de confianza del 95% [IC].

Sitios de muestreo		N	Na	AR	Ne	I	Ho	He	F
<i>Cephalorhynchus commersonii</i>									
Playa Unión	Media	17,857	2,929	2,684	76,7	0,604	0,345	0,338	-0,018
	DE	0,067	0,445	1,559	[32,7-inf]	0,103	0,057	0,051	0,037
Bahía Camarones	Media	13,821	2,786	2,666	94,5	0,603	0,331	0,337	0,035
	DE	0,104	0,350	1,476	[27,0-inf]	0,099	0,055	0,050	0,045
Caleta Olivia	Media	7,000	2,393	3,053	3,2	0,552	0,311	0,315	0,016
	DE	0,000	0,274	1,311	[2,0-11,2]	0,096	0,057	0,052	0,055
Puerto Deseado	Media	14,000	2,679	2,759	30,1	0,582	0,339	0,323	0,005
	DE	0,000	0,326	1,317	[14,8-162,0]	0,098	0,056	0,050	0,040
Total	Media	13,170	2,696	2,414		0,585	0,329	0,328	0,009
	DE	0,372	0,176	1,476		0,049	0,028	0,025	0,022
<i>Lagenorhynchus australis</i>									
Bahía Camarones	Media	20,350	2,900	2,419	11,8	0,680	0,416	0,388	-0,058
	DE	0,342	0,204	0,529	[7,2-20,5]	0,069	0,051	0,040	0,052
Caleta Olivia	Media	5,900	2,200	2,474	4,9	0,599	0,427	0,371	-0,170
	DE	0,069	0,200	0,697	[1,4-inf]	0,092	0,064	0,054	0,051
Total	Media	13,125	2,550	2,429		639	0,421	0,379	-0,110
	DE	1,170	0,152	0,614		57	0,041	0,033	0,037

En ambas especies de delfines, el análisis AMOVA mostró estructuración genética significativa (tonina overa: $F_{ST} = 0,026$, $p < 0,001$; delfín austral: $F_{ST} = 0,063$, $p = 0,008$), presentando en el caso particular de la tonina overa valores significativos de F_{ST} entre las poblaciones geográficamente opuestas (Tabla 14): Playa Unión (43°S) y Puerto Deseado (46°S). El análisis jerárquico de la estructura poblacional mostró 2 poblaciones como escenario más probable para las dos especies (Fig. 29 y 30). Sin embargo, en el caso particular de la tonina overa, esta diferenciación genética no es real debido a la alta varianza, los valores bajos de Delta K y ningún individuo exclusivo de cada población;

sugiriendo, por lo tanto, la existencia de una sola población panmíctica en la especie (Fig. 29). En ambos delfines las tasas de migración contemporáneas fueron bajas ($m \leq 0,2$) entre todas las áreas de muestreo, lo que sugiere la falta de migrantes efectivos entre ellas (Tabla 15). Finalmente, la prueba de Mantel fue significativa lo que sugiere la presencia de aislamiento por distancia entre las regiones de consideradas para la tonina overa ($R^2 = 0,71$; $p = 0,03$; Fig. 31). Para el delfín austral no se pudo realizar dicha prueba dado que solo se contó con dos sitios de muestreo.

Tabla 14: Diferenciación genética entre poblaciones pareadas (F_{ST}) entre poblaciones de la tonina overa (*Cephalorhynchus commersonii*) utilizando 28 loci microsatellite y 53 individuos. Valores significativos de diferenciación genética ($\alpha = 0,05$) se presentan en negrita.

		Playa Unión	Bahía Camarones	Caleta Olivia	Puerto Deseado
Nº de alelos diferentes	Playa Unión				
	Bahía Camarones	0,00264			
	Caleta Olivia	0,02224	0,01019		
	Puerto Deseado	0,05991	0,01954	0,02583	

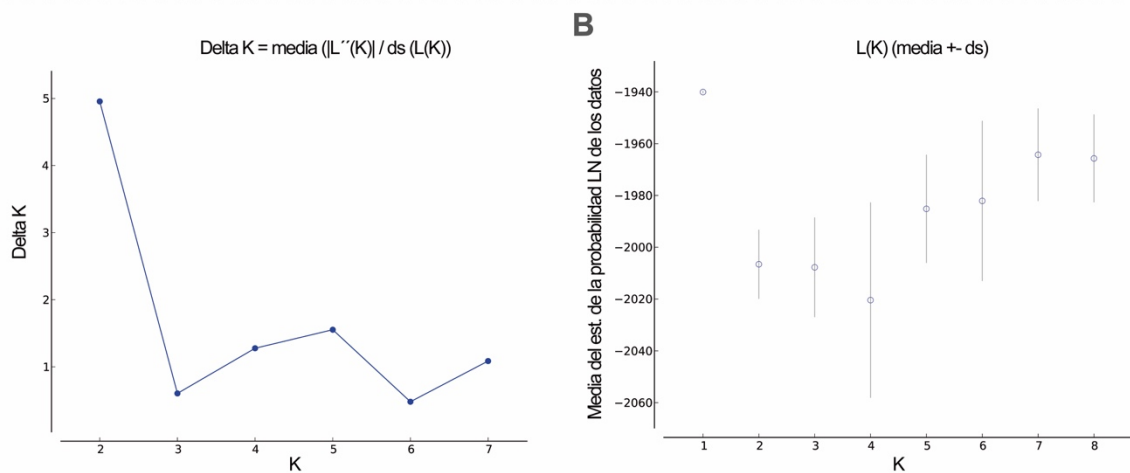
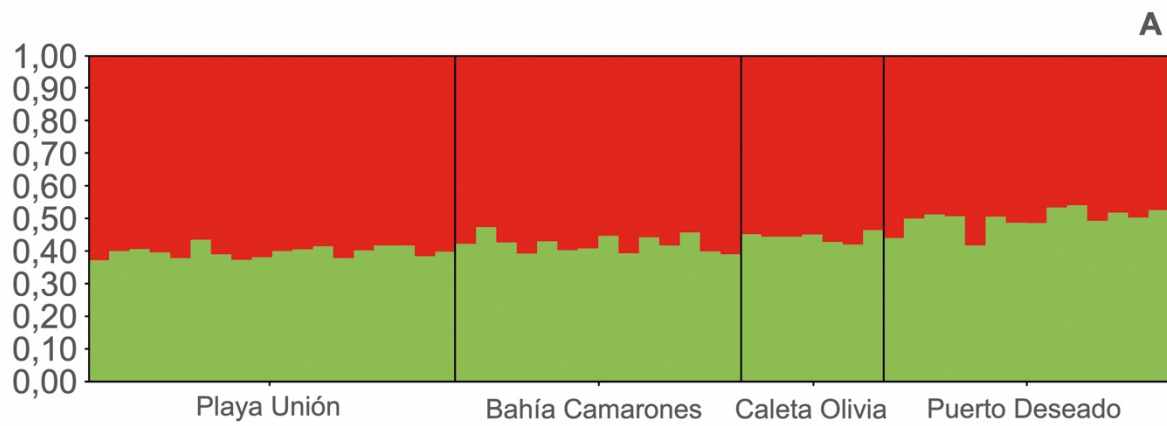


Fig. 29: A- Análisis jerárquico STRUCTURE de la tonina overa (*Cephalorhynchus commersonii*) a partir de 4 sitios de muestreo basado en 28 loci microsatellite y 53 individuos. Cada uno de ellos es representado por una línea vertical, las cuales son particionadas en K segmentos coloreados, donde el largo de cada uno de ellos es proporcional al coeficiente de pertenencia estimado del individuo. B- Gráficos de probabilidad de Evanno y Ln para el análisis Structure que incluyen todas las ubicaciones de muestreo y se generaron utilizando STRUCTURE HARVESTER (Earl 2012).

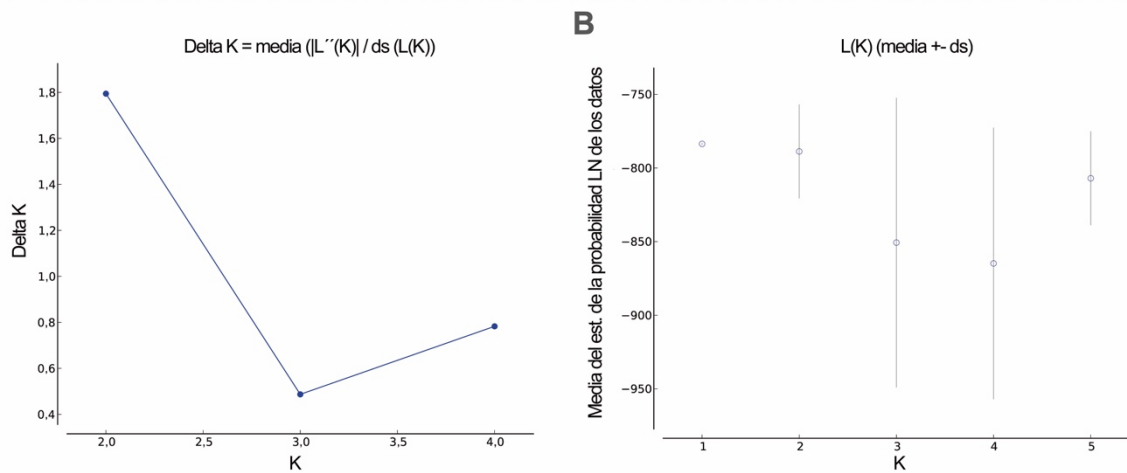


Fig. 30: A- Análisis jerárquico STRUCTURE del delfín austral (*Lagenorhynchus australis*) a partir de 2 sitios de muestreo basado en 20 loci microsatellite y 28 individuos. Cada uno de ellos es representado por una línea vertical, las cuales son particionadas en K segmentos coloreados, donde el largo de cada uno de ellos es proporcional al coeficiente de pertenencia estimado del individuo. B- Gráficos de probabilidad de Evanno y Media del Ln de la probabilidad estimada de los datos para diferentes valores de K.

Tabla 15: Tasa de migración contemporánea expresada como número de migrantes efectivos entre poblaciones estimadas con el programa BAYESASS para la tonina overa (*Cephalorhynchus commersonii*) y el delfín austral (*Lagenorhynchus australis*). Playa Unión (0), Bahía Camarones (1), Caleta Olivia (2) y Puerto Deseado (3).

	Media (SE)	Media (SE)	Media (SE)	Media (SE)
<i>Cephalorhynchus commersonii</i>				
m[0][0]:	0,733 (0,054)	m[0][1]: 0,133 (0,067)	m[0][2]: 0,067 (0,055)	m[0][3]: 0,067 (0,054)
m[1][0]:	0,066 (0,054)	m[1][1]: 0,800 (0,067)	m[1][2]: 0,067 (0,055)	m[1][3]: 0,067 (0,054)
m[2][0]:	0,067 (0,055)	m[2][1]: 0,134 (0,067)	m[2][2]: 0,733 (0,054)	m[2][3]: 0,067 (0,054)
m[3][0]:	0,067 (0,055)	m[3][1]: 0,133 (0,067)	m[3][2]: 0,066 (0,054)	m[3][3]: 0,733 (0,055)
<i>Lagenorhynchus australis</i>				
		m[1][1]: 0,8836 (0,0820)	m[1][2]: 0,1164 (0,0820)	
		m[2][1]: 0,2171 (0,0820)	m[2][2]: 0,7829 (0,0820)	

Las tasas de migración se expresan de la siguiente manera: m[X][Y], probabilidad de que un individuo de la población Y provenga de la población X.

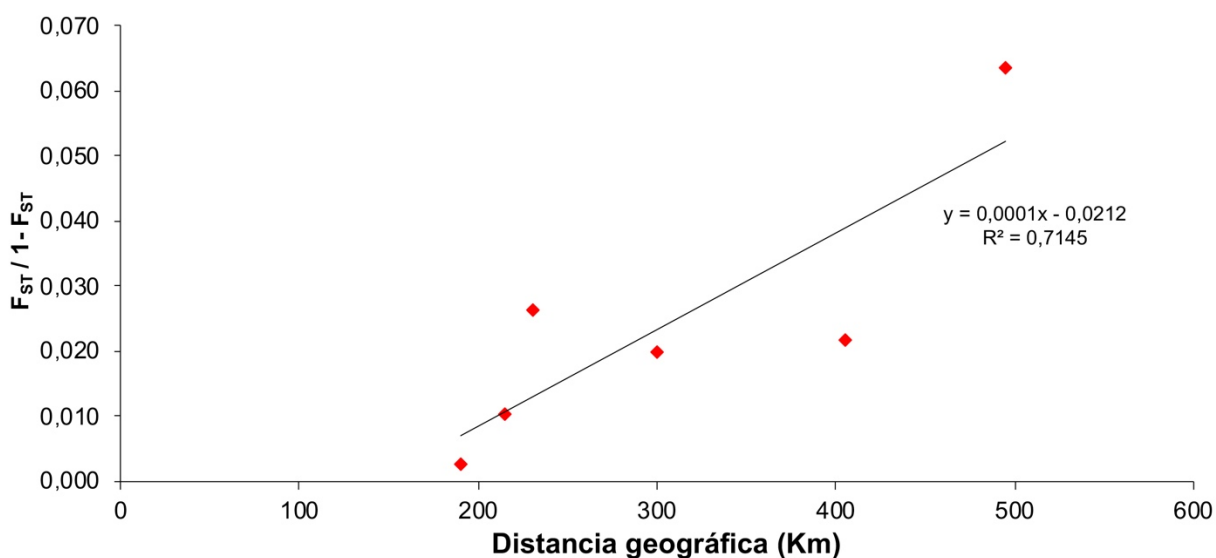


Fig. 31: Prueba de Mantel bajo el modelo de aislamiento por distancia a 28 loci microsatellite amplificados en 53 individuos de tonina overa (*Cephalorhynchus commersonii*).

DISCUSIÓN

En estudios de genética poblacional de mamíferos marinos, se asume que las especies bajo estudio representan una única población genética, con probablemente algún grado de flujo génico entre “poblaciones” predefinidas (Milinkovitch et al. 2002). Sin embargo, los odontocetos costeros (como las especies bajo estudio en esta tesis) son vulnerables al fraccionamiento y aislamiento poblacional, incluso en el corto plazo y a lo largo en un ambiente continuo sin barreras físicas, lo cual es debido probablemente a una alta fidelidad al sitio natal (Pichler & Baker 2000, Pichler 2001). A través del análisis de la región control del ADNmt y de loci microsátélites específicos, en esta tesis se analizó la estructura génica poblacional de dos especies simpátricas y endémicas de delfines con el fin de comprender cómo se distribuye la variabilidad genética a lo largo de sus distribuciones en América del Sur. Los resultados obtenidos, sugieren que la tonina overa no muestra actualmente una estructura poblacional, pudiéndose considerar como una población en panmixia, con filopatría por parte de las hembras y con el flujo génico mediado principalmente por los machos; mientras que para el delfín austral se evidenció una población estructurada en dos demos, con una fuerte fidelidad al sitio y bajo flujo génico entre las mismas.

La variabilidad genética de la tonina overa en el área de estudio se distribuye homogéneamente, contrariamente a lo encontrado para el delfín austral. Como consecuencia, la tonina overa tendría menos posibilidades de que la pérdida de individuos, o incluso de subpoblaciones, tenga un impacto negativo en su diversidad génica. Esta suposición debe ser tomada con cautela, dado que se propone que las subpoblaciones aisladas preservan la variabilidad genética de manera más eficiente que una simple población panmíctica de tamaño similar (Pope 1996). La diversidad genética del ADNmt en la tonina overa es similar a la encontrada previamente para la especie al sur de su distribución (entre 46-56°S, Cipriano et al. (2011) y Pimper et al.

(2010)), mostrando altos niveles de h y bajos niveles de π ; exhibiendo así un gran número de haplotipos pero con pequeñas diferencias entre ellos. La información de diversidad genética en el delfín austral es inédita, mostrando niveles similares a la tonina overa de h , pero con valores de π un orden de magnitud mayor, lo cual indica la presencia de una mayor diversidad de haplotipos. Ambas especies presentan pequeños tamaños de grupo y se encuentran principalmente en hábitats costeros (Cipriano 2018, Dawson 2018). Estas características se comparten con las poblaciones de delfines nariz de botella, *Tursiops truncatus*, en Lagoa dos Patos, Brasil, que mostraron niveles similares de diversidad genética en una población pequeña y altamente filopátrica (Fruet et al. 2014).

Con respecto a la diversidad a partir de los microsatélites, es información inédita para ambas especies ya que se desarrollaron de novo y de manera especie específica, resultando en información génica no antes reportada para ninguna de las dos especies bajo estudio. Las especies poseen índices similares de diversidad genética de loci microsatélite entre sí, pero bajos en comparación con otros estudios en pequeños cetáceos de la región y del mundo (incluido los del mismo género para la tonina overa), los cuales mostraron altos niveles de H_e y H_o (Möller & Beheregaray 2004, Natoli et al. 2006, Natoli et al. 2008, Hamner et al. 2012, Loizaga de Castro 2013, Pérez-Alvarez et al. 2015, Ywasaki Lima et al. 2017, Chen et al. 2020). Si se compara a escala global la información genética del ADNmt, se encuentra el mismo patrón, donde la mayoría de los pequeños cetáceos muestran altos niveles tanto de h como de π . Sin embargo, los resultados encontrados aquí son similares a los reportados para los géneros de las especies bajo estudio (Pichler & Baker 2000 y referencias allí incluídas, Loizaga de Castro et al. 2016b)

La combinación de altos valores de h ($>0,5$) y bajos valores de π ($<0,005$) es característico de especies o poblaciones que sufrieron un cuello de botella poblacional seguido de una rápida expansión demográfica y la consecuente acumulación de

mutaciones (Grant & Bowen 1988). En este contexto, la población de tonina overa pudo haber sufrido en el pasado un proceso de expansión y contracción de sus poblaciones, junto con eventos de glaciación que ocurrieron durante el Pleistoceno (Rabassa et al. 2000, Pichler et al. 2001, Glasser et al. 2004). El crecimiento poblacional y la expansión geográfica en un pasado reciente probablemente causó una rápida diversificación de haplotipos con mínimas diferencias nucleotídicas. La red de haplotipos en forma de estrella que presenta la especie coincide con los resultados de la curva de diferencias pareadas (distribución de Mismatch) y los valores de F_u , sugiriendo una reciente expansión poblacional para la especie. En contraste, la población de delfines australes mostró valores altos de ambas diversidades ($h > 0.5$ y $\pi > 0.005$) lo que apoya que la especie a lo largo de su distribución en el Atlántico suroccidental es una población estable con una larga historia evolutiva, o potencialmente representa un contacto secundario entre linajes diferenciados (Grant & Bowen, 1998).

Al igual que la tonina overa, otros mamíferos marinos de la región también exhibieron una expansión demográfica reciente (Feijoo et al. 2011, Oliveira et al. 2011, Pimper et al. 2012, Crespo et al. 2015, Loizaga de Castro et al. 2016b) probablemente asociada al LGM y al retroceso del hielo marino, alrededor de 15.000 años atrás (como se reporta aquí para la tonina overa basado en el análisis de Bayesian skyline). Durante este fenómeno geológico, se eliminaron las barreras físicas, y ocurrieron cambios de hábitat, tales como cambios en la distribución y abundancia de presas. Estos cambios en la productividad primaria y relacionada a la abundancia de presas jugaron un rol clave en la historia de las poblaciones de algunos delfines costeros. Un ejemplo es el cambio en la demografía histórica de los delfines oscuros, el cual coincide con fluctuaciones en las poblaciones de sus principales ítem presa (Harlin-Cognato et al. 2007). Los mamíferos marinos fueron favorecidos por esos cambios, conduciendo a una repentina expansión demográfica a lo largo de la costa suroccidental del Océano

Atlántico (Pichler et al. 2001, Ponce et al. 2011). El delfín austral probablemente ha tenido una trayectoria de población independiente en comparación con otras especies de mamíferos marinos, donde cualquier cambio pasado en el hábitat u otros recursos (como la abundancia y distribución de presas) no parece haber tenido un impacto importante en el patrón demográfico de la especie. Se ha sugerido que algunas islas del Hemisferio Sur, incluyendo las Islas Malvinas, podrían haber permanecido habitables por lo menos durante la temporada de verano austral durante la última glaciación (Hoelzel et al. 1991). Por lo que pudo haber actuado como un conducto para la dispersión de algunos animales como los delfines australes hacia las Georgias del Sur o Islas Malvinas, por lo que se podría explicar la bimodalidad (población estable) en la curva de diferencias pareadas (curvas de Mismatch) de la población de delfines australes en la costa de Argentina.

La hipótesis de la radiación de *Cephalorhynchus*, basada en el mecanismo de la deriva del viento del oeste (WWD, siglas en inglés), sugiere que la tonina overa es una de las últimas especies en establecer su distribución actual, después de haberse establecido la población de Nueva Zelanda (Pichler et al. 2001). Una vez en América del Sur, los resultados de esta tesis, sugieren que la expansión poblacional de la especie pareció dirigirse hacia el norte a través de las costas del Océano Atlántico suroccidental. Como se puede visualizar en la red de haplotipos, la mayoría de los mismos se concentraron en el sur de Argentina y muchos de ellos se encontraron en casi toda la distribución. Los haplotipos ancestrales (H4 y H5), sugeridos previamente por Cipriano et al. (2011) y Pimper et al. (2010) sobre la especie, debido a su alto predominio y ubicación central en la red, se encuentran a lo largo de toda su extensión geográfica en el Atlántico suroccidental. La amplia distribución geográfica que presenta la tonina overa a lo largo de la costa de Argentina, la ausencia de barreras biológicas para su dispersión y el ser una especie con un origen reciente (Pichler et al. 2001), son elementos que han favorecido la cohesión de la población, promoviendo

una estructura panmíctica. Los análisis de la región control del ADNmt, muestran la presencia de estructura genética entre los sitios de muestro de la tonina overa, algo que no se evidencia en la red de haplotipos, por lo que dicha diferenciación genética podría deberse a la influencia del aislamiento por distancia presentado por la especie sobre el análisis (AMOVA). A pesar de esto, la comparación entre los valores de F_{st} estimados a partir de ambos marcadores entre los sitios de muestreo (mayores en los estimados a partir del ADNmt), sugirieron una fuerte filopatría de las hembras a escala regional. Por otro lado, considerando los microsatélites, los resultados mostraron una falta de estructura genética entre los sitios de muestro del norte, sugiriendo la existencia de un flujo de genes mediado por machos. En general, estos resultados indican que las diferencias genéticas podrían estar dadas por la fidelidad al sitio de las hembras siendo los machos los principales responsables de homogeneizar la población, al menos en las regiones del norte. En los estudios de genética poblacional de mamíferos, comúnmente se asume la existencia de un comportamiento de dispersión sesgado por el sexo, que se basa en el comportamiento filopátrico de las hembras debido a los requisitos necesarios para la reproducción y el cuidado parental (Greenwood 1980, Hoelzel 2009). Además, se espera que la dispersión de los machos mejore el éxito reproductivo y, por lo tanto, se evite la depresión por endogamia (Hoelzel 2009). Aunque esto es mejor conocido en mamíferos terrestres (Greenwood 1980), varios estudios en mamíferos marinos soportan dicha hipótesis mostrando un flujo de genes mediado por machos (Möller & Beheregaray 2004, Chilvers & Wilkinson 2008, Engelhaupt et al. 2009, Hoelzel 2009 y referencias allí incluidas). Sin embargo, no parece ser el patrón común para las especies del género *Cephalorhynchus*. Basado en marcadores mitocondriales, el delfín de Heaviside, *C. heavisidii*, no mostró evidencia de estructura poblacional (Jansen van Vuuren et al. 2002), mientras que el delfín chileno, *C. eutropia*, mostró diferenciación genética solo a través del análisis de microsatélites (Pérez-Alvarez et al. 2015). En contraste, el delfín de Hector, *C. hectori*,

presentó diferenciación genética significativa y flujo génico limitado entre poblaciones utilizando ambos marcadores (Pichler et al. 1998, Hamner et al. 2012). Particularmente con la tonina overa en América del Sur, los análisis genéticos previos a escalas regionales de estructura poblacional basados en ADNmt han encontrado altos niveles de diferenciación genética y han indicado una gran fidelidad al sitio por parte de las hembras (Pimper et al. 2010, Cipriano et al. 2011). Esto se confirmó a través de este estudio, que representó un muestreo más completo de localidades y un estudio extenso de loci microsatélites específicos inéditos para la especie.

La expansión poblacional desde el sur al norte de la distribución, con filopatría de las hembras y flujo génico contemporáneo mediado por los machos, podría estar explicado por un modelo de aislamiento por distancia (IBD, siglas en inglés) observado en nuestros datos. Dicho modelo postula que las distancias genéticas entre poblaciones se correlacionan con las distancias geográficas entre ellas (Wright 1943). Sin embargo, si bien es posible que el mecanismo de IBD no sea el modelo más apropiado para representar las complejidades de las poblaciones naturales, es una hipótesis útil para testear diferentes escenarios. Las tasas migratorias de la tonina overa a partir de ambos marcadores no mostraron el mismo patrón, lo cual implica que las tasas son más altas entre poblaciones cercanas que entre poblaciones distantes. En primer lugar, las estimaciones a partir del ADNmt proveen solo información relativa a la dispersión de las hembras y la mayoría de las tasas fueron bajas ($Mn < 5$) lo cual es consistente con rupturas significativas en la dispersión (fuerte filopatría). En segundo lugar, con respecto a la estimación de los microsatélites, existe un sesgo hacia la distribución norte de la especie. A pesar de ello, este análisis podría estar sugiriendo movimientos más largos que entre poblaciones cercanas, por ejemplo, entre las poblaciones del norte y del sur, donde las poblaciones del sur actúan como fuente (donde la densidad de individuos es mayor) y las del norte como sumidero (con la densidades más bajas) (Pedraza 2008). Aunque no se ha estimado el rango de

distribución de la especie, se reportaron movimientos individuales de hasta 250 km de distancia (Coscarella 2005). Este rango de dispersión es más alto que el rango estimado para otras especies del género (<60 km, (Dawson 2018)), y puede estar explicando la falta de un patrón claro de modelo de estructura poblacional, como el "El Modelo de Migración de a Pasos" ("*stepping-stone model*" en inglés) sugerido como modelo de estructura poblacional para los delfines de Héctor (Hamner et al. 2012). Consecuentemente, la población de toninas overas sobre la costa de Argentina podría responder a un modelo metapoblacional (Hanski & Gaggiotti 2004). En este modelo, las poblaciones de los componentes individuales (llamadas subpoblaciones, poblaciones locales o demos) son discretas (o relativamente discretas) en el espacio con interacciones a través de migración y el flujo de genes (Hanski & Gaggiotti 2004). En la tonina overa, esto se refleja, por un lado, en la alta tasa de migración y los haplotipos únicos presentes en las poblaciones locales basados en el ADNmt, mientras que por el otro lado, en el flujo de genes y la gran población única representada por el resultado de los marcadores nucleares. Por lo tanto, es necesario incrementar el análisis de marcadores nucleares en muestras de localidades del sur para tener una mejor comprensión de la estructura poblacional de la especie.

En cuanto al delfín austral, la especie presenta una fuerte estructura génica poblacional utilizando ambos marcadores moleculares, exhibiendo una fuerte fidelidad al sitio y flujo génico reducido entre las poblaciones estudiadas. En la región, utilizando los mismos marcadores moleculares, se han reportado diferentes estructuras genéticas para varias especies de pequeños cetáceos. Por un lado, un estudio en delfines oscuros (*Lagenorhynchus obscurus*) reportaron diferenciación genética entre individuos que habitan la costa sobre el continente que de aquellos provenientes de Tierra del Fuego (Loizaga de Castro et al. 2016b). Por otro lado, trabajos sobre franciscanas (*Pontoporia blainvillei*) y delfines nariz de botella mostraron una fuerte estructuración, con filopatría de las hembras y escaso flujo

genético contemporáneo, asociado en los delfines nariz de botella a una fuerte dependencia a hábitats locales (Mendez et al. 2008, Fruet et al. 2014). Los resultados obtenidos indican que el flujo génico es un factor importante en la estructura de las poblaciones de las especies bajo estudio a lo largo de su distribución en el Atlántico Sudoccidental. Un amplio flujo génico entre las poblaciones tiende a reducir las diferencias genéticas entre las poblaciones locales, independientemente de la deriva génica o la intensidad de la selección natural. Esto es, si el flujo génico es reducido entre las poblaciones, la selección natural favorecerá la adaptación local y la diferenciación entre ellas (Slatkin, 1991), esto podría explicar el patrón encontrado para el delfín austral; por el contrario, si el flujo génico es extenso, las poblaciones presentarán variación genética homogénea y una escasa diferenciación fenotípica y genotípica, como se evidencia para la tonina overa. Los resultados encontrados para estas últimas especies de delfines del Atlántico suroccidental y para el delfín de Héctor son similares a los reportados en esta tesis para el delfín austral. Todos estos pequeños cetáceos tienen características ecológicas similares, tales como endemismo (franciscana, delfín de Héctor y delfín austral), pequeños tamaños de las poblaciones locales y hábitats aparentemente restringidos.

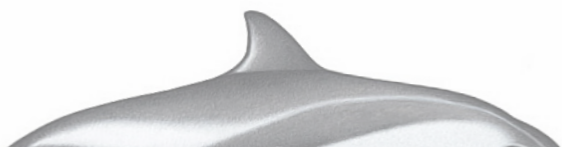
Es de esperarse una diferenciación genética entre poblaciones muy distantes geográficamente, como los son Bahía Camarones y Caleta Olivia respecto de Tierra del Fuego e Islas Malvinas. Sin embargo, a pesar de presentar un tamaño muestral bajo ($N = 2$ en Tierra del Fuego) o un sesgo en el muestreo al norte de la distribución (en el caso de los loci microsatélites), la consistencia de los resultados de los análisis sugiere una fuerte estructura para la especie, incluso entre poblaciones cercanas. Se desconoce cuántas poblaciones de delfines australes existen a lo largo de su distribución y cuál es su rango de dispersión; sin embargo, utilizando modelos espaciales para estimar la abundancia, Dellabianca et al. (2016), encontraron dos zonas de alta densidad que son consistentes con zonas de mediana a alta productividad

primaria, uno en aguas patagónicas centrales y el otro en aguas australes de Tierra del Fuego. Debido a que la especie no evidenció un modelo de aislamiento por distancia, de agregarse individuos en estas regiones provenientes de diferentes sitios de la costa argentina, el flujo génico entre poblaciones de delfines australes parece estar limitado por otros factores que no incluyen a la distancia geográfica.

La especialización en recursos locales fue clave en la diversificación de las especies de cetáceos en el pasado (Slater et al. 2010); varios estudios sostienen la hipótesis que diferentes estrategias de alimentación entre grupos favorecerían la filopatría y conducirían progresivamente a una divergencia genética (Baker et al. 1990, Baker et al. 1993, Hoelzel et al. 1998a, Natoli et al. 2004). En este contexto, dada la historia demográfica relativamente constante y la gran plasticidad en estrategias de alimentación exhibida por la especie a escala regional (ver capítulo II), esta hipótesis podría explicar los resultados de esta tesis, sugiriendo un aislamiento a largo plazo entre las poblaciones de delfines australes que utilizan diferentes hábitats. Sin embargo, se requiere de un mayor muestreo que permita llevar a cabo esta hipótesis, dado que en el presente estudio solo se contaron con dos poblaciones genéticas de las cuales en solo una se pudieron llevar a cabo los análisis de ecología trófica.

CAPÍTULO IV

Consideraciones finales



La presente tesis contribuye sustancialmente al conocimiento sobre la ecología trófica y la genética poblacional de dos especies de delfines endémicas de América del Sur. En cuanto a la tonina overa, si bien se han llevado a cabo este tipo de estudios a escala local, restringidos principalmente al sur de su distribución en el Océano Atlántico Suroccidental (Pimper et al. 2010, Riccialdelli et al. 2010, Cipriano et al. 2011), este trabajo reúne esa información y la complementa constituyendo un salto en el conocimiento de la especie que involucra una mayor escala espacial y temporal. Para el delfín austral, la información reportada aquí es sumamente importante dado que a pesar de ser una especie avistada y conocida del Mar Argentino, hasta el momento había sido escasamente estudiada desde el punto de vista genético poblacional y del uso del hábitat. Asimismo, el uso y desarrollo de loci microsatélites especie específicos mediante la técnica de New Generation Sequencing (NGS) es pionero en Argentina, al menos en lo que respecta a mamíferos marinos, resultando en información genética inédita para las dos especies bajo estudio.

Desde un enfoque conservacionista, son considerados claves los abordajes genéticos y de ecología trófica, a fin de diseñar planes de manejo que minimicen los impactos antrópicos sobre las especies (Laikre et al. 2010, McNeely et al., 1990). Particularmente, en regiones como la del Atlántico Suroccidental donde las mayores amenazas para los mamíferos marinos, entre las que se destacan la pesquería comercial, la explotación y transporte de hidrocarburos (de Haro 2003), la contaminación marina y el cambio climático, han crecido de manera significativa (Crespo et al. 1997, Crespo & Hall 2002, Reeves et al. 2003, Durante et al. 2016, Durante et al. 2020). Por lo tanto, los resultados obtenidos a partir de esta tesis constituyen un conocimiento de gran importancia para la preservación de las especies. Por un lado se obtuvo información sobre el nicho isotópico y las estrategias de alimentación de la tonina overa y el delfín austral, así como también las relaciones tróficas entre ambas especies. Por otro lado, se investigó la distribución de la

información genética, la cantidad de variación génica y la historia demográfica de ambas especies. Las principales conclusiones de este trabajo se enumeran a continuación:

- A pesar de mostrar un reducido solapamiento de nicho isotópico y de encontrarse en el mismo hábitat, ambas especies están segregadas en cuanto al uso de recursos tróficos, favoreciendo la vida en simpatría, permitiendo así la coexistencia.
- Ambas especies de delfines no presentan estrategias de forrajeo diferencial entre sexos. Sin embargo, las hembras de tonina overa exhiben un nicho isotópico más estrecho que los machos, indicando un uso más acotado del hábitat.
- Considerando solo el norte de su distribución, particularmente en la región de Bahía Camarones, puede considerarse al delfín austral como una especie generalista que explota una variedad de recursos; sin embargo, parece estar conformado por pequeños grupos con diferentes estrategias de alimentación. Esto da cuenta de una complejidad ecológica nunca antes descrita para la especie, sugiriendo una alta plasticidad para adaptarse a las condiciones del hábitat y de disponibilidad de presas.
- La tonina overa es una especie que explota principalmente recursos pelágicos de plataforma continental a lo largo de su distribución y del tiempo, exhibiendo un nicho isotópico relativamente pequeño.
- La diversidad genética calculada a través del ADN mitocondrial difirió entre especies en términos de diversidad nucleotídica. La tonina overa presenta un gran número de haplotipos pero con pocas diferencias entre sí, mientras que el delfín austral exhibe además una mayor diversidad de haplotipos.
- La diversidad génica estimada a partir de loci microsatélites es similar en ambas especies, siendo un orden de magnitud inferior en comparación con otros pequeños cetáceos de la región y del mundo.

- Los análisis demográficos fueron congruentes y mostraron dos historias evolutivas diferentes. Por una lado, la tonina overa es una especie en expansión poblacional, proceso que se originó a finales del Pleistoceno con el último máximo glacial. Por otro lado, el delfín austral no presenta signos de expansión poblacional, por lo que sus poblaciones han permanecido relativamente estables durante su reciente pasado evolutivo independientemente de los cambios en el hábitat.
- La población de delfines australes exhibe una estructura genética poblacional que es consistente con ambos marcadores (ADN mitocondrial y loci microsatélites), indicando la existencia poblaciones aisladas genéticamente.
- La población de toninas overas presenta una población panmíctica, con fidelidad al sitio por parte de las hembras y flujo génico mediado por los machos, al menos, esto último, al norte de su distribución. Esto se evidenció en los mayores valores de F_{ST} estimados a partir del ADNmt y en la falta de diferenciación genética a través de los loci microsatélites.
- La condición de panmixia no significa necesariamente que la especie deba considerarse como una unidad de manejo única. Se puede inferir que la tonina overa se estructura como si fuera una metapoblación (filopatría por las hembras), por lo que cualquier impacto a nivel local podría alterar la dinámica de las poblaciones y generar aislamiento entre ellas. Teniendo en cuenta los efectos provocados por las fluctuaciones climáticas pasadas y en un escenario de cambio climático actual, las alteraciones en la temperatura de la superficie del mar podrían producir cambios en el hábitat, en la disponibilidad de presas y afectar la estructura poblacional de la especie. Por lo tanto, se recomiendan futuros estudios con marcadores con una tasa de mutación más rápida que incluyan toda la distribución de las especies para obtener una mejor comprensión de cómo se distribuye la información genética y cómo los distintos

procesos climáticos y antrópicos pueden condicionar a las especie de pequeños cetáceos bajo estudio.

- A la luz de los resultados obtenidos de la ecología trófica y la genética poblacional de ambas especies, la integración de ambas herramientas de estudio no pudo llevarse a cabo, por lo que la última hipótesis planteada en la presente tesis no se ha podido contrastar. Por un lado, la tonina overa no exhibió estructura poblacional, al mismo tiempo que presentó una misma estrategia de forrajeo a lo largo de su distribución y el tiempo, es decir que las predicciones esperadas bajo la hipótesis no se observarían en la especie bajo estudio. La amplia disponibilidad de presas que resulta en un habito alimenticio estable a lo largo del tiempo refleja un aprovechamiento de todo el espectro pelágico del mar Argentino por parte de la tonina overa. Estos resultados también respaldan la falta de estructura genética poblacional, donde la especie no encontraría barreras al flujo o restricciones en el uso del hábitat que promuevan la diferenciación genética. Por otro lado, si bien el delfín austral mostró una diferenciación genética fuerte entre las poblaciones analizadas, solo en una de ella se pudo realizar los estudios de isótopos estables. Por lo tanto, se recomienda aumentar los análisis de ecología trófica de la especie en el resto de su distribución que permitan integrar ambos enfoques y poner la prueba la hipótesis planteada.
- Finalmente, considerando todos los resultados y con base en el principio de precaución, recomendamos que las áreas de muestreo aquí analizadas para la tonina overa y el delfín austral sean consideradas como unidades de manejo únicas, donde futuras evaluaciones e informes técnicos las consideren de manera independiente con el fin de priorizar la conservación y preservación de las especies.

ANEXO I

Tabla 1: Estimaciones del área de la elipse estándar Bayesiana (SEAB) para cada especie, discriminando por grupo de alimentación (GA) en *Lagenorhynchus australis* y por localidad (PU = Playa Unión, BC = Bahía Camarones, GSJ = Golfo San Jorge, PD = Puerto Deseado) en *Cephalorhynchus commersonii*.

	<i>Lagenorhynchus australis</i>			<i>Cephalorhynchus commersonii</i>					
	Piel			Piel				Hueso	
	GA1	GA2	GA3	PU	BC	GSJ	PD	PU	GSJ
Min.	0,986	1,108	2,893	4,006	0,756	0,518	4,515	3,146	0,748
1st Qu.	1,534	1,712	6,177	5,603	1,302	0,935	5,598	5,098	1,260
Mediana	1,926	1,936	8,583	6,950	1,553	1,107	6,532	6,724	1,615
Media	2,008	2,061	9,372	7,071	1,613	1,261	6,981	7,511	1,460
3rd Qu.	2,356	2,383	10,717	8,379	1,859	1,468	7,686	8,584	2,099
Max.	3,762	3,998	24,018	12,543	3,133	3,304	14,673	14,673	5,506

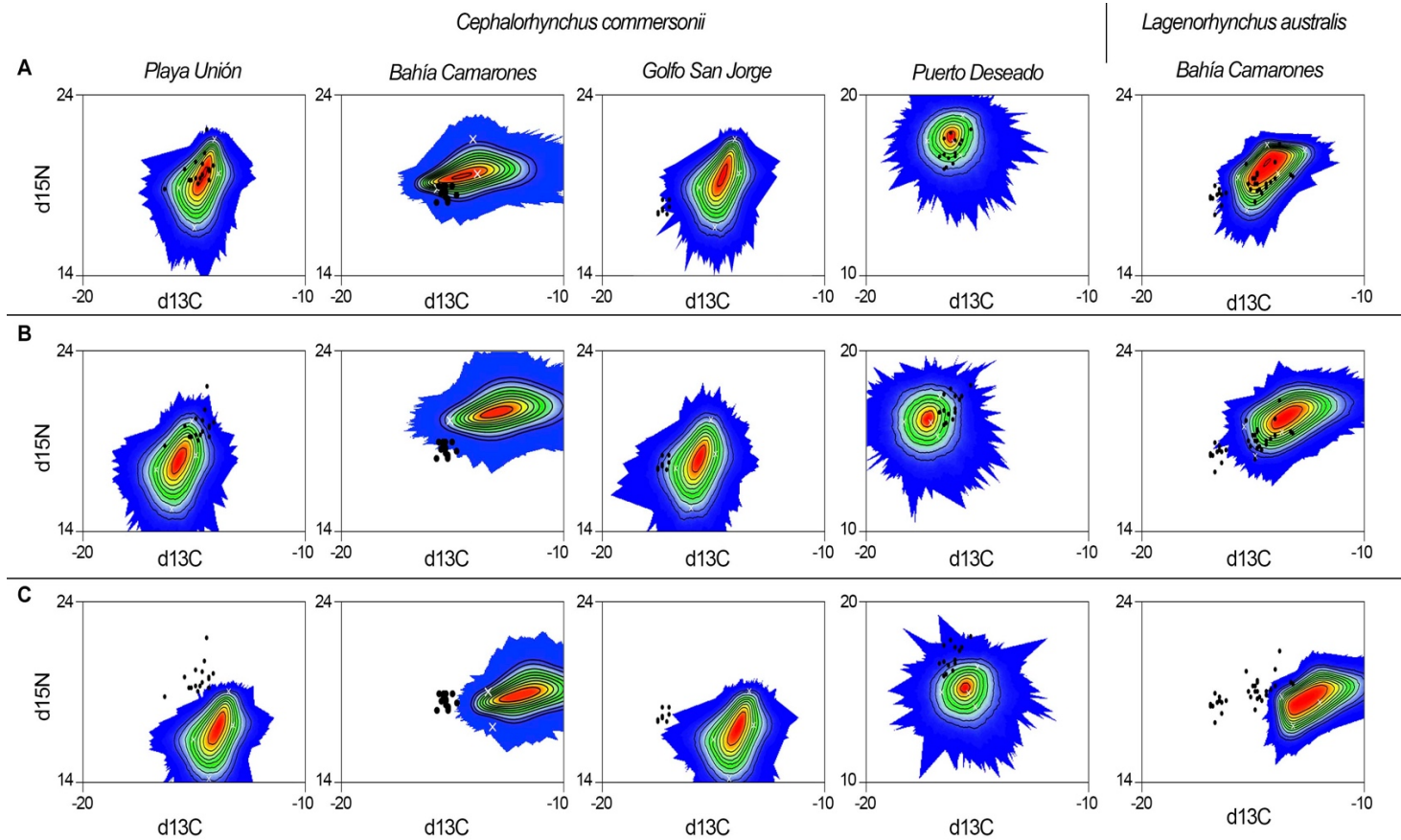


Fig. 1: Valores isotópicos ($\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$) para muestras de piel de la tonina overa *Cephalorhynchus commersonii* y el delfin austral *Lagenorhynchus australis* (puntos negros) y los valores isotópicos promedios de las presas (cruces blancas), aplicando diferentes TDF (A - Browning et al. 2014, B - Giménez et al. 2016, C - Caut et al. 2011). En colores se muestra la región de mezcla, el contorno de los círculos representa la probabilidad de contribución a la dieta que varía entre 0-1, siendo los colores fríos menos probables y los cálidos más probables. Los contornos de probabilidad se dibujan cada 10%.

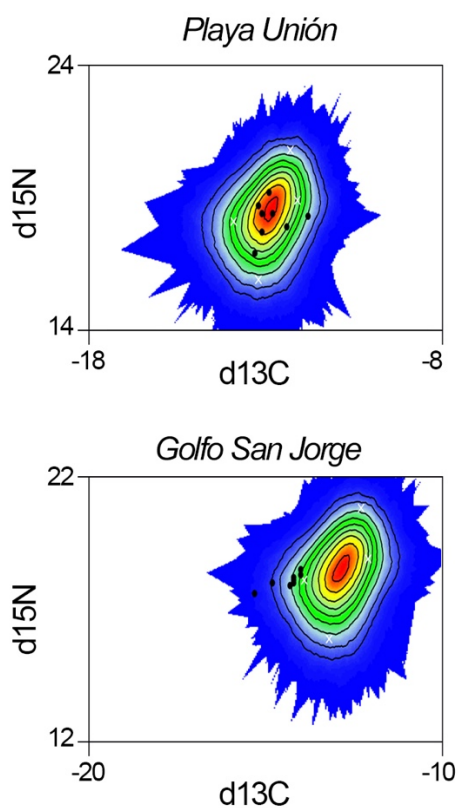


Fig. 2: Valores isotópicos ($\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$) para muestras de hueso en *Cephalorhynchus commersonii* con el TDF reportado por Toperoff (2002). Se muestran las posiciones del consumidor (puntos negros) y las señales promedio de las presas (cruces blancas). En colores se muestra la región de mezcla, el contorno de los círculos representa la probabilidad de contribución a la dieta que varía entre 0-1, siendo los colores fríos menos probables y los cálidos más probables. Los contornos de probabilidad se dibujan cada 10%.

Tabla 2: Pruebas de diagnostico usadas en los modelos de MixSIAR para ambas especies de delfines y tejidos. Localidades (Loc): PU = Playa Unión, BC = Bahía Camarones, GSJ = Golfo San Jorge, PD = Puerto Deseado

	Tejido	Loc	Nº de variables	Gelman-Rubin			Geweke		
				Variable >1,01	Variable >1,05	Variable >1,1	Variables fuera de la Cadena 1	Variables fuera de la Cadena 2	Variables fuera de la Cadena 3
<i>L. australis</i>	<i>Piel</i>	BC	49	0	0	0	1	10	4
		PU	30	0	0	0	0	0	1
<i>C. commersonii</i>	<i>Piel</i>	BC	28	0	0	0	0	0	6
		PD	29	0	0	0	2	0	0
		PU	22	0	0	0	1	0	4
	<i>Hueso</i>	GSJ	22	0	0	0	3	9	0

Tabla 3: Resultados de los modelos de MixSIAR a partir de muestras de piel y hueso de *Cephalorhynchus commersonii* por localidad.

		Media	DE	2.5%	5%	25%	50%	75%	95%	97.5%
P I E L	Playa Unión									
	<i>Pleoticus muelleri</i>	0,174	0,129	0,008	0,016	0,073	0,148	0,246	0,422	0,489
	<i>Patagonotothen ramsayi</i>	0,381	0,113	0,144	0,183	0,305	0,389	0,461	0,557	0,579
	<i>Merluccius hubbsi</i> <30 cm	0,318	0,119	0,085	0,115	0,237	0,324	0,400	0,507	0,539
	<i>Illex argentinus</i>	0,127	0,083	0,006	0,012	0,060	0,118	0,181	0,282	0,312
	Bahía Camarones									
	<i>Pleoticus muelleri</i>	0,106	0,072	0,005	0,009	0,046	0,099	0,154	0,242	0,268
	<i>Patagonotothen ramsayi</i>	0,084	0,060	0,004	0,007	0,036	0,074	0,123	0,196	0,222
	<i>Merluccius hubbsi</i> <30 cm	0,563	0,118	0,325	0,366	0,487	0,563	0,640	0,759	0,795
	<i>Illex argentinus</i>	0,247	0,089	0,079	0,104	0,185	0,245	0,305	0,395	0,423
	Puerto Deseado									
	Peces pequeños pelágicos	0,497	0,212	0,067	0,120	0,347	0,518	0,659	0,807	0,854
	<i>Patagonotothen ramsayi</i>	0,154	0,100	0,011	0,020	0,076	0,141	0,215	0,342	0,388
	<i>Merluccius hubbsi</i> <30 cm	0,157	0,110	0,007	0,014	0,069	0,137	0,226	0,364	0,410
	<i>Calamares</i>	0,192	0,135	0,012	0,021	0,088	0,167	0,271	0,448	0,505
	H U E S O	Playa Unión								
<i>Pleoticus muelleri</i>		0,272	0,154	0,022	0,041	0,152	0,262	0,380	0,541	0,592
<i>Patagonotothen ramsayi</i>		0,217	0,120	0,017	0,032	0,122	0,210	0,302	0,427	0,462
<i>Merluccius hubbsi</i> <30 cm		0,234	0,135	0,020	0,036	0,131	0,223	0,320	0,474	0,523
<i>Illex argentinus</i>		0,278	0,118	0,051	0,082	0,194	0,277	0,360	0,472	0,509
Golfo San Jorge										
<i>Pleoticus muelleri</i>		0,105	0,096	0,003	0,007	0,032	0,076	0,150	0,300	0,651
<i>Patagonotothen ramsayi</i>		0,095	0,074	0,004	0,008	0,037	0,078	0,134	0,240	0,282
<i>Merluccius hubbsi</i> <30 cm		0,639	0,192	0,191	0,274	0,520	0,672	0,787	0,894	0,922
<i>Illex argentinus</i>		0,161	0,106	0,009	0,020	0,077	0,147	0,224	0,360	0,410

Tabla 4: Resultados de los modelos de MixSIAR a partir de muestras de piel y hueso de *Lagenorhynchus australis* por grupo de alimentación (GA).

	Media	DE	2.5%	5%	25%	50%	75%	95%	97.5%
GA 3									
Peces bentónicos	0,374	0,158	0,026	0,055	0,272	0,413	0,493	0,575	0,605
Crustáceos decápodos	0,245	0,210	0,007	0,013	0,069	0,173	0,397	0,650	0,713
Peces demersales bentónicos	0,073	0,064	0,002	0,005	0,023	0,056	0,105	0,206	0,239
Peces pelágicos	0,139	0,069	0,032	0,045	0,088	0,130	0,180	0,268	0,296
Calamares	0,169	0,082	0,035	0,048	0,104	0,163	0,227	0,311	0,343
GA 2									
Peces bentónicos	0,111	0,057	0,013	0,022	0,067	0,109	0,150	0,208	0,225
Crustáceos decápodos	0,136	0,094	0,004	0,008	0,058	0,123	0,201	0,311	0,342
Peces demersales bentónicos	0,060	0,062	0,001	0,002	0,015	0,039	0,087	0,186	0,228
Peces pelágicos	0,410	0,108	0,168	0,217	0,348	0,419	0,483	0,570	0,601
Calamares	0,284	0,094	0,097	0,136	0,223	0,279	0,343	0,446	0,480

ANEXO II

Tabla 1: Caracterización de los 70 loci microsatélites diseñados para la tonina overa (*Cephalorhynchus commersonii*) incluyendo el nombre del locus, secuencia del cebador, temperatura de unión (Ta), motivo repetido (MR), Nº de alelos observados (Na), heterocigocidad observada (Ho) y esperada (He), Nº de individuos amplificados exitosamente (N), y clasificación del microsatélite como: P = polimórfico, M = monomórfico, NA = no amplificó.

LOCUS	Secuencia cebador 5'-3'	Ta	MR	Na	He	Ho	N	Tamaño	
CCOM1	F:TGTGAGGACAGAAGCAGAGG R:GCAGCATGGCATCTTCAAAC	59	(AG)10	2,000	0,449	0,460	53	60-62	P
CCOM2	F:GGAAGGGGAGGTAGAGAACGAC R:CTTTAGGGCTGGAGGTTCAAAG	60	(AG)10						M
CCOM3	F:GAAACATGGATGCCCTGCC R:TGTCTTTCTCTGCCACCC	60	(AG)13						M
CCOM4	F:TGGGAAGTATTGTCTCACCAC R:GGCCCGATGTCAAGATTCTC	59	(AG)10	2,250	0,421	0,349	53	65-69	P
CCOM5	F:GCCTAACAGACTTGACACACC R:GCGTGCTTGCGTGCTAC	60	(AC)14	4,250	0,645	0,631	53	65-73	P
CCOM6	F:TTGGGTAGCAGAACTGGACG R:ACAATAGTGAGAGGCCCGC	60	(AC)10						NA
CCOM7	F:TTTAGGTCACATAGGCACATCC R:GGCAGCTCTTGTATGCGTG	59	(AC)12						NA
CCOM8	F:CAGATGCCAGATGAGTACGTG R:CTTCTTAGACCAGCCTGTGAC	59	(AC)15	9,750	0,853	1,000	53	59-99	P
CCOM9	F:CCCGCAAAGCCCATAACC R:GGTTATAGGTGTAGTGTGGG	60	(AC)13						NA
CCOM10	F:ACAGGTAATCTCCAAGGAAGG R:AAGGTGCTAAGACCCAAACG	59	(AG)9						M
CCOM11	F:GGCCCTGGAGAATGAAAGAC R:AGGGAGATCAGAAGAGTTGGG	59	(AG)8	1,250	0,017	0,018	53	74-76	P
CCOM12	F:GTGTCACAGAGGAATGTCAACC R:ACGCAGACACACGTTAAGC	60	(AC)13	2,500	0,483	0,423	53	73-77	P
CCOM13	F:GAAGCCAGCCTGAGTGTATG R:TGCTTCCAGGAATTTCTCTCC	59	(AC)8						NA
CCOM14	F:AGAGTGTGTGAGTGCGGAC R:CTCTCCCGAGCAGAGTGAC	60	(AC)13						NA
CCOM15	F:TCCTGCCTTCTCACACCTC R:GGGTGGAGGAATGGACATTG	60	(AC)13	3,000	0,331	0,363	53	77-89	P
CCOM16	F:TAACCAACCCACAGCATCC R:GGAGAGAGTTCAAGCAAGTGTC	60	(AC)14	4,250	0,588	0,577	53	78-96	P
CCOM17	F:AGTCTGTCTCCATGGCTCC R:TGGCCCTAAATGCAATGACTG	59	(AG)10	2,000	0,345	0,365	53	76-78	P
CCOM18	F:CCCATGCAACAGTCATCACC R:TCCTCTCTTGATAACCCTGCTG	60	(AC)10						M
CCOM19	F:TCGTGGGAGGTAGGGTAAGG R:GGGAGCTAAGTCAGAGAAATGC	60	(AC)10	1,500	0,027	0,028	53	79-83	P
CCOM20	F:GACCCTCATCGTGCTTCAAG R:ACAGCCAACACCAGAGTACG	60	(AC)10	1,500	0,050	0,054	53	79-81	P
CCOM21	F:GTACCTGAAACTGCACGC R:TTTCTGCCAGATACCCAAGTC	59	(AC)17	2,750	0,302	0,113	53	78-92	P*
CCOM22	F:TCTCAGTTCAGGGTGTACGG R:CATGGACAGATACACAGTGGG	59	(AC)8	1,750	0,122	0,107	53	80-86	P
CCOM23	F:CGGTGTTGTTGAGATTGAGG R:CATGGGCAGACAGAGACATC	59	(AC)18						NA
CCOM24	F:GCAAAGACCTTAGTTCTGCAC R:ACATTTTCATACCACCACGCAG	59	(AC)15	3,750	0,636	0,712	53	83-91	P
CCOM25	F:GCAGTGTGGGCAGAATGTG R:GATACCCGGCTCCTTTCTC	60	(AC)11	1,750	0,091	0,098	52	91-93	P

CCOM26	F:GTGGAGAGCAGCAATTTGAAG R:GCACAGCTTCAAGACAAGGC	60	(AC)19							NA
CCOM27	F:CCTGCTCTCAAGTCTAGGCC R:TGACTCCGTTTGACAAGTG	60	(AC)20							NA
CCOM28	F:AGTCCCTGGTTCTCTCTGATAC R:AGGCTTATCTGGAAGTGGTAGG	59	(AAT)11	2,000	0,454	0,234	52	82-91		P
CCOM29	F:TGGTGCTTGGTATATGGAGGG R:GGAGCAGAGAAGGCATTGAG	60	(ATC)10	1,750	0,078	0,083	52	94-100		P
CCOM30	F:TGTCTCTACCTGCTTCCCTG R:CAGCGTGCATGAGTGAAGAG	60	(AGC)9							M
CCOM31	F:ACTGCAACGAAGACCCAATG R:TCACTCTGTCAACTGTGCCC	60	(AAT)9	3,000	0,476	0,464	53	84-96		P
CCOM32	F:GGATTGCTGACTCCCAAACC R:ATCTTGGCTTGAGGTCTGGG	60	(AAC)8							M
CCOM33	F:ACATCAAGGACCTGGAGAGC R:GAAATCGGCAGCTCACCTTC	60	(AGC)8							M
CCOM34	F:AGGGCTTGAATCCGTGTCC R:ACAACAGTGAGAGGCCCG	60	(AAC)9							NA
CCOM35	F:AACGGGAGAGGTCACAACG R:AGAGGTGAAAATTGACATGCG	60	(AAT)10							NA
CCOM36	F:TTAACGGTGCTCCCTGTGAC R:TATTGCTGTGGTTGCTGTCC	60	(ATC)14							NA
CCOM37	F:TGACAGAGATGGTGATGACGG R:GACCAGGGTACAGAGCTGAC	60	(ATC)9							NA
CCOM38	F:ATCTTGGCTTGAGGTCTGGG R:GGATTGCTGACTCCCAAACC	60	(AAC)8							M
CCOM39	F:ACAAGAGTGAGAGGCCCATG R:ACAGTGGGATGTCAAGCAC	59	(AAC)9							NA
CCOM40	F:AGGCGTACTCTCAACCACTG R:TCCAGGCTTTCTACACCAGC	60	(AAG)13							NA
CCOM41	F:GACGGGATGCACATATTGGC R:GGAGGAGGAATGTGCCAAAG	60	(AGC)8	1,250	0,017	0,018	53	90-93		P
CCOM42	F:GGTGCCCAAGAAAGAGTGTG R:GCTTTCCTTGCTCCTCTGAC	60	(AGC)14							NA
CCOM43	F:CCACATGCTTTCCTTGCTCC R:CCAAAGCAGAAGGAACGGC	60	(AGC)8							NA
CCOM44	F:ACAGTGAGAGGCCATGCATAC R:TTCAAAGTTAGGAGCTGGGC	59	(AAC)8	2,000	0,128	0,103	53	105-114		P
CCOM45	F:GCATTTCTAGCAACCCAGGC R:TATTCCCTTCTGCCCTCACGC	60	(AGC)11	3,000	0,456	0,492	53	108-129		P
CCOM46	F:GAGAGGCCCGCGTAAACAC R:TGCCCATTCCTAACTGGTGTG	60	(AC)12							NA
CCOM47	F:TCGAGAAGCTTGGGTGTGAG R:CATTGACGCTCGGGTGAAC	60	(AC)11							NA
CCOM48	F:CCAACATGCCCGAATCAAAC R:GGCGGTGGTGATTGTATTG	58	(AC)18							NA
CCOM49	F:AGGCCTCAGAGACCTTACAG R:AGCTGAAACTTGTCATAGGG	59	(AG)11	3,000	0,539	0,504	53	95-99		P
CCOM50	F:GTCCAGACACCTCAAATGGAAG R:AGACCAGGAATCCAAGTGACTC	60	(AC)12	1,500	0,043	0,046	53	95-97		P
CCOM51	F:GTTGATCTCACCCTGCCAG R:GCTATGCCAGAGACAGAC	59	(AC)10	2,000	0,489	0,480	53	95-97		P
CCOM52	F:TGTTACAGCCATTCCAATCC R:CCTTCTCCCTAAACGCACAC	59	(AG)17	5,000	0,634	0,687	53	87-107		P
CCOM53	F:GGCCACTCTGTATGCATGTC R:AGCCTCTGTCTCCTATCATTGG	60	(AC)18							NA
CCOM54	F:GGCACCTTATCATTCCAACAG R:GCAGAAGTCCCTCCACCTC	60	(AC)18	5,000	0,675	0,801	51	93-103		P
CCOM55	F:ACACAAGACTTAGCTCCAAGG R:CCCACCTCTCCTCCTTACC	59	(AC)18							NA

CCOM56	F:GGAAGGGCAAAGAAGAGGTG R:TTTCCCCTACCGACTCC	60	(AC)10	1,750	0,094	0,065	52	97-99	P
CCOM57	F:GTGTTCCCAAGAGAATGAGGC R:AAGTGAGAAGGGCAGGAAGG	60	(AG)18						NA
CCOM58	F:CCCACCAGACCCAACTCTAAG R:CACGAGCAACTTACTTTACTGG	59	(AC)18						NA
CCOM59	F:TCATTCCACAAACACGTATGGG R:CTGAAAGAGAGCAGGCC	59	(AC)14						NA
CCOM60	F:CACTGCCCACGTAGAACATG R:CATGAAGGACAGCAAGCCAG	60	(AC)13	3,000	0,239	0,190	48	91-97	P*
CCOM61	F:GGCATGAGTTGGAGAGTGTG R:TGTGAAATTCAGGTGGGAAAGC	60	(AC)15	1,500	0,028	0,029	50	91-97	P
CCOM62	F:TCGTGACCTTCCCTAAACCC R:CTTAACGCCATCAGAGTATCCC	59	(AC)16						NA
CCOM63	F:ACAACAGTGAGAGGCCCG R:TAAGCTCTGGGATGTGTGGG	60	(AC)9						NA
CCOM64	F:GCCATGCCTCACCTCATT R:TGACCTGAAATGTTGGCACG	60	(AC)18						NA
CCOM65	F:AGGTGCCAGGACTTAGACAG R:TGATTAGGATGTAGGGCGGG	59	(AC)8						M
CCOM66	F:GCAACATTTGGACCCAGGAC R:AGGTGGTTAAGAGACAGGGTG	60	(AC)13						NA
CCOM67	F:GCACTGGAGCTGGGTTC R:TGTATCAACTTCCCTCACACC	59	(AC)18						NA
CCOM68	F:GCCTAGATGTCTGCAGGATG R:TATTGCCAGCGATGTGAGTG	59	(AC)9						NA
CCOM69	F:AGGAGTGTGAGCAGTTGTG R:TGGAGCCTCTTACCTTACCAC	60	(AC)10	1,250	0,017	0,018	53	95-97	P
CCOM70	F:CCCTTCAACACCAATCTCTCC R:TGGACCGTGAACCTCAGCTC	60	(AG)10						M

Tabla 2: Caracterización de los 70 loci microsatélites diseñados para el delfín austral (*Lagenorhynchus australis*) incluyendo el nombre del locus, secuencia del cebador, temperatura de unión (Ta), motivo repetido (MR), Nº de alelos observados (Na), heterocigocidad observada (Ho) y esperada (He), Nº de individuos amplificados exitosamente (N), y clasificación del microsatélite como: P = polimórfico, M = monomórfico, NA = no amplificó.

LOCUS	Secuencia cebador 5'-3'	Ta	MR	Na	He	Ho	N	Tamaño	
LAUS01	F:AAGATCCCAGAAGCCGAGTG R:TGGAAGTTTAAGGGTGTGGC	60	(AG)8						NA
LAUS02	F:CTTCCCAGGACAGCTCTGC R:CATCCGGGTGTTGGTTGG	60	(AC)10	1,500	0,188	0,250	28	99-101	P
LAUS03	F:GGTGATTCTCCAATGTAGGTGC R:GCAGGACCTAGGCATTTCATC	59	(AT)11	2,500	0,385	0,350	26	67-95	P
LAUS04	F:TTTGCATTGAATCACTGAGCG R:ATGCATAGCCTATACCCACAC	58	(AC)9						NA
LAUS05	F:GATGCGTCTCTCAGCTTCTG R:CACGGCATGGAATCAACAGG	60	(AC)15	3,500	0,665	0,858	23	89-93	P
LAUS06	F:AGGTATCTGTCTCACTGCCC R:CCTACTTGCCACTACTCGGG	60	(AC)8						M
LAUS07	F:GCAATTTAAGAGCTGCCAC R:TTCAACTACGTGCCTGTCTG	59	(AT)10						M
LAUS08	F:GGCTGTGAATTGAGTCCCAG R:TCTGTGACACTCTGCACTCG	60	(AC)10						NA
LAUS09	F:AACATAAAGGAAAGAAACCGGC R:TGTGAGTGTGGGAAGGATAAAG	58	(AC)10						NA
LAUS10	F:TGTGCTGGTATAGGCTGTGC R:GCTGTGTAACAACGCAACAC	60	(AC)10						NA
LAUS11	F:GACGAAGACCCAATGCAGC	60	(AT)9						NA

	R:ACTAGTAATGGCCTGACAATGC									
LAUS12	F:GTCTTCAGGGAAAGCAGCAC R:CGTGGAGGTGAAAGGTGTG	59	(AC)11	2,500	0,294	0,348	28	98-104	P	
LAUS13	F:CACTGAGACCCAATGCACAG R:GTGTATGTCTGCGAGCTTGG	60	(AC)10						NA	
LAUS14	F:TGATCCAAGGCTAAATCGTGTG R:AGGCCTCTGTCCATGTTTAC	60	(AC)13						NA	
LAUS15	F:ACAGAAGGATGGTGCCGG R:GGCTCACAGAGGTCAATTTGG	60	(AG)12	1,500	0,150	0,184	25	90-92	P	
LAUS16	F:GCCATTCCATGTCATTGCTC R:CATCCAGCGGTCTTGGGTAG	60	(AC)18						NA	
LAUS17	F:TCAGAGTGTGACTTCCAAGAC R:ATAACAGGGCAGCGGGTTTC	60	(AG)10						NA	
LAUS18	F:CCCAATATGCACATGAACACG R:TCTCAAGGTCTCTGTGGCTC	59	(AG)9						M	
LAUS19	F:CATAGTCAGGAACCCAAACACC R:AGTAGAGGTGTGAGTTAGCCAC	60	(AG)10						M	
LAUS20	F:AGCACGTTGTCTCAGGTAC R:GCTCTGCCCTTGTGTGAAG	59	(AC)10	2,500	0,508	0,614	28	85-97	P	
LAUS21	F:AAGATCCTGTAAGCCGTGTG R:CTAAATGAGAGGTGAGGGATGG	58	(AC)18						NA	
LAUS22	F:CACCTGGTCTCCTCGTGTG R:TAACCACCACTTGAGAAGCG	60	(AC)13						NA	
LAUS23	F:TCATCACACCTCCCATGCAG R:TCTGTAGACGCCTAGCCATG	60	(AC)10						M	
LAUS24	F:GTGTGTTTCGTTTGGACTTTGC R:GCTCCCTATGACTCAATGCAC	60	(AC)8						M	
LAUS25	F:AGGATAAAGGCAGGCAGAGC R:TTGCTGGAGTCTGTTGAGTG	60	(AG)13						NA	
LAUS26	F:GTGACGGTGTGTAATTTCTGAG R:GTGTGGTCCCTCTGGCTTC	59	(AG)10						M	
LAUS27	F:CTTACAAAACCCAGCCATCC R:GCTTCGTGGCTTATCTGCTG	60	(AC)8						NA	
LAUS28	F:AGCTCCAAAGACGACAGATG R:CAGTGAGAGGCCCGCATAAC	60	(AC)10	2,500	0,333	0,294	23	73-85	P	
LAUS29	F:TATGCCCTCCACCAGTTCAC R:TTCCAGGACCACAGCAGAAC	60	(AC)11						NA	
LAUS30	F:GCGGGAGAGAGTGTGCATG R:CTGTATGCGATGCCGAGAAGG	61	(AC)18	3,500	0,443	0,625	25	108-118	P	
LAUS31	F:CTTACCCAGCTCCCACAATG R:AGCAAAGCGGAACCACTG	59	(AC)14	1,500	0,188	0,250	26	102-104	P	
LAUS32	F:GACGTAGGATCAAGACTGTGC R:TCCAAAGAACGAACGCACAC	60	(AC)13						NA	
LAUS33	F:CCTCCTGCCTGAAAGCCTTC R:TGCTCTCCCTGTATTGGTCAG	61	(AC)13	2,500	0,461	0,500	27	96-102	P	
LAUS34	F:CAGGCAGCATGAAGATCAGTG R:TGCCCTTCTCTCACACACC	60	(AC)16	2,500	0,473	0,525	26	117-121	P	
LAUS35	F:GGTTCCTTTTCCCTTGATGATGG R:TCCCTGTTATTGATGGACTGC	59	(AG)17	4,500	0,658	0,614	28	103-115	P	
LAUS36	F:AGTCACCTCAATTAACCTGCCC R:CCCTCTTCTCCCAGATCAGG	59	(AC)14						NA	
LAUS37	F:GGGAAAGTAGGAAAGGGTGTG R:CCTCTCTGCCTGGGAAACAC	60	(AC)13	3,000	0,590	0,566	25	94-98	P	
LAUS38	F:TGGTACATTGATTCCGTCTCC R:GGCTTCTTCTGACTGATGGG	59	(AG)15						NA	
LAUS39	F:CTCCACCCTGCCCTTCAC R:ACGAGATTTACACCTGGCCC	60	(AC)18						NA	
LAUS40	F:GGCAGCTGAAGTTGAAGTCC R:CAACAGTGTCTCTCCCTCC	60	(AC)13	2,500	0,339	0,355	25	94-98	P	
LAUS41	F:GTGTGTGCTGGTAGGCTTTC	60	(AC)14						NA	

	R:CCCTCACTGTGACTCAATGC																		
LAUS42	F:TGGCTGAGTAGTATTCCATCAC R:CAGCGACAGATAAATGGGCC	59	(AC)20																NA
LAUS43	F:TTTCCCAGAGTCCCAGCAG R:AGGAAAGGACTCAGCCACTAG	60	(AC)17																NA
LAUS44	F:GGCAGAGAATTGTAGGGAGGG R:CAGACAGCCTCGTATTCTTCAG	60	(AG)12																NA
LAUS45	F:CAAGATCTGGTGTGGTATGGG R:CGACGACACTAGCCCATATG	59	(AC)24																NA
LAUS46	F:CACACACAAATACCCCTGGCC R:GCATCCTCAGTCATAACCC	59	(AC)15																NA
LAUS47	F:ATCCAGACCTGCACTTCCC R:ACTCTCACAACCTTACATCCAC	59	(AC)18																NA
LAUS48	F:TGGAGGCATCACATGGACG R:GGGAGTTATGTGCTGGTTGG	60	(AC)23																NA
LAUS49	F:TAAGCCACAAGAGTCGAGCG R:CCGTGTGTAGGTTGGCTTGG	61	(AC)18																NA
LAUS50	F:CTCCCTACCTGCCTGATGTG R:ACCTAGCCTTTCCCTTTCTGG	60	(AC)22																NA
LAUS51	F:TGAGTTGAATTGTAGGACACCC R:ACTTGACATCCAACGCCAAC	59	(AC)12																NA
LAUS52	F:ACGTAAACACCCTCTACCCAG R:TGACAATGCAGACAAGAGTGC	60	(AC)18	3,500	0,466	0,558	26	105-111											P
LAUS53	F:TCACAGCCATGATGATCACG R:ACTGGGCTCTATTAACCTCAAC	59	(ATC)11																M
LAUS54	F:GTGTGTCAACTGAAGGGCC R:TACTTGGAGTGGTGTCTGGC	60	(AAC)9																M
LAUS55	F:TGGCAGCGGATTCTTAATTAC R:TGAAAGGCCACGTACCG	60	(AAC)8																M
LAUS56	F:GTGTCGATTTCTCCCGCTTC R:CTCGAAACGCCAGGCTCC	61	(CCG)8																NA
LAUS57	F:TCCCAGTCTATTTCCCAGTCTG R:CGAGAGCAGCAGAAGAGTTC	59	(ATC)10	2,000	0,480	0,500	28	108-114											P
LAUS58	F:GGAGCACATAGTACAAGTCCAG R:CTCAGGAGTGGATGGCAGG	60	(ATC)11																NA
LAUS59	F:GCGGAACTAACACACCATTG R:CTGCCGCCATCTTGAAATTC	59	(AAC)11																M
LAUS60	F:TGAGAGGCCCGAGTATTGC R:CCCTGATGAGAAGTTGATTGTC	59	(AAC)13	3,500	0,497	0,496	25	104-128											P
LAUS61	F:CATTCTTGCTGGTGGTGTTC R:GCCAAGGGAGTCAGATGAAG	59	(ATC)9																M
LAUS62	F:GCCAGCTTACCATCACCATC R:TGCCAGCTAAAGGTCAGAAAC	59	(ATC)8																M
LAUS63	F:AAGATCCTGCAAGCCGTG R:GAAGAAGATGCTGAGGAGGG	58	(AAT)10																NA
LAUS64	F:GTCCGGAGCATTCAATTTGG R:TGAGACATGCGAGCTTCTTAG	58	(ACT)14	2,000	0,122	0,136	28	114-120											P
LAUS65	F:GCAACTGTCACATAAACGCTC R:TCAAAGAACGCTGCACTGC	60	(AAT)8	1,500	0,101	0,114	28	94-97											P
LAUS66	F:GCCGTCCATTGCTTTGATACC R:GGGTCCTGAGCAAGTGTCTAG	61	(ATC)9	2,000	0,244	0,286	27	87-93											P
LAUS67	F:CGGCTTCATTCATCTTGCC R:ACAACAGTGAGAGGCCCG	60	(AAC)9																NA
LAUS68	F:CATGTGATAATAGCGGCTCTCC R:TCCCTCGTAAACCTCACACTG	60	(AGC)8																M
LAUS69	F:AGAGGCCGCAACAGTGAC R:TGCACATGGATGAGGTTTGAAG	60	(AAC)9																NA
LAUS70	F:GGTCCTTAGCTTTGCATGTCC R:CATTGAGAGGCCGGTACTG	60	(AAT)8																NA

REFERENCIAS

- Acha EM, Mianzan HW, Guerrero RA, Favero M, Bava J (2004) Marine fronts at the continental shelves of austral South America: physical and ecological processes. *Journal of Marine systems* 44:83-105
- Aguilar A, Raga JA (1993) The striped dolphin epizootic in the Mediterranean Sea. *Ambio* 22:524-528
- Amaral AR, Beheregaray LB, Bilgmann K, Boutov D, Freitas L, Robertson KM, Sequeira M, Stockin KA, Coelho MM, Möller LM (2012) Seascape genetics of a globally distributed, highly mobile marine mammal: the short-beaked common dolphin (genus *Delphinus*). *PLoS One* 7:e31482
- Ambrose SH (1990) Preparation and characterization of bone and tooth collagen for isotopic analysis. *Journal of archaeological science* 17:431-451
- Ambrose S, Froneman P, Smale M, Cliff G, Plön S (2013) Winter diet shift of long-beaked common dolphins (*Delphinus capensis*) feeding in the sardine run off KwaZulu-Natal, South Africa. *Marine biology* 160:1543-1561
- Amos W, Hoelzel A (1991) Long-term skin preservation of whale skin for DNA analysis. *Report of the International Whaling Commission Special Issue* 13:99-103
- APN (2018) Parque Interjurisdiccional Marino Costero Patagonia Austral: Plan de Manejo y Conservación. Administración de Parques Nacionales, Technical report.
- Avise JC, Arnold J, Ball RM, Bermingham E, Lamb T, Neigel JE, Reeb CA, Saunders NC (1987) Intraspecific phylogeography: the mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics. *Annual review of ecology and systematics* 18:489-522
- Avise JC (2000) *Phylogeography: the history and formation of species*. Harvard university press

- Avise JC (2009) Phylogeography: retrospect and prospect. *Journal of biogeography*, 36:3-15
- Baillie, J.E.M., Hilton-Taylor, C. and Stuart, S.N (2004) 2004 IUCN Red List of Threatened Species. A Global Species Assessment. IUCN
- Baker CS, Palumbi SR, Lambertsen RH, Weinrich MT, Calambokidis J (1990) Influence of seasonal migration on geographic distribution of mitochondrial DNA haplotypes in humpback whales. *Nature* 344:238-240
- Baker CS, Perry A, Bannister JL, Weinrich MT, Abernethy RB, Calambokidis J, Lien J, Lambertsen RH, Ramirez JU, Vasquez O (1993) Abundant mitochondrial DNA variation and world-wide population structure in humpback whales. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 90:8239-8243
- Ballard JWO, Whitlock MC (2004) The incomplete natural history of mitochondria. *Molecular ecology* 13:729-744
- Bandelt H-J, Forster P, Röhl A (1999) Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular biology and evolution* 16:37-48
- Banguera-Hinestroza E, Hayano A, Crespo E, Hoelzel AR (2014) Delphinid systematics and biogeography with a focus on the current genus *Lagenorhynchus*: multiple pathways for antitropical and trans-oceanic radiation. *Molecular phylogenetics and Evolution* 80:217-230
- Barón PJ, Ré ME (2002) Reproductive cycle and population structure of *Loligo sanpaulensis* of the northeastern coast of Patagonia. *Bulletin of Marine Science* 71:175-186
- Bastida R, Lichtschein V, Goodall R (1988) Food habits of *Cephalorhynchus commersonii* off Tierra del Fuego. Report of the International Whaling Commission 9:143-160
- Bearzi M (2005) Dolphin sympatric ecology. *Marine Biology Research* 1:165-175

- Berta A, Sumich JL, Kovacs KM (2005) Marine mammals: evolutionary biology. Elsevier
- Bertolotti MI, Hernandez DR, Pagani AN, Castañeda M (2001) Estratificación y estimación de los rendimientos de la flota de buques procesadores congeladores arrastreros. El Mar Argentino y sus Recursos Pesqueros, Libro 3
- Bertorelle G, Bruford MW, Hauffe HC, Rizzoli A, Vernesi C (2009) Population genetics for animal conservation. Cambridge University Press
- Bérubé M, Palsbøll P (1996) Identification of sex in cetaceans by multiplexing with three ZFX and ZFY specific primers. *Molecular Ecology* 5:283-287
- Bishop JM, Leslie AJ, Bourquin SL, O’Ryan C (2009) Reduced effective population size in an overexploited population of the Nile crocodile (*Crocodylus niloticus*). *Biological Conservation* 142:2335-2341
- Bolnick DI, Svanbäck R, Araújo MS, Persson L (2007) Comparative support for the niche variation hypothesis that more generalized populations also are more heterogeneous. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 104:10075-10079
- Bond AL, Diamond AW (2011) Recent Bayesian stable-isotope mixing models are highly sensitive to variation in discrimination factors. *Ecological Applications* 21:1017-1023
- Bowen W, Iverson S (2013) Methods of estimating marine mammal diets: a review of validation experiments and sources of bias and uncertainty. *Marine Mammal Science* 29:719-754
- Boyd IL, Bowen WD, Iverson SJ (2010) Marine mammal ecology and conservation: a handbook of techniques. Oxford University Press
- Branch T, Jackson J (2008) Minimum bottleneck abundance of Antarctic blue whales based on current mtDNA diversity. Report (SC/60/SH10) to the Scientific

- Committee of the International Whaling Commission, available on request from the Secretariat International Whaling Commission, The Red House 135
- Brownell Jr R, Crespo EA, Donahue M (1999) Peale's dolphin, *Lagenorhynchus australis* (Peale 1848). Handbook of marine mammals: The second book of dolphins and porpoises 6:105-120
- Browning NE, Dold C, Jack I-F, Worthy GA (2014) Isotope turnover rates and diet-tissue discrimination in skin of ex situ bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*). Journal of Experimental Biology 217:214-221
- Cabana G, Rasmussen JB (1996) Comparison of aquatic food chains using nitrogen isotopes. Proceedings of the National Academy of Sciences 93:10844-10847
- Campagna C, Verona C, Falabella V (2005) Situación ambiental en la ecorregión del Mar Argentino. La situación ambiental argentina:323-337
- Caut S, Angulo E, Courchamp F (2009) Variation in discrimination factors ($\Delta^{15}\text{N}$ and $\Delta^{13}\text{C}$): the effect of diet isotopic values and applications for diet reconstruction. Journal of Applied Ecology 46:443-453
- Caut S, Laran S, Garcia-Hartmann E, Das K (2011) Stable isotopes of captive cetaceans (killer whales and bottlenose dolphins). Journal of Experimental Biology 214:538-545
- Chang R (2007) Química. Mexico-McGraw-Hill
- Chapuis M-P, Estoup A (2007) Microsatellite null alleles and estimation of population differentiation. Molecular biology and evolution 24:621-631
- Chen IN, Shin, Chou L-S, Isobe T, Mignucci-Giannoni A, Hoelzel AR (2020) Population genetic diversity and historical dynamics of Fraser's dolphins *Lagenodelphis hosei*. Marine Ecology Progress Series 643:183-195
- Chilvers BL, Wilkinson IS (2008) Philopatry and site fidelity of New Zealand sea lions (*Phocarctos hookeri*). Wildlife Research 35:463-470

- Ciancio JE, Pascual MA, Beauchamp DA (2007) Energy density of Patagonian aquatic organisms and empirical predictions based on water content. *Transactions of the American Fisheries Society* 136:1415-1422
- Ciancio JE, Pascual MA, Botto F, Frere E, Iribarne O (2008) Trophic relationships of exotic anadromous salmonids in the southern Patagonian Shelf as inferred from stable isotopes. *Limnology and Oceanography* 53:788-798
- Cipriano F, Hevia M, Iñíguez M (2011) Genetic divergence over small geographic scales and conservation implications for Commerson's dolphins (*Cephalorhynchus commersonii*) in southern Argentina. *Marine mammal science* 27:701-718
- Cipriano F (2018) Peale's Dolphin: *Lagenorhynchus australis*. *Encyclopedia of marine mammals*. Elsevier
- Clark CT, Cape MR, Shapley MD, Mueter FJ, Finney BP, Misarti N (2021) SuessR: Regional corrections for the effects of anthropogenic CO₂ on $\delta^{13}\text{C}$ data from marine organisms. *Methods in Ecology and Evolution*
- Coscarella MA, Dans SL, Crespo EA, Pedraza SN (2003) Potential impact of unregulated dolphin watching activities in Patagonia. *Journal of Cetacean Research and Management* 5:77-84
- Coscarella MA (2005) Ecología, comportamiento y evaluación del impacto de embarcaciones sobre manadas de tonina overa *Cephalorhynchus commersonii* en Bahía Engano, Chubut. Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires
- Coscarella MA, Hoelzel AR, Crespo EA, Pedraza SN (2008) Identificando unidades poblacionales de *Cephalorhynchus commersonii* en el Mar Argentino (Parte 2). XIII Reunión de trabajo de especialistas en mamíferos acuáticos de América del Sur, Montevideo, URU
- Coscarella MA, Dellabianca NA, Cáceres-Saez I, Hevia M, Morgenthaler A, Failla M, Iñíguez Bessega MA, Loizaga de Castro R (2019) *Cephalorhynchus commersonii*.

En: SAYDS–SAREM (eds.) Categorización 2019 de los mamíferos de Argentina según su riesgo de extinción. Lista Roja de los mamíferos de Argentina. Versión digital: <http://cma.sarem.org.ar>.

Costa M, Garcia-Rojas MI, Baker S, Heinrich S (2018) Abundance of Commerson's and Peale's dolphins in inshore waters of the Falklands Islands estimated by aerial survey. Abstract and Poster presentation at the 32nd European Cetacean Society Conference, La Spezie, Italy; available from <https://www.south-atlantic-research.org>

Cousseau M, Perrotta R (1998) Peces marinos de Argentina. Biología, distribución, pesca. Instituto Nacional de Investigación y desarrollo Pesquero (INIDEP), Mar del Plata, Argentina

Cousseau MB, Perrotta R (2013) Peces marinos de Argentina. Biología, distribución, pesca. Instituto Nacional de Investigación y Desarrollo Pesquero (INIDEP), Mar del Plata, Argentina

Crespo EA, Pedraza SN, Dans SL, Alonso MK, Reyes LM, García NA, Coscarella M, Schiavini AC (1997) Direct and Indirect Effects of Highseas Fisheries on the Marine Mammal Populations in the Northern and Central Patagonian Coast. *Journal of Northwest Atlantic Fishery Science* 22

Crespo EA, Koen Alonso M, Dans SL, García NA, Pedraza SN, Coscarella MA (2000) Incidental catch of dolphins in mid-water trawls for Argentine anchovy (*Engraulis anchoita*) off the Argentine shelf. *Journal of Cetacean Research Management* 2:11-16

Crespo EA, Hall MA (2002) Interactions between aquatic mammals and humans in the context of ecosystem management. *Marine Mammals*. Springer

Crespo EA, Schiavini AC, García NA, Franco-Trecu V, Goodall RNP, Rodríguez D, Stenghel Morgante J, de Oliveira LR (2015) Status, population trend and

- genetic structure of South American fur seals, *Arctocephalus australis*, in southwestern Atlantic waters. *Marine Mammal Science* 31:866-890
- Crespo EA, Olavarria C, Dellabianca NA, Iñíguez M, Ridoux V, Reeves R (2017) *Cephalorhynchus commersonii*, Commerson's Dolphin. IUCN; The IUCN Red List of Threatened Species; 10-2017; 1-14
- Dans SL, Koen Alonso M, Pedraza SN, Crespo EA (2003) Incidental catch of dolphins in trawling fisheries off Patagonia, Argentina: can populations persist? *Ecological applications* 13:754-762
- Dans SL, Degradi M, Pedraza SN, Crespo EA (2012) Effects of tour boats on dolphin activity examined with sensitivity analysis of Markov chains. *Conservation Biology* 26:708-716
- Darriba D, Taboada GL, Doallo R, Posada D (2012) jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nature Methods* 9:772
- Dawson SM (2018) Cephalorhynchus dolphins: *C. beavisidii*, *C. eutropia*, *C. hectori*, and *C. commersonii*. *Encyclopedia of marine mammals*. Elsevier
- De Bruyn M, Hall BL, Chauke LF, Baroni C, Koch PL, Hoelzel AR (2009) Rapid response of a marine mammal species to Holocene climate and habitat change. *PLoS Genetics* 5:e1000554
- de Haro JC, Iñíguez MA (1997) Ecology and behaviour of the Peale's dolphin, *Lagenorhynchus australis* (Peale, 1848) at Cabo Vírgenes (52°30'S, 68°28'W), Patagonia Argentina. *Report of the International Whaling Commission* 47:723-727
- de Haro JC (2003) Observations on the impact of the petroleum activity in the south of the province of Santa Cruz, Argentine Patagonia. Paper (SC/55/E20) to the International Whaling Commission Scientific Committee

- de los Angeles Bayas-Rea R, Félix F, Montufar R (2018) Genetic divergence and fine scale population structure of the common bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*, Montagu) found in the Gulf of Guayaquil, Ecuador. PeerJ 6:e4589
- De Meeûs T, McCoy KD, Prugnolle F, Chevillon C, Durand P, Hurtrez-Bousses S, Renaud F (2007) Population genetics and molecular epidemiology or how to “débusquer la bête”. Infection, Genetics and Evolution 7:308-332
- Dellabianca NA, Pierce GJ, Raya Rey A, Scioscia G, Miller DL, Torres MA, Paso Viola MN, Goodall RNP, Schiavini AC (2016) Spatial models of abundance and habitat preferences of commerson’s and peale’s dolphin in southern patagonian waters. PloS one 11:e0163441
- Díaz S, Settele J, Brondízio ES, Ngo HT, Agard J, Arneth A, Balvanera P, Brauman KA, Butchart SH, Chan KM (2019) Pervasive human-driven decline of life on Earth points to the need for transformative change. Science 366
- Di Benedetto APM, de Souza CMM, Kehrig HA, Rezende CE (2011) Use of multiple tools to assess the feeding preference of coastal dolphins. Marine Biology 158:2209-2217
- Drago M, Crespo EA, Aguilar A, Cardona L, García N, Dans SL, Goodall N (2009a) Historic diet change of the South American sea lion in Patagonia as revealed by isotopic analysis. Marine Ecology Progress Series 384:273-286
- Drago M, Cardona L, Crespo EA, Aguilar A (2009b) Ontogenic dietary changes in South American sea lions. Journal of Zoology 279:251-261
- Drummond AJ, Rambaut A, Shapiro B, Pybus OG (2005) Bayesian Coalescent Inference of Past Population Dynamics from Molecular Sequences. Molecular Biology and Evolution 22:1185-1192
- Drummond AJ, Rambaut A (2007) BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees. BMC Evolutionary Biology 7:214

- Durante CA, Santos-Neto EB, Azevedo A, Crespo EA, Lailson-Brito J (2016) POPs in the South Latin America: Bioaccumulation of DDT, PCB, HCB, HCH and Mirex in blubber of common dolphin (*Delphinus delphis*) and Fraser's dolphin (*Lagenodelphis hosei*) from Argentina. *Science of the Total Environment* 572:352-360
- Durante CA, Reis BMM, Azevedo A, Crespo EA, Lailson-Brito J (2020) Trace elements in trophic webs from South Atlantic: The use of cetaceans as sentinels. *Marine pollution bulletin* 150:110674
- Durigan M, Ciampi-Guillardi M, Rodrigues RC, Greinert-Goulart JA, Siqueira-Castro IC, Leal DA, Yamashiro S, Bonatti TR, Zucchi MI, Franco RM (2017) Population genetic analysis of *Giardia duodenalis*: genetic diversity and haplotype sharing between clinical and environmental sources. *MicrobiologyOpen* 6:e00424
- Earl DA (2012) STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conservation genetics resources* 4:359-361
- Elphinstone MS, Hinten GN, Anderson MJ, Nock CJ (2003) An inexpensive and high-throughput procedure to extract and purify total genomic DNA for population studies. *Molecular Ecology Notes* 3:317-320
- Engelhaupt D, Rus Hoelzel A, Nicholson C, Frantzis A, Mesnick S, Gero S, Whitehead H, Rendell L, Miller P, De Stefanis R (2009) Female philopatry in coastal basins and male dispersion across the North Atlantic in a highly mobile marine species, the sperm whale (*Physeter macrocephalus*). *Molecular Ecology* 18:4193-4205
- Evanno G, Regnaut S, Goudet J (2005) Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Molecular ecology* 14:2611-2620

- Excoffier L, Smouse PE, Quattro JM (1992) Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics* 131:479-491
- Faircloth BC (2008) MSATCOMMANDER: Detection of microsatellite repeat arrays and automated, locus-specific primer design. *Molecular ecology resources* 8:92-94
- Excoffier L, Lischer HE (2010) Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular ecology resources* 10:564-567
- Faircloth BC, Branstetter MG, White ND, Brady SG (2015) Target enrichment of ultraconserved elements from arthropods provides a genomic perspective on relationships among Hymenoptera. *Molecular ecology resources* 15:489-501
- Falabella V, Campagna C, Croxall J (2009) Atlas del mar patagónico. Especies y espacios. Buenos Aires, Wildlife Conservation Society y BirdLife International.
- Falush D, Stephens M, Pritchard JK (2003) Inference of population structure using multilocus genotype data: linked loci and correlated allele frequencies. *Genetics* 164:1567-1587
- Feijoo M, Lessa EP, De Castro RL, Crespo EA (2011) Mitochondrial and microsatellite assessment of population structure of South American sea lion (*Otaria flavescens*) in the Southwestern Atlantic Ocean. *Marine Biology* 158:1857-1867
- Fontaine MC, Tolley KA, Michaux JR, Birkun Jr A, Ferreira M, Jauniaux T, Llavona Á, Öztürk B, Öztürk AA, Ridoux V (2010) Genetic and historic evidence for climate-driven population fragmentation in a top cetacean predator: the harbour porpoises in European water. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 277:2829-2837

- Foote AD, Kaschner K, Schultze SE, Garilao C, Ho SY, Post K, Higham TF, Stokowska C, Van Der Es H, Embling CB (2013) Ancient DNA reveals that bowhead whale lineages survived Late Pleistocene climate change and habitat shifts. *Nature communications* 4:1-7
- Forero MG, Bortolotti GR, Hobson KA, Donazar JA, Bertelotti M, Blanco G (2004) High trophic overlap within the seabird community of Argentinean Patagonia: a multiscale approach. *Journal of Animal Ecology* 73:789-801
- Franchini F, Smout S, Blight C, Boehme L, Munro G, Costa M, Heinrich S (2020) Habitat Partitioning in Sympatric Delphinids Around the Falkland Islands: Predicting Distributions Based on a Limited Data Set. *Frontiers in Marine Science* 7:277
- Frankham R, Ballou JD, Briscoe DA (2002) *Introduction to conservation genetics*. Cambridge University Press, Cambridge
- Fraser CI, Nikula R, Ruzzante DE, Waters JM (2012) Poleward bound: biological impacts of Southern Hemisphere glaciation. *Trends in ecology & evolution* 27:462-471
- Fruet PF, Secchi ER, Daura-Jorge F, Vermeulen E, Flores PA, Simoes-Lopes PC, Genoves RC, Laporta P, Di Tullio JC, Freitas TRO (2014) Remarkably low genetic diversity and strong population structure in common bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) from coastal waters of the Southwestern Atlantic Ocean. *Conservation Genetics* 15:879-895
- Fry B (2006) *Stable isotope ecology*, Vol 521. Springer, New York, NY
- Fu Y-X (1997) Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection. *Genetics* 147:915-925
- Fu Y-X, Li W-H (1999) Coalescing into the 21st century: an overview and prospects of coalescent theory. *Theoretical population biology* 56:1-10

- Galvan D, Funes M, Papparazzo F, Newsome S A zooplankton $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ isoscape of San Jorge Gulf, Argentina: the potential for tracking movement and habitat use of top predators over small spatial scale. Proc ISOECOL 2018-11th International Conference on the Applications of Stable Isotope Techniques to Ecological Studies 30 July-3 August 2018, Vina del mar, Chile
- Garaffo GV, Dans SL, Pedraza SN, Degradi M, Schiavini A, González R, Crespo EA (2011) Modeling habitat use for dusky dolphin and Commerson's dolphin in Patagonia. Marine Ecology Progress Series 421:217-227
- Garcia A, Garcia A, Vollrath S, Schneck F, Silva C, Marchetti Í, Vieira J (2018) Spatial diet overlap and food resource in two congeneric mullet species revealed by stable isotopes and stomach content analyses. Community Ecology 19:116-124
- Gavrilchuk K, Lesage V, Ramp C, Sears R, Bérubé M, Bearhop S, Beauplet G (2014) Trophic niche partitioning among sympatric baleen whale species following the collapse of groundfish stocks in the Northwest Atlantic. Marine Ecology Progress Series 497:285-301
- Genoves RC, Fruet PF, Botta S, Beheregaray LB, Möller LM, Secchi ER (2020) Fine-scale genetic structure in Lahille's bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus gephyreus*) is associated with social structure and feeding ecology. Marine Biology 167:1-16
- Gibbs SE, Harcourt RG, Kemper CM (2011) Niche differentiation of bottlenose dolphin species in South Australia revealed by stable isotopes and stomach contents. Wildlife Research 38:261-270
- Giménez J, Ramírez F, Almunia J, Forero MG, de Stephanis R (2016) From the pool to the sea: Applicable isotope turnover rates and diet to skin discrimination factors for bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*). Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 475:54-61

- Giménez J, Marçalo A, Ramírez F, Verborgh P, Gauffier P, Esteban R, Nicolau L, González-Ortegón E, Baldó F, Vilas C (2017) Diet of bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) from the Gulf of Cadiz: Insights from stomach content and stable isotope analyses. *PloS one* 12
- Giménez J, Cañadas A, Ramírez F, Afán I, García-Tiscar S, Fernández-Maldonado C, Castillo JJ, de Stephanis R (2018) Living apart together: Niche partitioning among Alboran Sea cetaceans. *Ecological Indicators* 95:32-40
- Glasser NF, Harrison S, Winchester V, Aniya M (2004) Late Pleistocene and Holocene palaeoclimate and glacier fluctuations in Patagonia. *Global and planetary change* 43:79-101
- Goericke R, Fry B (1994) Variations of marine plankton $\delta^{13}\text{C}$ with latitude, temperature, and dissolved CO_2 in the world ocean. *Global Biogeochemical Cycles* 8:85-90
- Goodall R, Galeazzi A, Lichter A (1988a) Exploitation of small cetaceans off Argentina 1979–1986. Report of the International Whaling Commission 38:407-410
- Goodall R, Galeazzi A, Leatherwood S, Miller K, Cameron I, Kastelein R, Sobral A (1988b) Studies of Commerson's dolphins, *Cephalorhynchus commersonii*, off Tierra del Fuego, 1976–1984. Report of the International Whaling Commission (Special Issue 9):143-160
- Goodall R, Schiavini A (1994) Net fisheries and net mortality of small cetaceans off Tierra del Fuego, Argentina. Report of the International Whaling Commission Special Issue 15:295-310
- Goodall R (1994) Commerson's dolphin *Cephalorhynchus commersonii* (Lacépède 1804). *Handbook of marine mammals* 5:241-267

- Goodall RNP, Norris K, Schevill WE, Fraga F, Praderi R, Iniguez M, de Haro JC (1997) Review and update on the biology of Peale's dolphin, *Lagenorhynchus australis*. Report of the International Whaling Commission 47:777-796
- Goudet J (2001) FSTAT, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices, version 2.9.3. <http://www2.unil.ch/popgen/softwares/fstat.htm>
- Grandi MF, de Castro RL, Terán E, Santos MR, Bailliet G, Crespo EA (2018) Is recolonization pattern related to female philopatry? An insight into a colonially breeding mammal. *Mammalian Biology* 89:21-29
- Grandi MF, Vales DG, Crespo EA, Loizaga R (2021) Variation in trophic resources in female South American sea lions at a small geographic scale. *Marine Mammal Science* 37:314-327
- Grant W, Bowen BW (1998) Shallow population histories in deep evolutionary lineages of marine fishes: insights from sardines and anchovies and lessons for conservation. *Journal of heredity* 89:415-426
- Grant PR, Grant BR (2002) Unpredictable evolution in a 30-year study of Darwin's finches. *science* 296:707-711
- Greenwood PJ (1980) Mating systems, philopatry and dispersal in birds and mammals. *Animal behaviour* 28:1140-1162
- Guerrero RA, Piola AR (1997) Masas de agua en la plataforma continental. *El Mar Argentino y sus Recursos Pesqueros, Libro 1*
- Hamilton MB (2009) *Population genetics*. Wiley-Blackwell
- Hamner RM, Pichler FB, Heimeier D, Constantine R, Baker CS (2012) Genetic differentiation and limited gene flow among fragmented populations of New Zealand endemic Hector's and Maui's dolphins. *Conservation Genetics* 13:987-1002
- Hansen J, Garciarena A, Buratti C (2009) Estimación de la abundancia y composición de la población de anchoíta bonaerense durante el período 1990–2008, y de

una captura biológicamente aceptable en el año 2009. Informe Técnico Oficial
INIDEP 12

Hanski IA, Gaggiotti OE (2004) Ecology, genetics and evolution of metapopulations.
Academic Press

Hare MP, Nunney L, Schwartz MK, Ruzzante DE, Burford M, Waples RS, Ruegg K,
Palstra F (2011) Understanding and estimating effective population size for
practical application in marine species management. Conservation Biology
25:438-449

Harlin AD, Markowitz T, Baker CS, Würsig B, Honeycutt RL (2003) Genetic
structure, diversity, and historical demography of New Zealand's dusky
dolphin (*Lagenorhynchus obscurus*). Journal of Mammalogy 84:702-717

Harlin-Cognato AD, Honeycutt RL (2006) Multi-locus phylogeny of dolphins in the
subfamily Lissodelphininae: character synergy improves phylogenetic
resolution. BMC Evolutionary Biology 6:1-16

Harlin-Cognato AD, Markowitz T, Würsig B, Honeycutt RL (2007) Multi-locus
phylogeography of the dusky dolphin (*Lagenorhynchus obscurus*): passive
dispersal via the west-wind drift or response to prey species and climate
change? BMC Evolutionary Biology 7:1-17

Harpending H (1994) Signature of ancient population growth in a low-resolution
mitochondrial DNA mismatch distribution. Human biology:591-600

Hartl DL, Clark AG, Clark AG (1997) Principles of population genetics, Vol 116.
Sinauer Associates Inc.

Hartman KL, Visser F, Hendriks AJ (2008) Social structure of Risso's dolphins
(*Grampus griseus*) at the Azores: a stratified community based on highly
associated social units. Canadian Journal of Zoology 86:294-306

Heinrich S, Dellabianca N (2019) *Lagenorhynchus australis*. The IUCN Red List of
Threatened Species 2019: eT11143A50361589

- Hempel G, Sherman K (2003) Large marine ecosystems of the world: trends in exploitation, protection, and research. Elsevier
- Hevia M, Dellabianca NA, Reyes LM, Loizaga de Castro R, Gribaudo CA, García NA (2019) *Lagenorhynchus australis*. En: SAyDS–SAREM (eds.) Categorización 2019 de los mamíferos de Argentina según su riesgo de extinción. Lista Roja de los mamíferos de Argentina. Versión digital: <http://cma.sarem.org.ar>.
- Hoelzel A, Hancock J, Dover G (1991) Evolution of the cetacean mitochondrial D-loop region. *Molecular biology and evolution* 8:475-493
- Hoelzel A, Dahlheim M, Stern S (1998a) Low genetic variation among killer whales (*Orcinus orca*) in the eastern North Pacific and genetic differentiation between foraging specialists. *Journal of Heredity* 89:121-128
- Hoelzel AR, Dahlheim M, Stern SJ (1998b) Low genetic variation among killer whales (*Orcinus orca*) in the eastern North Pacific and genetic differentiation between foraging specialists. *Journal of Heredity* 89:121-128
- Hoelzel A (2009) Evolution of population genetic structure in marine mammal species. *Population genetics for animal conservation* Cambridge University Press:294-318
- Hoelzel AR (2016) The road to speciation runs both ways. *Science* 354:414-415
- Hubisz MJ, Falush D, Stephens M, Pritchard JK (2009) Inferring weak population structure with the assistance of sample group information. *Molecular ecology resources* 9:1322-1332
- Hutchinson GE (1957) *A Treatise on limnology* 1:243
- Hutchinson GE (1978) *An introduction to population ecology*. University Press
- Iñiguez M, de Haro J (1994) Preliminary report on the feeding habits of the Peale's dolphin (*Lagenorhynchus australis*) in southern Argentina. *Aquatic Mammals* 20.1:35-37

- Iñiguez MA, Hevia M, Gasparrou C, Tomsin A, Secchi ER (2003) Preliminary estimate of incidental mortality of commerson's dolphins (*cephalorhynchus commersonii*) in an artisanal setnet fishery in la Angelina beach and ría gallegos, Santa Cruz, Argentina. *Latin American Journal of Aquatic Mammals* 2(2):87-94
- Jackson AL, Inger R, Parnell AC, Bearhop S (2011) Comparing isotopic niche widths among and within communities: SIBER—Stable Isotope Bayesian Ellipses in R. *Journal of Animal Ecology* 80:595-602
- Jansen van Vuuren B, Best P, Roux JP, Robinson T (2002) Phylogeographic population structure in the Heaviside's dolphin (*Cephalorhynchus heavisidii*): conservation implications. *Animal Conservation* 5:303-307
- Jefferson TA, Leatherwood S, Webber MA (1993) *Marine mammals of the world*. Food & Agriculture Org.
- Keeling CD (1979) The Suess effect: ¹³Carbon-¹⁴Carbon interrelations. *Environment International* 2:229-300
- Keeling RF, Graven HD, Welp LR, Resplandy L, Bi J, Piper SC, Sun Y, Bollenbacher A, Meijer HA (2017) Atmospheric evidence for a global secular increase in carbon isotopic discrimination of land photosynthesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 114:10361-10366
- Kimura M (1971) Theoretical foundation of population genetics at the molecular level. *Theoretical population biology* 2:174-208
- Kimura M (1991) The neutral theory of molecular evolution: a review of recent evidence. *The Japanese Journal of Genetics* 66:367-386
- Kiszka J, Oremus M, Richard P, Poole M, Ridoux V (2010) The use of stable isotope analyses from skin biopsy samples to assess trophic relationships of sympatric delphinids off Moorea (French Polynesia). *Journal of experimental marine biology and ecology* 395:48-54

- Kiszka JJ, Méndez-Fernandez P, Heithaus MR, Ridoux V (2014) The foraging ecology of coastal bottlenose dolphins based on stable isotope mixing models and behavioural sampling. *Marine biology* 161:953-961
- Koch PL (2007) Isotopic study of the biology of modern and fossil vertebrates. *Stable isotopes in ecology and environmental science* 2:99-154
- Koen Alonso M, Pedraza SN, Schiavini AC, Goodall RNP, Crespo EA (1999) Stomach contents of false killer whales (*Pseudorca crassidens*) stranded on the coasts of the Strait of Magellan, Tierra del Fuego. *Marine Mammal Science* 15:712-724
- Koen Alonso M (1999) Estudio comparado de la alimentación entre algunos predadores de alto nivel trófico de la comunidad marina del norte y centro de Patagonia. Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Argentina
- Koen-Alonso M, Yodzis P (2005) Multispecies modelling of some components of the marine community of northern and central Patagonia, Argentina. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 62:1490-1512
- Krützen M, Mann J, Heithaus MR, Connor RC, Bejder L, Sherwin WB (2005) Cultural transmission of tool use in bottlenose dolphins. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 102:8939-8943
- Kumar S, Stecher G, Tamura K (2016) MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular biology and evolution* 33:1870-1874
- Laikre L (2010) Genetic diversity is overlooked in international conservation policy implementation. *Conservation Genetics* 11:349-354
- Laws EA, Popp BN, Bidigare RR, Kennicutt MC, Macko SA (1995) Dependence of phytoplankton carbon isotopic composition on growth rate and [CO₂] aq: theoretical considerations and experimental results. *Geochimica et cosmochimica acta* 59:1131-1138

- Learmonth JA, MacLeod CD, Santos MB, Pierce GJ, Crick HQP, Robinson RA (2006) Potential effects of climate change on marine mammals. *Oceanography and Marine Biology: An Annual Review* 44:431-464
- Leatherwood S, Kastelein R, Hammond P (1988) Estimate of numbers of Commerson's dolphins in a portion of the Northeastern Strait of Magellan, January–February 1984. *Biology of the genus Cephalorhynchus Report of the International Whaling Commission Cambridge* 9:93-102
- LeDuc R, Perrin W, Dizon A (1999) Phylogenetic relationships among the delphinid cetaceans based on full cytochrome b sequences. *Marine mammal science* 15:619-648
- Lescrauwaet A-C, Gibbons J (1994) Mortality of small cetaceans and the crab bait fishery in the Magallanes area of Chile since 1980. *Report of the International Whaling Commission Special Issue* 15:485-494
- Lescrauwaet A-C, Gibbons J, Guzmán L, Schiavini A (2000) Estimación de abundancia de tunina overa en el sector oriental del Estrecho de Magallanes, Chile. *Revista chilena de historia natural* 73:473-478
- Lescrauwaet A-K (1997) Notes on the behaviour and ecology of the Peale's dolphin, *Lagenorhynchus australis*, in the Strait of Magellan, Chile. *Reports of the International Whaling Commission* 47:747-755
- Librado P, Rozas J (2009) DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics* 25:1451-1452
- Lichter AA (1992) *Tracks in the sands, shadows on the sea: marine mammals of Argentina and Antarctica*. Ediciones Terra Nova
- Loizaga de Castro R, Leonardi MS, Grandi MF, García NA, Crespo EA (2011) Far from home: record of a vagrant striped dolphin in Patagonia with notes on diet, parasites and age determination. *Mammalian Biology* 76:521-524

- Loizaga de Castro R, Dans SL, Coscarella MA, Crespo EA (2013a) Living in an estuary: Commerson's dolphin (*Cephalorhynchus commersonii* (Lacépède, 1804)), habitat use and behavioural pattern at the Santa Cruz River, Patagonia, Argentina. *Latin American journal of aquatic research* 41:985-991
- Loizaga de Castro R, Hoelzel A, Crespo E (2013b) Behavioural responses of Argentine coastal dusky dolphins (*Lagenorhynchus obscurus*) to a biopsy pole system. *Animal Welfare* 22:13-23
- Loizaga de Castro R (2013) Population genetics of dusky dolphin, *Lagenorhynchus obscurus*, along the Argentine coast. Tesis Doctoral, Universidad Nacional del Comahue Centro Regional Bariloche, San Carlos de Bariloche, Argentina
- Loizaga de Castro R, Dans SL, Crespo EA (2015) Spatial genetic structure of dusky dolphin, *Lagenorhynchus obscurus*, along the argentine coast: preserve what scale? *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems* 26:173-183
- Loizaga de Castro R, Saporiti F, Vales DG, García NA, Cardona L, Crespo EA (2016a) Feeding ecology of dusky dolphins *Lagenorhynchus obscurus*: evidence from stable isotopes. *Journal of Mammalogy* 97:310-320
- Loizaga de Castro R, Dans SL, Crespo EA (2016b) Spatial genetic structure of dusky dolphin, *Lagenorhynchus obscurus*, along the argentine coast: preserve what scale? *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems* 26:173-183
- Loizaga de Castro R, Saporiti F, Vales DG, Cardona L, Crespo EA (2017) Using stable isotopes to assess whether two sympatric dolphin species share trophic resources.
- Loizaga R, Grandi F, Cunha H, Crespo E (2020) New genetic diversity for endangered bottlenose dolphin subspecies along the Argentine coast. *Mammalia* 84:575-580
- Lorrain A, Savoye N, Chauvaud L, Paulet Y-M, Naulet N (2003) Decarbonation and preservation method for the analysis of organic C and N contents and stable

- isotope ratios of low-carbonated suspended particulate material. *Analytica Chimica Acta* 491:125-133
- Louis M, Skovrind M, Samaniego Castruita JA, Garilao C, Kaschner K, Gopalakrishnan S, Haile JS, Lydersen C, Kovacs KM, Garde E (2020) Influence of past climate change on phylogeography and demographic history of narwhals, *Monodon monoceros*. *Proceedings of the Royal Society B* 287:20192964
- Mace GM (2014) Whose conservation? *Science* 345:1558-1560
- MacLeod CD, Bannon SM, Pierce GJ, Schweder C, Learmonth JA, Herman JS, Reid RJ (2005) Climate change and the cetacean community of north-west Scotland. *Biological Conservation* 124:477-483
- MacLeod CD (2009) Global climate change, range changes and potential implications for the conservation of marine cetaceans: a review and synthesis. *Endangered Species Research* 7:125-136
- Mantel N (1967) The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer research* 27:209-220
- Martini L (2001) Redes de arrastre de gran abertura vertical y alta velocidad empleadas en la pesca comercial de la region austral del Atlantico Sudoccidental. *El Mar Argentino y sus Recursos Pesqueros, Libro 3*
- May-Collado L, Agnarsson I (2006) Cytochrome b and Bayesian inference of whale phylogeny. *Molecular phylogenetics and evolution* 38:344-354
- McMahon KW, Hamady LL, Thorrold SR (2013) A review of ecogeochemistry approaches to estimating movements of marine animals. *Limnology and oceanography* 58:697-714
- McNeely JA, Miller KR, Reid WV, Mittermeier RA, Werner TB (1990) Conserving the world's biological diversity. *International Union for Conservation of Nature and Natural Resources*

- Mendez M, Rosenbaum H, Bordino P (2008) Conservation genetics of the franciscana dolphin in Northern Argentina: population structure, by-catch impacts, and management implications. *Conservation Genetics* 9:419-435
- Mendez M, Rosenbaum HC, Subramaniam A, Yackulic C, Bordino P (2010) Isolation by environmental distance in mobile marine species: molecular ecology of franciscana dolphins at their southern range. *Molecular ecology* 19:2212-2228
- Mendez M, Subramaniam A, Collins T, Minton G, Baldwin R, Berggren P, Särnblad A, Amir O, Peddemors V, Karczmarski L (2011) Molecular ecology meets remote sensing: environmental drivers to population structure of humpback dolphins in the Western Indian Ocean. *Heredity* 107:349-361
- Méndez-Fernandez P, Pierce GJ, Bustamante P, Chouvelon T, Ferreira M, González AF, López A, Read FL, Santos MB, Spitz J (2013) Ecological niche segregation among five toothed whale species off the NW Iberian Peninsula using ecological tracers as multi-approach. *Marine biology* 160:2825-2840
- Michener R (1994) Stable isotope ratios as tracers in marine aquatic food webs. *Stable isotopes in ecology and environmental science*:138-186
- Michener RH, Kaufman L (2007) Stable isotope ratios as tracers in marine food webs: an update. *Stable isotopes in ecology and environmental science* 2:238-282
- Milinkovitch MC, Leduc R, Tiedemann R, Dizon A (2002) Applications of molecular data in cetacean taxonomy and population genetics with special emphasis on defining species boundaries. En: A. EPGHRJ (ed) *Marine Mammals: Biology and Conservation*. Springer
- Möller LM, Beheregaray LB (2004) Genetic evidence for sex-biased dispersal in resident bottlenose dolphins (*Tursiops aduncus*). *Molecular Ecology* 13:1607-1612
- Montoya JP (2007) Natural abundance of ^{15}N in marine planktonic ecosystems. *Stable isotopes in ecology and environmental science*:176-201

- Moore JW, Semmens BX (2008) Incorporating uncertainty and prior information into stable isotope mixing models. *Ecology letters* 11:470-480
- Morgenthaler A, Millones A, Gandini P, Frere E (2016) Pelagic or benthic prey? Combining trophic analyses to infer the diet of a breeding South American seabird, the Red-legged Cormorant, *Phalacrocorax gaimardi*. *Emu-Austral Ornithology* 116:360-369
- Myers RH, Montgomery DC, Vining GG, Robinson TJ (2010) Generalized linear models: with applications in engineering and the sciences (Vol. 791). Second edition. John Wiley & Sons.
- Natoli A, Peddemors VM, Rus Hoelzel A (2004) Population structure and speciation in the genus *Tursiops* based on microsatellite and mitochondrial DNA analyses. *Journal of evolutionary biology* 17:363-375
- Natoli A, Cañadas A, Peddemors V, Aguilar A, Vaquero C, Fernandez-Piqueras P, Hoelzel A (2006) Phylogeography and alpha taxonomy of the common dolphin (*Delphinus sp.*). *Journal of Evolutionary Biology* 19:943-954
- Natoli A, Peddemors VM, Hoelzel AR (2008) Population structure of bottlenose dolphins (*Tursiops aduncus*) impacted by bycatch along the east coast of South Africa. *Conservation Genetics* 9:627-636
- Nei M (1987) *Molecular evolutionary genetics*. Columbia University Press
- Newsome SD, Koch PL, Etnier MA, Aurioules-Gamboa D (2006) Using carbon and nitrogen isotope values to investigate maternal strategies in northeast Pacific otariids. *Marine Mammal Science* 22:556-572.
- Newsome SD, Martinez del Rio C, Bearhop S, Phillips DL (2007) A niche for isotopic ecology. *Frontiers in Ecology and the Environment* 5:429-436
- Newsome SD, Clementz MT, Koch PL (2010) Using stable isotope biogeochemistry to study marine mammal ecology. *Marine Mammal Science* 26:509-572

- Newsome SD, Chivers SJ, Berman Kowalewski M (2018) The influence of lipid-extraction and long-term DMSO preservation on carbon ($\delta^{13}\text{C}$) and nitrogen ($\delta^{15}\text{N}$) isotope values in cetacean skin. *Marine Mammal Science* 34:277-293
- Norris KS (1961) Standardized methods for measuring and recording data on the smaller cetaceans. *Journal of Mammalogy* 42:471-476
- O'Brien SJ (1994) A role for molecular genetics in biological conservation. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 91:5748-5755
- O'Leary MH (1988) Carbon isotopes in photosynthesis. *Bioscience* 38:328-336
- Oliveira L, Ott PH, Grazziotin FG, White B, Bonatto S (2011) Effective population size and bottleneck signals in the Atlantic population of the southern right whale. Proc Paper (SC/S11/RW26) presented to the Southern Right Whale Assessment Workshop. Commission International Whaling
- Oliveira LR, Loizaga De Castro R, Cárdenas-Alayza S, Bonatto SL (2012) Conservation genetics of South American aquatic mammals: an overview of gene diversity, population structure, phylogeography, non-invasive methods and forensics. *Mammal Review* 42:275-303
- Parker G, Paterlini M, Violante R, Boschi I (1997) El fondo marino. El Mar Argentino y sus Recursos Pesqueros, Book 1
- Pasquaud S, Lobry J, Elie P (2007) Facing the necessity of describing estuarine ecosystems: a review of food web ecology study techniques. *Hydrobiologia* 588:159-172
- Peakall R, Smouse PE (2006) GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular ecology notes* 6:288-295
- Pedraza S (2008) Ecología poblacional de la tonina overa, *Cephalorhynchus commersonii*, (Lacépède, 1804) en el litoral patagónico. Tesis Doctoral, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina

- Pérez-Alvarez MJ, Olavarría C, Moraga R, Baker CS, Hamner RM, Poulin E (2015) Microsatellite markers reveal strong genetic structure in the endemic Chilean dolphin. *PLoS One* 10:e0123956
- Pesquero CF (2016) Plan de acción nacional para reducir la interacción de aves con pesquerías en la República Argentina
- Peterson BJ, Fry B (1987) Stable isotopes in ecosystem studies. *Annual review of ecology and systematics* 18:293-320
- Phillips DL, Inger R, Bearhop S, Jackson AL, Moore JW, Parnell AC, Semmens BX, Ward EJ (2014) Best practices for use of stable isotope mixing models in food-web studies. *Canadian Journal of Zoology* 92:823-835
- Pianka ER (1974) Niche overlap and diffuse competition. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 71:2141-2145
- Pianka ER (2011) *Evolutionary ecology*, Vol 1. Eric R. Pianka
- Pichler F, Dawson S, Slooten E, Baker C (1998) Geographic isolation of Hector's dolphin populations described by mitochondrial DNA sequences. *Conservation Biology* 12:676-682
- Pichler F, Baker C (2000) Loss of genetic diversity in the endemic Hector's dolphin due to fisheries-related mortality. *Proceedings of the Royal Society of London Series B: Biological Sciences* 267:97-102
- Pichler F (2001) Population structure and genetic variation in Hector's dolphin (*Cephalorhynchus hectori*). ResearchSpace@ Auckland
- Pichler FB, Robineau D, Goodall RNP, Meyer M, Olivarría C, Baker CS (2001) Origin and radiation of Southern Hemisphere coastal dolphins (genus *Cephalorhynchus*). *Molecular Ecology* 10:2215-2223
- Pigliucci M (2001) *Phenotypic plasticity: beyond nature and nurture*. JHU Press
- Pimper LE, Baker CS, Goodall RNP, Olavarría C, Remis MI (2010) Mitochondrial DNA variation and population structure of Commerson's dolphins

- (*Cephalorhynchus commersonii*) in their southernmost distribution. Conservation Genetics 11:2157-2168
- Pimper LE, Goodall RNP, Remis MI (2012) First mitochondrial DNA analysis of the spectacled porpoise (*Phocoena dioptrica*) from Tierra del Fuego, Argentina. Mammalian Biology 77:459-462
- Pinela A, Borrell A, Cardona L, Aguilar A (2010) Stable isotope analysis reveals habitat partitioning among marine mammals off the NW African coast and unique trophic niches for two globally threatened species. Marine Ecology Progress Series 416:295-306
- Piola A (2008) Oceanografía física. Estado de Conservación del Mar Patagónico y áreas de influencia [on-line] Puerto Madryn, Argentina: Edición del Foro:1-21
- Piola AR, Rivas A (1997) Corrientes en la plataforma continental. El Mar Argentino y sus Recursos Pesqueros, Libro 1
- Ponce JF, Rabassa J, Coronato A, Borromei AM (2011) Palaeogeographical evolution of the Atlantic coast of Pampa and Patagonia from the last glacial maximum to the Middle Holocene. Biological Journal of the Linnean Society 103:363-379
- Pope TR (1996) Socioecology, population fragmentation, and patterns of genetic loss in endangered primates. En Conservation genetics: case histories from nature. J. C. Avise y J. L. Hamrick (eds.). Chapman y Hall, New York
- Popp BN, Laws EA, Bidigare RR, Dore JE, Hanson KL, Wakeham SG (1998) Effect of phytoplankton cell geometry on carbon isotopic fractionation. Geochimica et cosmochimica acta 62:69-77
- Post DM (2002) Using stable isotopes to estimate trophic position: models, methods, and assumptions. Ecology 83:703-718
- Pritchard JK, Stephens M, Donnelly P (2000) Inference of population structure using multilocus genotype data. Genetics 155:945-959

- Quay P, Sonnerup R, Westby T, Stutsman J, McNichol A (2003) Changes in the $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ of dissolved inorganic carbon in the ocean as a tracer of anthropogenic CO_2 uptake. *Global Biogeochemical Cycles* 17:4-1-4-20
- Rabassa J, Coronato A, Bujalesky G, Salemme M, Roig C, Meglioli A, Heusser C, Gordillo S, Roig F, Borrromei A (2000) Quaternary of Tierra del Fuego, southernmost South America: an updated review. *Quaternary International* 68:217-240
- Rambaut A, Suchard M, Xie D, Drummond A (2014) Tracer v1. 6. available from <http://beast.bio.ed.ac.uk/Tracer>
- Ramírez F, Abdennadher A, Sanpera C, Jover L, Wassenaar LI, Hobson KA (2011) Assessing waterbird habitat use in coastal evaporative systems using stable isotopes ($\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$ and δD) as environmental tracers. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 92:217-222
- Ramos-Onsins SE, Rozas J (2002) Statistical properties of new neutrality tests against population growth. *Molecular biology and evolution* 19:2092-2100
- Ray N, Currat M, Excoffier L (2003) Intra-deme molecular diversity in spatially expanding populations. *Molecular biology and evolution* 20:76-86
- Reeves RR, Smith BD, Crespo EA, Notarbartolo di Sciara G (2003) Dolphins, whales and porpoises: 2002-2010 conservation action plan for the world's cetaceans, Vol 58. IUCN
- Riccialdelli L, Newsome SD, Fogel ML, Goodall RNP (2010) Isotopic assessment of prey and habitat preferences of a cetacean community in the southwestern South Atlantic Ocean. *Marine Ecology Progress Series* 418:235-248
- Riccialdelli L, Newsome SD, Dellabianca NA, Bastida R, Fogel ML, Goodall RNP (2013) Ontogenetic diet shift in Commerson's dolphin (*Cephalorhynchus commersonii commersonii*) off Tierra del Fuego. *Polar Biology* 36:617-627

- Riccialdelli L, Newsome SD, Fogel ML, Fernández DA (2017) Trophic interactions and food web structure of a subantarctic marine food web in the Beagle Channel: Bahía Lapataia, Argentina. *Polar Biology* 40:807-821
- Rice WR (1989) Analyzing tables of statistical tests. *Evolution* 43:223-225
- Robineau D, Goodall RNP, Pichler F, Baker CS (2007) Description of a new subspecies of Commerson's dolphin, *Cephalorhynchus commersonii* (Lacépède, 1804), inhabiting the coastal waters of the Kerguelen Islands. *Mammalia* 71:172-180
- Rogers AR, Harpending H (1992) Population growth makes waves in the distribution of pairwise genetic differences. *Molecular biology and evolution* 9:552-569
- Rogers AR (1995) Genetic evidence for a Pleistocene population explosion. *Evolution* 49:608-615
- Romero MA, Dans SL, García N, Svendsen GM, González R, Crespo EA (2012) Feeding habits of two sympatric dolphin species off North Patagonia, Argentina. *Marine Mammal Science* 28:364-377
- Root TL, Price JT, Hall KR, Schneider SH, Rosenzweig C, Pounds JA (2003) Fingerprints of global warming on wild animals and plants. *Nature* 421:57-60
- Rossmann S, Berens McCabe E, Barros NB, Gandhi H, Ostrom PH, Stricker CA, Wells RS (2015) Foraging habits in a generalist predator: Sex and age influence habitat selection and resource use among bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*). *Marine Mammal Science* 31:155-168
- Roughgarden J (1976) Resource partitioning among competing species—a coevolutionary approach. *Theoretical Population Biology* 9:388-424
- Ruadreo N, Voigt CC, Bumrungsri S (2018) Large dietary niche overlap of sympatric open-space foraging bats revealed by carbon and nitrogen stable isotopes. *Acta Chiropterologica* 20:329-341

- Rubenstein DR, Hobson KA (2004) From birds to butterflies: animal movement patterns and stable isotopes. *Trends in Ecology & Evolution* 19:256-263
- Salas S, Chuenpagdee R, Charles AT, Seijo JC (2011) Coastal fisheries of Latin America and the Caribbean, Vol 544. Food and Agriculture Organization of the United Nations ^ eRome Rome
- Schiavini AC, Goodall RNP, Lescrauwaet A-K, Alonso MK (1997) Food habits of the Peales dolphin *Lagenorhynchus australis*; review and new information. *Rep Int Whal Comm* 47:827-834
- Schiavini ACM, Yorio PM, Gandini PA, Raya Rey AN, Boersma PD (2005) Los pingüinos de las costas argentinas: estado poblacional y conservación.
- Schoeller DA (1999) Isotope fractionation: why aren't we what we eat? *Journal of Archaeological Science* 26:667-673
- Secchi ER, Botta S, Wiegand MM, Lopez LA, Fruet PF, Genoves RC, Di Tullio JC (2016) Long-term and gender-related variation in the feeding ecology of common bottlenose dolphins inhabiting a subtropical estuary and the adjacent marine coast in the western South Atlantic. *Marine Biology Research*:1-14
- Segura I, Rocha-Olivares A, Flores-Ramírez S, Rojas-Bracho L (2006) Conservation implications of the genetic and ecological distinction of *Tursiops truncatus* ecotypes in the Gulf of California. *Biological Conservation* 133:336-346
- Sigman DM, DiFiore PJ, Hain MP, Deutsch C, Wang Y, Karl DM, Knapp AN, Lehmann MF, Pantoja S (2009) The dual isotopes of deep nitrate as a constraint on the cycle and budget of oceanic fixed nitrogen. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers* 56:1419-1439
- Skovrind M, Louis M, Westbury MV, Garilao C, Kaschner K, Castruita JAS, Gopalakrishnan S, Knudsen SW, Haile JS, Dalén L (2021) Circumpolar

- phylogeography and demographic history of beluga whales reflect past climatic fluctuations. *Molecular Ecology*
- Slater GJ, Price SA, Santini F, Alfaro ME (2010) Diversity versus disparity and the radiation of modern cetaceans. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 277:3097-3104
- Slatkin M (1985) Gene flow in natural populations. *Annual review of ecology and systematics* 16:393-430
- Smith JA, Mazumder D, Suthers IM, Taylor MD (2013) To fit or not to fit: evaluating stable isotope mixing models using simulated mixing polygons. *Methods in Ecology and Evolution* 4:612-618
- SPSS I (2017) IBM SPSS Statistics for mac, version 25. Armonk, NY: IBM SPSS Corp
- Stock B, Semmens B (2016) MixSIAR GUI User Manual, version 3.1; 2016.
- Stock BC, Jackson AL, Ward EJ, Parnell AC, Phillips DL, Semmens BX (2018) Analyzing mixing systems using a new generation of Bayesian tracer mixing models. *PeerJ* 6
- Swanson HK, Lysy M, Power M, Stasko AD, Johnson JD, Reist JD (2015) A new probabilistic method for quantifying n-dimensional ecological niches and niche overlap. *Ecology* 96:318-324
- Tagliorette A, Losano P (1996) Demanda turística en áreas costeras protegidas de la Patagonia. *Informes Técnicos del Plan de Manejo Integrado de la Zona Costera Patagónica – Fundación Patagonia Natural N° 25: 1 – 30* Puerto Madryn. 30 pp.
- Templeton AR (2006) *Population genetics and microevolutionary theory*. John Wiley & Sons
- Thomas CD, Cameron A, Green RE, Bakkenes M, Beaumont LJ, Collingham YC, Erasmus BF, De Siqueira MF, Grainger A, Hannah L (2004) Extinction risk from climate change. *Nature* 427:145

- Thompson D, Duck C, McConnell B, Garrett J (1998) Foraging behaviour and diet of lactating female southern sea lions (*Otaria flavescens*) in the Falkland Islands. *Journal of Zoology* 246:135-146
- Toperoff AK (2002) Examination of diet of harbor porpoise (*Phocoena phocoena*) from central California using stomach content and stable isotope analysis from multiple tissues. San Jose State University
- Tóth G, Gáspári Z, Jurka J (2000) Microsatellites in different eukaryotic genomes: survey and analysis. *Genome research* 10:967-981
- Túnez JI, Cappozzo HL, Nardelli M, Cassini MH (2010) Population genetic structure and historical population dynamics of the South American sea lion, *Otaria flavescens*, in north-central Patagonia. *Genetica* 138:831-841
- Valenzuela LO, Sironi M, Rowntree VJ, Seger J (2009) Isotopic and genetic evidence for culturally inherited site fidelity to feeding grounds in southern right whales (*Eubalaena australis*). *Molecular Ecology* 18:782-791
- Vales DG, Cardona L, García NA, Zenteno L, Crespo EA (2015) Ontogenetic dietary changes in male South American fur seals *Arctocephalus australis* in Patagonia. *Marine Ecology Progress Series* 525:245-260
- Vales DG, Cardona Pascual L, Loizaga R, García NA, Crespo EA (2020) Long-term stability in the trophic ecology of a pelagic forager living in a changing marine environment. *Frontiers In Marine Science*, 2020, vol 7, num 87
- Van Oosterhout C, Hutchinson WF, Wills DP, Shipley P (2004) MICRO-CHECKER: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Molecular Ecology Notes* 4:535-538
- Venegas Canelo C, Atalah A Prospección aérea otoñal de toninas overas (*Cephalorhynchus commersonii*) en el Estrecho de Magallanes. *Proc Anales del Instituto de la Patagonia*

- Venegas Canelo C Estimación de la densidad poblacional, mediante transectos aéreos en línea, de la tunina overa *Cephalorhynchus commersonii* en el estrecho de Magallanes, Chile. Proc Anales del Instituto de la Patagonia
- Verburg P (2007) The need to correct for the Suess effect in the application of $\delta^{13}\text{C}$ in sediment of autotrophic Lake Tanganyika, as a productivity proxy in the Anthropocene. *Journal of Paleolimnology* 37:591-602
- Vighi M, Borrell A, Crespo EA, Oliveira LR, Simões-Lopes PC, Flores PA, García NA, Aguilar A (2014) Stable isotopes indicate population structuring in the Southwest Atlantic population of right whales (*Eubalaena australis*). *PLOS one* 9:e90489
- Vollmer NL, Rosel PE (2017) Fine-scale population structure of common bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) in offshore and coastal waters of the US Gulf of Mexico. *Marine Biology* 164:1-15
- Vollmer NL, Ashe E, Brownell Jr RL, Cipriano F, Mead JG, Reeves RR, Soldevilla MS, Williams R (2019) Taxonomic revision of the dolphin genus *Lagenorhynchus*. *Marine Mammal Science* 35:957-1057
- Waples RS, Gaggiotti O (2006) INVITED REVIEW: 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
- Waples RS, Do C (2008) LDNE: a program for estimating effective population size from data on linkage disequilibrium. *Molecular ecology resources* 8:753-756
- Webster MS, Marra PP, Haig SM, Bensch S, Holmes RT (2002) Links between worlds: unraveling migratory connectivity. *Trends in Ecology & Evolution* 17:76-83
- White R (2002) The distribution of seabirds and marine mammals in Falkland Islands waters. Joint Nature Conservation Committee
- Willoughby JR, Sundaram M, Wijayawardena BK, Kimble SJ, Ji Y, Fernandez NB, Antonides JD, Lamb MC, Marra NJ, DeWoody JA (2015) The reduction of

- genetic diversity in threatened vertebrates and new recommendations regarding IUCN conservation rankings. *Biological Conservation* 191:495-503
- Wilson GA, Rannala B (2003) Bayesian inference of recent migration rates using multilocus genotypes. *Genetics* 163:1177-1191
- Wilson RM, Tyson RB, Nelson JA, Balmer BC, Chanton JP, Nowacek DP (2017) Niche differentiation and prey selectivity among common bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) sighted in St. George Sound, Gulf of Mexico. *Frontiers in Marine Science* 4:235
- Wright S (1951) The genetical structure of populations. *Annals of eugenics* 15:323-354
- Ywasaki Lima J, Machado FB, Farro APC, Barbosa Lda, da Silveira LS, Medina-Acosta E (2017) Population genetic structure of Guiana dolphin (*Sotalia guianensis*) from the southwestern Atlantic coast of Brazil. *Plos one* 12:e0183645
- Zhan L, Paterson IG, Fraser BA, Watson B, Bradbury IR, Nadukkalam Ravindran P, Reznick D, Beiko RG, Bentzen P (2017) MEGASAT: automated inference of microsatellite genotypes from sequence data. *Molecular ecology resources* 17:247-256

TRABAJOS DE RESPALDO

De acuerdo con lo establecido en el reglamento de la Carrera de Doctorado de la Universidad Nacional del Comahue, se presentan los siguientes trabajos de respaldo a la Tesis Doctoral:

- Durante CA, Cunha HA, Crespo EA, & Loizaga R (2020). Coming to light: First insight into the genetic diversity of Peale's dolphins at a Patagonian MPA. *Marine Mammal Science* 36:972-980.
- Durante CA, Crespo EA, & Loizaga R (2021). Isotopic niche partitioning between two small cetacean species. *Marine Ecology Progress Series* 659:247-259.

NOTE

Coming to light: First insight into the genetic diversity of Peale's dolphins at a Patagonian MPA

Cristian Alberto Durante^{1,2}  | Haydée Andrade Cunha³ |
Enrique Alberto Crespo^{1,4}  | Rocio Loizaga¹ 

¹Laboratorio de Mamíferos Marinos, Centro para el Estudio de Sistemas Marinos (CESIMAR) – Centro Nacional Patagónico – CONICET, Puerto Madryn, Chubut, Argentina

²Universidad Nacional del Comahue, San Carlos de Bariloche, Rio Negro, Argentina

³Laboratório de Mamíferos Aquáticos e Bioindicadores Professora Izabel Gurgel (MAQUA), Faculdade de Oceanografia, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Brazil

⁴Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco (UNPSJB), Puerto Madryn, Chubut, Argentina

Correspondence

Cristian Alberto Durante, Boulevard Brown 2915, U9120ACD Puerto Madryn, Chubut, Argentina.

Email: kily@cenpat-conicet.gob.ar

Genetic diversity is a measure of genetic variation among individuals of a species. This variation, a result of mutations and changes in allelic frequencies, can be maintained or not due to the action of other evolutionary forces, namely migration (gene flow), genetic drift, and natural selection (Frankham, Ballou, & Briscoe, 2002). Genetic diversity is the raw matter upon which natural selection operates, providing species with the capacity to cope with habitat changes, i.e., their evolutionary potential (Laikre, 2010). For this reason, the preservation of genetic diversity is considered an essential issue by the International Union for Conservation of Nature (McNeely, Miller, Reid, Mittermeier, & Werner, 1990; Willoughby et al., 2015), and genetic studies provide essential data for the conservation of biodiversity (Laikre, 2010).

Characterizing the genetic diversity of a species is the first step to better understanding its evolutionary history, and the impact of environmental and demographic changes that act upon it (Hartl & Clark, 1997). For example, studies have been able to infer the demographic history of marine mammal species and relate it to climate-driven changes in the past (Fontaine et al., 2010; Hoelzel, 2016). Another study has documented loss of genetic diversity in a population following a demographic decline, and both populational processes correlated with the arrival of gillnets (Pichler & Baker, 2000). Endangered species usually have reduced genetic diversity relative to nonthreatened taxa (Frankham et al., 2002); small population size, population bottlenecks, inbreeding, and restricted gene flow are all factors that, singly or in combination, affect allele frequencies and, consequently, can reduce the genetic diversity of a given species (Bishop, Leslie, Bourquin, & O’Ryan, 2009; Branch & Jackson, 2008; de Bruyn et al., 2009).

Marine protected areas (MPA) are created to conserve as much natural diversity as possible, and cetaceans provide a good example of this conservation approach (Notarbartolo di Sciarra, 2007; Roberge & Angelstam, 2004). Cetaceans often act as umbrella species; a taxon that is considered charismatic, with wide geographical ranges and expansive habitat requirements such that their conservation can automatically help with the preservation of other species (Simberloff, 1998).

Peale's dolphins, *Lagenorhynchus australis*, are endemic and appear confined to shelf waters off southern South America. The species most commonly ranges from 38°S to 59°S in the Pacific Ocean and as far north as 44°S in the

Atlantic Ocean, including the Falkland (Malvinas) Islands, with extraordinary records to 33°S and 38°S in the Pacific and Atlantic Ocean, respectively (Cipriano, 2018). Peale's dolphins inhabit different nearshore habitats including kelp forest, fjords, and deep bays (Brownell, Crespo, & Donahue, 1999; de Haro & Iñíguez, 1997; Dellabianca et al., 2016; Goodall et al., 1997; Lesrauwaet, 1997); they can also be found ~300 km offshore in the open sea (Dellabianca et al., 2016). The species was heavily affected by a single fishery targeting two species, the southern king crab, *Lithodes santolla*, and false king crab, *Paralomis granulosa*, during the 1970s and 1980s, where it was used as bait (Goodall, Galeazzi, & Lichter, 1988; Goodall, Schiavini, & Fermari, 1994; Lesrauwaet & Gibbons, 1994). Despite a lack of information on how many individuals were removed during this fishery, it is believed that the exploitation was sufficiently intense that *L. australis* was at risk of local extinction (Goodall et al., 1988). Currently, the species is exposed to habitat degradation mostly due to increasing oil exploration and exploitation activities (de Haro, 2003), and to a lesser extent by human activities such as fisheries and tourism.

Coastal marine mammals are broadly affected by the loss of coastal habitat due to the exponential increase in human density; these areas are critical for essential biological activities like feeding and calving, (Loizaga de Castro, Dans, & Crespo, 2016; Weir, Duprey, & Würsig, 2008). For Peale's dolphins, habitat use patterns and population differentiation along its endemic coastal distribution in southern South America remain unknown. The only available information relates to distribution, abundance, and habitat preferences (Dellabianca et al., 2016; Riccialdelli, Newsome, Fogel, & Goodall, 2010; Schiavini, Goodall, Lesrauwaet, & Alonso, 1997). The present study is the first to characterize the genetic diversity of Peale's dolphins in an MPA along the Argentine coast.

Twenty-three skin samples of Peale's dolphins were collected between 2007 and 2009 from the northern coast of Golfo San Jorge, in the MPA of the Interjurisdictional Marine Coastal Patagonia Austral Park (PIMCPA in Spanish) (Figure 1). Biopsy samples were taken from adult individuals using a pole system according to Loizaga de Castro, Hoelzel, and Crespo (2013). All samples were preserved in 20% dimethyl sulfoxide (DMSO) solution saturated with sodium chloride (NaCl) until analysis (Amos & Hoelzel, 1991).

Total genomic DNA was extracted from samples using a QIAamp Tissue Kit (Qiagen). Molecular sexing was performed through the amplification of ZFX and ZFY regions following Bérubé and Palsbøll (1996). A ~900 base pair (bp) fragment of the mitochondrial DNA (mtDNA) control region was amplified using primers MTCRf (5'-TTCCCCGGTCTTGTAACC) and MTCRr (5'-TTTTCAGTGCTTGCTTT) (Hoelzel, Hancock, & Dover, 1991). The PCR profile used was: 3 min at 93°C; then 30 cycles of 1 min at 92°C, 1 min at 48°C, and 1 min at 72°C; then a final extension phase of 5 min at 72°C. All reactions were performed in a 25 µl final volume containing: 0.5 units of Taq

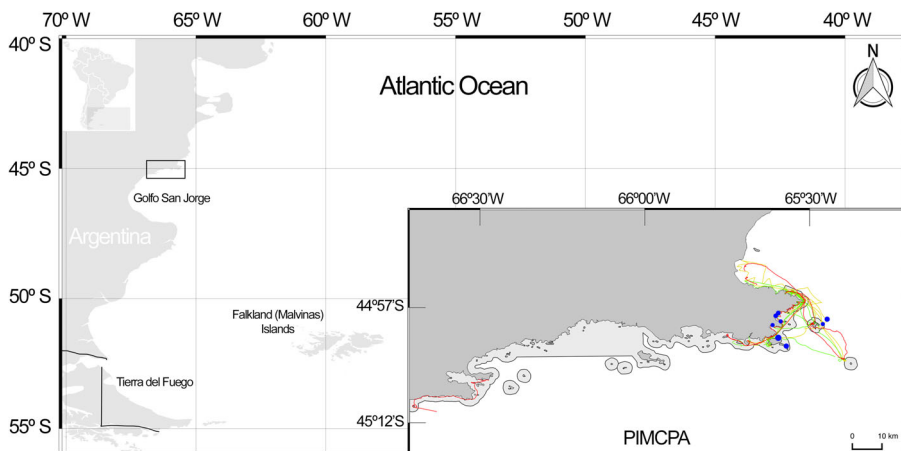


FIGURE 1 Study area is shaded in gray, detailing the Interjurisdictional Marine Coastal Patagonia Austral Park (PIMCPA), Tierra del Fuego, and the Falkland (Malvinas) Islands. The size of the blue circles is proportional to sample size, and the continuous colored lines represent the sampling effort in 2007 (yellow), 2008 (green), and 2009 (red).

DNA polymerase; 2.5 mM MgCl₂, 200 μM dNTPs, 10 mM buffer (Tris-HCl, pH 8.4), 0.3 μM of each primer and 1 μl of DNA template (approximately 50 ng, ladder checked). PCR products were purified with ExoSAP-IT and both strands were sequenced using an ABI3500 with BigDye Terminator v. 3.1 chemistry (Applied Biosystems). Sequences were visually checked and aligned using MEGA7 (Kumar, Stecher, & Tamura, 2016), and deposited in GenBank under accession numbers MN746782–MN746786.

Both nucleotide (π) and haplotype (h) diversity (Nei, 1987) were computed using DNAsp v5 (Librado & Rozas, 2009). Using all data from PIMCPA to assess historical demographic changes, the Fu neutrality test (Fu, 1997) and mismatch distribution analysis (Rogers & Harpending, 1992) were computed using Arlequin 3.5.2.2 (Excoffier & Lischer, 2010), while the R_2 statistic (Ramos-Onsins & Rozas, 2002) was computed in DNAsp v5 (Librado & Rozas, 2009). Genealogical relationships among haplotypes were reconstructed using a median-joining network built with the program Network 5.0.1.0 using default parameters (Bandelt, Forster, & Röhl, 1999). This analysis included mtDNA haplotypes from samples collected from PIMCPA plus 13 sequences available in GenBank: 2 sequences from Tierra del Fuego (1,000 km to the south; Accession numbers AF393534.1, AF393532.1; Pichlet et al., 2001) and 11 sequences from the Falkland (Malvinas) Islands (Accession numbers MH936428.1–MH936438.1; Steel, Baker, & Costa¹). All sequences used for the Network analysis were truncated to 318 bp to align with the 13 sequences previously deposited in GenBank.

The sex ratio was tested via a χ^2 -test using R-3.4.0 (R Core Team, 2017). The sample set included 7 males and 11 females, and sex could not be determined for five individuals, showing a 1:1 sex ratio for the PIMCPA population ($\chi^2_{\text{ Yates}} = 0.11$; g.l. = 1, $p = .73$). A 661 bp consensus mtDNA control region was successfully amplified and sequenced in 19 samples. Five haplotypes were defined by 13 polymorphic sites (11 transition and 2 transversions) in Peale's dolphins from PIMCPA. The most frequent haplotype was H1, probably the ancestral haplotype due to its predominance and location, being in the middle of the network and surrounded by other less frequent haplotypes; followed by H2 and H3, while the two remaining haplotypes were singletons. Sequences derived from GenBank, using a sequence fragment of 318 bp for the Network analysis, were used for comparison recovering the same five haplotypes and nine new haplotypes: two from Tierra del Fuego and seven from the Falkland (Malvinas) Islands (Figure 2). The haplotype network suggests potential population structure for Peale's dolphins in the western South Atlantic Ocean, despite the small sample size and some haplotypes being shared between PIMCPA and the Falkland (Malvinas) Islands (Figure 2). Although there are no obvious missing haplotypes identified in our data set, according to the Network analysis, there is still the need for further sampling because it is unlikely that all existing haplotypes in this species have been captured in this study.

The overall haplotype ($h = 0.6725 \pm 0.0898$) and nucleotide diversities ($\pi = 0.0053 \pm 0.0032$) showed moderate levels of genetic diversity in comparison to other small cetacean species in the region (Table 1). The observed curve of the mismatch analysis was different from the expected curve (unimodal), presenting a ragged and multimodal shape (Figure 3). These results are supported by significant p -values ($\alpha = 0.05$) from two statistics used to assess the goodness of model fit to a theoretical expansion model: the sum of squared deviation ($SSD = 0.1877$, $p = .006$) and the Harpending's raggedness index ($r = 0.496$, $p = .001$). Particularly, this latter test allows us to quantify the smoothness of the mismatch distributions and discriminate between two demographic models, with low values ($r < 0.03$) indicating a population under expansion and higher values ($r > 0.03$) indicating population stability, as in the case of the present study (Harpending, 1994; Rogers & Harpending, 1992). Additionally, the R_2 statistic and Fu's F_s showed values of 0.1357 ($p > .05$) and 2.3481 ($p > .02$), respectively. The nonsignificant p -values suggest that the neutral mutation hypothesis, as the null hypothesis, cannot be rejected, thus the population would be in mutation-drift equilibrium, maintaining a relatively constant population size (Fu, 1997; Ramos-Onsins & Rozas, 2002; Tajima, 1989). These results indicate that the sampled Peale's dolphin population did not suffer a population expansion in the last 10,000 years.

Genetic diversity information from Peale's dolphins is new, and few studies have reported genetic diversity in species taxonomically close to Peale's dolphins. The Peale's dolphin population from PIMCPA exhibited moderate values of genetic diversity, similar to those found in Commerson's dolphins, *Cephalorhynchus commersonii* (Cipriano, Hevia, & Iñíguez, 2011). Both species are endemic to Southern Hemisphere waters and live in sympatry along the

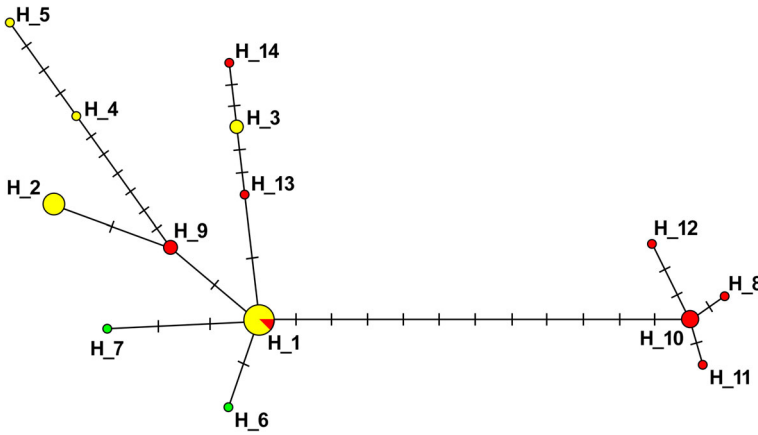


FIGURE 2 Haplotype network of *Lagenorhynchus australis* mitochondrial DNA control region sequences built using the median-joining algorithm ($n = 32$, 318 bp). Peale's dolphins from PIMCPA are shown in yellow, Tierra del Fuego samples are shown in green, and those from the Falkland (Malvinas) Islands are shown in red. The size of the circles is proportional to haplotype frequency and the dashes between them represent single mutational steps.

TABLE 1 Estimates of genetic diversity using the mitochondrial DNA control region from other studies with small cetaceans in the western South Atlantic Ocean.

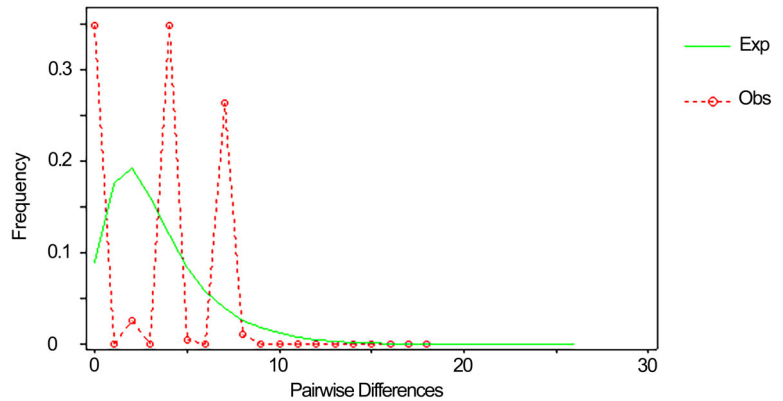
	Haplotype diversity	Nucleotide diversity	n	Base pairs	Source
<i>Lagenorhynchus australis</i>	0.6725 ± 0.0898	0.0053 ± 0.0032	19	661	Present study
<i>Lagenorhynchus obscurus</i>	0.9300 ± 0.0360	0.0044 ± 0.0025	124	1,024 ^a	Cassens et al. (2003)
	0.8500 ± 0.0300	0.0050 ± 0.0001	119	413	Loizaga de Castro et al. (2016)
<i>Cephalorhynchus commersonii</i>	0.6710 ± 0.1060	0.0040 ± 0.0028	57	423	Cipriano, Hevia, & Iñíguez (2011)
	0.8070 ± 0.0160	0.0040 ± 0.0025	196	466	Pimper, Baker, Goodall, Olavarria, & Remis (2010)
<i>Tursiops truncatus</i>	0.7022 ± 0.0352	0.0195 ± 0.0090	124	457	Fruet et al. (2014)
<i>Phocoena dioptrica</i>	0.9660 ± 0.0120	0.0099 ± 0.0056	50	380	Pimper, Goodall, & Remis (2012)
<i>Pontoporia blainvillei</i>	0.8384 ± 0.0449	0.0107 ± 0.0061	173	560	Mendez, Rosenbaum, & Bordino (2008)
	0.8680 ± 0.0180	0.0090 ± 0.0004	31	455	Cunha et al. (2014)
	0.7500 ± 0.0500	0.0120 ± 0.0070	44	434	Negri, Cappozzo, & Túnez (2016)

^aCytochrome *b* gene.

Argentine coast (Cipriano, 2018; Dawson, 2018). In addition, both species have small group sizes and are mostly found in coastal habitats (Cipriano, 2018; Dawson, 2018). These characteristics are shared with populations of the bottlenose dolphin, *Tursiops truncatus*, in Lagoa dos Patos, Brazil, that showed similar levels of genetic diversity in a small and highly philopatric population with strong dependence on local habitats (Fruet et al., 2014).

At the same time, specialization on local resources (i.e., prey and habitat use) may be another explanation for the moderate genetic diversity in Peale's dolphins, which have shown resource partitioning between two ecotypes in the PIMCPA area based on stable isotope analysis (Durante, Loizaga de Castro, & Crespo, 2018). These ecotypes were identified by the absence of overlap in their isotopic niches, which suggested the spatial partitioning in depth or

FIGURE 3 Mismatch distributions for Peale's dolphins from PIMCPA. The observed number of differences are given as a red dashed line, and those expected under a population expansion model are given as a green line.



distance from shore (e.g., pelagic/offshore vs. benthic/inshore). In agreement with previous studies (Slater, Price, Santini, & Alfaro, 2010), the differential use of trophic resources may be the most probable explanation for cetacean diversification. Currently, the hypothesis holds that different foraging strategies between groups (e.g., inshore vs offshore populations) could lead to genetic divergence (Baker et al., 1990, 1993; Hoelzel, Dalheim, & Stern, 1998; Natoli, Peddemors, & Hoelzel, 2004).

Results from demographic analyses were consistent, and although sample size was low, suggest that the Peale's dolphin population from this area of the now Patagonian MPA has been stable during its recent evolutionary past (last 10,000 years). In addition, the species showed high values of both diversities ($h > 0.5$ and $\pi > 0.005$) which supports that Peale's dolphin within PIMCPA are a stable population with a long evolutionary history, or potentially represent a secondary contact between differentiated lineages (Grant & Bowen, 1998). This demographic pattern differs from other studies in the western South Atlantic Ocean, where other marine mammals have experienced a recent population expansion (Crespo et al., 2015; Feijoo, Lessa, Loizaga de Castro, & Crespo, 2011; Loizaga de Castro et al., 2016; Oliveira, Ott, Graziotin, White, & Bonatto, 2011; Pimper et al., 2010, 2012; Túnez, Cappozzo, Nardelli, & Cassini, 2010). One hypothesis that may explain the demographic expansion pattern in these other species is that after the last glacial and sea ice retreat (~15,000 years ago), physical barriers were eliminated and more suitable habitat became available for marine mammals, leading to sudden demographic expansion along the South American coastline (Pichler et al., 2001; Ponce, Rabassa, Coronato, & Borromei, 2011). These habitat changes could also have produced changes in prey distribution and abundance. The PIMCPA population has likely had an independent population trajectory compared to other marine mammal species; nonetheless, any past changes in habitat or other resources such as prey abundance and distribution do not seem to have majorly impacted the demographic pattern of Peale's dolphins in the western South Atlantic, based on the current data set.

Using spatial models to estimate abundance, Dellabianca et al. (2016) found two hotspots in the density of Peale's dolphins that are consistent with a medium to high primary productivity zone; one in the east of Golfo San Jorge and the other in the south of Tierra del Fuego. However, it is unknown how many populations of Peale's dolphins occur within this area and how environmental variables may affect the habitat use.

Overall, we strongly recommend that future research projects increase sampling effort across the distribution of Peale's dolphins and extend the molecular analysis to bi-parentally inherited markers. A larger sample size, in addition to the inclusion of nuclear markers, such as microsatellites, will allow a better understanding of the population structure and demographic history of this species. In addition, evaluation of habitat use, diet, and population dynamics are needed in order to increase our understanding of this endemic species.

Although the dolphins in this study live in an MPA and are protected, the establishment of an MPA is only the beginning of the conservation process. It is important to highlight that, while preliminary, the results of the present study provide essential information to complement the process of conservation and management of Peale's dolphins. Peale's dolphins have been chronically understudied, and this is the first genetic study along the Argentine coast, and

it surprisingly reveals a demographic history different from other top marine predators in the region. However, the species showed that their evolutionary potential was strong enough to cope with past climate changes, given that it did not show a negative demographic change. The species displays different foraging strategies, which may be explained by species plasticity, and also may have strong philopatry at a small geographic scale. More information is required to comprehensively understand Peale's dolphins in Argentina, and across their entire distribution in southern South America, to be able to inform appropriate and successful conservation and management strategies for this enigmatic species

ACKNOWLEDGMENTS

The authors are indebted to many people and institutions that collaborated in this research. We would like to thank colleagues and fellows at the Laboratorio de Mamíferos Marinos (CESIMAR-CONICET) and Laboratório de Mamíferos Aquáticos e Bioindicadores (MAQUA) of Universidade do Estado do Rio de Janeiro for logistic and institutional support. Funds were received from Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (PICTs No 11679, 33934, 2110 and 2063), PNUD ARG-02/018 (B- B27), Mohamed bin Zayed Species Conservation Fund, Lerner Gray Memorial Fund of the American Museum of Natural History and Padi Foundation Grant. We thank Emma A. Elliott Smith and Ross Barnett who kindly reviewed the English grammar of the manuscript. At the time this manuscript was written, C.D. was supported by a Doctoral Fellowship from the National Research Council of Argentina (CONICET). The collection of samples was approved by all regulatory bodies: the "Dirección de Fauna y Flora Silvestre, Subsecretaría de Recursos Naturales, Ministerio de Industria, Agricultura y Ganadería" and the "Subsecretaría de Conservación y Áreas Protegidas, Secretaría de Turismo" (permits: N°41/2009, N°002/2009, N°23/07 N°001/10, N°178/07).

ORCID

Cristian Alberto Durante  <https://orcid.org/0000-0003-3879-6529>

Enrique Alberto Crespo  <https://orcid.org/0000-0001-9216-7817>

Rocio Loizaga  <https://orcid.org/0000-0001-5270-7401>

ENDNOTE

¹Steel, D. J., Baker, C. S., & Costa, M. (2018) Dolphins of the kelp—Commerson's and Peale's dolphins around the Falkland Islands (unpublished). Submitted (September 20, 2018). Marine Mammal Institute, Oregon State University, 2030 SE Marine Science Drive, Newport, OR 97365. Available from GenBank: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>.

REFERENCES

- Amos, W. J., & Hoelzel, A. R. (1991). Long-term skin preservation of whale skin for DNA analysis. *Reports of the International Whaling Commission, Special Issue 13*, 99–103.
- Baker, C., Palumbi, S., Lambertsen, R., Weinrich, M., Calambokidis, J., & O'Brien, S. J. (1990). Influence of seasonal migration on geographic distribution of mitochondrial DNA haplotypes in humpback whales. *Nature*, 344, 238–240.
- Baker, C., Perry, A., Bannister, J., Weinrich, M., Abernethy, R. B., Calambokidis, J., ... Vasquez, O. (1993). Abundant mitochondrial DNA variation and world-wide population structure in humpback whales. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 90, 8239–8243.
- Bandelt, H. J., Forster, P., & Röhl, A. (1999). Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular Biology and Evolution*, 16, 37–48.
- Bérubé, M., & Palsbøll, P. (1996). Identification of sex in cetaceans by multiplexing with three ZFX and ZFY specific primers. *Molecular Ecology*, 5, 283–287.
- Bishop, J. M., Leslie, A. J., Bourquin, S. L., & O'Ryan, C. (2009). Reduced effective population size in an overexploited population of the Nile crocodile (*Crocodylus niloticus*). *Biological Conservation*, 142, 2335–2341.
- Branch, T., & Jackson, J. (2008). *Minimum bottleneck abundance of Antarctic blue whales based on current mtDNA diversity*. Report (SC/60/SH10) to the Scientific Committee of the International Whaling Commission.
- Brownell, R., Jr., Crespo, E. A., & Donahue, M. A. (1999). Peale's dolphin, *Lagenorhynchus australis* (Peale 1848). In S. H. Ridgway & R. Harrison (Eds.), *Handbook of marine mammals: The second book of dolphins and porpoises* (Vol. 6, pp. 105–120). San Diego, CA: Academic Press.

- Cassens, I., Van Waerebeek, K., Best, P. B., Crespo, E. A., Reyes, J., & Milinkovitch, M. C. (2003). The phylogeography of dusky dolphins (*Lagenorhynchus obscurus*): A critical examination of network methods and rooting procedures. *Molecular Ecology*, 12, 1781–1792.
- Cipriano, F. (2018). Peale's dolphin: *Lagenorhynchus australis*. In B. Würsig, J. G. M. Thewissen, & K. M. Kovacs (Eds.), *Encyclopedia of marine mammals* (pp. 698–701). San Diego, CA: Elsevier.
- Cipriano, F., Hevia, M., & Iñiguez, M. (2011). Genetic divergence over small geographic scales and conservation implications for Commerson's dolphins (*Cephalorhynchus commersonii*) in southern Argentina. *Marine Mammal Science*, 27, 701–718.
- Crespo, E. A., Schiavini, A. C., García, N. A., Franco Trecu, V., Goodall, R. N. P., Rodríguez, D., ... Oliveira, L. R. (2015). Status, population trend and genetic structure of South American fur seals, *Arctocephalus australis*, in southwestern Atlantic waters. *Marine Mammal Science*, 31, 866–890.
- Cunha, H. A., Medeiros, B. V., Barbosa, L. A., Cremer, M. J., Marigo, J., Lailson-Brito, J., ... Solé-Cava, A. M. (2014). Population structure of the endangered franciscana dolphin (*Pontoporia blainvillei*): Reassessing management units. *PLoS ONE*, 9(1), e85633.
- Dawson, S. M. (2018). *Cephalorhynchus* dolphins: *C. heavisidii*, *C. eutropia*, *C. hectori*, and *C. commersonii*. In B. Würsig, J. G. M. Thewissen, & K. M. Kovacs (Eds.), *Encyclopedia of marine mammals* (3rd ed. 166–172). San Diego, CA: Elsevier.
- de Bruyn, M., Hall, B. L., Chauke, L. F., Baroni, C., Koch, P. L., & Hoelzel, A. R. (2009). Rapid response of a marine mammal species to Holocene climate and habitat change. *PLoS Genetics*, 5, e1000554.
- de Haro, J. C. (2003). *Observations on the impact of the petroleum activity in the south of the province of Santa Cruz, Argentine Patagonia*. In *Paper (SC/55/E20) to the International Whaling Commission Scientific Committee*.
- de Haro, J. C., & Iñiguez, M. A. (1997). Ecology and behaviour of the Peale's dolphin, *Lagenorhynchus australis* (Peale, 1848) at Cabo Virgenes (52°30'S, 68°28'W), Patagonia Argentina. *Reports of the International Whaling Commission*, 47, 723–727.
- Dellabianca, N. A., Pierce, G. J., Rey, A. R., Scioscia, G., Miller, D. L., Torres, M. A., ... Schiavini, A. C. (2016). Spatial models of abundance and habitat preferences of Commerson's and Peale's dolphin in southern Patagonian waters. *PLoS ONE*, 11(10), e0163441.
- Durante, C. A., Loizaga de Castro, R., & Crespo, E. A. (2018). *Trophic niche and habitat use of two sympatric endemic dolphin species from Patagonia, Argentina*. Paper presented at the 11th International Conference on the Applications of Stable Isotope Techniques to Ecological Studies (IsoEcol 2018), 30 July–3 August 2018, Universidad Andrés Bello, Viña del Mar, Chile. Retrieved from <http://www.isoecol.com/2018/>
- Excoffier, L., & Lischer, H. E. (2010). Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources*, 10, 564–567.
- Feijoo, M., Lessa, E. P., Loizaga De Castro, R., & Crespo, E. A. (2011). Mitochondrial and microsatellite assessment of population structure of South American sea lion (*Otaria flavescens*) in the southwestern Atlantic Ocean. *Marine Biology*, 158, 1857–1867.
- Fontaine, M. C., Tolley, K. A., Michaux, J. R., Birkun, A., Jr., Ferreira, M., Jauniaux, T., ... Ridoux, V. (2010). Genetic and historic evidence for climate-driven population fragmentation in a top cetacean predator: The harbour porpoises in European water. *Proceedings of the Royal Society, Series B: Biological Sciences*, 277, 2829–2837.
- Frankham, R., Ballou, J. D., & Briscoe, D. A. (2002). *Introduction to conservation genetics*. Cambridge, UK: Cambridge University Press.
- Fruet, P. F., Secchi, E. R., Daura-Jorge, F., Vermeulen, E., Flores, P. A., Simoes-Lopes, P. C., ... Freitas, T. R. O. (2014). Remarkably low genetic diversity and strong population structure in common bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) from coastal waters of the southwestern Atlantic Ocean. *Conservation Genetics*, 15, 879–895.
- Fu, Y. X. (1997). Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection. *Genetics*, 147, 915–925.
- Goodall, R. N. P., Schiavini, A. C. M., & Fermani, C. (1994). Net fisheries and net mortality of small cetaceans off Tierra del Fuego, Argentina. *Reports of the International Whaling Commission, Special Issue 15*, 295–304.
- Goodall, R. N. P., Galeazzi, A. R., & Lichter, A. A. (1988). Exploitation of small cetaceans off Argentina 1979–1986. *Reports of the International Whaling Commission*, 38, 407–410.
- Goodall, R. N. P., Norris, K. S., Schevill, W. E., Fraga, F., Praderi, R., Iniguez, M., & de Haro, J. C. (1997). Review and update on the biology of Peale's dolphin, *Lagenorhynchus australis*. *Reports of the International Whaling Commission*, 47, 777–796.
- Grant, W., & Bowen, B. (1998). Shallow population histories in deep evolutionary lineages of marine fishes: Insights from sardines and anchovies and lessons for conservation. *Journal of Heredity*, 89, 415–426.
- Harpending, H. (1994). Signature of ancient population growth in a low-resolution mitochondrial DNA mismatch distribution. *Human Biology*, 66, 591–600.
- Hartl, D. L., & Clark, A. G. (1997). *Principles of population genetics* (Vol. 116). Sunderland, MA: Sinauer Associates Inc.
- Hoelzel, A. R. (2016). The road to speciation runs both ways. *Science*, 354, 414–415.
- Hoelzel, A. R., Dalheim, M., & Stern, S. J. (1998). Low genetic variation among killer whales (*Orcinus orca*) in the eastern North Pacific and genetic differentiation between foraging specialists. *Journal of Heredity*, 89, 121–128.

- Hoelzel, A. R., Hancock, J. M., & Dover, G. A. (1991). Evolution of the cetacean mitochondrial D-loop region. *Molecular Biology and Evolution*, 8, 475–493.
- Kumar, S., Stecher, G., & Tamura, K. (2016). MEGA7: Molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular Biology and Evolution*, 33, 1870–1874.
- Laike, L. (2010). Genetic diversity is overlooked in international conservation policy implementation. *Conservation Genetics*, 11, 349–354.
- Lescrauwaet, A. K. (1997). Notes on the behaviour and ecology of the Peale's dolphin, *Lagenorhynchus australis*, in the Strait of Magellan, Chile. *Reports of the International Whaling Commission*, 47, 747–755.
- Lescrauwaet, A. C., & Gibbons, J. (1994). Mortality of small cetaceans and the crab bait fishery in the Magallanes area of Chile since 1980. *Reports of the International Whaling Commission, Special Issue 15*, 485–494.
- Librado, P., & Rozas, J. (2009). DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics*, 25, 1451–1452.
- Loizaga De Castro, R., Dans, S. L., & Crespo, E. A. (2016). Spatial genetic structure of dusky dolphin, *Lagenorhynchus obscurus*, along the Argentine coast: Preserve what scale? *Aquatic Conservation: Marine Freshwater Ecosystems*, 26, 173–183.
- Loizaga De Castro, R., Hoelzel, A., & Crespo, E. (2013). Behavioural responses of Argentine coastal dusky dolphins (*Lagenorhynchus obscurus*) to a biopsy pole system. *Animal Welfare*, 22, 13–23.
- McNeely, J. A., Miller, K. R., Reid, W. V., Mittermeier, R. A., & Werner, T. B. (1990). *Conserving the world's biological diversity*. Gland, Switzerland: International Union for Conservation of Nature and Natural Resources.
- Mendez, M., Rosenbaum, H., & Bordino, P. (2008). Conservation genetics of the franciscana dolphin in northern Argentina: Population structure, by-catch impacts, and management implications. *Conservation Genetics*, 9, 419–435.
- Natoli, A., Peddemors, V. M., & Hoelzel, A. R. (2004). Population structure and speciation in the genus *Tursiops* based on microsatellite and mitochondrial DNA analyses. *Journal of Evolutionary Biology*, 17, 363–375.
- Negri, M. F., Cappozzo, H. L., & Túnéz, J. I. (2016). Genetic diversity and population structure of the franciscana dolphin, *Pontoporia blainvillei*, in southern Buenos Aires, Argentina. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research*, 50, 326–338.
- Nei, M. (1987). *Molecular evolutionary genetics* (Vol. 512). New York, NY: Columbia University Press.
- Notarbartolo Di Sciarra, G. (2007). *Guidelines for the establishment and management of marine protected areas for cetaceans*. Contract RAC/SPA, N° 03/2007, 1–29.
- Oliveira, L. R., Ott, P. H., Graziotin, F. G., White, B., & Bonatto, S. (2011). *Effective population size and bottleneck signals in the Atlantic population of the southern right whale*. In *Paper (SC/S11/RW26) presented to the Southern Right Whale Assessment Workshop*. International Whaling Commission.
- Pichler, F. B., & Baker, C. S. (2000). Loss of genetic diversity in the endemic Hector's dolphin due to fisheries-related mortality. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B: Biological Sciences*, 267, 97–102.
- Pichler, F., Robineau, D., Goodall, R., Meyer, M., Olivarría, C., & Baker, C. (2001). Origin and radiation of Southern Hemisphere coastal dolphins (genus *Cephalorhynchus*). *Molecular Ecology*, 10, 2215–2223.
- Pimper, L. E., Baker, C. S., Goodall, R. N. P., Olivarría, C., & Remis, M. I. (2010). Mitochondrial DNA variation and population structure of Commerson's dolphins (*Cephalorhynchus commersonii*) in their southernmost distribution. *Conservation Genetics*, 11, 2157–2168.
- Pimper, L. E., Goodall, R. N. P., & Remis, M. I. (2012). First mitochondrial DNA analysis of the spectacled porpoise (*Phocoena dioptrica*) from Tierra del Fuego, Argentina. *Mammalian Biology*, 77, 459–462.
- Ponce, J. F., Rabassa, J., Coronato, A., & Borromei, A. M. (2011). Palaeogeographical evolution of the Atlantic coast of Pampa and Patagonia from the last glacial maximum to the Middle Holocene. *Biological Journal of the Linnean Society*, 103, 363–379.
- Ramos-Onsins, S. E., & Rozas, J. (2002). Statistical properties of new neutrality tests against population growth. *Molecular Biology and Evolution*, 19, 2092–2100.
- R Core Team. (2017). *R: A language and environment for statistical computing*. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing.
- Riccialdelli, L., Newsome, S. D., Fogel, M. L., & Goodall, R. N. P. (2010). Isotopic assessment of prey and habitat preferences of a cetacean community in the southwestern South Atlantic Ocean. *Marine Ecology Progress Series*, 418, 235–248.
- Roberge, J. M., & Angelstam, P. (2004). Usefulness of the umbrella species concept as a conservation tool. *Conservation Biology*, 18, 76–85.
- Rogers, A. R., & Harpending, H. (1992). Population growth makes waves in the distribution of pairwise genetic differences. *Molecular Biology and Evolution*, 9, 552–569.
- Schiavini, A. C., Goodall, R. N. P., Lescrauwaet, A. K., & Alonso, M. K. (1997). Food habits of the Peale's dolphin *Lagenorhynchus australis*; review and new information. *Reports of the International Whaling Commission*, 47, 827–834.
- Simberloff, D. (1998). Flagships, umbrellas, and keystones: Is single-species management passé in the landscape era? *Biological Conservation*, 83, 247–257.

- Slater, G. J., Price, S. A., Santini, F., & Alfaro, M. E. (2010). Diversity versus disparity and the radiation of modern cetaceans. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B: Biological Sciences*, 277, 3097–3104.
- Tajima, F. (1989). Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics*, 123, 585–595.
- Túnez, J. I., Cappozzo, H. L., Nardelli, M., & Cassini, M. H. (2010). Population genetic structure and historical population dynamics of the South American sea lion, *Otaria flavescens*, in north-central Patagonia. *Genetica*, 138, 831–841.
- Weir, J. S., Duprey, N. M. T., & Würsig, B. (2008). Dusky dolphin (*Lagenorhynchus obscurus*) subgroup distribution: Are shallow waters a refuge for nursery groups? *Canadian Journal of Zoology*, 86, 1225–1234.
- Willoughby, J. R., Sundaram, M., Wijayawardena, B. K., Kimble, S. J., Ji, Y., Fernandez, N. B., ... Dewoody, J. A. (2015). The reduction of genetic diversity in threatened vertebrates and new recommendations regarding IUCN conservation rankings. *Biological Conservation*, 191, 495–503.

How to cite this article: Durante CA, Cunha HA, Crespo EA, Loizaga R. Coming to light: First insight into the genetic diversity of Peale's dolphins at a Patagonian MPA. *Mar Mam Sci*. 2020;1–9. <https://doi.org/10.1111/mms.12671>



Isotopic niche partitioning between two small cetacean species

Cristian Alberto Durante^{1,2,*}, Enrique Alberto Crespo¹, Rocio Loizaga¹

¹Laboratorio de Mamíferos Marinos, Centro para el Estudio de Sistemas Marinos (CESIMAR) - Centro Nacional Patagónico - CONICET, Bv. Brown 2915, U9120ACD Puerto Madryn, Chubut, Argentina

²Universidad Nacional del Comahue, Quintral 1250, CP8400 San Carlos de Bariloche, Rio Negro, Argentina

ABSTRACT: Commerson's dolphin *Cephalorhynchus commersonii* and Peale's dolphin *Lagenorhynchus australis* live in sympatry along the southwestern South Atlantic Ocean, suggesting the existence of some degree of habitat partitioning to reduce their competition for resources. Both species are usually associated with coastal environments, but information on their trophic ecology is scarce. Here we explored the existence of trophic resource partitioning between these 2 sympatric species using $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$. From 2007 to 2013, we analyzed a total of 14 Commerson's dolphin and 34 Peale's dolphin skin samples from a marine protected area in Argentina. Significant differences in $\delta^{13}\text{C}$ values indicated intra- and interspecific spatial partitioning. Three different Peale's dolphin feeding groups (FGs) were identified: FG1 exclusively exploited the pelagic habitat, FG2 occupied more pelagic/inshore habitats (similar to Commerson's dolphins), and FG3 occupied more benthic/inshore habitats. Isotopic niche breadth varied between species and feeding groups, exhibiting less variation in prey selection among Commerson's dolphins. According to Bayesian standard ellipse area analysis, isotopic niche overlap was found between FG2 and FG3 from 2007 to 2012, and between FG2 and Commerson's dolphins. Mixing models suggest that FG3 has a diet mainly based in benthic fish, while FG2 and Commerson's dolphins feed predominantly on pelagic fish. Overall, this study indicates segregation in the use of trophic resources between 2 sympatric dolphin species, showing different foraging strategies that promote coexistence and reduce intra- and interspecific competition. Furthermore, the presence of 3 Peale's dolphin feeding groups segregated at a small geographic scale suggests a previously unknown ecological complexity.

KEY WORDS: Stable isotopes · Trophic niche segregation · Feeding strategies · Commerson's dolphin · *Cephalorhynchus commersonii* · Peale's dolphin · *Lagenorhynchus australis* · Marine protected area

Resale or republication not permitted without written consent of the publisher

1. INTRODUCTION

The presence of sympatric species implies the existence of some degree of resource partitioning that has reduced competition through evolutionary processes (Roughgarden 1976). According to niche theory and as a consequence of competitive exclusion, niche divergence allows species with similar ecological requirements to coexist (Pianka 1974, 2011). Par-

ticularly in dolphins, this divergence usually occurs at the trophic niche level related to prey availability resulting in different habitat use or dietary divergence within the same habitat (Bearzi 2005). This occurs even in species that form mixed groups as a strategy to improve their foraging efficiency (Loizaga de Castro et al. 2017). Therefore, identifying the requirements of each species is the main objective of ecological studies as a strategy for understanding the

*Corresponding author: kily@cenpat-conicet.gob.ar

mechanism of coexistence and is also key to biodiversity conservation under a climate change scenario (Gavrilchuk et al. 2014).

Dolphins have the potential for long-range dispersal in addition to occupying a wide environment without physical barriers, which hinder direct observations of their feeding habits. Using stomach content to study food habits of marine mammals has become common practice. Despite numerous advantages of this method, it presents some disadvantages related to biases in sampling (stranded animals) and the temporal nature of the information (data for only the most recent feeding events) (Pasquaud et al. 2007). In contrast, the analysis of stable isotopes is useful to understand the trophic ecology of dolphins through the trophic niche (Ambrose et al. 2013, Loizaga de Castro et al. 2016, 2017 Giménez et al. 2017). Diet studies based on stable isotope analysis of tissues provide integrated information of all assimilated prey, without the need for direct observations of marine taxa, over an extended period of time, depending on the turnover rate of the tissue used for the analysis (Koch 2007, Kiszka et al. 2014). In addition, this technique requires only a small piece of tissue (Michener & Kaufman 2007).

Carbon ($\delta^{13}\text{C}$) and nitrogen ($\delta^{15}\text{N}$) are the main stable isotopes used in studies of marine mammal trophic ecology (Newsome et al. 2010). The $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ratio allows separation between pelagic/offshore and benthic/inshore habitats, based on the source of organic carbon, which may come from phytoplankton or macroalgae (Rubenstein & Hobson 2004, Fry 2006). These differences are also related to other factors that can affect $\delta^{13}\text{C}$ values in the marine environment, mainly dissolved CO_2 concentration, temperature, algal growth rate, source and supply of inorganic carbon, and cell size and geometry (O'Leary 1988, Goericke & Fry 1994, Laws et al. 1995, Popp et al. 1998). The $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ ratio is an indicator of trophic level, with the relative abundance of heavy stable isotope increasing from prey to predator due to preferential excretion of the light stable isotope (Cabana & Rasmussen 1996). The combination of both of these stable isotopes allows the estimation of the isotopic niche occupied by a species, as well as an estimate of the overlap among intra- and interspecific isotopic niches (Newsome et al. 2007). The isotopic niche can be defined as an area (in δ -space) with isotopic values (δ -values) as coordinates where the δ -space is comparable to the n -dimensional space that contains the ecological niche. This approximation is based on the assumption that the chemical composition of

a consumer is directly affected by what it consumes and its habitat, as long as they are different in their isotopic values (Newsome et al. 2007).

In the southwestern South Atlantic Ocean, 2 endemic species of small cetaceans occur in partial sympatry along the Patagonian marine coast. The distribution of Peale's dolphins *Lagenorhynchus australis* primarily spans 38° – 56°S in the South Atlantic Ocean, including the Falkland (Malvinas) Islands (Heinrich & Dellabianca 2019). The species can measure up to 218 cm in total length, and it appears to be confined to shelf waters off southern South America, where it inhabits different nearshore habitats including open coast over shallow continental shelf, fiords, and deep bays (de Haro & Iñíguez 1997, Goodall et al. 1997, Lescrauwaet 1997, Brownell et al. 1999, Dellabianca et al. 2016); but it can also be found in the open sea up to ~ 300 km from the coast (Dellabianca et al. 2016). Peale's dolphin is associated with the kelp forest, where it can be seen swimming through it or along the edge (Heinrich & Dellabianca 2019).

Commerson's dolphins *Cephalorhynchus commersonii* are among the smallest dolphins (maximum 146 cm) and are found more frequently near shore (<60 km from the coast) (Dellabianca et al. 2016). However, this distribution may be skewed by sighting effort. Several individuals have been recorded beyond the limit of the continental shelf, about 370 km away (Pedraza 2007). The distribution of this species covers 40° – 56°S in Argentina and at the Falkland (Malvinas) Islands (Crespo et al. 2017). Commerson's dolphins share the same coastal habitats with Peale's dolphins, although they usually prefer areas with a wide continental shelf, wide tidal cycles, and cool waters influenced by the Malvinas Current (Goodall et al. 1988, Goodall 1994, Coscarella 2005, Loizaga de Castro et al. 2013a, Dellabianca et al. 2016).

Traditional diet studies based on stomach content analyses along the coast of Argentina have suggested that Commerson's dolphins prefer pelagic-demersal fish in coastal habitats. Bastida et al. (1988) reported the presence of mysids, fish (mainly pelagic), squids, and crustaceans in the diet of this species in Tierra del Fuego. In addition, stable isotope analyses conducted in the same region are consistent with traditional diet studies and suggest that Commerson's dolphins primarily consume coastal and pelagic fish, followed by benthopelagic species, with a difference in the relative contribution according to age classes (Ricciardelli et al. 2013). Moreover, based on 9 stomach contents from central Patagonia, Koen

Alonso (1999) found that Commerson's dolphins feed on pelagic fish, squids, and crustaceans. Little information is available on the diet of Peale's dolphins along the coast of Argentina, as few studies have reported the dietary preferences of this species. Schiavini et al. (1997) found that dolphins in Tierra del Fuego appeared to be feeding on demersal and bottom prey associated with kelp forest. In Puerto Deseado, a diet study based on 3 stomach contents suggested that Peale's dolphins are coastal generalist predators, highlighting the presence of hagfish eggs (*Myxine* sp.) (Iñiguez & de Haro 1994), which is indicative of a benthic feeding strategy—as was reported by Schiavini et al. (1997). Finally, based on a single stomach from central Patagonia, 3 prey species were reported including a pelagic–demersal fish, a benthic–demersal fish, and a squid (Lichter 1992).

In order to better understand the trophic relationships between Commerson's and Peale's dolphins, the objective of this study was to assess the habitat use and explore the isotopic niche of these 2 endemic dolphins that live in sympatry in the Argentine Sea. We hypothesized that both species

use trophic resources differentially, thereby avoiding competition and promoting life in sympatry. Consequently, no significant overlap in isotopic niche was anticipated, given the expected existence of different feeding strategies between both species.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1. Study area and sample collection

Fieldwork took place on the northern coast of Golfo San Jorge, Argentina ($45^{\circ} 04' 34.5''$ S, $65^{\circ} 38' 37.2''$ W), in a marine protected area (MPA), the Austral Patagonian Interjurisdictional Coastal Marine Park (Parque Interjurisdiccional Marino Costero Patagonia Austral, PIMCPA; Fig. 1). This area covers a total surface of 132 124 ha, including terrestrial and marine ecoregions. The national park protects around 180 km of marine coastline (1.8 nautical miles from the coast) and over 55 islands, all of which are characterized by the presence of numerous coves and small bays (APN 2018).

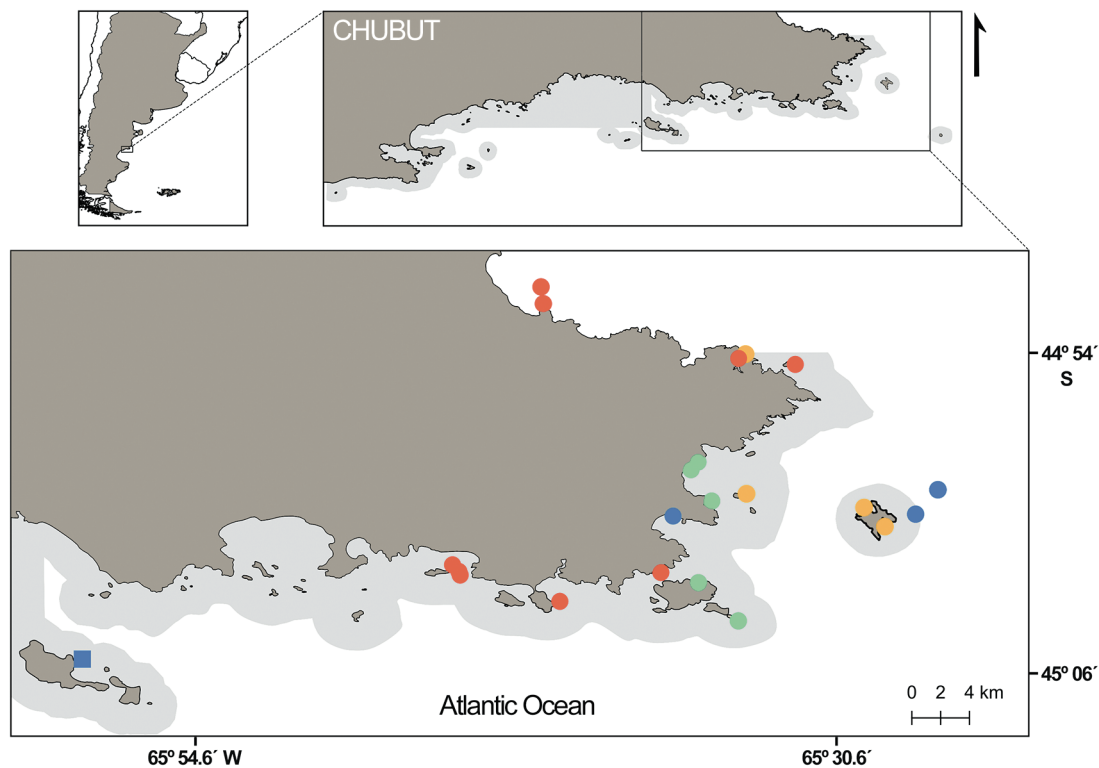


Fig. 1. Study area detailing the marine protected area in light gray. Circles show biopsy sampling sites; the square marks the location of a dead stranded individual. Colors represent species and feeding groups (FGs): *Cephalorhynchus commersonii* (red), and *Lagenorhynchus australis* FG1 (yellow), FG2 (green), and FG3 (blue)

We collected 14 and 34 biopsy skin samples of Commerson's and Peale's dolphins, respectively, in December of 3 consecutive years (2007–2009) and 2013 in the MPA (Fig. 1). Samples were taken from adult individuals using a pole system (Loizaga de Castro et al. 2013b). Additionally, a single Peale's dolphin skin sample was obtained from an individual found stranded dead on the coast in 2012. All samples were preserved in 20% dimethyl sulfoxide (DMSO) solution saturated with sodium chloride (NaCl) and stored at -20°C until analysis (Amos & Hoelzel 1991). For the biopsy skin samples, molecular sexing was performed by amplifying the ZFX and ZFY regions following Bérubé & Palsbøll (1996). Potential prey species were selected according to the stomach contents and information about the dolphins' ecology. Stable isotope values from white dorsal muscle of pelagic fish and mantles of cephalopods were taken from the available literature, considering the same oceanographic region (Forero et al. 2004, Drago et al. 2009a,b, Vales et al. 2015). For those prey without previous information, samples were obtained from fisheries ($n = 12$) and the corresponding isotopic analysis were performed (see Section 2.2).

2.2. Stable isotope analysis

All samples (dolphin skin and prey samples) were lipid-extracted with 2:1 chloroform:methanol solution in successive 24 h washes (3–5 times). Skin samples were then rinsed 5 consecutive times with deionized water to remove the solvent (to avoid the potential influence of DMSO on the isotopic composition of samples) and lyophilized at -80°C (Newsome et al. 2018). Nitrogen and carbon ratios were measured with approximately 0.5–0.6 mg of dried sample using a continuous-flow isotope ratio mass spectrometer connected to an elemental analyzer (EA-IRMS) at the University of New Mexico Center for Stable Isotopes. Results are reported in δ notation in per mil units (‰) based on PeeDee Belemnite and atmospheric N_2 as internationally accepted standards for $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$, respectively:

$$\delta X = (R_{\text{sample}} / R_{\text{standard}} - 1) \times 1000 \quad (1)$$

where R represents the relationship between heavy and light isotope ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ or $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$) for samples and standards, and X is ^{13}C or ^{15}N (Peterson & Fry 1987). International isotope secondary standards given by the International Atomic Energy Agency were used to calibrate estimates of nitrogen and carbon at a

precision of 0.30 and 0.20‰, respectively. The carbon:nitrogen ratio (C:N) from all samples was <4 , indicating effective lipid extraction (Kiszka et al. 2010).

2.3. Data analysis

To eliminate atmospheric changes, a correction for the Suess effect ($0.022\% \text{ yr}^{-1}$) was applied to the stable isotope values (Loizaga de Castro et al. 2016) using as a reference the average year between the years of sampling of potential prey (2005) following Vales et al. (2020). Using IBM SPSS Statistics (IBM SPSS 2017), generalized linear models (GLMs) were performed to understand the isotopic variation ($\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$) for Peale's dolphin samples from 2007 to 2012, taking into consideration sampling year, sex (1:1 sex ratio, Durante et al. 2020), and distance to coast as variables. For the last variable, we defined 2 different habitats according to the site where dolphins were sampled, dividing those samples that were taken close to the coast (Habitat A = <200 m), even into the small bays or coves, and those samples obtained away from the coast (Habitat B = >200 m). All possible models were compared to the base model (without factors) using an omnibus test. Models were selected using the lowest value for Akaike's information criterion corrected for small sample sizes (AIC_c) and with significance values from the omnibus test. Also, 1-way ANOVAs followed by a post hoc Tukey test were used to compare the differences in stable isotope ratios of feeding groups (FGs) and species. Prior to ANOVA, data were tested for normality (Shapiro-Wilk) and homoscedasticity (Levene's test).

To estimate the isotopic niche width for each species and the isotopic overlap between species and feeding groups, Bayesian standard ellipse areas (SEA_B), expressed in $\% ^2$, were calculated using the Stable Isotope Bayesian Ellipses in R (SIBER) package (Jackson et al. 2011). SEA_B contains 95% of the data regardless of sample size and it allows for the estimation of a range of probable values for the calculated standard ellipse (Jackson et al. 2011). Overlap in SEA_B between species/feeding groups was estimated by using SEA code and was used as a measure of isotopic niche partitioning, where the proportion of overlap between 2 SEAs is expressed as a percentage (%) (Garcia et al. 2018).

To estimate the proportional contribution of potential prey (sources) to diets of dolphins (consumers),

the 'MixSIAR' package was used (Bayesian Mixing Models in R: Stock & Semmens 2016). MixSIAR uses isotopic values and a trophic discrimination factor (TDF), which is defined as the difference between the isotope values of consumer bulk tissue (e.g. skin, bone, muscle) and the isotope value of the average prey consumed. The MixSIAR model allows estimating the assimilated diet of the consumer considering uncertainty in isotopic variability (consumers and sources), TDF, and multiple sources (Moore & Semmens 2008). Particularly for the last point, when considering 2 variables ($\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$), it is recommended to use a maximum of 7 sources (Phillips et al. 2014). For this reason, and due to the lack of information about trophic ecology in Peale's dolphins at the study site, their potential prey was grouped according to ecological groups in order to define 5 sources: decapod crustaceans, benthic fish, demersal-benthic fish, pelagic fish, and squids. Each model was run with 3 Markov chain Monte Carlo (MCMC) simulations using 1 000 000 iterations, removing 500 000 iterations as burn-in and thinning by 500. TDF values (mean \pm SE) of $\delta^{13}\text{C} = 2.04 \pm 0.14\text{‰}$ and $\delta^{15}\text{N} = 2.96 \pm 0.12\text{‰}$ were used, according to reported data for skin samples of *Tursiops truncatus* in controlled experiments with a lipid-enriched diet (Browning et al. 2014), similar to that expected for the species under study. Gelman-Rubin and Geweke diagnostic tests were used to assess if each MCMC chain had converged on the true posterior distribution for each variable in the model (Stock & Semmens 2016). A mixing polygon simulation was therefore constructed to determine if the mixing model design and TDF used were appropriate, i.e. using a Monte Carlo simulation of mixing polygons to apply the point-in-polygon assumption to mixing models. This test provides a quantitative basis for model acceptance or rejection based on a frequentist probability that the mixing model proposed can correctly calculate source contributions to explain a consumer's isotopic value (Smith et al. 2013).

3. RESULTS

3.1. Feeding groups

Three feeding groups (FGs) of Peale's dolphins and 1 FG of Commerson's dolphins were identified in

the central Patagonian MPA based on the $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ values (Fig. 2). Stable isotope ratios of Commerson's dolphins, Peale's dolphins, and their potential prey species are shown in Table 1 and illustrated in Fig. 3. For Peale's dolphins, all samples from 2013 were grouped in a single FG (FG1) showing an extreme position. Alternatively, samples taken between 2007 and 2009 in addition to the only sample of 2012 showed 2 FGs: FG2 was more pelagic/inshore and FG3 occupied benthic/inshore habitat. Both species were segregated by both stable isotopes (ANOVA, $\delta^{13}\text{C}$: $F_{3,47} = 153.8$, $p < 0.05$; $\delta^{15}\text{N}$: $F_{3,47} = 15.9$, $p < 0.05$), except for FG1 versus Commerson's dolphin in $\delta^{15}\text{N}$ values (Tukey post hoc, $p = 0.74$). For FG2 and FG3, the GLMs with 'distance to coast' as the only factor were the best fitting models according to AIC_c (Table 2), and we found significant differences in both stable isotopes between Habitats A and B (Wald $\chi^2 = 61.37$, $\text{df} = 1$, $p < 0.01$).

With regard to isotopic niche, Commerson's dolphins showed the smallest isotopic SEA_B , with an estimated isotopic niche area of 1.61‰^2 , followed by Peale's dolphin FGs: $\text{SEA}_B = 2.01\text{‰}^2$ for FG1, 2.06‰^2 for FG2, and 9.37‰^2 for FG3 (Table S1 in the Supplement at: www.int-res.com/articles/suppl/m659p247_supp.pdf). We performed a sensibility test (Smith et al. 2013) using the TDF reported by Giménez et al. (2016), Caut et al. (2011), and Browning et al. (2014) to choose the most appropriate to run the models. The TDF reported by Browning was chosen to run mixing models. Overlap was only observed between Peale's dolphin FG2 and FG3, and between FG2 and Commerson's dolphin (Fig. 2). The propor-

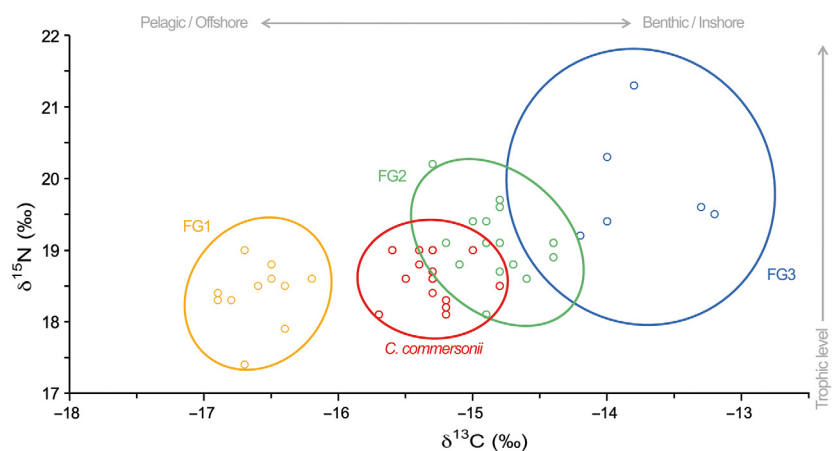


Fig. 2. $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ biplot illustrating the isotopic niche for *Cephalarhynchus commersonii* and *Lagenorhynchus australis* feeding groups (FGs). Each point represents an individual, and solid ellipses represent area at 95% (standard ellipse area)

Table 1. $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ ratios, sample size (n), C:N ratio, and sampling date (year) of consumers (*Lagenorhynchus australis* feeding groups, FGs; and *Cephalorhynchus commersonii*) in the PIMCPA marine protected area and their potential sources (prey species or group of prey species)

	$\delta^{13}\text{C}$ ‰ mean \pm SD	Suess-corrected $\delta^{13}\text{C}$ (‰) mean \pm SD	$\delta^{15}\text{N}$ ‰ mean \pm SD	n	C:N ratio	Year	Reference
Consumers							
<i>L. australis</i>							
FG1	-16.8 \pm 0.2	-16.6 \pm 0.2	18.4 \pm 0.4	11	3.2	2013	Present study
FG2	-14.9 \pm 0.3	-14.8 \pm 0.3	19.1 \pm 0.5	17	3.2	2007–2009	Present study
FG3	-13.8 \pm 0.4	-13.7 \pm 0.4	19.9 \pm 0.8	6	3.2	2007–2012	Present study
<i>C. commersonii</i>	-15.4 \pm 0.2	-15.3 \pm 0.2	18.6 \pm 0.3	14	3.2	2007–2009	Present study
Sources							
Decapod crustaceans							
<i>Pleoticus muelleri</i> ^a	-15.9 \pm 0.4	-15.9 \pm 0.4	16.7 \pm 0.3	5	2.9	2010	Vales et al. (2015)
Benthic fish							
<i>Genypterus blacodes</i>	-14.7 \pm 0.4	-14.7 \pm 0.4	18.0 \pm 0.3	5	3.1	2007	Present study
Demersal–benthic fish							
<i>Patagonotothen ramsayi</i> ^a	-16.1 \pm 0.2	-16.1 \pm 0.2	18.6 \pm 0.2	2	3.2	2010	Present study
<i>Riveiroclinus eigenmani</i>	-16.7 \pm 0.2	-16.7 \pm 0.2	17.9 \pm 0.2	8		2004	Forero et al. (2004)
Squids							
<i>Illex argentinus</i> ^a	-17.0 \pm 0.6	-17.0 \pm 0.6	13.7 \pm 0.8	5	3.0	2006	Drago et al. (2009a)
<i>Doryteuthis gahi</i>	-17.6 \pm 0.4	-17.6 \pm 0.4	15.7 \pm 0.6	4	3.0	2007	Drago et al. (2009a)
Pelagic fish							
<i>Sprattus fueguensis</i>	-17.8 \pm 0.3	-17.8 \pm 0.3	17.2 \pm 0.2	5	3.5	2000	Present study
<i>Engraulis anchoita</i>	-17.7 \pm 0.1	-17.7 \pm 0.1	16.4 \pm 0.1	18		2004	Forero et al. (2004)
<i>Merluccius hubbsi</i> (<30 cm) ^a	-17.7 \pm 0.6	-17.7 \pm 0.6	15.9 \pm 0.5	5	3.1	2006	Drago et al. (2009b)

^aPrey selected for *C. commersonii* mixing model

tional overlap between them was asymmetric and varied from 8 to 40% (Table S2).

3.2. Stable isotope mixing models

All data sets fit the mixing model assumptions according to Smith et al. (2013), except for Peale's dolphin FG1. Gelman-Rubin and Geweke diagnostic tests showed a convergence of each MCMC chain on the true posterior distribution for each variable in the model (Table S3). The isotopic mixing models indicated that continental shelf prey species contributed the most (80.8%) to the diet of Commerson's dolphins, including Argentine hake <30 cm and Argentine shortfin squid, whereas the notothenid *Patagonotothen ramsayi* and Argentine red shrimp *Pleoticus muelleri* represented less than 10% in the dolphins' diet (Fig. 4A; Table S4). For Peale's dolphins, the relative contribution of each potential prey species to diet varied according to feeding groups (Fig. 4B,C; Table S5). Pelagic resources were the most important prey according to the model for FG2, with a relative contribution of 41 and 28% for 'pelagic fish' and 'squids,' respectively. In contrast,

'benthic fish' was the potential prey with the largest contribution (37%) for FG3, followed by 'decapod crustaceans' (25%), 'squids' (17%), 'pelagic fish' (14%), and 'demersal–benthic fish' (7%).

4. DISCUSSION

Many different strategies are adopted by sympatric species to coexist in the same habitat depending on the availability of resources as well as the plasticity that each animal group possesses (Ruadreo et al. 2019). Trophic niche partitioning is one of the most frequent mechanisms employed by several taxa to minimize competition, including marine mammals (Pinela et al. 2010, Gibbs et al. 2011, Méndez-Fernandez et al. 2013, Wilson et al. 2017, Giménez et al. 2018). Through carbon and nitrogen stable isotope analysis, we studied the habitat use of sympatric dolphins to understand the trophic relationship between them. Based on the turnover rate of dolphin skin, which is estimated between 2 and 6 mo (Caut et al. 2011, Browning et al. 2014, Giménez et al. 2016), we report the segregation of 2 coastal small cetacean species during the warm season in the Southern

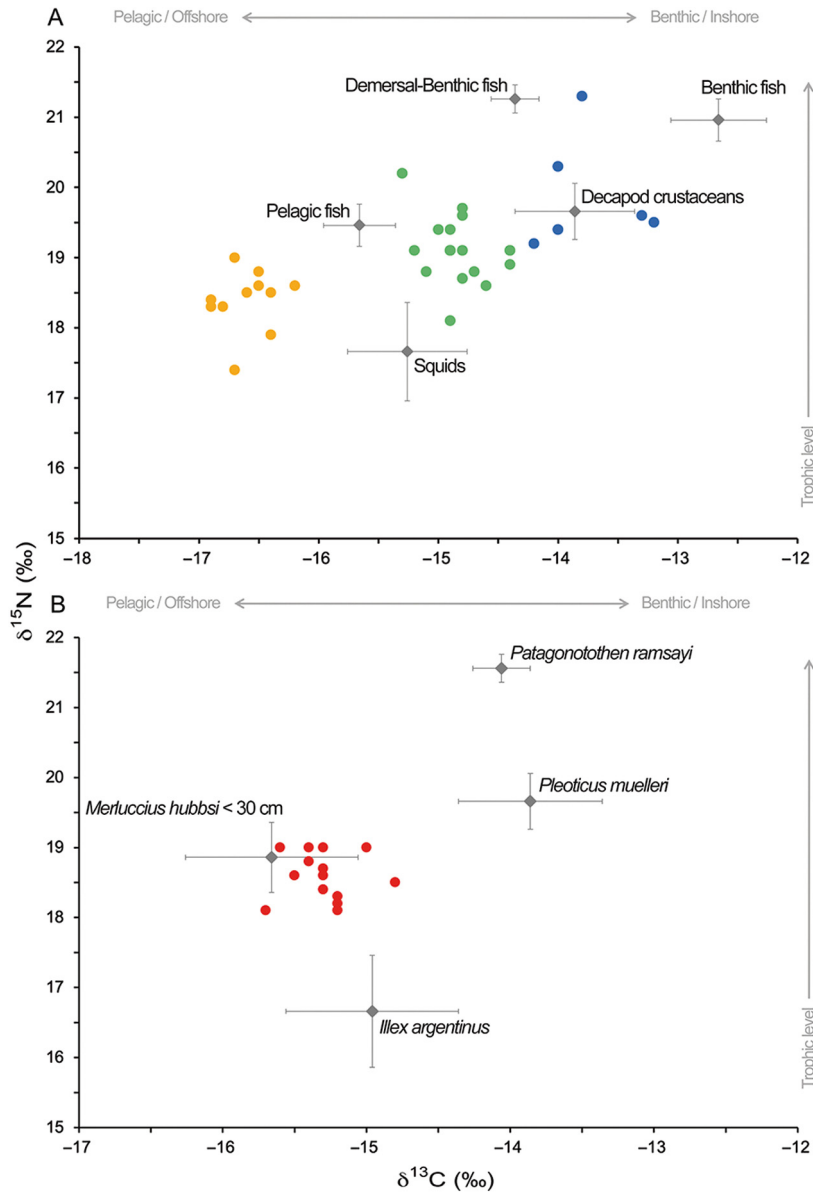


Fig. 3. (A) Carbon ($\delta^{13}\text{C}$) and nitrogen ($\delta^{15}\text{N}$) isotope ratios in skin samples of *Lagenorhynchus australis* feeding groups (FGs) (individual values) (yellow = FG1, green = FG2, blue = FG3), and their potential prey after correcting for the trophic discrimination factor (mean \pm SD) grouped by ecological group. (B) Carbon ($\delta^{13}\text{C}$) and nitrogen ($\delta^{15}\text{N}$) isotope ratios in skin samples of *Cephalorhynchus commersonii* (individual values in red) and their potential prey after correcting for the trophic discrimination factor (mean \pm SD)

Hemisphere, both in the spatial and the trophic niche dimensions, allowing their coexistence.

For Commerson's dolphins, our results are consistent with studies of stomach contents throughout their distribution in Argentina, where their diet comprises mainly pelagic fish and squids. Particularly, the results of our mixing models are in accordance with the diet identified in the region by Koen Alonso (1999); specifically, juveniles of Argentine hake *Merluccius hubbsi* (<30 cm) and Argentine shortfin squid *Illex argentinus* as main prey. Given that both techniques offer different diet information over different temporal scales, with a longer integration time for stable isotopes, the similarity across both techniques indicates a clear feeding preference for these prey species. Moreover, the smaller SEA_B observed in this study indicates less variability in prey selection among individuals, which sug-

Table 2. Results from generalized linear models, with Akaike's information criterion corrected for small sample size (AICc) and omnibus test p-values ($\alpha = 0.05$). Best fitting models are highlighted in **bold**

Dependent variable	Model	AICc	Omnibus p
$\delta^{13}\text{C}$ ‰	Distance to coast	20.02	<0.001
	Year	25.17	<0.001
	Sex	48.91	0.532
	Distance to coast + Year + Sex	32.93	<0.001
	Distance to coast	37.35	<0.001
$\delta^{15}\text{N}$ ‰	Year	42.32	<0.001
	Sex	54.07	0.467
	Distance to coast + Year + Sex	48.74	<0.001

gests that this species has a specific use of pelagic habitats, feeding on small numbers of prey. Overall, Commerson's dolphins seem to occur close to the coast (Dellabianca et al. 2016) but exploit pelagic resources, in particular Argentine hake and Argentine shortfin squid in the north of the Golfo San Jorge.

For Peale's dolphins, our results revealed 3 different FGs, showing intraspecific isotopic niche partitioning within a small geographic area. All FGs showed significant differences among their mean $\delta^{13}\text{C}$ values. FG1 exhibited lower $\delta^{13}\text{C}$ values, suggesting an exclusively pelagic/offshore foraging habitat. In contrast, FG3 presented higher $\delta^{13}\text{C}$ values as evidence of more benthic/inshore foraging

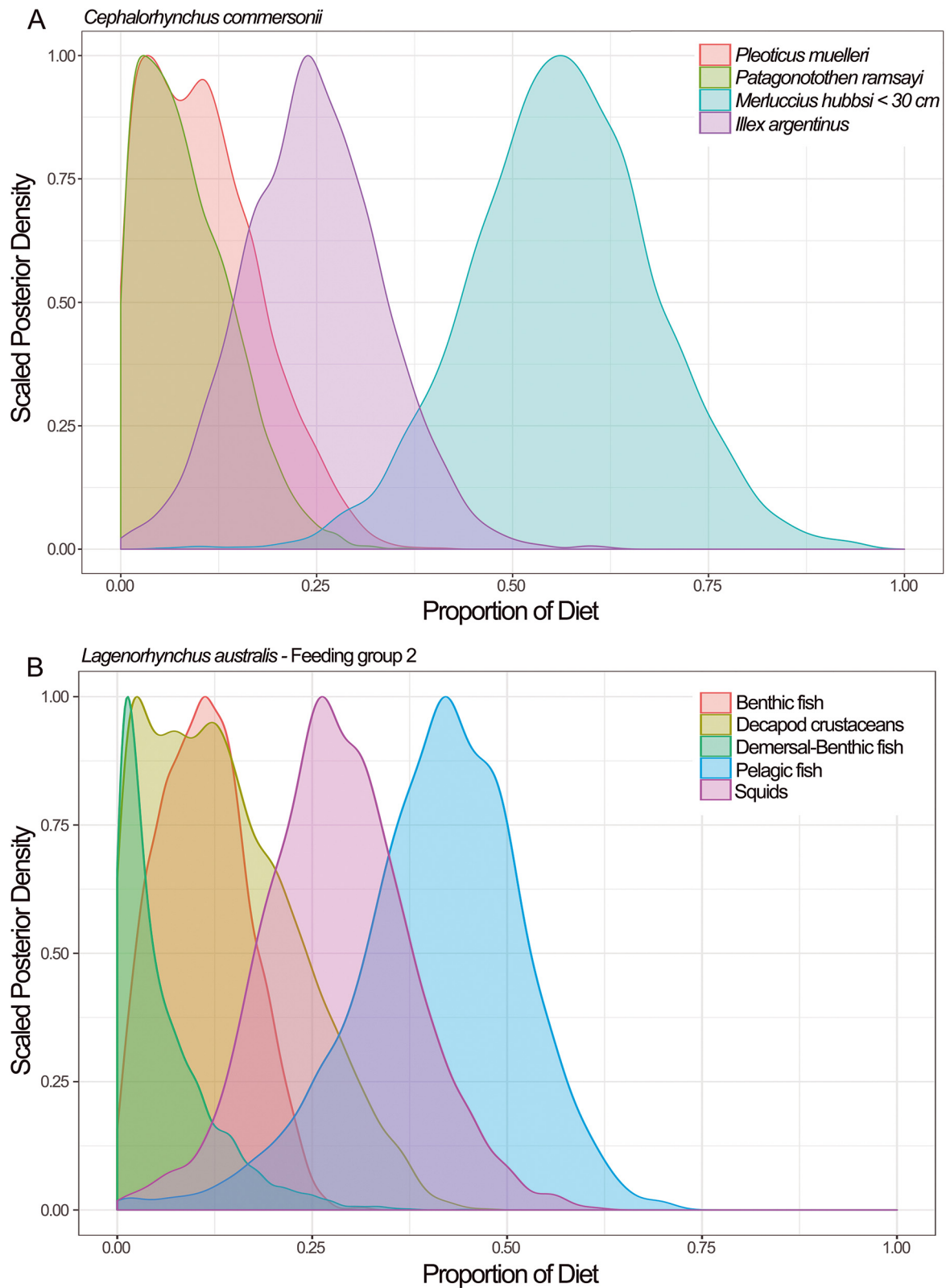


Fig. 4. Mixing models results (MixSIAR) as proportion of (A) potential prey of Commerson's dolphin or (B,C) potential prey group of Peale's dolphin feeding groups 2 and 3

Fig. 4. continued on next page

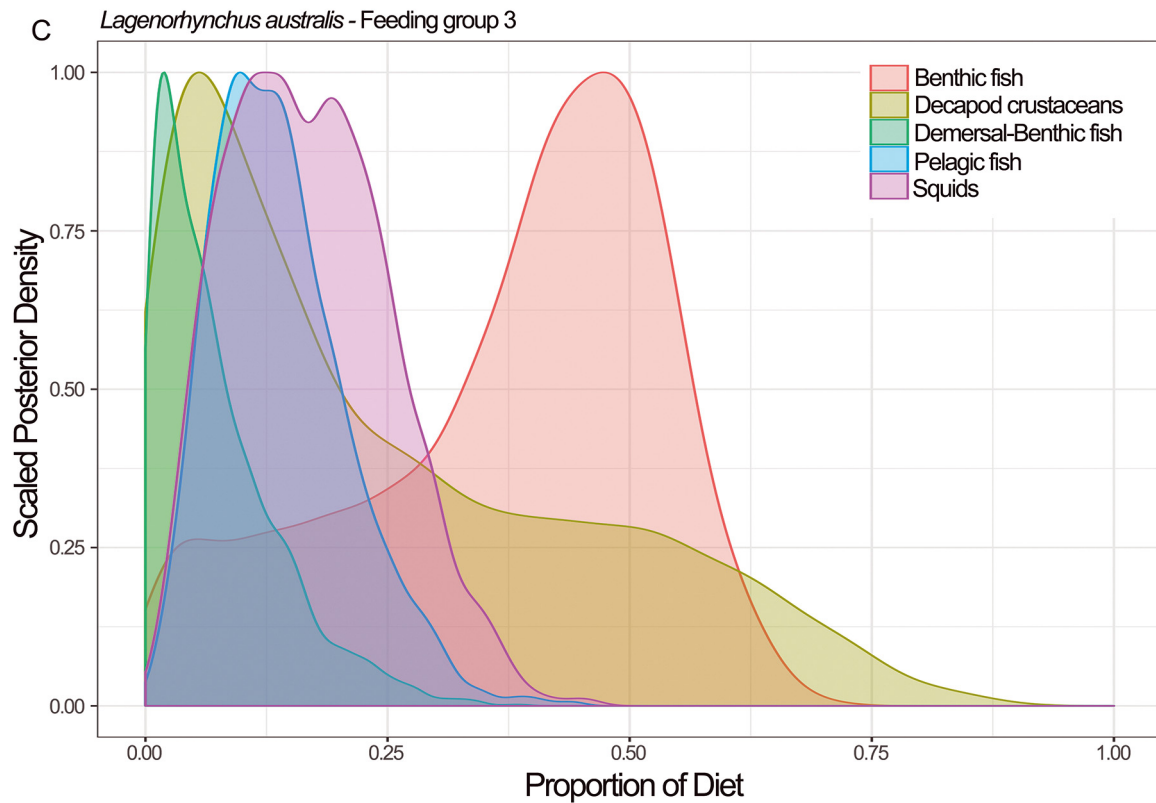


Fig. 4. (continued)

habitats, while FG2 showed intermediate values of $\delta^{13}\text{C}$. The isotopic niche widths of all 3 FGs were small, with some degree of overlap between FG2 and FG3. These results suggest that Peale's dolphins are capable of displaying different foraging strategies that are segregated in space. The wide isotopic niche of FG3, in terms of SEA_B , can be a consequence of the low sample size and the spatial geometry of the data, which in some cases, could be biasing the model (Jackson et al. 2011). According to this, the spatial overlap of SEA_B with FG2 is not necessarily indicative of trophic competition and can instead be explained by overestimation of the isotopic niche. The isotopic data indicate that there are dolphins from FG3 that exhibit 2‰ differences between the nitrogen isotope values; therefore, the variability in FG3 is greater compared to the other groups, independent of the sampling effort.

One result to be highlighted is the absence of correspondence between the stable isotope signals and the habitat where some Peale's dolphins were sampled. Unexpectedly, FG2 (more pelagic) was sampled closer to the coast (<200 m), inside of coves, whereas FG3 (benthic extreme) was sampled far from the coast (>200 m). Considering that the

cetacean skin incorporation rate is approximately 2 to 6 mo and that they usually have a high dispersal range, it is very unlikely that sampling of Peale's dolphin skin in a specific area reflects feeding occurring in that habitat. Therefore, the results suggest that in spite of Peale's dolphins frequently occurring in coastal environments, dominated by macroalgal forests and small bays, foraging strategies are not the only explanation for their occurrence in these habitats and other behaviors could be involved, such as nursing (Hartman et al. 2008).

Our mixing model results represent a first approximation of the diet preference of Peale's dolphins, and they showed different ecological/taxonomical clusters as the main prey items for FG2 and FG3. However, the dolphins could potentially be feeding on the same prey due to partial overlap. The remaining feeding group (FG1) could not be directly compared with potential prey resources, due to missing potential prey species that were not included in the models. Unfortunately, information on stomach contents for the species that provides the finest-scale resolution of prey taxa is lacking (Di Benedetto et al. 2011). Thus, more studies based on this technique are needed in order to obtain a more complete under-

standing of their feeding preferences (Giménez et al. 2017). Also, it is worth taking into consideration that all FG1 samples were collected in the same year, and changes in the ecosystem baseline may influence the isotopic values of predators.

Interspecific spatial overlap seems to occur in pelagic/offshore habitats between Commerson's and Peale's dolphins (FG2). However, it is not necessarily related to ecological or dietary overlap, since different prey species can exhibit similar isotopic signatures (Ramírez et al. 2011, Giménez et al. 2018). The most important resources in the Argentine Sea are Argentine hake, Argentine anchovy *Engraulis anchoita*, Patagonian sprat *Sprattus fuegensis*, Argentine shortfin squid, Patagonian squid *Doryteuthis gahi*, and Argentine red shrimp (Barón & Ré 2002, Hansen et al. 2009, Salas et al. 2011, Romero et al. 2012, Loizaga de Castro et al. 2016, 2017). All of these taxa have characteristics in common that make them preferred prey of marine mammals, including their wide distribution and availability, relatively small size, tendency to form large groups of individuals, and high nutritional value (Cousseau & Perrota 1998, Ciancio et al. 2007). In addition, within each ecological group, they have similar isotopic composition (Table 1), making it impossible to discriminate at the taxonomic level using stable isotope analysis.

The present study revealed that both dolphin species occur in the same habitat, but are segregated in terms of trophic resources. In the region, Commerson's dolphin is a specialist predator that has a small trophic niche width, whereas Peale's dolphin is a clear example of a species that can be considered a generalist that occupies a wide trophic niche (Bolnick et al. 2007). This conclusion is supported by the high plasticity reflected in different feeding groups within a small geographic area as was shown here, and represents an ecological complexity not yet described for Peale's dolphins along the southwestern Atlantic Ocean. An endemic species with hints of high philopatry in a small geographic area (Durante et al. 2020), that develops different strategies to reduce intra- and interspecific competition, suggests high adaptability of the species in response to prey availability and local habitat conditions. Therefore, future studies on the trophic ecology of both dolphin species throughout their distribution are recommended, where different habitats, variation in the isotopic composition of prey, and new stomach content analysis should be considered. Furthermore, it is possible that competition is not the only selective force structuring the biological com-

munity, and predation could be also playing a role. If this is the case, these species could be below their population carrying capacity, with abundant feeding resources in the Argentine Sea, and with ecological niches allowing some degree of overlap without competition as a primary driving force. Thus, studies on predation in small cetacean species should be conducted to understand its role within the marine community structure. This information will allow a better understanding of the ecological role in coastal habitats and the dynamics of intra- and interspecific trophic interactions of these species. Moreover, in a scenario of global warming and continuous development of commercial and local fisheries, it will also help to determine the impact of potential threats to top predators and implement conservation policies that preserve them and their habitat.

Acknowledgements. This research was funded by the Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (PICT no. 2063), Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación Productiva – National Research Council of Argentina (CONICET, PIP 2015-2017), BBVA Foundation: 2005–2008, 2009–2012, PADI Foundation Grant no. 31802, and Lerner Gray Fund for Marine Research Grants 2017. C.A.D. was supported by a Doctoral Fellowship from CONICET. We thank the Argentine Government through the following regulatory bodies for sampling and research authorization: Dirección de Fauna y Flora Silvestre, Subsecretaría de Recursos Naturales, Ministerio de Industria, Agricultura y Ganadería, Subsecretaría de Conservación y Áreas Protegidas, Secretaría de Turismo, and Administración de Parques Naturales (permits: 178/07, 23/07, 41/2009, 002/2009, 001/10, 82/12, 304/13). We gratefully acknowledge the staff of the PIMCPA, colleagues in the Laboratorio de Mamíferos Marinos (LAMAMA), and the Centro para el Estudio de Sistemas Marinos (CESIMAR - CONICET) for fieldwork, logistic, and institutional support. We also thank Sarah Salisbury for help with proofreading.

LITERATURE CITED

- ✦ Ambrose ST, Froneman PW, Smale MJ, Cliff G, Plön S (2013) Winter diet shift of long-beaked common dolphins (*Delphinus capensis*) feeding in the sardine run off KwaZulu-Natal, South Africa. *Mar Biol* 160:1543–1561
- Amos WJ, Hoelzel AR (1991) Long-term skin preservation of whale skin for DNA analysis. *Rep Int Whal Comm Spec Issue* 13:99–103
- APN (2018) Parque Interjurisdiccional Marino Costero Patagonia Austral: plan de manejo y conservación. Tech Rep. Administración de Parques Nacionales, San Carlos de Bariloche, Río Negro
- Barón PJ, Ré ME (2002) Reproductive cycle and population structure of *Loligo sanpaulensis* of the northeastern coast of Patagonia. *Bull Mar Sci* 71:175–186
- Bastida R, Lichtschein V, Goodall R (1988) Food habits of *Cephalorhynchus commersonii* off Tierra del Fuego. *Rep Int Whal Comm Spec Issue* 9:143–160

- Bearzi M (2005) Dolphin sympatric ecology. *Mar Biol Res* 1: 165–175
- Bérubé M, Palsbøll P (1996) Identification of sex in cetaceans by multiplexing with three ZFX and ZFY specific primers. *Mol Ecol* 5:283–287
- Bolnick DI, Svanbäck R, Araújo MS, Persson L (2007) Comparative support for the niche variation hypothesis that more generalized populations also are more heterogeneous. *Proc Natl Acad Sci USA* 104:10075–10079
- Brownell RL, Crespo EA, Donahue MA (1999) Peale's dolphin, *Lagenorhynchus australis* (Peale 1848). In: Ridgway SH, Harrison R (eds) *Handbook of marine mammals, Vol 6: the second book of dolphins and porpoises*. Academic Press, London, p 105–120
- Browning NE, Dold C, Jack IF, Worthy GAJ (2014) Isotope turnover rates and diet-tissue discrimination in skin of *ex situ* bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*). *J Exp Biol* 217:214–221
- Cabana G, Rasmussen JB (1996) Comparison of aquatic food chains using nitrogen isotopes. *Proc Natl Acad Sci USA* 93:10844–10847
- Caut S, Laran S, Garcia-Hartmann E, Das K (2011) Stable isotopes of captive cetaceans (killer whales and bottlenose dolphins). *J Exp Biol* 214:538–545
- Ciancio JE, Pascual MA, Beauchamp DA (2007) Energy density of Patagonian aquatic organisms and empirical predictions based on water content. *Trans Am Fish Soc* 136:1415–1422
- Coscarella MA (2005) *Ecología, comportamiento y evaluación del impacto de embarcaciones sobre manadas de tonina overa Cephalorhynchus commersonii en Bahía Engano, Chubut*. PhD thesis, Universidad de Buenos Aires
- Cousseau M, Perrota R (1998) *Peces marinos de Argentina. Biología, distribución, pesca*. Instituto Nacional de Investigación y Desarrollo Pesquero, Mar del Plata
- Crespo E, Olavarria C, Dellabianca N, Iñiguez M, Ridoux V, Reeves R (2017) *Cephalorhynchus commersonii*. The IUCN Red List of Threatened Species 2017: eT4159A50351788. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2017-3.RLTS.T4159A128963283.en>
- de Haro JC, Iñiguez MA (1997) Ecology and behaviour of the Peale's dolphin, *Lagenorhynchus australis* (Peale, 1848) at Cabo Virgenes (52° 30' S, 68° 28' W), Patagonia Argentina. *Rep Int Whaling Comm* 47:723–727
- Dellabianca NA, Pierce GJ, Raya Rey A, Scioscia G and others (2016) Spatial models of abundance and habitat preferences of Commerson's and Peale's dolphin in southern Patagonian waters. *PLOS ONE* 11:e0163441
- Di Benedetto APM, de Souza CMM, Kehrig HA, Rezende CE (2011) Use of multiple tools to assess the feeding preference of coastal dolphins. *Mar Biol* 158:2209–2217
- Drago M, Cardona L, Crespo EA, Aguilar A (2009a) Ontogenetic dietary changes in South American sea lions. *J Zool* 279:251–261
- Drago M, Crespo EA, Aguilar A, Cardona L, García N, Dans SL, Goodall N (2009b) Historic diet change of the South American sea lion in Patagonia as revealed by isotopic analysis. *Mar Ecol Prog Ser* 384:273–286
- Durante CA, Cunha HA, Crespo EA, Loizaga R (2020) Coming to light: first insight into the genetic diversity of Peale's dolphins at a Patagonian MPA. *Mar Mamm Sci* 36: 972–980
- Forero MG, Bortolotti GR, Hobson KA, Donazar JA, Bertelotti M, Blanco G (2004) High trophic overlap within the seabird community of Argentinean Patagonia: a multi-scale approach. *J Anim Ecol* 73:789–801
- Fry B (2006) *Stable isotope ecology*. Springer, New York, NY
- Garcia AFS, Garcia AM, Vollrath SR, Schneck F, Silva CFM, Marchetti ÍJ, Vieira JP (2018) Spatial diet overlap and food resource in two congeneric mullet species revealed by stable isotopes and stomach content analyses. *Community Ecol* 19:116–124
- Gavrilchuk K, Lesage V, Ramp C, Sears R, Bérubé M, Bearhop S, Beauplet G (2014) Trophic niche partitioning among sympatric baleen whale species following the collapse of groundfish stocks in the Northwest Atlantic. *Mar Ecol Prog Ser* 497:285–301
- Gibbs SE, Harcourt RG, Kemper CM (2011) Niche differentiation of bottlenose dolphin species in South Australia revealed by stable isotopes and stomach contents. *Wildl Res* 38:261–270
- Giménez J, Ramírez F, Almunia J, Forero MG, de Stephanis R (2016) From the pool to the sea: applicable isotope turnover rates and diet to skin discrimination factors for bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*). *J Exp Mar Biol Ecol* 475:54–61
- Giménez J, Marçalo A, Ramírez F, Verborgh P and others (2017) Diet of bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) from the Gulf of Cadiz: insights from stomach content and stable isotope analyses. *PLOS ONE* 12:e0184673
- Giménez J, Cañadas A, Ramírez F, Afán I and others (2018) Living apart together: niche partitioning among Alboran Sea cetaceans. *Ecol Indic* 95:32–40
- Goericke R, Fry B (1994) Variations of marine plankton $\delta^{13}\text{C}$ with latitude, temperature, and dissolved CO_2 in the world ocean. *Global Biogeochem Cycles* 8:85–90
- Goodall RNP (1994) Commerson's dolphin *Cephalorhynchus commersonii* (Lacépède 1804). In: Ridgway SH, Harrison R (eds) *Handbook of marine mammals, Vol 5: the first book of dolphins and porpoises*. Academic Press, London, p 241–267
- Goodall RNP, Galeazzi AR, Lichter AA (1988) Exploitation of small cetaceans off Argentina 1979–1986. *Rep Int Whaling Comm* 38:407–410
- Goodall RNP, Norris KS, Schevill WE, Fraga F, Praderi R, Iñiguez M, de Haro JC (1997) Review and update on the biology of Peale's dolphin, *Lagenorhynchus australis*. *Rep Int Whaling Comm* 47:777–796
- Hansen J, Garciarena A, Buratti C (2009) Estimación de la abundancia y composición de la población de anchoíta bonaerense durante el período 1990–2008, y de una captura biológicamente aceptable en el año 2009. Informe Técnico Oficial INIDEP 12, Mar del Plata
- Hartman KL, Visser F, Hendriks AJ (2008) Social structure of Risso's dolphins (*Grampus griseus*) at the Azores: a stratified community based on highly associated social units. *Can J Zool* 86:294–306
- Heinrich S, Dellabianca N (2019) *Lagenorhynchus australis*. The IUCN Red List of Threatened Species 2019: eT11143A50361589. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2019-1.RLTS.T11143A50361589.en>
- IBM SPSS (2017) *IBM SPSS Statistics for Mac, version 25*. IBM SPSS, Armonk, NY
- Iñiguez M, de Haro J (1994) Preliminary report on the feeding habits of the Peale's dolphin (*Lagenorhynchus australis*) in southern Argentina. *Aquat Mamm* 20: 35–37
- Jackson AL, Inger R, Parnell AC, Bearhop S (2011) Comparing isotopic niche widths among and within communi-

- ties: SIBER—Stable Isotope Bayesian Ellipses in R. *J Anim Ecol* 80:595–602
- ✦ Kiszka J, Oremus M, Richard P, Poole M, Ridoux V (2010) The use of stable isotope analyses from skin biopsy samples to assess trophic relationships of sympatric delphinids off Moorea (French Polynesia). *J Exp Mar Biol Ecol* 395:48–54
- ✦ Kiszka JJ, Méndez-Fernandez P, Heithaus MR, Ridoux V (2014) The foraging ecology of coastal bottlenose dolphins based on stable isotope mixing models and behavioural sampling. *Mar Biol* 161:953–961
- ✦ Koch PL (2007) Isotopic study of the biology of modern and fossil vertebrates. In: Michener R, Lajtha K (eds) *Stable isotopes in ecology and environmental science*, 2nd edn. Wiley, Wiley/Blackwell, Malden, MA, p 99–154
- Koen Alonso M (1999) Estudio comparado de la alimentación entre algunos predadores de alto nivel trófico de la comunidad marina del norte y centro de Patagonia. PhD thesis, Universidad de Buenos Aires
- Laws EA, Popp BN, Bidigare RR, Kennicutt MC, Macko SA (1995) Dependence of phytoplankton carbon isotopic composition on growth rate and $[CO_2]_{aq}$: theoretical considerations and experimental results. *Geochim Cosmochim Acta* 59:1131–1138
- Lescrauwaet AK (1997) Notes on the behaviour and ecology of the Peale's dolphin, *Lagenorhynchus australis*, in the Strait of Magellan, Chile. *Rep Int Whaling Comm* 47: 747–755
- Lichter AA (1992) Tracks in the sands, shadows on the sea: marine mammals of Argentina and Antarctica. Ediciones Terra Nova, Buenos Aires
- ✦ Loizaga de Castro R, Dans SL, Coscarella MA, Crespo EA (2013a) Living in an estuary: Commerson's dolphin (*Cephalorhynchus commersonii* (Lacépède, 1804)), habitat use and behavioural pattern at the Santa Cruz River, Patagonia, Argentina. *Lat Am J Aquat Res* 41: 985–991
- ✦ Loizaga de Castro R, Hoelzel AR, Crespo EA (2013b) Behavioural responses of Argentine coastal dusky dolphins (*Lagenorhynchus obscurus*) to a biopsy pole system. *Anim Welf* 22:13–23
- ✦ Loizaga de Castro R, Saporiti F, Vales DG, García NA, Cardona L, Crespo EA (2016) Feeding ecology of dusky dolphins *Lagenorhynchus obscurus*: evidence from stable isotopes. *J Mammal* 97:310–320
- ✦ Loizaga de Castro R, Saporiti F, Vales DG, Cardona L, Crespo EA (2017) Using stable isotopes to assess whether two sympatric dolphin species share trophic resources. *Mar Mamm Sci* 33:1235–1244
- ✦ Méndez-Fernandez P, Pierce GJ, Bustamante P, Chauvelon T and others (2013) Ecological niche segregation among five toothed whale species off the NW Iberian Peninsula using ecological tracers as multi-approach. *Mar Biol* 160: 2825–2840
- Michener R, Kaufman L (2007) Stable isotope ratios as tracers in marine aquatic food webs: an update. In: Michener R, Lajtha K (eds) *Stable isotopes in ecology and environmental science*, 2nd edn. Wiley, Wiley/Blackwell, Malden, MA, p 238–282
- ✦ Moore JW, Semmens BX (2008) Incorporating uncertainty and prior information into stable isotope mixing models. *Ecol Lett* 11:470–480
- ✦ Newsome SD, Martínez del Río C, Bearhop S, Phillips DL (2007) A niche for isotopic ecology. *Front Ecol Environ* 5: 429–436
- ✦ Newsome SD, Clementz MT, Koch PL (2010) Using stable isotope biogeochemistry to study marine mammal ecology. *Mar Mamm Sci* 26:509–572
- ✦ Newsome SD, Chivers SJ, Berman Kowalewski M (2018) The influence of lipid-extraction and long-term DMSO preservation on carbon ($\delta^{13}C$) and nitrogen ($\delta^{15}N$) isotope values in cetacean skin. *Mar Mamm Sci* 34:277–293
- ✦ O'Leary MH (1988) Carbon isotopes in photosynthesis. *Bio-science* 38:328–336
- ✦ Pasquaud S, Lobry J, Elie P (2007) Facing the necessity of describing estuarine ecosystems: a review of food web ecology study techniques. *Hydrobiologia* 588:159–172
- Pedraza S (2007) Ecología poblacional de la tonina overa, *Cephalorhynchus commersonii* (Lacépède, 1804) en el litoral patagónico. PhD thesis, Universidad de Buenos Aires
- ✦ Peterson BJ, Fry B (1987) Stable isotopes in ecosystem studies. *Annu Rev Ecol Syst* 18:293–320
- ✦ Phillips DL, Inger R, Bearhop S, Jackson AL and others (2014) Best practices for use of stable isotope mixing models in food-web studies. *Can J Zool* 92:823–835
- ✦ Pianka ER (1974) Niche overlap and diffuse competition. *Proc Natl Acad Sci USA* 71:2141–2145
- Pianka ER (2011) *Evolutionary ecology*, 7th edn. Self-published eBook, Austin, TX
- ✦ Pinela AM, Borrell A, Cardona L, Aguilar A (2010) Stable isotope analysis reveals habitat partitioning among marine mammals off the NW African coast and unique trophic niches for two globally threatened species. *Mar Ecol Prog Ser* 416:295–306
- ✦ Popp BN, Laws EA, Bidigare RR, Dore JE, Hanson KL, Wakeham SG (1998) Effect of phytoplankton cell geometry on carbon isotopic fractionation. *Geochim Cosmochim Acta* 62:69–77
- ✦ Ramírez F, Abdennadher A, Sanpera C, Jover L, Wassenaar LI, Hobson KA (2011) Assessing waterbird habitat use in coastal evaporative systems using stable isotopes ($\delta^{13}C$, $\delta^{15}N$ and δD) as environmental tracers. *Estuar Coast Shelf Sci* 92:217–222
- ✦ Riccialdelli L, Newsome SD, Dellabianca NA, Bastida R, Fogel ML, Goodall RNP (2013) Ontogenetic diet shift in Commerson's dolphin (*Cephalorhynchus commersonii*) off Tierra del Fuego. *Polar Biol* 36:617–627
- ✦ Romero MA, Dans SL, García N, Svendsen GM, González R, Crespo EA (2012) Feeding habits of two sympatric dolphin species off North Patagonia, Argentina. *Mar Mamm Sci* 28:364–377
- ✦ Roughgarden J (1976) Resource partitioning among competing species—a coevolutionary approach. *Theor Popul Biol* 9:388–424
- ✦ Ruadreo N, Voigt CC, Bumrungsri S (2019) Large dietary niche overlap of sympatric open-space foraging bats revealed by carbon and nitrogen stable isotopes. *Acta Chiropt* 20:329–341
- ✦ Rubenstein DR, Hobson KA (2004) From birds to butterflies: animal movement patterns and stable isotopes. *Trends Ecol Evol* 19:256–263
- Salas S, Chuenpagdee R, Charles AT, Seijo JC (2011) Coastal fisheries of Latin America and the Caribbean. *Fish Aquacult Tech Pap* 544. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome
- Schiavini AC, Goodall RNP, Lescrauwaet AK, Alonso MK (1997) Food habits of the Peale's dolphin *Lagenorhynchus australis*; review and new information. *Rep Int Whaling Comm* 47:827–834

- Smith JA, Mazumder D, Suthers IM, Taylor MD (2013) To fit or not to fit: evaluating stable isotope mixing models using simulated mixing polygons. *Methods Ecol Evol* 4:612–618
- Vales DG, Cardona L, Loizaga R, García NA, Crespo EA (2020) Long-term stability in the trophic ecology of a pelagic forager living in a changing marine ecosystem. *Front Mar Sci* 7:87
- Stock B, Semmens B (2016) MixSIAR GUI user manual, version 3.1. <https://github.com/brianstock/MixSIAR>
- Wilson RM, Tyson RB, Nelson JA, Balmer BC, Chanton JP, Nowacek DP (2017) Niche differentiation and prey selectivity among common bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) sighted in St. George Sound, Gulf of Mexico. *Front Mar Sci* 4:235
- Vales DG, Cardona L, García NA, Zenteno L, Crespo EA (2015) Ontogenetic dietary changes in male South American fur seals *Arctocephalus australis* in Patagonia. *Mar Ecol Prog Ser* 525:245–260

*Editorial responsibility: Lisa T. Ballance,
Newport, Oregon, USA*

Reviewed by: 3 anonymous referees

Submitted: May 9, 2020;

Accepted: November 9, 2020

Proofs received from author(s): January 22, 2021