

UNIVERSIDAD DE VALPARAÍSO

FACULTAD DE CIENCIAS DEL MAR Y DE RECURSOS NATURALES

CARRERA DE BIOLOGÍA MARINA

Cambios morfológicos y alometría ontogenética en larvas de  
chalaco, *Auchenionchus crinitus* (Jenyns, 1842) asociado a la  
variabilidad ambiental costera, utilizando morfometría geométrica.

TESIS

Pilar Valentina Núñez Acuña

2017

Pilar Valentina Núñez Acuña

Trabajo de titulación presentado en conformidad a los requisitos para obtener  
el título profesional de Biólogo Marino

Dr. Mauricio Fabián Landaeta Díaz

**Director**

Universidad de Valparaíso

Dr. Ricardo Bravo Méndez

**Miembro de la comisión**

Universidad de Valparaíso

Dr. Manuel Castillo Silva

**Miembro de la comisión**

Universidad de Valparaíso

2017

## TABLA DE CONTENIDOS

AGRADECIMIENTOS.....	v
ÍNDICE DE TABLAS.....	Ix
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xiii
Resumen.....	xviii
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. OBJETIVOS.....	8
2.1 Objetivo General.....	8
2.2 Objetivos Específicos.....	8
3. HIPÓTESIS.....	9
4. MATERIALES Y MÉTODOS.....	10
4.1 Área de estudio.....	10
4.2 Trabajo de terreno.....	11
4.3 Registro de datos.....	12
4.4 Trabajo de laboratorio.....	13
4.5 Análisis de datos.....	16
4.5.1 Análisis ambientales.....	16
4.5.2 Abundancia larval.....	17
4.5.3 Morfometría geométrica.....	17
4.5.3.1 Cambios ambientales y su efecto en los cambios morfológicos.....	20
4.5.3.2 Integración y modularidad en el desarrollo larval.....	21
5. RESULTADOS.....	22

5.1 Variables Ambientales.....	22
5.2 Abundancia Larval.....	24
5.3 Cambios Morfológicos y Alometría Ontogenética.....	24
5.3.1 Alometría Ontogenética .....	26
5.3.2 Cambios morfológicos.....	32
5.3.2.1 Análisis de Componentes Principales (ACP) .....	32
5.3.2.2 Análisis de Variables Canónicas (AVC) .....	40
5.3.2.2.1 Primavera – Verano.....	40
5.3.2.2.2 Mareas.....	44
5.3.2.2.3 Magnitud del esfuerzo del viento.....	46
5.3.2.2.4 Estratificación de la columna de agua.....	50
5.3.2.3 Mínimos Cuadrados Parciales.....	52
5.4 Modularidad e Integración.....	54
5.4.1 Desarrollo osteológico de los 3 módulos (mandíbula-neurocráneo, aleta pectoral-neurocráneo y mandíbula-aleta pectoral).....	54
6. DISCUSIÓN .....	58
6.1 Cambios morfológicos y alometría ontogenética.....	59
6.2 Modularidad e integración ontogenética en el desarrollo larval.....	63
6.3 Cambios morfológicos y alometría asociada a la variabilidad ambiental costera...	65
7. Conclusiones.....	77
8. LITERATURA CITADA .....	77

## AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, agradecer al Dr. Mauricio Landaeta por permitirme participar en el Proyecto FONDECYT 1150296, el cual aportó los recursos para el financiamiento de este estudio.

A mi familia, a mis padres, mi hermana y mis 2 hermanos, quienes fueron un pilar fundamental en esta etapa académica, brindándome apoyo en distintos aspectos, la familia para mí es lo más importante y sin su ayuda el camino universitario hubiese sido mucho más difícil.

También debo agradecer a mis amigos de la universidad: Anto, Mirna, Bastián y Nico, estuvimos juntos hasta el último momento, desde primer año, tomamos los mismos electivos, formamos el Centro de Estudiantes y después entramos todos a trabajar en nuestros seminarios y tesis en el LABITI; muchas gracias por todos los momentos que compartimos, además no puedo dejar de agradecer a cada una de sus familias que muchas veces me acogieron en sus casas. En especial a la Tía Soledad, quien en muchas oportunidades me hizo (y aún lo hace) sentir parte de su familia, algo que estando lejos de mi familia se valora mucho.

A mis amigos de toda la vida: Gissa, Raúl y Vane, muchas gracias por estar conmigo en todo momento, desde kínder! siempre nos hemos acompañado en todos estos procesos y lo seguiremos haciendo! No tengo mucho que decir de ustedes porque siempre han sido los mejores!

A todas y todos los miembros del LABITI: Maca, James, Piera, Anita, Vale, Fran, Juanita, Víctor, Gaby, Polanco, Pelao, Bastián, Anto, Mirna, Marcia, Karly y a la Profe

Claudia, muchas gracias por el apoyo en los muestreos, en el laboratorio, por los consejos y las críticas constructivas, todo esto me sirvió para prepararme de mejor forma para estos momentos. En particular quiero agradecer a algunas personas del laboratorio que me ayudaron directamente en el proceso de esta tesis. A Polanco y Bastián por facilitarme fotos tanto para la presentación como para los análisis, y a la Vale por ser miembro honorario de mi comisión!, muchas gracias por tu ayuda en los análisis morfométricos y consejos, por dejarme participar de tu clase de morfometría y aprender más, fuiste de mucha ayuda en momentos de estrés en mi vida.

A los miembros de mi comisión. Al Profesor Ricardo Bravo, quien fue el primer profesor en acercarme a la zoología marina, en particular a los peces y despertar este interés por estudiarlos. Muchas gracias por su disposición y ayuda durante todo mi proceso universitario y ahora que estoy finalizando el pregrado.

Al profesor Manuel Castillo quien me introdujo al (difícil) mundo de la programación, ¡aunque me costó un poco! pero logré aprender, de verdad muchas gracias, este fue un mundo completamente nuevo para mí y usted lo hizo mucho más grato y fácil. Muchas gracias por estar siempre dispuesto a ayudarme cada vez que me nacían dudas! Y fueron muchas!. Por último, no puedo dejar de agradecerle por todos los buenos momentos y anécdotas en el LOFISAT, además por el entusiasmo de hacer cosas nuevas.

Y al profesor Mauricio Landaeta, profe en primer lugar debo agradecerle el que usted quisiera invitarme a ser parte del LABITI, todo por ser preguntona en clases!. Muchas gracias por todo el apoyo y las distintas oportunidades, pude presentar en un congreso, asistir a un curso fuera del país, aprender una gran variedad de técnicas y mucho más!. Gracias por

ayudarme en cualquier momento en que lo necesitaba, por el apoyo y consejos en distintos ámbitos, además del académico. Gracias por lograr que todas las ideas que tenía en la cabeza se llevaran a cabo y ordenarlas en mi mente y poder escribirlas (cosa que me cuesta bastante). Espero de verdad que podamos seguir siempre trabajando en conjunto y generando conocimiento! Además de seguir abriendo el mundo de la morfometría geométrica a las demás personas. Sinceramente el realizar mi tesis en el LABITI es una decisión de la cual no podría arrepentirme y que si usted no me hubiese invitado, todo esto no podría haber sido posible.

Por último, no puedo dejar de agradecer a todas y todos los profesores de esta facultad, quienes me ayudaron a formarme como Bióloga Marina y como persona. En especial a la profesora Bernardita Campos por facilitarme la lupa estereoscópica para fotografiar mis muestras y por todo lo entregado a lo largo de mi carrera universitaria.

Por último, agradecer a los funcionarios de esta Facultad quienes te reciben de forma muy grata y ayudan en todo lo que una necesite, además de ser una parte fundamental en la Facultad. En especial a la secretaria Patricia Ahumada, quien siempre tuvo una gran disposición a la hora de tramitar todo lo que yo le pedía (y eran muchas cosas), a Pablo, el Maestro de Cocina del Casino, y su ayudante la tía Mónica, quienes alegraron siempre mis días en la Facultad, con sus chistes y bromas, además de su muy buena comida;, a la tía Jeanette por siempre tener disposición a ayudarnos a buscar material de estudio y las conversaciones en la biblioteca, además siempre nos brindó ayuda cuando fui parte centro del Centro de Estudiantes, y de forma muy especial a Luchito, a quien puede conocer más a fondo, ya que de coincidencia tomábamos la micro todos los días juntos para ir a la Facultad,

y así comenzamos a conversar y conocernos más, usted es una gran persona y yo le tengo mucho cariño, espero que siempre podamos seguir en contacto.

Finalmente, a las alumnas y alumnos que componen la Facultad, que aprendan que a la universidad no solo se viene a estudiar, sino a desarrollarse de forma íntegra como persona en todo aspecto. Además, decirles que aprovechen a las y los profesores que tienen en esta Facultad, hay mucho que aprender y hacer, sólo es necesario tener la iniciativa.



## INDICE DE TABLAS

<b>Tabla</b>		
<b>1</b>	Información parámetros ambientales registrados para el período 1 (2015-2016). T: termistores.....	13
<b>2</b>	Número de larvas de <i>Auchenionchus crinitus</i> correspondiente a cada fecha de muestreo. ....	15
<b>3</b>	Rangos de tamaño de larvas correspondientes al período de muestreo 2015-2016.....	16
<b>4</b>	Rangos de tamaño de larvas correspondientes al período de muestreo 2016-2017.....	16
<b>5</b>	Resultados del Procrustes ANOVA de estimación del porcentaje de error en la digitalización de los landmarks para el período 2015-2016 de estudio.....	25
<b>6</b>	Resultados del Análisis de Covarianza y Porcentajes de alometría ontogenética según los rangos de tamaño y períodos estacionales. F: valor del estadístico, gl: grados de libertad y p: valor de significancia. En rojo los valores que muestran diferencias.....	27
<b>7</b>	Resultados Análisis de Covarianza y Porcentaje de alometría ontogenética para la temperatura del agua, magnitud del esfuerzo del viento y mareas. F: valor del estadístico, gl: grados de libertad y p: el primero corresponde al valor de significancia de la alometría y el segundo al valor de significancia del ANCOVA.....	29

<b>8</b>	Correlación de Spearman para cada componente principal y la longitud corporal en larvas de <i>Auchenionchus crinitus</i> . Rs: valor de la correlación. En rojo los valores que muestran diferencias.....	34
<b>9</b>	Cargas Factoriales de cada landmark para los 4 CP, las X representan el eje antero-posterior del cuerpo mientras que las Y el eje dorso-ventral. En rojo y destacados los landmarks con mayor carga factorial y en rojo sin destacar los con carga media. La estructura que representa cada landmark se encuentra definida en la Figura 3.....	39
<b>10</b>	Distancias de Procrustes para los períodos estacionales de primavera-verano. A la izquierda los valores de cada distancia y a la derecha valor p del test de permutación. En rojo los grupos que muestran diferencias.....	41
<b>11</b>	Cargas Factoriales de cada landmark para los períodos estaciones de primavera y verano y los grupos de tamaño. X: eje antero-posterior del cuerpo, Y: eje dorso-ventral, los números representan a los landmarks descritos en la Figura 3.....	43
<b>12</b>	Distancias de Procrustes para las mareas de cuadraturas y sicigias. A la izquierda los valores de cada distancia y a la derecha el valor p del test de permutación. En rojo los grupos que muestran diferencias.....	44

<b>13</b>	Cargas Factoriales de cada landmark para las mareas de cuadratura y sicigias y los grupos de tamaño. X: eje antero-posterior del cuerpo, Y: eje dorso-ventral, los números representan a los landmarks descritos en la Figura 3.....	46
<b>14</b>	Distancias de Procrustes para la magnitud del esfuerzo del viento. A la izquierda los valores de cada distancia y a la derecha el valor p del test de permutación. En rojo los grupos que muestran diferencias.....	47
<b>15</b>	Cargas Factoriales de cada landmark para la magnitud del esfuerzo del viento y los grupos de tamaño. X: eje antero-posterior del cuerpo, Y: eje dorso-ventral, los números representan a los landmarks descritos en la Figura 3.....	49
<b>16</b>	Distancias de Procrustes para la estratificación de la columna de agua. A la izquierda los valores de cada distancia y a la derecha el valor p del test de permutación. En rojo los grupos que muestran diferencias.....	50
<b>17</b>	Cargas Factoriales de cada landmark para la estratificación de la columna de agua y los grupos de tamaño, X: eje antero-posterior del cuerpo, Y: eje dorso-ventral, los números representan a los landmarks descritos en la Figura 3.....	52

<b>18</b>	Resultados del Procrustes ANOVA de estimación del porcentaje de error en la digitalización de los landmarks para el período 2016-2017 de estudio.....	55
-----------	---	----

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura</b>		
<b>1</b>	Mapa de la bahía El Quisco. La estrella gris corresponde a la posición del anclaje, la estrella negra muestra la posición de la estación meteorológica y las líneas corresponden a la posición de los lances en el muestreo (Díaz-Astudillo <i>et al.</i> 2017).....	11
<b>2</b>	Medición de la longitud estándar (línea roja) en larvas de <i>Auchenionchus crinitus</i> . El círculo rojo indica la posición del pigmento ventral característico de esta especie.....	14
<b>3</b>	Configuración de 10 landmarks para las larvas de <i>Auchenionchus crinitus</i> . 1: Premaxila; 2: Extremo anterior del cartílago de Meckel; 3: Centro del ojo; 4: Ceratohial; 5: Sínfisis cleitral; 6: Inserción anterior de la vejiga gaseosa; 7: Ano 8: Margen dorsal del neurocráneo; 9: Inserción ventral de la aleta pectoral; 10: Inserción dorsal de la aleta pectoral.....	18

<b>4</b>	<p>Configuración de 12 landmarks para larvas de <i>Auchenionchus crinitus</i> tratadas con tinción mixta. La coloración azul muestra estructuras cartilaginosas y la morada muestra estructuras óseas. 1: Extremo anterior del cartílago de Meckel; 2: Extremo posterior del cartílago de Meckel; 3: Extremo anterior de la premaxila; 4: Angular (zona del arco hioideo); 5: Zona anterior del Paraesfenoides (base del neurocráneo); 6: Zona posterior del Paraesfenoides (base del neurocráneo); 7: Límite dorsal del neurocráneo; 8: Margen dorso-lateral del neurocráneo; 9: Supraoccipital; 10: Inserción dorsal de la aleta pectoral; 11: Inserción ventral de la aleta pectoral; 12: Coracoescapular. Las letras muestran los grupos de larvas según la tabla 4 Grupos de tamaño 1 (A), 2 (B), Módulos para análisis de modularidad e integración, (C) y 3 (D).....</p>	19
<b>5</b>	<p>Condiciones meteorológicas e hidrográficas para el período de estudio 2015-2016 en la bahía El Quisco. A: Temperatura del mar entre las profundidades de 5-6m, 9-10m, 12-15m y 18-20 m, B: Componentes u (este-oeste) y v (norte-sur) del esfuerzo del viento y C: Serie de tiempo de la anomalía (datos sin la media) del nivel del mar.....</p>	22

<b>6</b>	Gráfico de Caja y Bigotes. Abundancias larvales de <i>Auchenionchus crinitus</i> (ind. 100 m <sup>-3</sup> ) correspondientes a cada fecha de muestreo. Las letras indican diferencias significativas.....	24
<b>7</b>	Regresión entre el tamaño el logaritmo del tamaño del centroide (Log TC) y la longitud corporal (LC) en larvas de <i>Auchenionchus crinitus</i> .....	25
<b>8</b>	Regresión entre las Coordenadas de Procrustes (CorPr) y el logaritmo del tamaño del centroide (Log TC) en larvas de <i>A. crinitus</i> , se observa el patrón de alometría ontogenético. Los colores indican los grupos de tamaño larval.....	26
<b>9</b>	Regresión entre las Coordenadas de Procrustes (CorPr) y el logaritmo del tamaño del centroide (Log TC) para el período de primavera y verano. ....	28
<b>10</b>	Regresión entre las Coordenadas de Procrustes (CoPr) y el logaritmo del tamaño del centroide (Log TC) para distintas profundidades de la columna de agua de mar y a temperaturas del agua más y menos intensas. 5-6 m (A), 9-10 m(B), 12-15 y 18-20 m (C).....	30
<b>11</b>	Regresión entre las Coordenadas de Procrustes (CorPr) y el logaritmo del tamaño del centroide (Log TC) para la magnitud del esfuerzo del viento a intensidades altas y bajas.....	31

<b>12</b>	Regresión entre las Coordenadas de Procrustes (CorPr) y el logaritmo del tamaño del centroide (Log TC) para mareas de cuadratura y sicigia.....	32
<b>13</b>	Porcentaje de Varianza de cada componente principal de los cambios morfológicos durante el desarrollo larval de <i>A. crinitus</i> .....	33
<b>14</b>	Análisis de componentes principales para observar los principales ejes de cambios morfométricos a lo largo de la ontogenia larval de <i>Auchenionchus crinitus</i> . CP1 vs CP2 (A), CP1 vs CP2 promedio (B) y CP3 vs CP4 (C). .....	34
<b>15</b>	Cambios morfológicos asociados al CP1, el cual corresponde al componente ontogenético en larvas <i>A. crinitus</i> . Rangos de tamaño: 2,90 – 7,0 mm (A), 7,01 – 9,95 mm (B) y >10,0 mm (C).....	36
<b>16</b>	Ejes de cambio morfológico (wireframes) en 3 componentes principales. CP2 (A), CP3 (B) y CP4 (C). En azul la figura que indica la forma final...	38
<b>17</b>	Análisis de variables canónicas en larvas de <i>A. crinitus</i> para primavera y verano y los grupos de tamaño. Los wireframes muestran los cambios de forma negativos (b) y positivos (c) para la VC1 y negativos (d) y positivos (e) para la VC2.....	42
<b>18</b>	Análisis de variables canónicas en larvas de <i>A. crinitus</i> para las mareas y los grupos de tamaño.....	45



<b>19</b>	Análisis de variables canónicas en larvas de <i>A. crinitus</i> para la magnitud del esfuerzo del viento y los grupos de tamaño. Alta magnitud (alta_mag) y baja magnitud (baja_mag). .....	48
<b>20</b>	Análisis de variables canónicas en larvas de <i>A. crinitus</i> para la estratificación de la columna del agua y los grupos de tamaño. Alta estratificación (alta_estratif) y baja estratificación (baja_estratif) de la columna de agua.....	51
<b>21</b>	Mínimos Cuadrados Parciales. Bloque 2: Matriz ambiental. Se observa la variable ambiental que produce una mayor influencia en la forma de las larvas de <i>A. crinitus</i> .....	53
<b>22</b>	Desarrollo osteológico en larvas de <i>A. crinitus</i> . Grupos de tamaño 1 (A), 2 (B), 3 (C) y (D).....	55
<b>23</b>	Figura 23. Módulos para análisis de modularidad e integración en larvas de <i>A. crinitus</i> . En violeta el módulo mandíbula, en morado oscuro el módulo neurocráneo y en amarillo el modulo aleta pectoral.....	56
<b>24</b>	Mínimos Cuadrados Parciales. A: bloque 1 (mandíbula) y 2 (neurocráneo), B: bloque 1 (neurocráneo) y 2 (aleta pectoral) y C: bloque 1 (mandíbula) y 2 (aleta pectoral).....	57

## RESUMEN

La alometría ontogenética es la relación entre el tamaño y la forma de un organismo. El tamaño de un organismo varía en el tiempo y según las condiciones que existan en el medio. La temperatura del agua, el viento y la marea juegan un rol importante en aspectos biológicos de los peces marinos, por lo que se puede inferir que variaciones y el conjunto de estas condiciones ambientales tengan un efecto sobre la forma y la alometría, debido a la variabilidad en las condiciones oceanográficas de la zona costera. El objetivo de este estudio es determinar el efecto que las condiciones ambientales *in situ* (temperatura del agua y el esfuerzo del viento) y las mareas, generan en la morfología y la alometría ontogenética en larvas de chalaco *Auchenionchus crinitus* (Labrisomidae), durante primavera y verano. Para visualizar el cambio de forma y tamaño durante la ontogenia temprana y el potencial efecto de la variabilidad ambiental costera se utilizó morfometría geométrica por medio del análisis de los landmarks. El patrón de alometría ontogenética en esta especie se da en 3 etapas y con una curva sinusoidal. La mayor alometría se observó en larvas en flexión. El desarrollo integrado de los módulos neurocráneo-mandíbula y neurocráneo-aleta pectoral, y desarrollo modular de la mandíbula con la aleta pectoral se relacionan con el desarrollo osteológico y la funcionalidad de estas estructuras. Existen diferencias significativas en la alometría y la forma entre condiciones de afloramiento (primavera) y estratificación de la columna de agua (verano). La variabilidad estacional de la temperatura del agua de mar fue el factor que más influyó en la morfología, además de la ontogenia. Los cambios en el patrón de alometría y la forma en el desarrollo larval de *A. crinitus* podrían ser una respuesta fenotípica a los cambios en las condiciones ambientales que generan afloramiento y estratificación de la columna de

agua, más las mareas, como una forma de compensar la variabilidad del ambiente y así sobrevivir a la etapa pelágica.

## INTRODUCCIÓN

Los análisis de forma son una aproximación para entender las diversas causas que existen en la variación y transformación morfológica, debido a que son muchos los procesos biológicos que producen diferencias en los organismos o en parte de ellos, tales como enfermedades, mutaciones, desarrollo ontogenético, adaptación a factores geográficos locales o diversificación evolutiva. Estas diferencias en forma pueden mostrar diferencias en procesos de crecimiento y morfogénesis (Zelditch *et al.* 2012).

Las variaciones en tamaño son determinantes de la variación de muchos rasgos de los organismos, ya que el tamaño tiene mucha importancia en aspectos biológicos. Por ejemplo, los procesos de desarrollo van acompañados de un crecimiento en tamaño por parte de los organismos y la diversificación evolutiva involucra la diferenciación en tamaño entre distintas taxa relacionadas. Muchos estudios de alometría han investigado la influencia del tamaño en el rol ecológico o en el rendimiento funcional de los organismos (Zelditch *et al.* 2012, Klingenberg 2016).

La asociación estadística entre el tamaño y la forma se define en general como alometría, la cual muestra una determinada relación entre el tamaño corporal y otros caracteres de un organismo. Es importante porque indica la variación en un gran número de rasgos morfológicos, fisiológicos y de la historia de vida de los organismos, lo que está fuertemente relacionado con las variaciones en tamaño (Mitteroecker *et al.* 2013, Pelabon *et al.* 2014). Estos cambios resultan del crecimiento de sus distintos componentes corporales a distintas velocidades, por lo que la alometría puede ser negativa o positiva: un rasgo presenta un crecimiento alométrico negativo si es que éste aumenta menos en tamaño que otros rasgos

o que el tamaño total del organismo, en cambio, un rasgo con alometría positiva aumentará más en tamaño que otros caracteres (Mitteroecker *et al.* 2013). Es así que los estudios sobre morfometría alométrica muestran cómo la forma específica de un órgano varía en tamaño, cuando cambia el tamaño corporal del organismo, produciendo un cambio en la forma.

Los patrones alométricos se pueden observar en distintos niveles taxonómicos (individual, poblacional o en la diferenciación de especies) y dependiendo como actúa dentro de ellos, es que se distinguen 3 tipos de alometría: alometría estática, se estima a través de una población o especie en un mismo estado de desarrollo; alometría evolutiva, que se refiere a cambios evolutivos en la forma correlacionados con cambios evolutivos en el tamaño, y por último la alometría ontogenética, la cual es estimada ya sea a nivel individual o poblacional, pero durante el desarrollo de los organismos (Zelditch *et al.* 2012, Pelabon *et al.* 2013).

La alometría ontogenética entonces es la asociación existente entre el tamaño y la forma a través de las distintas clases de edad. Generalmente se utiliza como una estimación de la trayectoria ontogenética de una población (se refiere al patrón de crecimiento promedio de una población), preferentemente cuando no se conocen las edades individuales (Mitteroecker *et al.* 2013). Este crecimiento alométrico provoca la madurez morfométrica (Alemán 2015), ya que por medio del proceso ontogenético, el cual involucra un crecimiento y diferenciación, las larvas se someten a grandes cambios con respecto a la morfología, metabolismo y comportamiento, con el fin de transformarse en juveniles, sin dejar de ser organismos funcionales (Koumoundouros *et al.* 1999).

Los organismos están integrados para actuar como un todo. Los individuos y sus principales unidades morfológicas están compuestos de múltiples partes, las cuales son distintas en función, anatomía u origen embrionario. Esta coordinación en subunidades es conocida como integración morfológica y se centra principalmente en la biología evolutiva del desarrollo bajo el título de modularidad (Klingenberg 2009).

La integración y modularidad se encuentran conectadas. La integración es la tendencia de diferentes rasgos a variar conjuntamente de manera coordinada a lo largo de una estructura morfológica o de un organismo completo. Existe modularidad si la integración se concentra dentro de ciertas partes o regiones de una estructura, los módulos, pero es relativamente débil entre estos. La modularidad por lo tanto significa que la integración en una estructura está dividida en compartimientos, con una fuerte integración intra módulos y débil entre módulos (Klingenberg 2014).

La modularidad y la integración han sido estudiadas en diferentes sistemas de estudio, como, alas de insectos, mandíbulas de roedor y muchos esqueletos de mamíferos, incluidos los humanos (Klingenberg 2009).

Dependiendo de los procesos de la integración y modularidad se distinguen distintos niveles de integración, tales como, integración estática, del desarrollo, funcional, ambiental, evolutiva y ontogenética, ésta última describe la integración de rasgos a través de los estados ontogenéticos, relacionándose de forma estrecha con la alometría ontogenética (Klingenberg 2014).

Para el análisis de la forma, la morfometría geométrica otorga una gran ventaja, no sólo porque permite una descripción precisa, sino también porque genera análisis estadísticos rigurosos y visualización, interpretación y comunicación de los resultados. Gracias a esto es posible encontrar diferencias en estructuras que a simple vista son similares, como las estructuras circulares (Zelditch *et al.* 2012).

La morfometría geométrica se utiliza como una herramienta utilizada para medir el crecimiento alométrico, ya que permite visualizar las trayectorias de crecimiento y los cambios de forma relacionados con el tamaño (Loy *et al.* 2001). Dentro de ésta el método más usado para estimar la alometría es por medio del análisis de regresión multivariada de la forma y el tamaño del centroide (Klingenberg 2016).

La morfometría geométrica ha abierto nuevas posibilidades para el estudio de la integración morfológica (Klingenberg 2009). Una amplia gama de métodos morfométricos se han utilizado para estudiar la integración morfológica y la modularidad (Klingenberg 2014).

Los datos que se utilizan para realizar estas estimaciones corresponden a un conjunto de “landmarks” (hito o marca), los cuales son puntos del espacio que tienen un nombre y coordenadas cartesianas; estos son los datos que luego se someterán a análisis. Estos puntos representan caracteres anatómicos que deben ser reconocidos en el mismo punto en todos los organismos de estudio, lo que los hace ser puntos homólogos (Toro *et al.* 2010, Zelditch *et al.* 2012). Por lo mismo, la selección de los landmarks debe ser rigurosa ya que permite visualizar las implicancias biológicas de las variaciones observadas (Toro *et al.* 2010).

En los peces, la mayoría de las configuraciones de landmarks utilizadas están enfocadas a las estructuras de alimentación y locomoción, ya que son considerados motores primarios de la coexistencia y riqueza de especies, y también de la forma del cuerpo, el cual es un factor que contribuye a la multitarea de muchos rasgos, como la natación, captura del alimento, depredación y el desove (Farré *et al.* 2016).

El tamaño de un organismo varía en el tiempo y según las condiciones que existan en el medio en el que se encuentren. La temperatura del agua es importante, ya que influye directamente en aspectos biológicos de los organismos, tales como la alometría, tamaño corporal, crecimiento, diferenciación muscular, caracteres merísticos, entre otros (Osse & Van den Boogaart 1995; Loy *et al.* 2001). Ésta además controla la tasa de desarrollo y supervivencia en rangos óptimos, ya que determina la duración de los estadios ontogénicos, el tamaño larval en la eclosión, la eficiencia en el uso del saco vitelino, inicio de la primera alimentación y posibles deformaciones embrionarias (Azocar *et al.* 2014). En base a la importancia de la temperatura del agua en la vida de los organismos marinos es posible inferir que ésta tendrá un efecto en la forma de ellos. El viento también tiene efectos en los organismos, por ejemplo, en el crecimiento, dado que mueve aguas superficiales y con eso fuentes de alimento, ya sea lejos o a lo largo de la costa (Bergenius *et al.* 2005). Por último, el ciclo lunar, a través de las distintas fases proporcionan un conjunto de señales ambientales para los organismos, por medio de los ciclos mareales (deBruyn & Meeuwig 2001). Estas condiciones provocarían un aumento del tamaño de los organismos, producto de una mayor disponibilidad de alimento y disminución de la depredación, dependiendo de la fase lunar (Hernández-León 2008).



Es plausible entonces inferir que estas variaciones regulares y el conjunto de estas condiciones ambientales tengan un efecto sobre la forma y la alometría de los organismos. Lo anterior se debe a que la región costera es un ambiente importante para el desarrollo de estados adultos de peces bentónicos dada la variabilidad en las condiciones oceanográficas de la zona, además de tener un rol importante en la retención, dispersión y suministro de larvas hacia áreas adecuadas para el asentamiento (Narváez *et al.* 2004, ).

En esta región la alta disponibilidad alimentaria, baja abundancia de depredadores, las características físico-químicas favorables y los patrones de circulación que promueven la retención en áreas de desove, la temperatura, salinidad y la estratificación de la columna de agua pueden afectar la abundancia y el estado de condición de las larvas (Díaz-Astudillo *et al.* 2017). Lo cual podría verse reflejado en cambios en el patrón de alometría y la morfología de estados tempranos de peces que habitan en la región cercana a la costa.

La especie modelo seleccionada en este estudio corresponde a un pez costero, el chalaco *Auchenionchus crinitus* (Jenyns, 1842) (Perciformes: Labrisomidae). La Familia Labrisomidae posee características comunes, como la presencia de espinas en las aletas dorsal, anal, o una espina en la aleta pélvica y ausencia de aleta adiposa (Watson 1996). *Auchenionchus crinitus* pertenece al suborden Blennioidei; estos son peces pequeños de menos de 20 cm, se ubican en arrecifes rocosos o coralinos a baja profundidad, su cuerpo es alargado, comprimido y flexible, con lo cual tiene un movimiento de natación fluido, presentan cirros en la zona anterior a la nariz, los ojos y la nuca. Las aletas pélvicas son torácicas y están insertadas delante de las pectorales; presenta una larga aleta anal y generalmente solo una aleta dorsal, y la aleta caudal es redondeada. En su mayoría son

crípticos, con el color marrón como predominante y presentan manchas o rayas en el cuerpo; esta característica junto con su tamaño los hace relativamente poco visibles.

En cuanto a la reproducción y desarrollo, presentan huevos demersales esféricos, con cuidado parental (generalmente por machos). En las especies que presentan estados larvales, éstas eclosionan con los ojos pigmentados, boca abierta y un saco vitelino de tamaño pequeño. Las larvas son generalmente alargadas con una pigmentación ligera, con melanóforos más marcados en la zona dorsal de la vejiga gaseosa, el intestino y a lo largo del margen ventral de la cola. Las larvas generalmente se encuentran limitadas a aguas costeras poco profundas (Watson 1996; Zaniolo *et al.* 2004). Específicamente, *A. crinitus* posee de 20 a 45 cirros nucales y orbitales, sus aletas pélvicas son cortas y gracias al número de cirros y de dientes en el palatino es fácil identificarlo (Saez & Pequeño 2009).

## OBJETIVOS

### Objetivo General

Determinar el efecto que las condiciones ambientales *in situ*, como la temperatura del agua de mar y la magnitud del esfuerzo del viento junto con las mareas, generan en la morfología y la alometría ontogenética en larvas de chalaco, *Auchenionchus crinitus* en la bahía El Quisco, Chile central, durante condiciones de primavera y verano.

### Objetivos específicos

1. Analizar la variabilidad de las condiciones ambientales durante el períodos de estudio (2015-2016) (condiciones de marea, temperatura del agua de mar y magnitud del esfuerzo del viento).
2. Cuantificar en larvas de cohortes de primavera y de verano (2015-2016), los cambios morfológicos y la alometría ontogenética larval entre los diferentes factores meteorológicos (magnitud del esfuerzo del viento) y oceanográficos (temperatura del agua de mar y condiciones de marea).
3. Determinar la influencia de factores meteorológicos (magnitud del viento) y oceanográficos (temperatura del agua de mar y condiciones de marea) en los cambios morfológicos de las larvas de peces pertenecientes al período de estudio 2015-2016.
4. Evaluar el grado de integración y modularidad del desarrollo morfológico del neurocráneo, aparato mandibular y aletas pectorales, a lo largo de la ontogenia larval de *Auchenionchus crinitus*, en larvas tratadas con tinción mixta, por medio de morfometría geométrica para el período de estudio 2016-2017.

## HIPÓTESIS

Las condiciones ambientales *in situ*, tales como la temperatura del agua de mar y la magnitud del esfuerzo del viento, además de las condiciones de marea provocadas por las distintas fases lunares, producen diferencias en los cambios morfológicos durante el desarrollo larval y alometría ontogenética en larvas de chalaco, *Auchenionchus crinitus* (Jenyns, 1842).

Las predicciones asociadas a la hipótesis de trabajo son las siguientes:

1. Los cambios morfológicos de *Auchenionchus crinitus* ocurren temprano en la ontogenia larval y van disminuyendo a medida que se avanza en ella.
2. La alometría ontogenética será influida positivamente con un aumento de la temperatura del agua de mar, mientras que con la magnitud del esfuerzo del viento será influida negativamente.
3. En períodos de cuadratura (sicigias) se esperan cambios morfológicos acelerados (lentos) en las larvas de *A. crinitus*, lo que se traduce en una mayor (menor) alometría.

## MATERIALES Y MÉTODOS

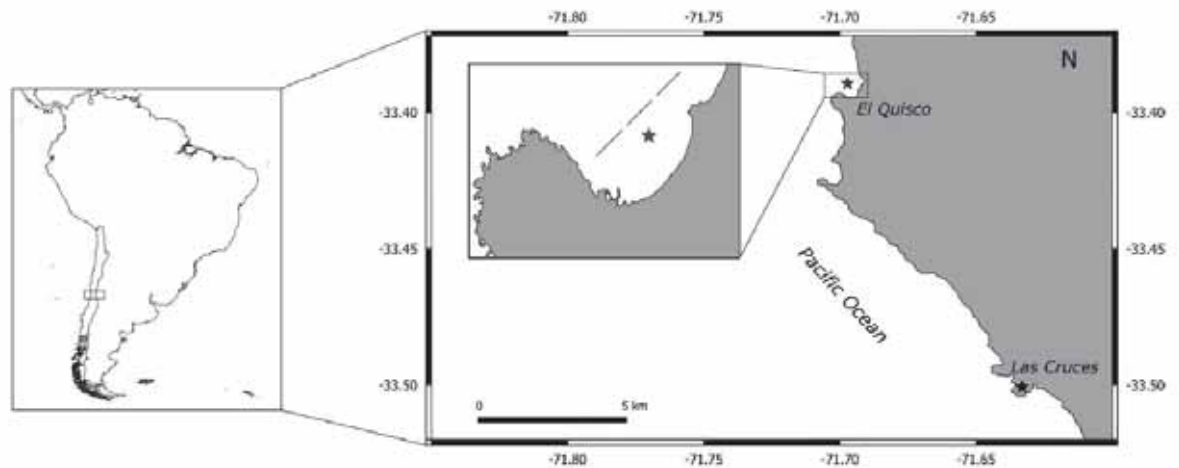
### Área de estudio

La bahía El Quisco (33.4° S, 71,7° O) presenta una orientación noroeste, y corresponde a una orilla rocosa que se utiliza como Área de Manejo de Recursos Bentónicos. Es un área marina protegida explotada de manera controlada por pescadores artesanales. La línea costera se caracteriza por la presencia de playas arenosas y arrecifes rocosos, albergan varios peces cripto-bentónicos. Junto con esto también es posible encontrar altas abundancias de peces en su estado larval, tales como *Engraulis ringens* (Jenyns, 1842) (Engraulidae), *Gobiesox marmoratus* (Jenyns, 1842) (Gobiesocidae), *Strangomera bentincki* (Norman, 1936) (Clupeidae), *Helcogrammoides cunninghami* (Smitt, 1898) (Tripterygiidae) *Auchenionchus crinitus* (Jenyns, 1842) (Hernández-Miranda *et al.* 2006, Díaz-Astudillo *et al.* 2017).

La bahía se ubica entre dos áreas de surgencia importantes, Punta Curaumilla al norte y Punta Toro al sur. La temperatura superficial del agua presenta un ciclo estacional, con un aumento en primavera, encontrándose valores máximos en verano y mínimos en invierno. El viento también presenta una fuerte estacionalidad, marcada principalmente por el componente este-oeste durante primavera y verano, con una velocidad del viento alta, donde la dirección oeste-suroeste es predominante. Se generan condiciones de surgencia favorables a lo largo de todo el año, intensificándose durante primavera y verano (Narváez *et al.* 2004). Es posible observar también una alta estratificación e ingreso de agua oceánica en verano y fuertes tormentas en invierno (Hernández-Miranda *et al.* 2003).

## Trabajo de terreno

Las larvas utilizadas fueron recolectadas en la bahía El Quisco ( $33^{\circ}24'S - 71^{\circ}42' O$ ) (Figura 1), dentro del proyecto FONDECYT 1150296.



**Figura 1.** Mapa de la bahía El Quisco. La estrella gris corresponde a la posición del anclaje, la estrella negra muestra la posición de la estación meteorológica y las líneas corresponden a la posición de los lances en el muestreo (Díaz-Astudillo *et al.* 2017).

Los muestreos se realizaron a 1 km de la costa aproximadamente. Se realizaron 16 muestreos en total entre septiembre del 2015 y febrero del 2016 (período 1) y septiembre del 2016 y febrero del 2017 (período 2), ambos según el ciclo lunar. Los muestreos fueron nocturnos y en cada uno de ellos se efectuaron 3 lances oblicuos con red Bongo, de 60 cm de diámetro y 300  $\mu\text{m}$  de apertura de malla, a una profundidad de 20 m y con una duración de 15 min, en una zona con profundidad máxima de 30 m. La red fue equipada con un flujómetro TSK, donde el volumen de agua filtrada varió entre 17,08 y 591,62  $\text{m}^3$  con un promedio ( $\pm$  DE) de  $71,98 \pm 81,35 \text{ m}^3$  para el período 1 (2015-2016), mientras que para el período 2 (2016-2017) el volumen de agua filtrada varió entre 5,03 y 1823,27  $\text{m}^3$  con un

promedio ( $\pm$  DE) de  $129,49 \pm 240,06 \text{ m}^3$ . Una vez que las muestras fueron extraídas del copo se les aplicó una sobredosis de benzocaína (BZ-20), y para disminuir los efectos de la fijación en la forma de los organismos y la degradación de los tejidos, las larvas se fijaron en formalina al 5% tamponada con borato de sodio, todo esto a bordo de la embarcación. Posteriormente, y en menos de 24 h, fueron traspasadas a etanol al 96%, para evitar degradaciones producto de la formalina, siguiendo el protocolo planteado por Nikolakakis *et al.* (2014).

### **Registro de datos**

La temperatura del agua se registró mediante termistores marca HOBO © water Temp modelo ProV2 en un sistema anclado a 1 km de la costa ubicado en  $33^{\circ}23'0.85''\text{S}$  latitud sur,  $71^{\circ}41'56,4''\text{O}$  longitud oeste. Este sistema anclado constó de una serie de termistores situados en profundidades fijas, las cuáles se detallan en la Tabla 1. El nivel del mar fue registrado con un sensor de presión HOBO U20 que estuvo situado cerca del fondo (a 20 m) en la misma línea anclada de los termistores (Tabla 1).

El viento fue registrado mediante el uso de información de una estación meteorológica. Para el período entre los años 2015-2016 se obtuvo información del vector viento con una estación meteorológica HOBO modelo U30 ubicada en la bahía Las Cruces (Tabla 1).

**Tabla 1.** Información parámetros ambientales registrados para el período 1 (2015-2016). T: termistores.

<b>Parámetros</b>	<b>Modelo</b>	<b>Latitud/longitud</b>	<b>Profundidad (m)</b>	<b>Inicio – termino (dd/mes/año)</b>
<b>Temperatura del agua</b>		33°23'0.85''S/ 71°41'56,4''O	5	29/09/15 – 14/06/16
T3	HOBO © water Temp Pro V2			
T6		33°23'0.85''S/ 71°41'56,4''O	10	29/09/15 – 14/06/16
T8		33°23'0.85''S/ 71°41'56,4''O	15	29/09/15 – 14/06/16
T10		33°23'0.85''S/ 71°41'56,4''O	20	29/09/15 – 14/06/16
<b>Nivel de Marea</b>	HOBO U 20	33°23'0.85''S/ 71°41'56,4''O	20	28/09/15 – 14/06/16
<b>Magnitud del esfuerzo del Viento</b>	HOBO U 30	33°29'46''S/ 71°37'3'9''O	-	28/09/15 – 08/02/16

### Trabajo de laboratorio

Las muestras se analizaron en el Laboratorio de Ictioplancton (LABITI) de la Facultad de Ciencias del Mar y de Recursos Naturales de la Universidad de Valparaíso. Se realizó una separación del ictioplancton y se identificó la especie según Landaeta (com. pers.) en base al pigmento característico de esta especie en su zona ventral (Figura 2). Una vez identificada la especie, se seleccionaron 15 fechas correspondientes al período 1 y para el período 2 se seleccionaron 5 fechas.





**Figura 2.** Medición de la longitud estándar (línea roja) en larvas de *Auchenionchus crinitus*. El círculo rojo indica la posición del pigmento ventral característico de esta especie.

Luego se estandarizaron las abundancias a individuos por 100 m<sup>3</sup> por medio del programa Microsoft Excel. La cantidad de larvas que fueron utilizadas por fecha, se detallan en la Tabla 2. Éstas se fotografiaron por medio de una lupa Olympus SZ-61 conectada a una cámara Moticam 2500 de 5.0 Mpx, y posteriormente se midió su longitud estándar (desde la punta de la premaxila a la punta de la notocorda) (Figura 2) utilizando el programa Motic Images Plus 2.0.

**Tabla 2.** Número de larvas de *Auchenionchus crinitus* correspondiente a cada fecha de muestreo.

<b>Período de muestreo</b>	<b>Fecha</b>	<b>Fases lunares</b>	<b>Cantidad (n)</b>
<b>2015-2016</b>	28/09/2015	Llena	45
	05/10/2015	Cuarto menguante	59
	20/10/2015	Cuarto creciente	22
	27/10/2015	Llena	43
	03/11/2015	Cuarto menguante	22
	11/11/2015	Nueva	60
	03/12/2015	Cuarto menguante	3
	10/12/2015	Nueva	3
	23/12/15	Llena	46
	30/12/15	Cuarto menguante	8
	11/01/16	Nueva	23
	18/01/16	Cuarto creciente	2
	25/01/16	Llena	9
	01/02/16	Cuarto menguante	26
08/02/16	Nueva	51	
<b>2016-2017</b>	30/09/2016	Nueva	11
	07/10/2016	Cuarto creciente	49
	14/10/2016	Llena	19
	21/10/2016	Cuarto menguante	8
	07/11/2016	Cuarto creciente	7

Las larvas correspondientes a cada año de estudio se dividieron en 3 rangos de tamaño, el cual se usó como un proxy de los estados larvales, los rangos de tamaño para las larvas correspondientes a los años 2015 y 2016 se encuentran en la Tabla 3, mientras que las larvas pertenecientes a los años 2016 y 2017 se presentan en la Tabla 4.

**Tabla 3.** Rangos de tamaño de larvas correspondientes al período de muestreo 2015-2016.

<b>Grupo</b>	<b>Estado larval</b>	<b>Rango de tamaño</b>
<b>Grupo 1</b>	Preflexión	2,90 – 7,0 mm
<b>Grupo 2</b>	Flexión	7,01 – 9,95 mm
<b>Grupo 3</b>	Postflexión	>10,0 mm

**Tabla 4.** Rangos de tamaño a de larvas correspondientes al período de muestreo 2016-2017.

<b>Grupo</b>	<b>Estado larval</b>	<b>Rango de tamaño</b>
<b>Grupo 1</b>	Preflexión	4,85 – 7,1 mm
<b>Grupo 2</b>	Flexión	7,2 – 9,99 mm
<b>Grupo 3</b>	Postflexión	>10,0 mm

### **Análisis de datos**

- Análisis ambientales

Con el objetivo de utilizar la información ambiental de manera cualitativa se efectuó el siguiente análisis para la magnitud del esfuerzo del viento, la temperatura del agua y el nivel del mar. Con la información antes indicada se establecieron las condiciones máximas de cada

uno de los parámetros, obteniendo condiciones, por sobre o bajo este umbral. Luego se obtuvieron series de tiempo binarias, donde condiciones bajo el umbral fueron calificadas con 0. Por el contrario, las condiciones sobre el umbral fueron prescritas con 1. Con este procedimiento, las series ambientales determinaron las condiciones cualitativas sobre las cuáles se desarrollaron las larvas correspondientes al período 1 de muestreo (2015-2016).

- Abundancia larval

Para determinar diferencias en la abundancia larval entre las fechas de estudio, se realizó un test Kruskal-Wallis, ya que los datos de abundancia, para este estudio muestran una distribución no normal (Test Shapiro-Wilk:  $W=0,668$   $p<0,0001$ ). Lo anterior se realizó en el programa STATISTICA 7.

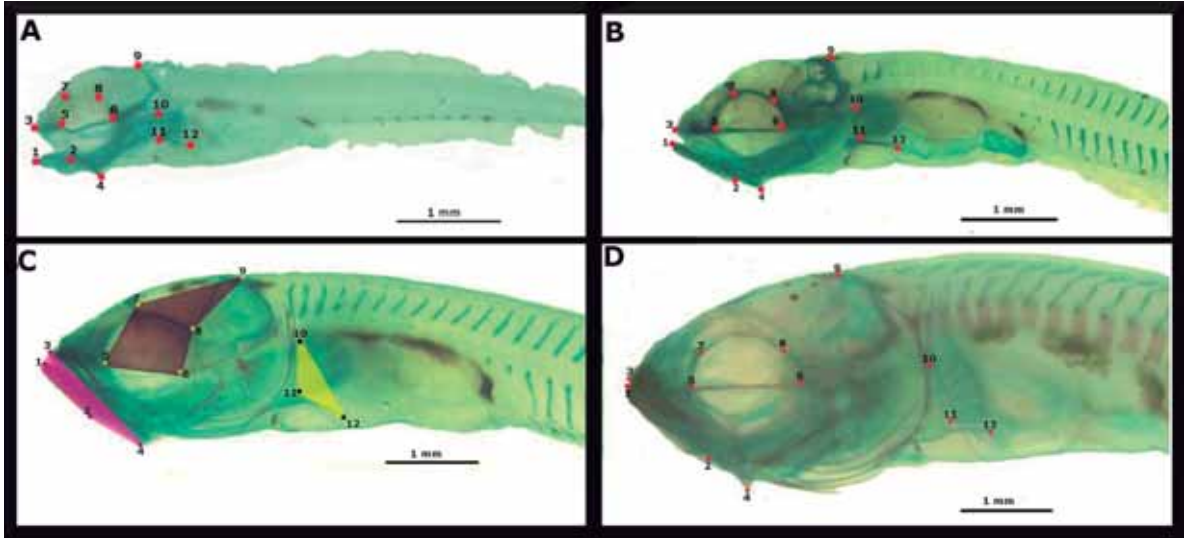
- Morfometría geométrica

Para visualizar el cambio de forma y tamaño de las larvas de peces durante la ontogenia temprana y el potencial efecto de mareas (asociadas a las fases lunares), temperatura del agua y la magnitud del esfuerzo del viento, se utilizó morfometría geométrica por medio del análisis de los landmarks. Para llevar a cabo los análisis se creó una base de datos utilizando el programa TpsUtil (versión 1.58, FJ Rohlf). Luego la digitalización de los landmarks se llevó a cabo en el programa TpsDig (versión 2.17, FJ Rohlf). Las larvas se organizaron por tamaño (en orden creciente). Para las larvas recolectadas en el período 2015-2016 se creó una configuración de 10 landmarks (Figura 3), mientras que para el período 2016-2017 la configuración de landmarks se centró en la zona de la cabeza, correspondiendo a 12 landmarks (Figura 4). Para este período (2016-2017), con el fin de poder visualizar los

cambios morfológicos en la ontogenia larval e identificar las estructuras cartilagosas y óseas que constituyen las estructuras del área de la cabeza larval, al conjunto de larvas se le aplicó una tinción mixta modificada por Zavala-Muñoz *et al.* (2016), de Menegola *et al.* (2001) y Gillis *et al.* (2009). Para esto, las larvas fueron rehidratadas en alcohol al 70%, luego se colocaron en una solución ácida de Alcian Blue y Alizarin Red. Posteriormente, se les aplicó 3 baños en etanol al 95% y se traspasaron a una solución básica de Alizarin red, para luego aclararlas en un gradiente de KOH y glicerol, por último, se fijaron en glicerol al 100%.



**Figura 3.** Configuración de 10 landmarks para las larvas de *Auchenionchus crinitus*. **1:** Premaxila; **2:** Extremo anterior del cartílago de Meckel; **3:** Centro del ojo; **4:** Ceratohial; **5:** Sínfisis cleitral; **6:** Inserción anterior de la vejiga gaseosa; **7:** Ano **8:** Margen dorsal del neurocráneo; **9:** Inserción ventral de la aleta pectoral; **10:** Inserción dorsal de la aleta pectoral.



**Figura 4** Configuración de 12 landmarks para larvas de *Auchenionchus crinitus* tratadas con tinción mixta. La coloración azul muestra estructuras cartilaginosas y la morada muestra estructuras óseas. **1:** Extremo anterior del cartílago de Meckel; **2:** Extremo posterior del cartílago de Meckel; **3:** Extremo anterior de la premaxila; **4:** Angular (zona del arco hioideo); **5:** Zona anterior del Paraesfenoides (base del neurocráneo); **6:** Zona posterior del Paraesfenoides (base del neurocráneo); **7:** Limite dorsal del neurocráneo; **8:** Margen dorso-lateral del neurocráneo; **9:** Supraoccipital; **10:** Inserción dorsal de la aleta pectoral; **11:** Inserción ventral de la aleta pectoral; **12:** Coracoescapural. Las letras muestran los grupos de larvas según la tabla 4. Grupos de tamaño 1 (A), 2 (B), Módulos para análisis de modularidad e integración, (C) y 3 (D).

Los siguientes análisis se realizaron en el programa Morpho J versión 1.0e, según Klingenberg (2011). En primer lugar, a los 2 set de datos se les aplicó una Superposición de Procrustes para centrar, rotar y escalar las coordenadas y así obtener la figura consenso. Estas coordenadas son las que se utilizaron para los análisis posteriores. Para estimar el error de digitalización de los landmarks se realizó un Procrustes ANOVA a un set de 25 individuos

con una réplica de cada uno, para ambos sets de datos correspondientes al estudio; de esta forma, se pudo cuantificar la variabilidad entre individuos y entre réplicas.

### 1. Cambios ambientales y su efecto en los cambios morfológicos

Con el primer set de larvas (2015-2016) se efectuó una regresión lineal por mínimos cuadrados entre la longitud corporal y el tamaño del centroide, para estimar si el tamaño del centroide es representativo del tamaño de los organismos y así poder utilizarlo en análisis futuros. Para cuantificar la alometría ontogenética se realizó una regresión entre las Coordenadas de Procrustes (las cuales reflejan la forma de los organismos) y el tamaño del centroide. A su vez en el programa PAST versión 3.0, se efectuó un análisis de covarianza (ANCOVA) para cuantificar las diferencias de alometría entre las condiciones de marea, anomalías de temperaturas del agua y anomalías de la magnitud del esfuerzo viento.

Para observar la variación de la forma a lo largo de la ontogenia de los organismos, se llevó a cabo un análisis de componentes principales (ACP), además se agregaron wireframes para visualizar las variaciones de la forma según la disposición de los landmarks. Posteriormente, se realizaron Análisis de Variables Canónicas (AVC) y por medio de las Distancias de Procrustes se determinó si es que existían diferencias en la forma larval que puedan existir entre los períodos estacionales de primavera y verano y a las distintas intensidades de cada parámetro ambiental antes mencionado, la significancia de cada grupo se determinó mediante un análisis de permutación. Adicionalmente, se realizó un análisis de Mínimos Cuadrados Parciales (PLS) con el fin de relacionar las condiciones ambientales junto con el cambio morfológico para determinar si es que existe covariación entre la matriz de forma y la matriz ambiental y evaluar cuál de las condiciones ambientales es la que influye

más en la varianza en forma. En este caso el Bloque 1 corresponde a los cambios de forma y el Bloque 2 a las distintas variables ambientales.

## 2. Integración y modularidad en el desarrollo larval

Con el segundo set de larvas se establecieron patrones de covariación entre rasgos, evaluándose por medio de un análisis de mínimos cuadrados parciales y se puso a prueba la hipótesis de modularidad, en la cual se compara la fuerza de la covariación entre módulos hipotéticos con distribuciones alternativas de landmarks (Klingenberg 2014).

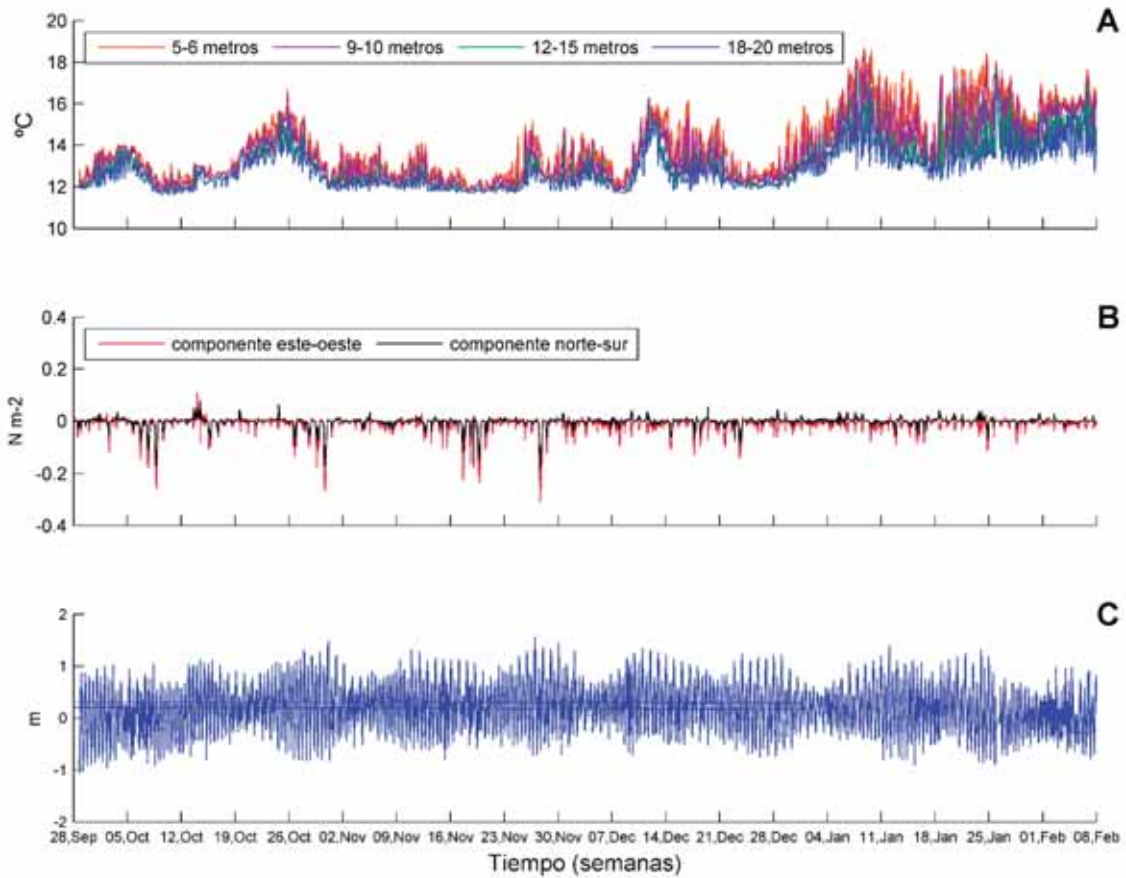
Para lo anterior se establecieron 3 módulos, neurocráneo, aparato mandibular y aleta pectoral. Para llevar a cabo este análisis se realizó un PLS para los grupos Neurocráneo - Aleta pectoral, Neurocráneo - Mandíbula y Aleta Pectoral - Mandíbula.

La hipótesis de modularidad se evalúa usando el coeficiente de Escoufier (RV), el RV es una medida escalar de la fuerza de asociación entre las coordenadas de dos sets de landmarks, se usa para establecer si el desarrollo morfológico es modular o integrado, donde valores de  $RV > 0,2$  indican integración, mientras que un valor menor indica modularidad (Klingenberg 2009; Adams 2016).



## RESULTADOS

### Variables Ambientales

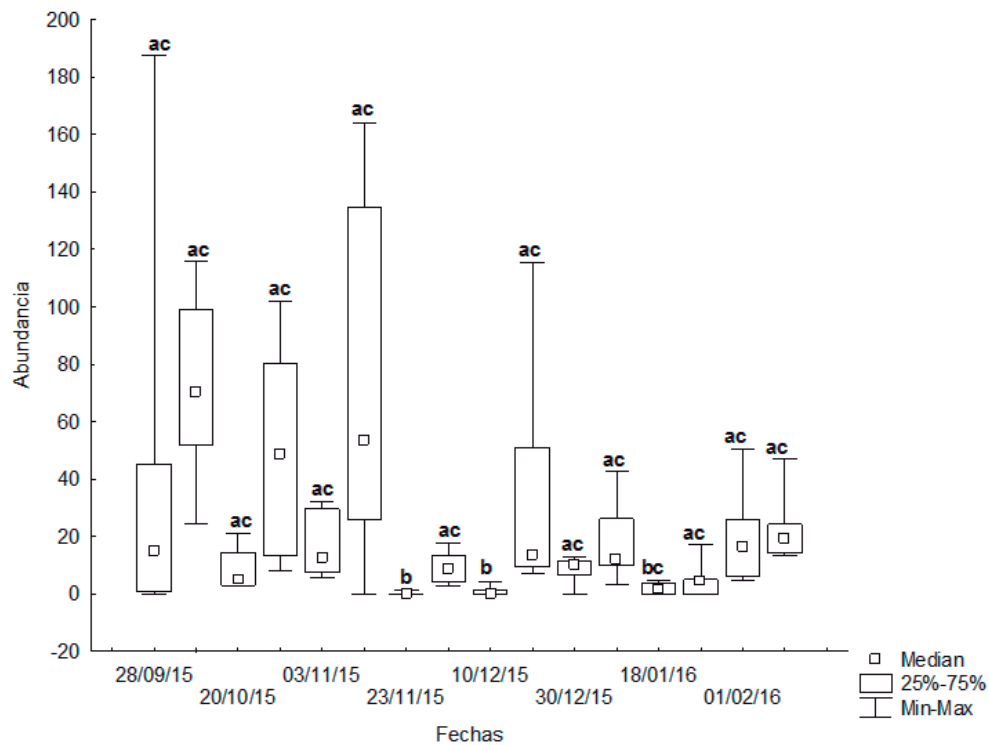


**Figura 5.** Condiciones meteorológicas e hidrográficas para el período de estudio 2015-2016 en la bahía El Quisco. A: Temperatura del mar entre las profundidades de 5-6m, 9-10m, 12-15m y 18-20 m, B: Componentes u (este-oeste) y v (norte-sur) del esfuerzo del viento y C: Serie de tiempo de la anomalía (datos sin la media) del nivel del mar.

La temperatura del mar mostró un claro patrón estacional, donde se presentaron aguas de menor temperatura (con un mínimo de 11,5°C) durante la primavera, con un evidente aumento estacional hacia el verano (registrando un máximo de 18,6°C). Esta tendencia estacional de las aguas costeras fue modificada a finales de octubre de 2015 y durante la segunda semana de noviembre de 2015, ocasiones donde se observaron calentamientos en la columna de agua que alcanzaron los 17°C. El calentamiento de las aguas del sector se relaciona con una disminución del esfuerzo del viento en la misma fecha (Figura 5.A y B). La mayor variación de temperatura se observó a 5-6 m. En verano, desde enero en adelante se observó un patrón de estratificación de la columna de agua, la cual se mantiene debido a la baja intensidad del esfuerzo del viento en esa fecha (Figura 5.A). El esfuerzo del viento que predominó fue el suroeste, con una mayor intensidad para el período de primavera, a diferencia del verano. En primavera se observaron 3 eventos de mayor intensidad de esfuerzo del viento a principios de octubre, principio y finales de noviembre, además, a mediados de octubre se observó un aumento en el esfuerzo del viento noreste (Figura 5.B). Tanto la temperatura del agua como el viento se encuentran estrechamente relacionados, ya que a medida que aumenta la temperatura, la intensidad del esfuerzo del viento disminuye. El patrón de mareas es semidiurno, las más altas amplitudes de mareas se relacionan con las mareas de sicigias y las más bajas con las mareas de cuadraturas (Figura 5.C).

## Abundancia Larval

A lo largo de las fechas de muestreo asociadas al ciclo lunar, existieron diferencias significativas en la abundancia larval ( $H=56,226$   $p<0,0001$ ) (Figura 6).



**Figura 6.** Gráfico de Caja y Bigotes. Abundancias larvales de *Auchenionchus crinitus* (ind.  $100\text{ m}^{-3}$ ) correspondientes a cada fecha de muestreo. Las letras indican diferencias significativas.

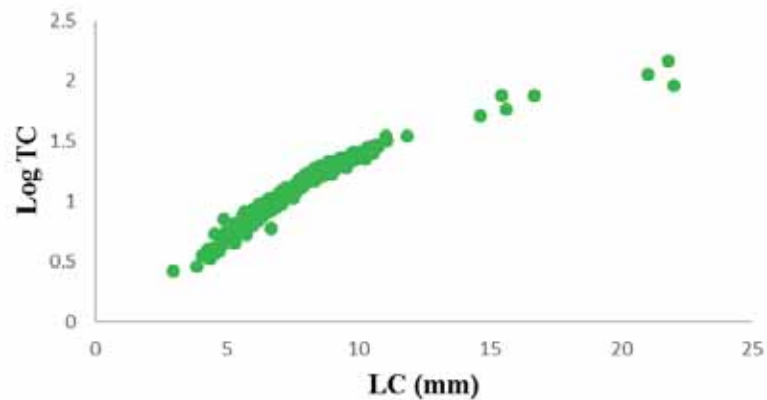
## Cambios Morfológicos y Alometría Ontogenética

Los resultados del Procrustes ANOVA indicaron que el error de digitalización de los landmarks fue de un 4,9% (Tabla 5), por lo tanto, un 95,1% de la variación de la forma se debe a variables externas.

**Tabla 5.** Resultados del Procrustes ANOVA de estimación del porcentaje de error en la digitalización de los landmarks para el período de estudio 2015-2016.

Efecto	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	Grados de libertad	F	p
Individuo	0,128	2,968E-04	432	20,04	<b>&lt;0,0001</b>
Error	0,006	1,481E-04	450		

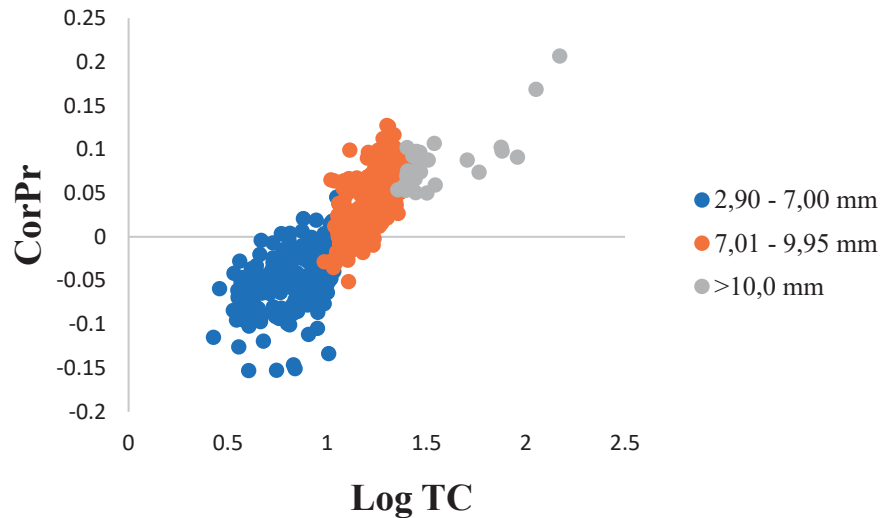
La regresión entre el logaritmo del tamaño del centroide (Log TC) y la longitud corporal (LC) fue significativa y positiva, con un porcentaje de predicción de 90,44% ( $p < 0,001$ ;  $R^2 = 0,90$ ) (Figura 7). En base a esto es que se utilizó el logaritmo del tamaño del centroide como un representante de la longitud corporal de las larvas en análisis posteriores.



**Figura 7.** Regresión entre el logaritmo del tamaño del centroide (Log TC) y la longitud corporal (LC) en larvas de *Auchenionchus crinitus*.

- Alometría Ontogenética

La regresión entre las Coordenadas de Procrustes (CorPr) y el logaritmo del tamaño del centroide (Log TC) fue significativa y positiva ( $p < 0,0001$ ;  $R^2 = 0,72$ ) y el porcentaje de cambio que representa la alometría ontogenética fue de 26,15%. La alometría ontogenética varió significativamente entre los 3 rangos de tamaños (ANCOVA de una vía,  $F = 15,06$ ;  $p < 0,0001$ ). Las larvas en flexión fueron las que experimentaron mayores cambios de forma, mientras que las larvas en estado de preflexión presentaron una menor alometría (Figura 8, Tabla 6).

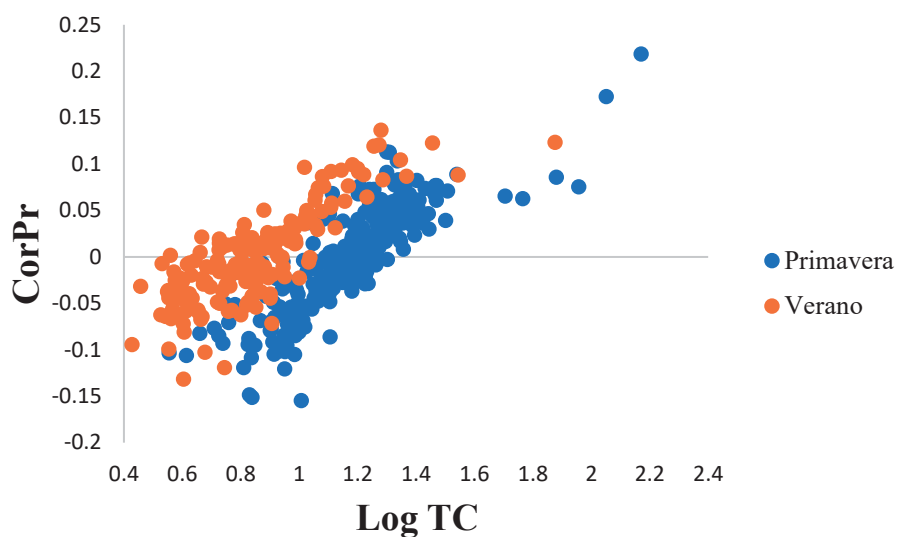


**Figura 8.** Regresión entre las Coordenadas de Procrustes (CorPr) y el logaritmo del tamaño del centroide (Log TC) en larvas de *A. crinitus*, mostrando el patrón de alometría ontogenética. Los colores indican los grupos de tamaño larval.

**Tabla 6.** Resultados del Análisis de Covarianza y Porcentajes de alometría ontogenética según los rangos de tamaño y períodos estacionales. F: valor del estadístico, gl: grados de libertad y p: valor de significancia. En rojo los valores que muestran diferencias.

	<b>%Alometría</b>	<b>valor p</b>	<b>Pendiente</b>	<b>F</b>	<b>gl</b>	<b>valor p</b>
<b>Rangos de tamaños (mm)</b>						
2,90 – 7,0	26,15%	<0,0001	0,10	15,06	2 , 416	<b>&lt;0,0001</b>
7,01 – 9,95			0,23			
10,0 – 22,05			0,14			
<b>Períodos</b>						
Primavera	25,82%,	<0,0001	0,23	10,49	1 , 412	<b>0,001</b>
Verano	17,92%		0,18			

En primavera y verano la alometría ontogenética fue significativa y positiva ( $p < 0,0001$ ;  $R^2 = 0,71$ ;  $p > 0,0001$ ;  $R^2 = 0,66$ ) para ambos períodos, variando significativamente ( $F = 10,09$ ;  $p = 0,001$ ), con un mayor porcentaje de alometría en primavera (25,82%), mientras que en verano el porcentaje de alometría fue de 17,92% (Figura 9; Tabla 6). Los resultados sugieren un efecto estacional, que afecta significativamente a la alometría ontogenética larval.



**Figura 9.** Regresión entre las Coordenadas de Procrustes (CorPr) y el logaritmo del tamaño del centroide (Log TC), para el período de primavera y verano.

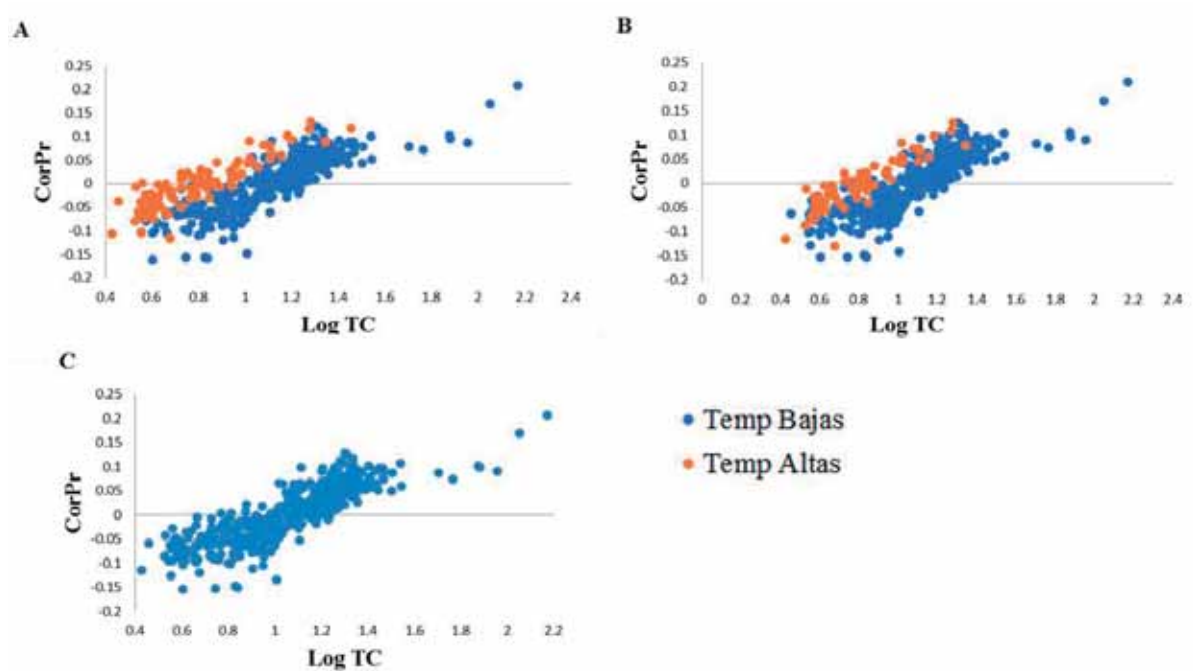
Para la temperatura del agua, las regresiones entre las coordenadas de Procrustes (CorPr) y el logaritmo del tamaño del centroide (Log TC) fueron significativas y positivas para cada una de las profundidades de la columna de agua, y a aguas con mayor y menor temperatura respectivamente, entre 5-6 m ( $p < 0,0001$ ;  $R^2 = 0,77$ ;  $p < 0,0001$ ;  $R^2 = 0,72$ ); 9-10 m ( $p < 0,0001$ ;  $R^2 = 0,79$ ); a 12-15 m y 18-20 m la configuración fue la misma, por lo que se realizó sólo un gráfico ( $p < 0,0001$ ;  $R^2 = 0,729$ ).

No se observaron diferencias significativas en la alometría entre el periodo de mayor temperatura del agua, y el de menor temperatura del agua (ANCOVA de una vía,  $F=10,49$ ;  $p=0,23$ ) (Figura 10 ; Tabla 7),

**Tabla 7.** Resultados Análisis de Covarianza y porcentaje de alometría ontogenética para la temperatura del agua, magnitud del esfuerzo del viento y mareas. F: valor del estadístico, gl: grados de libertad y p: el primero corresponde al valor de significancia de la alometría y el segundo al valor de significancia del ANCOVA.

	<b>Alometría</b>	<b>valor p</b>	<b>Pendiente</b>	<b>F</b>	<b>gl</b>	<b>valor p</b>
<b>Temperatura del agua</b>						
5-6 m-alta	22,30%	<0,0001	0,21	10,49	1 , 412	0,23
5-6 m-baja	26,35%	<0,0001	0,22			
9-10 m-alta	23,90%	<0,0001	0,21			
9-10 m-baja	27,17%	<0,0001	0,21			
12-15 m-baja	26,15%	<0,0001	0,20			
18-20 m-baja	26,15%	<0,0001	0,20			
<b>Magnitud del esfuerzo del viento</b>						
Alto	23,58%	<0,0001	0,20	11,74	1 , 417	0,84
Bajo	26,41%	<0,0001	0,20			
<b>Mareas</b>						
Cuadraturas	27,71%	<0,0001	0,20	1,24	1 , 414	0,26
Sicigias	25,62%	<0,0001	0,18			

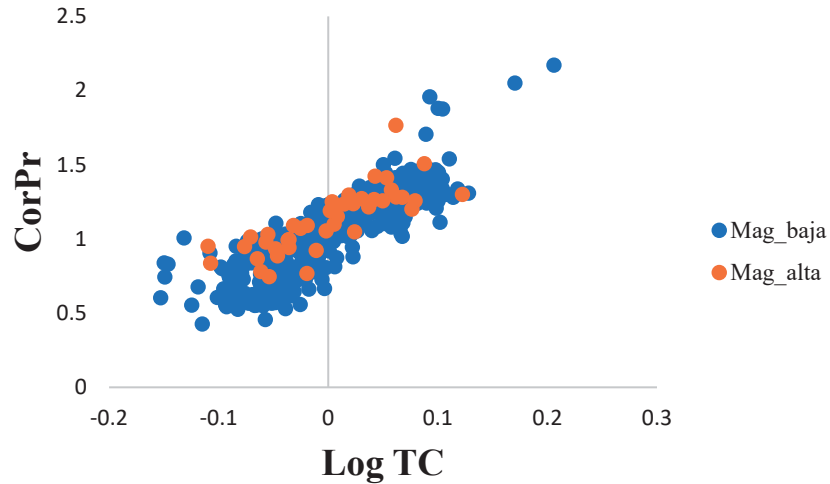




**Figura 10.** Regresión entre las Coordenadas de Procrustes (CoPr) y el logaritmo del tamaño del centroide (Log TC) para distintas profundidades de la columna de agua de mar y a temperaturas del agua más y menos intensas. 5-6 m (A), 9-10 m (B), 12-15 y 18-20 m (C).

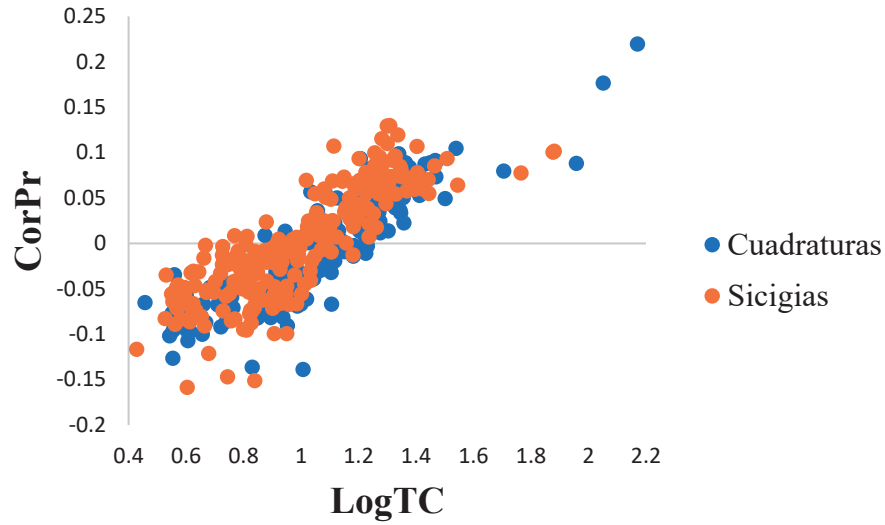
Para la magnitud del esfuerzo del viento a intensidades altas y bajas, las regresiones entre las Coordenadas de Procrustes (CoPr) y el logaritmo del tamaño del centroide (Log TC) fueron significativas y positivas ( $R^2= 0.64$ ,  $p<0,0001$ ;  $R^2= 0.73$ ,  $p>0,0001$ ) respectivamente.

Intensidades de esfuerzo de viento menores presentaron un porcentaje de alometría de 26,41%, mientras que a intensidades mayores el porcentaje de alometría fue de 23,58%, no encontrándose diferencias significativas ( $F=11,74$ ,  $p=0,84$ ), por lo que el efecto del esfuerzo del viento en la alometría ontogenética no fue significativo (Figura 11, Tabla 7).



**Figura 11.** Regresión entre las Coordenadas de Procrustes (CorPr) y el logaritmo del tamaño del centroide (Log TC) para la magnitud del esfuerzo del viento a intensidades altas y bajas.

En las mareas (cuadraturas y sicigias) la regresión entre las coordenadas de Procrustes (CorPro) y el logaritmo del tamaño del centroide (Log TC) fue significativa y positiva ( $R^2=0,71$ ,  $p<0,0001$ ;  $R^2=0,66$   $p>0,0001$ , respectivamente). En cuadraturas el porcentaje de alometría fue similar (27,84%) al de sicigias (25,62%) sin diferencias significativas ( $F=1,24$ ;  $p=0,26$ ). Por lo tanto, el efecto de las mareas en la alometría ontogenética no fue significativo (Figura 12, Tabla 7).

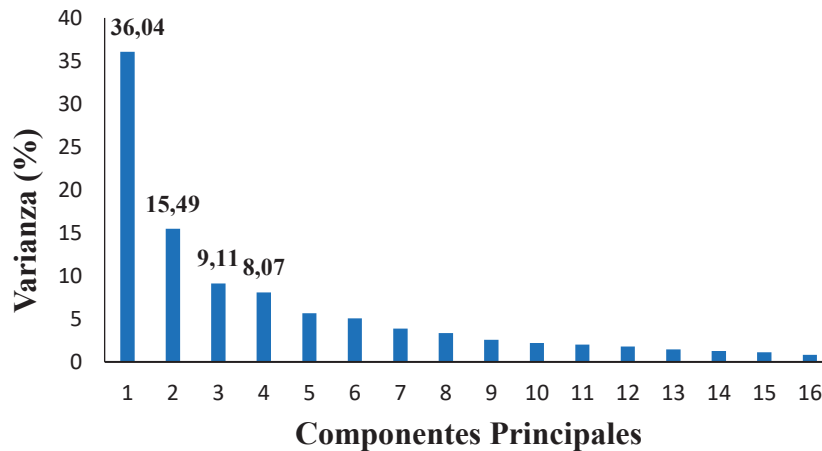


**Figura 12.** Regresión entre las Coordenadas de Procrustes (CorPr) y el logaritmo del tamaño del centroide (Log TC) para mareas de cuadratura y sicigia.

### **Cambios morfológicos**

- Análisis de Componentes Principales (ACP)

4 de 16 componentes fueron los que explicaron un mayor porcentaje de la varianza de los cambios morfológicos que ocurren en la ontogenia larval, con un porcentaje de varianza total de 68,72% (Figura 13).

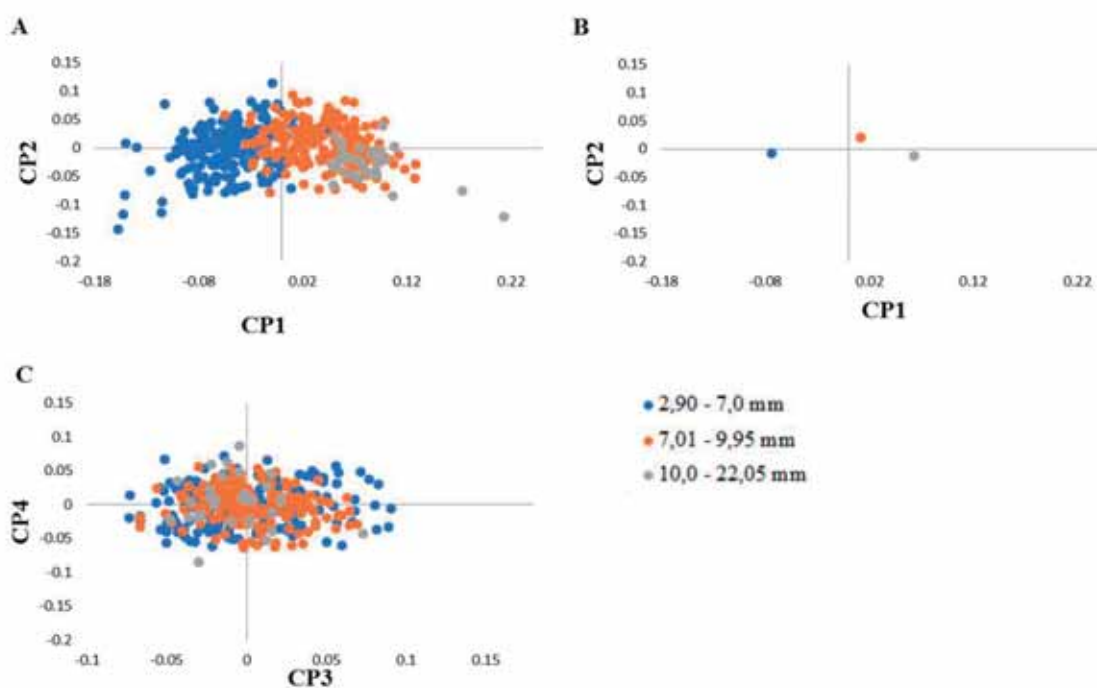


**Figura 13.** Porcentaje de Varianza de cada componente principal de los cambios morfológicos durante el desarrollo larval de *A. crinitus*.

Se detectó una correlación significativa del CP1 con el tamaño larval ( $r_s = 0,87$ ;  $p < 0,0001$ ; Tabla 8), mientras que los otros CP fueron independientes de la longitud larval (Figura 14.A). Lo anterior se observa de manera más fácil en los CP promedios, tanto en el CP1 como en el CP2. Larvas en flexión son las que más se diferencian de los otros dos estados (Figura 14.B). Lo mismo ocurre con los CP3 y CP4, no es posible observar los grupos diferenciados (Figura 14). Entonces en el CP1, los cambios morfológicos se atribuyen a un factor ontogenético (Figura 14.C).

**Tabla 8.** Correlación de Spearman para cada componente principal y la longitud corporal en larvas de *Auchenionchus crinitus*. Rs: valor de la correlación. En rojo los valores que muestran diferencias.

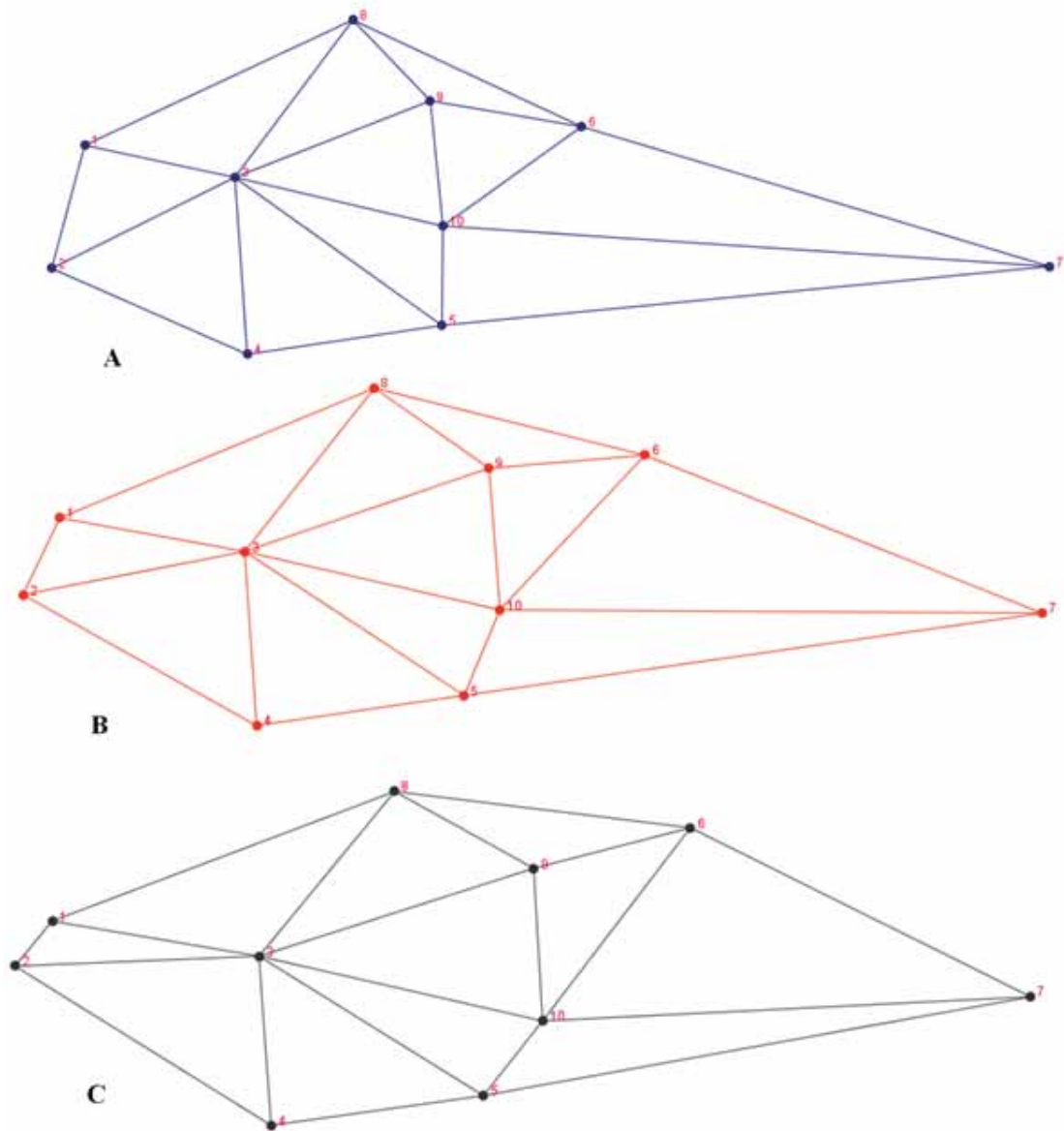
Componente principal	rs	Valor p
CP1	0,87	<0,0001
CP2	0,01	0,82
CP3	0,01	0,81
CP4	0,02	0,56



**Figura 14.** Análisis de componentes principales para observar los principales ejes de cambios morfométricos a lo largo de la ontogenia larval de *Auchenionchus crinitus*. CP1 vs CP2 (A), CP1 vs CP2 promedio (B) y CP3 vs CP4 (C).

El cambio morfológico a lo largo del CP1 (cambio ontogenético) muestra que a medida que las larvas aumentan de tamaño, ocurre una protrusión de las estructuras que constituyen la mandíbula, debido a un desplazamiento hacia adelante y a una zona dorsal del cartílago de Meckel en los ejes corporales antero-posterior y dorso-ventral, respectivamente, además de un leve desplazamiento hacia arriba de la premaxila. Adicionalmente, existe un engrosamiento del tronco a la altura de la vejiga gaseosa, junto con un desplazamiento hacia atrás de las aletas pectorales en el eje antero-posterior (inserción ventral) y hacia abajo en el eje dorso-ventral (inserción dorsal).

Por otra parte, el neurocráneo se desplazó hacia una zona ventral. La posición del ano también cambia, con un desplazamiento hacia adelante (Figura 15). Lo anterior se sustenta en que las estructuras anteriormente mencionadas presentan las mayores cargas factoriales de cambios morfológicos (Tabla 9).

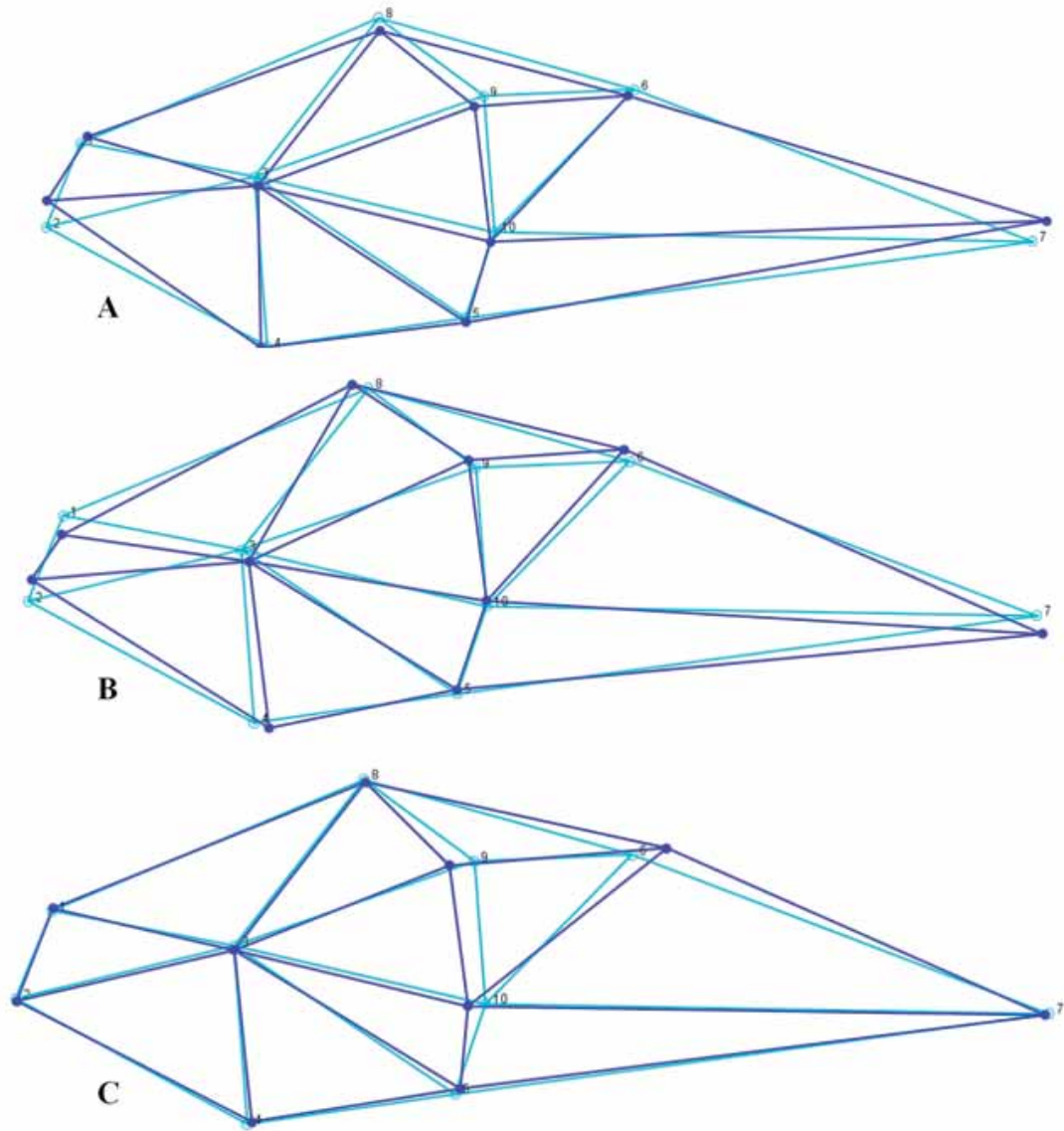


**Figura 15.** Cambios morfológicos asociados al CP1, el cual corresponde al componente ontogenético en larvas *A. crinitus*. Rangos de tamaño: 2,90 – 7,0 mm (A), 7,01 – 9,95 mm (B) y >10,0 mm (C).

En el CP2 los cambios morfológicos se caracterizan por un cambio en la posición de la mandíbula, generado por un desplazamiento hacia una zona dorsal del área del cartílago de Meckel y un desplazamiento leve de la premaxila hacia una zona dorsal.

Además se observó un ligero adelgazamiento en la zona de la vejiga gaseosa, debido hacia un desplazamiento hacia adelante en el eje antero-posterior del cuerpo en esta área, lo cual genera que la inserción ventral de las aletas pectorales se desplace hacia adelante en el eje antero-posterior y hacia abajo en un eje dorso-ventral, y el neurocráneo se desplace hacia abajo en este mismo eje. El ano se mueve hacia una zona posterior y hacia arriba (Figura 16.A) (Tabla 9).





**Figura 16.** Ejes de cambio morfológico (wireframes) en 3 componentes principales. CP2 (A), CP3 (B) y CP4 (C). En azul la figura que indica la forma final.

En el CP3 el cambio morfológico se explica por un desplazamiento hacia una zona dorsal del cartílago de Meckel y hacia una zona ventral de la premaxila en el eje dorso-ventral. Se observa a un ligero engrosamiento del cuerpo en la zona de la vejiga gaseosa, debido al desplazamiento hacia arriba de esta área en el eje dorso-ventral del cuerpo, lo que genera un desplazamiento hacia delante de la aleta pectoral en su inserción ventral y del neurocráneo en el eje antero-posterior, este movimiento del neurocráneo genera un desplazamiento del ojo hacia atrás en el eje antero-posterior, lo que provoca que el ceratohial también se desplace de este misma forma y en el mismo eje. El ano también presenta movimiento en el eje dorso-ventral, con un desplazamiento hacia abajo (Figura 16.B) (Tabla 9).

**Tabla 9.** Cargas Factoriales de cada landmark para los 4 CP, las X representan el eje antero-posterior del cuerpo mientras que las Y el eje dorso-ventral. En rojo y destacados los landmarks con mayor carga factorial y en rojo sin destacar los con carga media. La estructura que representa cada landmark se encuentra definida en la Figura 3.

Landmarks	PC1		PC2		PC3		PC4	
X1 / Y1	0,261	0,122	<b>0,140</b>	0,152	-0,043	<b>-0,392</b>	0,017	0,059
X2 / Y2	<b>0,274</b>	<b>-0,325</b>	0,012	<b>0,572</b>	0,076	<b>0,454</b>	0,019	-0,055
X3 / Y3	0,011	0,128	0,057	-0,204	<b>0,153</b>	-0,251	-0,014	<b>-0,078</b>
X4 / Y4	0,017	0,032	-0,128	-0,006	<b>0,319</b>	-0,106	0,101	0,044
X5 / Y5	-0,016	0,034	0,006	-0,089	-0,005	0,079	<b>0,108</b>	<b>0,105</b>
X6 / Y6	<b>-0,325</b>	<b>-0,259</b>	<b>-0,140</b>	-0,133	-0,120	<b>0,243</b>	<b>0,714</b>	<b>0,127</b>
X7 / Y7	<b>0,481</b>	-0,156	<b>0,315</b>	<b>0,437</b>	0,122	<b>-0,385</b>	-0,085	0,026
X8 / Y8	-0,040	<b>0,136</b>	0,029	<b>-0,284</b>	<b>-0,342</b>	0,073	0,026	-0,061
X9 / Y9	<b>-0,343</b>	0,092	<b>-0,205</b>	<b>-0,226</b>	<b>-0,150</b>	0,164	<b>-0,517</b>	<b>-0,074</b>
X10 / Y10	-0,320	<b>0,193</b>	-0,086	-0,218	-0,008	0,120	<b>-0,370</b>	-0,040

En el CP4 los cambios morfológicos se dan por un desplazamiento hacia adelante de las aletas pectorales en el eje antero-posterior y un leve desplazamiento hacia abajo en el eje dorso-ventral de la inserción ventral de la aleta pectoral. Cercano a esta zona, se produce un leve desplazamiento en ambos ejes de cuerpo (hacia arriba y adelante) de la sínfisis cleitral. El ojo también presenta movimiento en el eje dorso-ventral, desplazándose hacia abajo. Además, se observó un engrosamiento del cuerpo en el área de la vejiga gaseosa, debido al desplazamiento de esta zona en ambos ejes del cuerpo (hacia atrás y hacia arriba) (Figura 16.C). Lo anterior se sustenta en que estas estructuras presentan las mayores cargas factoriales de cambio morfológico (Tabla 9).

- Análisis de Variables Canónicas (AVC)

El AVC permitió cuantificar el efecto de las condiciones ambientales (primavera y verano, mareas, magnitud del esfuerzo del viento y temperatura del agua) sobre la morfología larval.

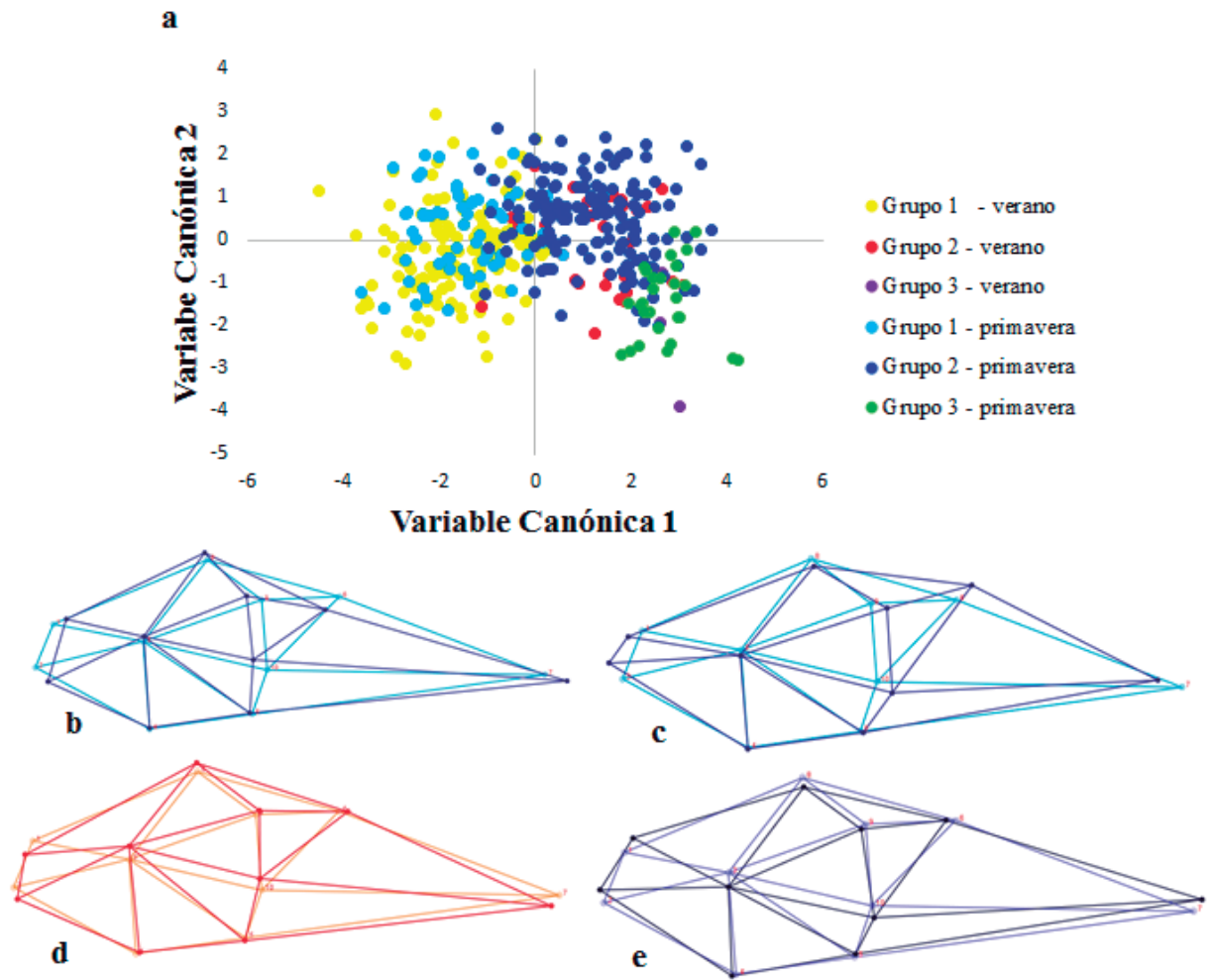
- Primavera – Verano

Las dos primeras VC explicaron el 92,24% de la varianza respecto a la forma larval (Figura 17.a). Los grupos que mostraron diferencias se presentan en la Tabla 10.

**Tabla 10.** Distancias de Procrustes para los períodos estacionales de primavera-verano. A la izquierda, los valores de cada distancia y a la derecha, el valor p del test de permutación. En rojo los grupos que muestran diferencias.

<b>Grupos de tamaño</b>	<b>Grupo 1 - verano</b>	<b>Grupo 2 - verano</b>	<b>Grupo 3 - verano</b>	<b>Grupo 1 - primavera</b>	<b>Grupo 2 - primavera</b>
<b>Grupo 2 - verano</b>	0,09 - <b>&lt;0,001</b>	-	-	-	-
<b>Grupo 3 - verano</b>	0,14 - <b>&lt;0,001</b>	0,07 - <b>0,04</b>	-	-	-
<b>Grupo 1 - primavera</b>	0,02 - <b>&lt;0,001</b>	0,09 - <b>&lt;0,001</b>	0,14 - <b>&lt;0,001</b>	-	-
<b>Grupo 2- primavera</b>	0,09 - <b>&lt;0,001</b>	0,01- 0,17	0,07 - <b>0,01</b>	0,08 - <b>&lt;0,001</b>	-
<b>Grupo 3 - verano</b>	0,13 - <b>&lt;0,001</b>	0,05 - <b>&lt;0,001</b>	0,03 - 0,917	0,13 - <b>&lt;0,001</b>	0,06 - <b>&lt;0,001</b>

La VC1 explicó un 82,32% de la varianza en forma, dado principalmente por un factor ontogenético. El cambio morfológico se caracterizó por una modificación en la posición de estructuras de la mandíbula, específicamente la premaxila, un ensanchamiento en el área de la vejiga gaseosa, generando un movimiento hacia atrás (inserción ventral) y ventral (inserción dorsal) de las aletas pectorales; un desplazamiento ventral de la sínfisis cleitral; El neurocráneo se mueve a una zona ventral y el ano se desplaza hacia adelante. (Figura 17.b). Este patrón de cambio morfológico se da a medida que las larvas aumentan de tamaño. Lo anterior se sustenta en que todas estas estructuras presentan las más altas cargas factoriales (Tabla 11).



**Figura 17.** Análisis de variables canónicas en larvas de *A. crinitus* para primavera y verano y los grupos de tamaño. Los wireframes muestran los cambios de forma negativos (b) y positivos (c) para la VC1 y negativos (d) y positivos (e) para la VC2.

**Tabla 11.** Cargas Factoriales de cada landmark para los períodos estaciones de primavera y verano y los grupos de tamaño. X: eje antero-posterior del cuerpo, Y: eje dorso-ventral. Los números representan a los landmarks descritos en la Figura 3.

Landmarks		VC1		VC2	
X1	Y1	<b>25,11</b>	1,33	<b>41,84</b>	16,46
X2	Y2	-1,74	-6,35	<b>-16,17</b>	0,72
X3	Y3	-2,72	-0,68	<b>-23,41</b>	<b>26,77</b>
X4	Y4	-0,90	<b>-8,97</b>	-3,13	-8,01
X5	Y5	<b>-8,99</b>	1,58	-6,94	<b>29,81</b>
X6	Y6	-4,56	<b>-16,55</b>	-8,88	11,87
X7	Y7	<b>11,92</b>	-0,19	6,08	-0,33
X8	Y8	-5,09	<b>17,75</b>	0,08	-0,55
X9	Y9	<b>-7,97</b>	-2,6	2,49	12,08
X10	Y10	-5,02	<b>14,67</b>	<b>8,05</b>	<b>33,81</b>

La VC2 explica un 9,92% de la varianza en forma. Los cambios de forma están dados por una componente ambiental, donde el morfotipo de larvas de verano presenta la mandíbula orientada ventralmente, ojos y aletas pectorales (inserción ventral) más hacia una zona dorsal, la sínfisis creital hacia adelante, cuerpo más robusto (Figura 17.d y Tabla 10). Mientras que el morfotipo de las larvas de primavera posee la mandíbula orientada dorsalmente, aletas pectorales (inserción ventral) y ojos más hacia una zona ventral, la sínfisis creital se ubica más hacia atrás, dando como resultado que las larvas presenten el cuerpo más estilizado (Figura 17.e y Tabla 11).

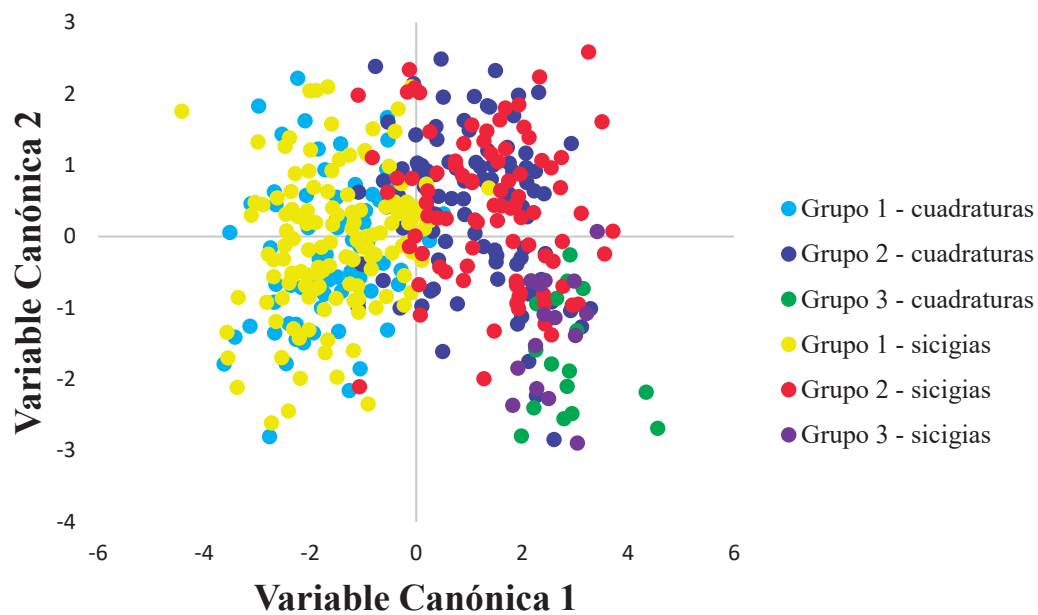
- Mareas

El AVC mostró que las dos primeras VC explicaron el 92,65% de la varianza en forma (Figura 19). Los grupos que muestran diferencias se observan en la Tabla 12.

**Tabla 12.** Distancias de Procrustes para las mareas de cuadraturas y sicigias. A la izquierda los valores de cada distancia y a la derecha el valor p del test de permutación. En rojo los grupos que muestran diferencias.

<b>Grupos</b>	<b>Grupo 1 - cuadratura</b>	<b>Grupo 2 - cuadratura</b>	<b>Grupo 3 - cuadratura</b>	<b>Grupo 1 – sicigia</b>	<b>Grupo 2 - sicigia</b>
<b>Grupo 2 - cuadratura</b>	0,08 - <b>&lt;0,001</b>	-	-	-	-
<b>Grupo 3 - cuadratura</b>	0,15 - <b>&lt;0,001</b>	0,08 - <b>0,04</b>	-	-	-
<b>Grupo 1 – sicigia</b>	0,02 - <b>&lt;0,001</b>	0,08 - <b>&lt;0,001</b>	0,14 - <b>&lt;0,001</b>	-	-
<b>Grupo 2 – sicigia</b>	0,10 - <b>&lt;0,001</b>	0,02- <b>&lt;0,001</b>	0,06 - <b>&lt;0,001</b>	0,09 - <b>&lt;0,001</b>	-
<b>Grupo 3 - sicigia</b>	0,13 - <b>&lt;0,001</b>	0,05 - <b>&lt;0,001</b>	0,03 - 0,43	0,12 - <b>&lt;0,001</b>	0,04 - <b>&lt;0,001</b>

La VC1 explicó un 82,65% de la varianza en forma de los grupos que muestran diferencia, acá las diferencias se dan por un factor ontogenético. Los cambios de forma fueron los mismos que para los períodos de primavera – verano en la VC1 (Figura 17.b y c, Figura 18 y Tabla 13).



**Figura 18.** Análisis de variables canónicas en larvas de *A. crinitus* para las mareas y los grupos de tamaño.

La VC2 explicó un 9% de la varianza, en este caso las diferencias se dieron por la marea. El morfotipo de larvas característico de sicigias poseen forma similar al morfotipo de larvas del período de verano (Figura 15.d y Tabla 13). A su vez, el morfotipo larval asociadas a las cuadraturas es de forma similar al morfotipo de primavera (Figura 17.e y Tabla 13).



**Tabla 13.** Cargas Factoriales de cada landmark para las mareas de cuadratura y sicigias y los grupos de tamaño. X: eje antero-posterior del cuerpo, Y: eje dorso-ventral, los números representan a los landmarks descritos en la Figura 3.

Landmarks		VC1		VC2	
X1	Y1	<b>24,49</b>	1,96	<b>46,34</b>	<b>19,07</b>
X2	Y2	-1,46	-5,48	<b>-19,71</b>	-3,85
X3	Y3	-3,08	-0,89	<b>-22,70</b>	<b>-23,59</b>
X4	Y4	0,89	<b>-8,96</b>	-8,87	-7,82
X5	Y5	<b>-8,28</b>	0,19	-3,37	<b>25,26</b>
X6	Y6	-5,34	<b>-16,69</b>	-4,23	14,59
X7	Y7	<b>11,97</b>	-0,19	4,80	-0,93
X8	Y8	-4,86	<b>17,32</b>	-4,53	-7,41
X9	Y9	<b>-9,07</b>	-0,65	2,83	6,88
X10	Y10	-5,21	<b>13,41</b>	<b>8,44</b>	<b>-22,21</b>

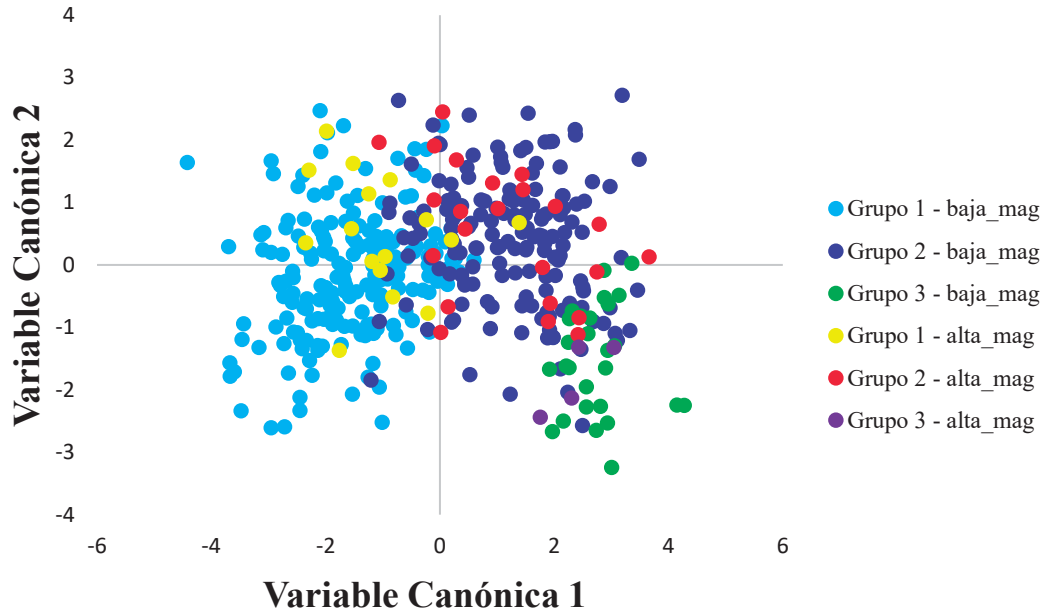
- Magnitud del esfuerzo del viento

El AVC mostró que las dos primeras VC explican el 96,04% de la varianza en forma (Figura 19). Los grupos que mostraron diferencias se observan en la Tabla 14.

**Tabla 14.** Distancias de Procrustes para la magnitud del esfuerzo del viento. A la izquierda los valores de cada distancia y a la derecha el valor p del test de permutación. En rojo los grupos que muestran diferencias.

<b>Grupos</b>	<b>Grupo 1 - alta mag</b>	<b>Grupo 1- baja mag</b>	<b>Grupo 2 - alta mag</b>	<b>Grupo 2 - baja mag</b>	<b>Grupo 3 alta mag</b>
<b>Grupo 1 – baja_mag</b>	0,02 - 0,21	-	-	-	-
<b>Grupo 2 – alta_mag</b>	0,07 - <b>&lt;0,001</b>	0,09 - <b>&lt;0,001</b>	-	-	-
<b>Grupo 2 – baja_mag</b>	0,07 - <b>&lt;0,001</b>	0,09 - <b>&lt;0,001</b>	0,02 - 0,22	-	-
<b>Grupo 3 – alta_mag</b>	0,11 - <b>&lt;0,001</b>	0,12- <b>&lt;0,001</b>	0,05 - 0,17	0,05 - 0,07	-
<b>Grupo 3 – baja_mag</b>	0,12 - <b>&lt;0,001</b>	0,14 - <b>&lt;0,001</b>	0,06 - <b>&lt;0,001</b>	0,06 - <b>&lt;0,001</b>	0,04 - 0,64

La VC1 explica un 96,04% de la varianza en forma de los grupos que muestran diferencia, las diferencias se dan por un factor ontogenético. Los cambios de forma son los mismos que para los períodos de primavera – verano en la VC1 (Figura 17.b y c, Figura 19 y Tabla 15).



**Figura 19.** Análisis de variables canónicas en larvas de *A. crinitus* para la magnitud del esfuerzo del viento y los grupos de tamaño. Alta magnitud (alta\_mag) y baja magnitud (baja\_mag).

La VC2 explicó un 9,83% de la varianza en forma, en este caso las diferencias se dan por la variable asociada a la magnitud del esfuerzo del viento. El morfotipo larval asociado a una baja magnitud del esfuerzo del viento posee un morfotipo larval similar a los de verano (Figura 17.d y Tabla 15). A su vez, morfotipos larvales asociadas a una alta magnitud del esfuerzo del viento presentan un morfotipo similar a larvas del período de primavera (Figura 17.e y Tabla 14).

**Tabla 15.** Cargas Factoriales de cada landmark para la magnitud del esfuerzo del viento y los grupos de tamaño. X: eje antero-posterior del cuerpo, Y: eje dorso-ventral, los números representan a los landmarks descritos en la Figura 3.

Landmarks		VC1		VC2	
X1	Y1	<b>23,68</b>	1,7	<b>50,22</b>	15,26
X2	Y2	-1,19	-6,22	<b>-22,24</b>	-2,65
X3	Y3	-1,54	0,07	<b>-25,87</b>	<b>-24,81</b>
X4	Y4	-0,48	<b>-10,15</b>	-6,51	-4,19
X5	Y5	<b>-8,9</b>	1,41	-6,22	<b>25,84</b>
X6	Y6	-5,11	<b>-17,08</b>	-4,87	12,22
X7	Y7	<b>11,69</b>	-0,15	5,63	-0,2
X8	Y8	-4,91	<b>17,83</b>	-3,03	-3,39
X9	Y9	<b>-8,19</b>	-1,93	1,25	7,42
X10	Y10	-5,02	<b>14,52</b>	<b>11,64</b>	<b>-25,48</b>

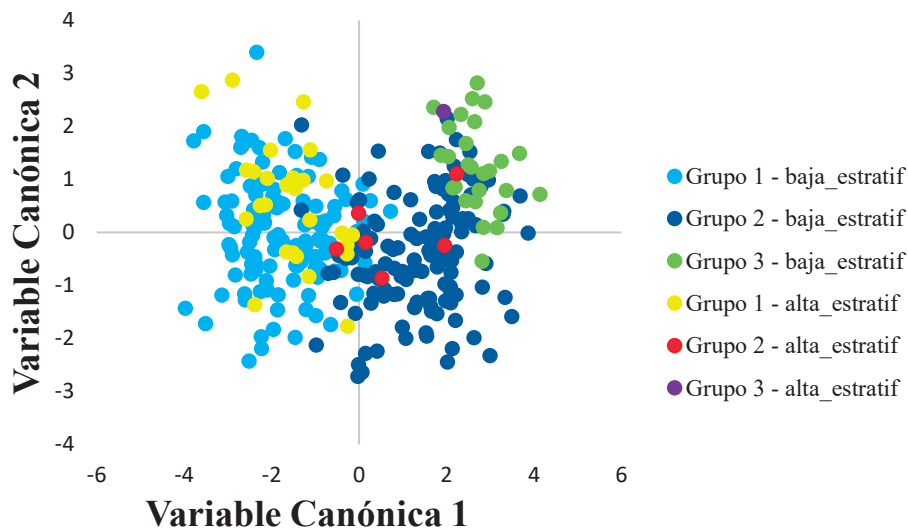
- Estratificación de la columna de agua

El AVC mostró que las dos primeras VC explican el 91,78% de la varianza en forma (Figura 20). Los grupos que mostraron diferencias se observan en la Tabla 16.

**Tabla 16.** Distancias de Procrustes para la estratificación de la columna de agua. A la izquierda los valores de cada distancia y a la derecha el valor p del test de permutación. En rojo los grupos que muestran diferencias.

Grupos	Grupo 1 - alta_estrati f	Grupo 2 - alta_estratif	Grupo 3 - alta_estrati f	Grupo 1 - baja_estrati f	Grupo 2 - baja_estrati f
Grupo 2 – alta_estratif	0,08 - <b>0,01</b>	-	-	-	-
Grupo 3 – alta_estratif	0,16 - 0,05	0,11 - 0,1	-	-	-
Grupo 1 – baja_estrati f	0,07 - <b>&lt;0,001</b>	0,07 - 0,04	0,16 - <b>0,02</b>	-	-
Grupo 2 – baja_estrati f	0,02 - <b>&lt;0,001</b>	0,03- 0,43	0,10 - 0,06	0,09 - <b>&lt;0,001</b>	-
Grupo 3 – baja_estrati f	0,14 - <b>&lt;0,001</b>	0,07 - <b>0,01</b>	0,06 - 0,27	0,13 - <b>&lt;0,001</b>	0,05 - <b>&lt;0,001</b>

La VC1 explica un 84,6% de la varianza, las diferencias se dan por un factor ontogenético. Los cambios de forma son los mismos que para los períodos de primavera – verano en la VC1, excepto por el movimiento de la aleta pectoral, en este caso es la inserción ventral la que posee un movimiento hacia adelante y dorsal (Figura 17.b y c y Figura 20 y Tabla 17).



**Figura 20.** Análisis de variables canónicas en larvas de *A. crinitus* para la estratificación de la columna del agua y los grupos de tamaño. Alta estratificación (alta\_estratif) y baja estratificación (baja\_estratif) de la columna de agua.

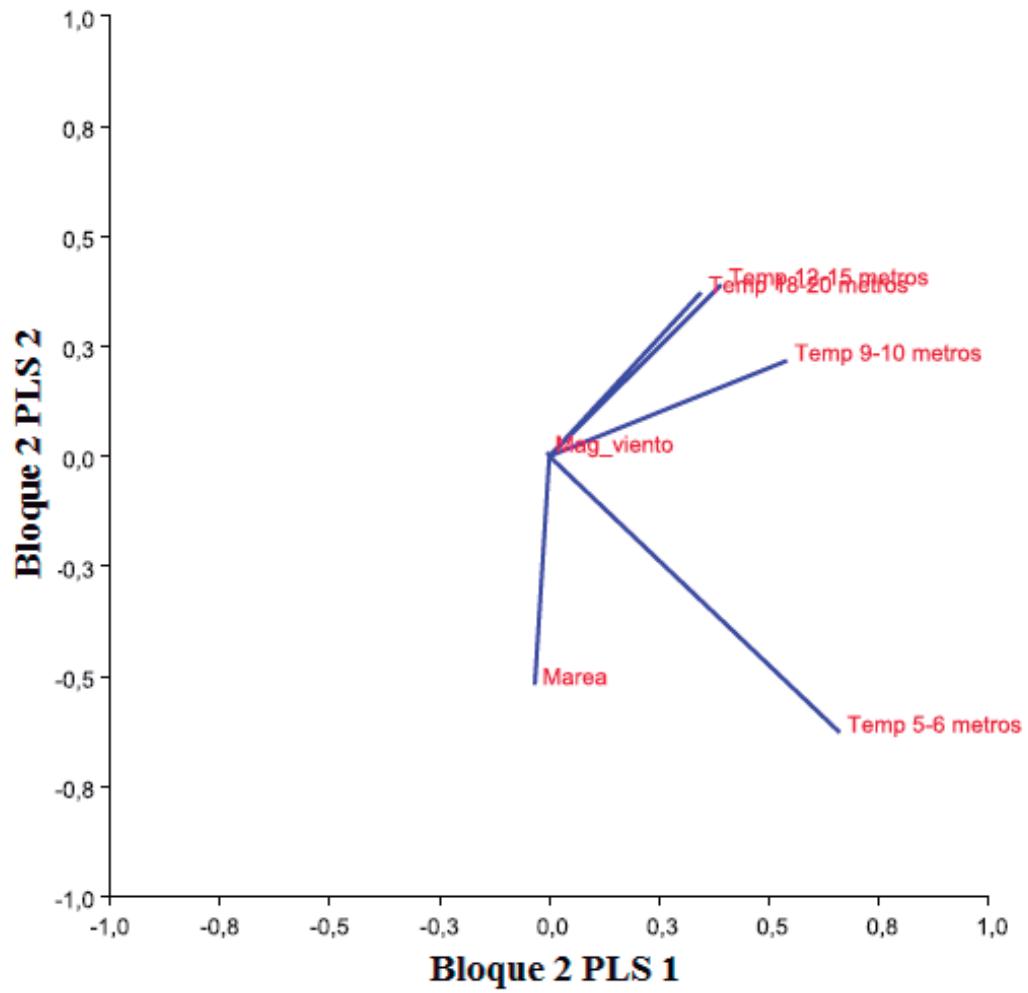
La VC2 explicó un 7,18% de la varianza en forma, en este caso las diferencias se dan por la variable asociada a la estratificación de la columna de agua. El morfotipo de las larvas que se asocian a una baja estratificación presentan un morfotipo similar al de larvas correspondientes al período de primavera (Figura 17.e y Tabla 17). A su vez, morfotipos de larvas asociadas a una alta estratificación de la columna de agua, presentan una forma similar al morfotipo larval de verano (Figura 11.d y Tabla 17).

**Tabla 17.** Cargas Factoriales de cada landmark para la estratificación de la columna de agua y los grupos de tamaño, X: eje antero-posterior del cuerpo, Y: eje dorso-ventral, los números representan a los landmarks descritos en la Figura 3.

Landmarks		VC1		VC2	
X1	Y1	<b>28,17</b>	-1,28	<b>-48,45</b>	<b>-11,45</b>
X2	Y2	-6,64	-4,66	<b>22,07</b>	0,45
X3	Y3	-4,23	3,79	<b>-31,09</b>	<b>27,49</b>
X4	Y4	4,24	<b>-14,34</b>	5,42	-4,94
X5	Y5	<b>-8,60</b>	5,22	4,59	<b>-20,52</b>
X6	Y6	-2,01	<b>-27,1</b>	-1,19	-2,89
X7	Y7	<b>9,84</b>	3,42	-4,43	-4,73
X8	Y8	-5,57	<b>21,06</b>	3,71	-3,71
X9	Y9	-3,76	5,64	-1,27	-0,89
X10	Y10	<b>-11,42</b>	<b>8,25</b>	<b>-11,54</b>	<b>21,2</b>

- Mínimos Cuadrados Parciales (PLS)

El análisis de mínimos cuadrados detectó covarianza entre los cambios de forma y la variabilidad ambiental costera (mareas, temperatura del agua y magnitud del esfuerzo del viento). La covarianza fue baja pero significativa ( $RV=0,03$ ;  $p<0,0001$ ) y la matriz morfológica con la ambiental se correlacionaron de forma negativa y significativa ( $rs=-0,19$ ;  $p<0,0001$ ). La temperatura a 5-6 m de profundidad sería la que más influye en la forma de las larvas de *Auchenionchus crinitus* (Figura 21). Sólo se utilizó el PLS1, el cual explicó un 98,94% de la covarianza.



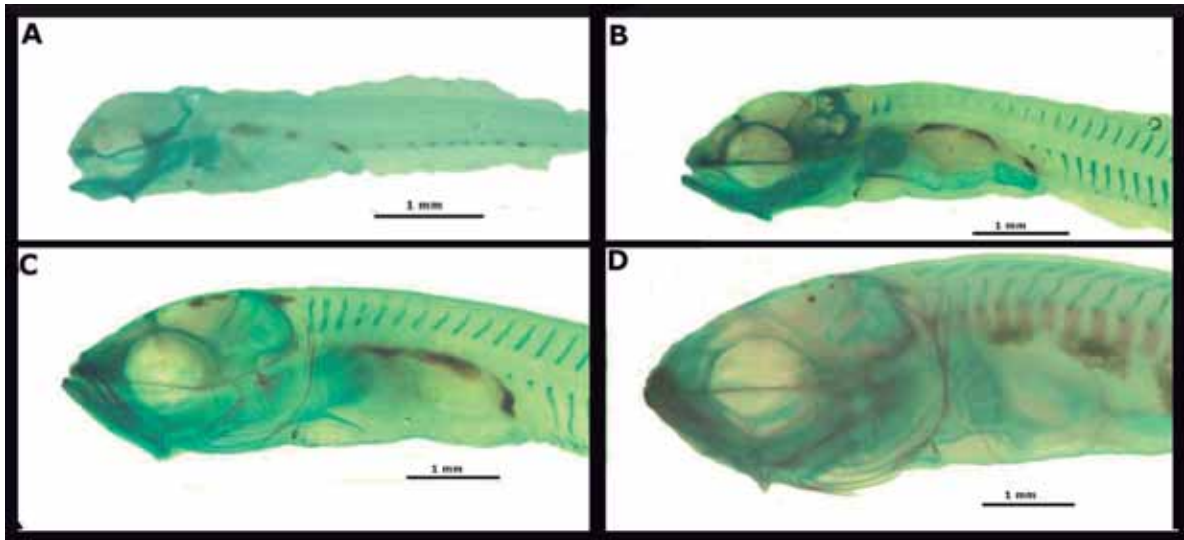
**Figura 21.** Mínimos Cuadrados Parciales. Bloque 2: Matriz ambiental. Se observa la variable ambiental que produce una mayor influencia en la forma de las larvas de *A. crinitus*.



## **Modularidad e Integración**

- Desarrollo osteológico de los 3 módulos (mandíbula-neurocráneo, aleta pectoral-neurocráneo y mandíbula-aleta pectoral).

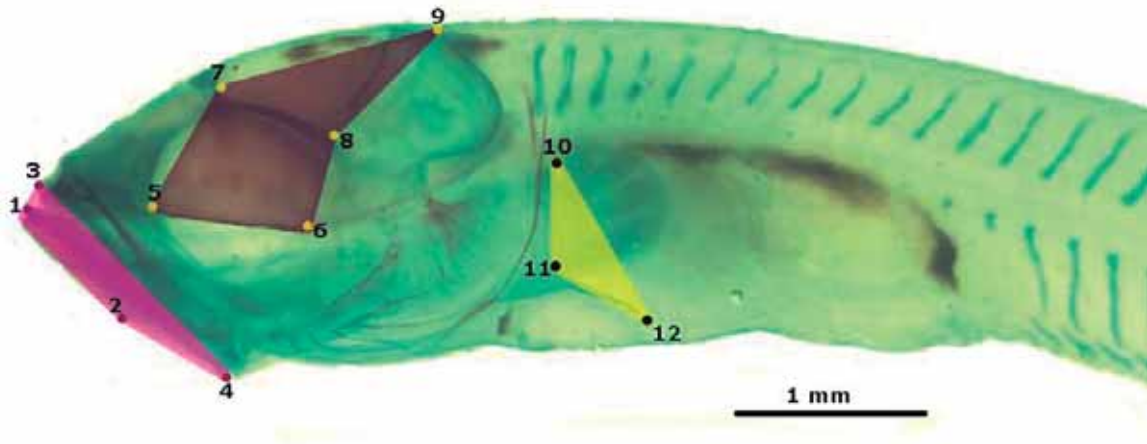
En larvas en preflexión la mandíbula, el neurocráneo y la aleta pectoral tiene una estructura cartilaginosa. A partir de los 8 mm de longitud la premaxila comienza a osificarse desde su extremo anterior y el cartílago de Meckel empieza a osificarse y transformarse en el dentario, ya finalizando el estado de flexión comienza a osificarse el Paraesfenoides (piso del neurocráneo), mientras que la aleta pectoral no muestra signos de osificación. En larvas en postflexión sobre los 10,5 mm de longitud estándar, las larvas exhiben la mandíbula completamente osificada, el neurocráneo comienza a mostrar un mayor grado de osificación (hueso supraoccipital) y las aletas pectorales mantienen su matriz cartilaginosa (Figura 22).



**Figura 22.** Desarrollo osteológico en larvas de *A. crinitus*. Grupos de tamaño 1 (A), 2 (B), 3 (C) y (D).

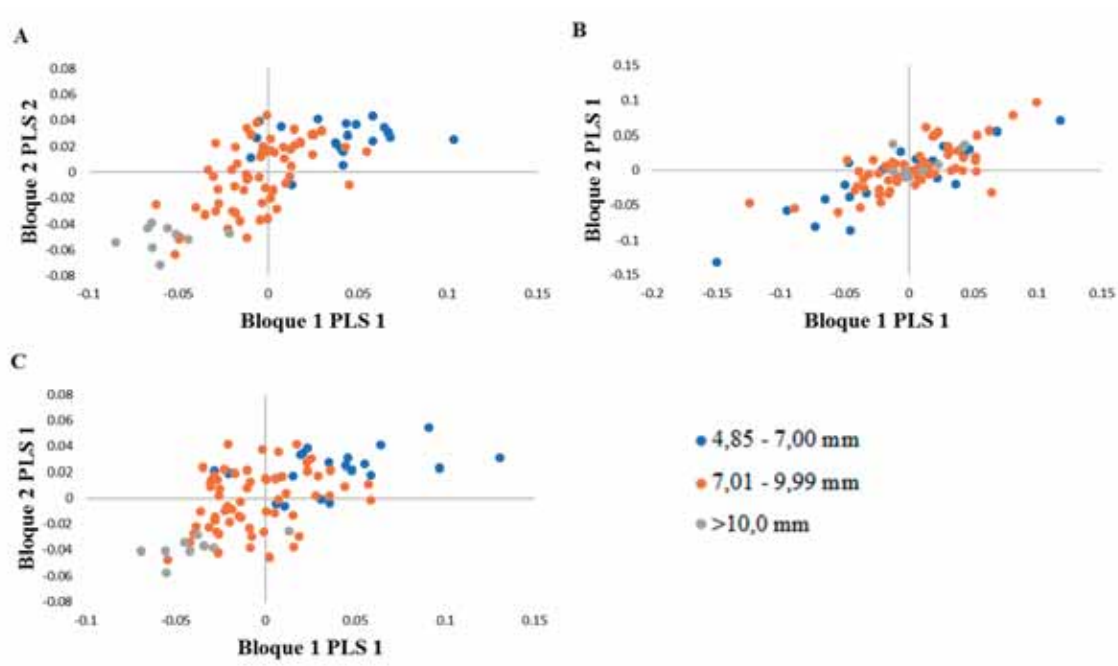
**Tabla 18.** Resultados del Procrustes ANOVA de estimación del porcentaje de error en la digitalización de los landmarks para período 2016-2017 de estudio.

Efecto	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	Grados de libertad	F	p
Individuo	0,476	1,035E-03	460	32,79	<b>&lt;0,0001</b>



**Figura 23.** Módulos para análisis de modularidad e integración en larvas de *A. crinitus*. En violeta el módulo mandíbula, en morado oscuro el módulo neurocráneo y en amarillo el modulo aleta pectoral.

En el desarrollo ontogenético larval de *Auchenionchus crinitus* los módulos que componen el neurocráneo y aleta pectoral presentaron integración ( $RV= 0,32$ ;  $p<0,001$ ) (Figura 24.A). Lo mismo ocurre entre las estructuras que conforman el cráneo y la mandíbula ( $RV=0,33$ ;  $p<0,001$ ) (Figura 24.B), por lo que el desarrollo de estas estructuras se da de forma conjunta. Al contrario de lo que ocurre con las estructuras que componen la mandíbula y la aleta pectoral, ya que estas presentan modularidad, por lo que se desarrollan de forma independiente ( $RV=0,17$ ;  $p<0,001$ ) (Figura 24.C).



**Figura 24.** Mínimos Cuadrados Parciales. A: bloque 1 (mandíbula) y 2 (neurocráneo), B: bloque 1 (neurocráneo) y 2 (aleta pectoral) y C: bloque 1 (mandíbula) y 2 (aleta pectoral).

## DISCUSIÓN

A lo largo de la ontogenia larval de *Auchenionchus crinitus* los cambios de forma en relación a un cambio de tamaño se dan de manera sinusoidal, con la menor tasa de cambios en estados de preflexión, aumentando en flexión y luego disminuyendo en postflexión, por lo que a lo largo del desarrollo pueden identificarse 3 etapas.

Los cambios morfológicos más evidentes a medida que las larvas aumentan de tamaño se caracterizaron por una protrusión hacia adelante de las estructuras de la mandíbula, un ensanchamiento del cuerpo, un desplazamiento posterior y ventral de la aleta pectoral y un acortamiento de la cavidad gástrica, visualizado por un desplazamiento del ano hacia una zona frontal.

El desarrollo integrado del neurocráneo - aparato mandibular y neurocráneo - aleta pectoral y el desarrollo modular del aparato mandibular - aleta pectoral, podría estar relacionado con el grado de osificación de estas estructuras. En el aparato mandibular se observó el mayor grado de osificación, en tanto sólo el piso del neurocráneo mostró un grado de osificación, mientras que en la aleta pectoral se mantuvieron las estructuras cartilaginosas.

La alometría y los cambios morfológicos estuvieron mayormente marcados por un factor ontogenético, y hubo una baja pero significativa influencia del ambiente. En el caso de la alometría sólo se observaron diferencias según período estacional (primavera-verano), siendo mayor la alometría en primavera. Adicionalmente, larvas asociadas a primavera, cuadraturas, alta intensidad del esfuerzo del viento y baja estratificación de la columna de agua presentaron un morfotipo similar. Lo mismo ocurre con larvas asociadas a verano, sicigias, baja magnitud del esfuerzo del viento y alta estratificación de la columna de agua.

Dentro de las variables ambientales, la variabilidad estacional en la temperatura superficial (5-6 m) fue la que más influyó en la morfología larval.

### **Cambios morfológicos y alometría ontogenética**

El patrón de alometría sinusoidal de las larvas de *A. crinitus* es distinto al que se ha observado en otros estados tempranos de peces marinos; mientras que en *A. crinitus* la curva de cambios morfológicos ocurre en 3 etapas, en la gran mayoría de los organismos se ha observado en 2 etapas, con cambios rápidos en estados tempranos de la ontogenia, para luego ir disminuyendo cuando finaliza su estado pelágico.

En los peces damisela (Pomacentridae) y en peces pertenecientes al Genero *Diplodus* (Sparidae) este patrón está muy marcado, con cambios acelerados en la ontogenia temprana para ir disminuyendo a medida que la transición a un hábitat bentónico comienza a ocurrir. En *Diplodus* la segunda etapa muestra un cambio de tamaño no acompañado por un cambio en la forma, los autores lo describen como un cambio isométrico (Loy *et al.* 1998; Loy *et al.* 2001, Frederich *et al.* 2008, Frederich *et al.* 2012). Sin embargo, Loy *et al.* (1998, 2001) para la curva de cambios alométricos sólo consideró los cambios morfológicos que ocurren en el CP1, en vez de las coordenadas de Procrustes que reflejan la forma de los organismos (Klingenberg 2016).

En el pejesapo (Gobiesocidae) *Sicyases sanguineus*, Bernal-Durán & Landaeta (2017) observaron que el crecimiento alométrico ocurría temprano en la ontogenia de esta especie, principalmente entre 4 y 12 mm; después de ese tamaño, el cambio de forma fue comparativamente bajo.

Pero otros patrones de alometría han sido estudiados, por ejemplo, en la doncellita *Myxodes viridis* (Clinidae), donde el patrón de alometría es continuo, experimentando cambios de forma durante toda su ontogenia larval; la mayoría de los cambios ocurrieron durante las etapas de preflexión y flexión (Zavala-Muñoz *et al.* 2016).

Es así como en la alometría existen distintas tipologías de cambios morfológicos en el desarrollo temprano, pudiendo tener más de una etapa en la curva de cambios; estos pueden ser (1) cambios abruptos para luego estabilizarse, (2) ser constantes todo el tiempo o (3) mostrar una forma sinusoidal, como se observó en este estudio.

Lo anterior puede ser explicado por la teoría de la ontogenia saltatoria descrita por Balon (1984); este autor describe que el desarrollo puede darse de dos formas, la primera se da por una continua acumulación de cambios pequeños y discretos, de acuerdo con las etapas formales del desarrollo, mientras que la segunda es una secuencia rápida de cambios morfológicos, mostrando una prolongada acumulación de estructuras complejas que se desarrollan a distintas tasas, generando el cambio, ésta última no considera las etapas formales, ya que busca como etapas los límites funcionales.

Kovac (2002) en base a la teoría de la ontogenia saltatoria de Balon (1984), postula que los organismos pueden auto-organizarse y crear sus propios tiempos para su desarrollo; no es posible que todas las estructuras se sincronicen y desarrollen a la misma velocidad, por lo que estructuras aún en desarrollo no forman ni pueden contribuir completamente a un sistema funcional. Sin embargo, para que los organismos mantengan su funcionalidad, se debe alcanzar un nivel superior de sincronización en cierto punto. Este alto nivel de sincronización se logra al pasar a un estado más avanzado, esta transición asegura que los

organismos adquieran nuevas funciones y habilidades. Al lograrse el más alto nivel de sincronía, ocurre una estabilización y estos cambios persisten en la ontogenia.

La mayoría de los autores atribuyen los patrones de cambios morfológicos a la transición del hábitat. En *Epinephelus marginatus* (Serranidae) y *Diplodus vulgaris* (Sparidae), el crecimiento alométrico es en dos etapas, la primera con cambios acelerados, los cuales se estabilizan en una segunda etapa. En *E. marginatus* es en la primera etapa donde ocurre la transición de hábitat, acompañado de cambios en la alimentación y el desarrollo de la natación (Loy *et al.* 2001, Russo *et al.* 2009).

Loy *et al.* (2001) sugieren que cuerpos hidrodinámicos y cabezas redondeadas son característicos de larvas pelágicas, mientras que un desplazamiento de la mandíbula hacia una zona frontal en etapas tardías como en juveniles, se genera por el cambio de dieta debido al cambio de hábitat. Los cambios de forma que se generan con el cambio de hábitat se deben a que la transición involucra muchos cambios, concentrados en la dentición, comportamiento alimentario y capacidad natatoria.

En *A. crinitus* los cambios de forma son similares, las larvas poseen cabezas redondeas y ventrales, junto con un cuerpo más hidrodinámico, mientras que larvas en postflexión presentan una mandíbula frontal y protruida hacia adelante y un cuerpo más robusto. Es plausible entonces que las larvas tengan este patrón de forma y sean más hidrodinámicas en estados más temprano, ya que viven en la columna de agua, son pelágicas, mientras que a medida que se avanza en la ontogenia van tomando la forma de un organismo asociado al bentos, donde la forma hidrodinámica no tendría más funcionalidad (Russo *et al.* 2009). Esta funcionalidad en el cambio de forma se da porque el comportamiento de



alimentación bentónica exige más maniobrabilidad en lugar de un ataque rápido (Russo *et al.* 2007).

Zavala-Muñoz *et al.* (2016) observaron que en *M. viridis* los mayores cambios morfológicos ocurrieron en etapas de preflexión y flexión y que estos cambios están dirigidos a aumentar el éxito de alimentación, debido a que los mayores cambios se centran en la cabeza, con una orientación ventral de la mandíbula y a un aumento en la digestión dado por un acortamiento del intestino. También ocurre una compresión del área abdominal. Los autores atribuyen estos cambios a variaciones en la dieta y a una preparación a las tácticas de alimentación de una vida bentónica.

En *A. crinitus* los cambios más notorios se centran en el aparato mandibular, específicamente una protrusión de la mandíbula y también hay un acortamiento de la cavidad gástrica. ¿Estarían reflejando estos cambios de forma un cambio en la dieta para así prepararse a la vida bentónica? Si bien no hay estudios de dieta para esta especie, en otro miembro de la Familia Labrisomidae Vera-Duarte & Landaeta (2015) encontraron diferencias significativas en la composición de la dieta a lo largo de la ontogenia larval y a distintos tamaños, ocurriendo la mayor variación desde el estado de preflexión a flexión; pero al no encontrarse diferencias significativas en la incidencia alimentaria a lo largo del desarrollo larval, los cambios de dieta no se atribuyeron a un cambio en la morfología.

Los cambios morfológicos por cambios de dieta y cambios de tamaño no siempre se acoplan con la transición del hábitat, pueden ocurrir antes o después de este evento. Bernal-Duran & Landaeta (2017) describieron en *S. sanguineus* que los cambios de forma más

significativos ocurrieron antes que el organismo cambie de hábitat, mientras que los cambios de dieta ocurrieron después del asentamiento.

En el presente estudio, no se pudo establecer una relación entre dieta y cambio de forma, porque gran parte de los estómagos de las larvas a estudiar se encontraban vacíos.

Osse & van den Boogaart (1995) relacionaron el tamaño del huevo con las tasas de desarrollo en el besugo *Pagrus major* (Sparidae) y la carpa *Cyprinus carpio* (Cyprinidae), los tamaños de los huevos fueron de 0,9 mm y 1,9 mm de diámetro, respectivamente, existiendo una relación positiva entre el tamaño del huevo y el tiempo de desarrollo; por lo que la carpa se demora más en terminar su desarrollo, lo que se debe a que tener huevos de mayor tamaño provoca un retraso en la eclosión. Larvas provenientes de huevos más grandes presentan ventajas, ya que son más grandes al eclosionar y al inicio de la alimentación exógena. En la familia Labrisomidae los tamaños de los huevos varían entre 0,6-1,5 mm de diámetro, las larvas eclosionan con la boca abierta y los ojos pigmentados (Watson 1996). Por lo tanto, la menor alometría encontrada en estados de preflexión, pueden deberse a que cambios de forma más abruptos estén ocurriendo dentro del huevo.

### **Modularidad e integración ontogenética en el desarrollo larval**

La modularidad e integración depende de la funcionalidad de las estructuras. Las larvas para poder alimentarse, nadar, y realizar procesos de ventilación y osmorregulación establecen prioridades durante el desarrollo temprano, para crear condiciones primarias para sobrevivir (Osse *et al.* 1997). En el caso de *A. crinitus* a lo largo del desarrollo ontogenético

larval parece existir una relación entre el proceso de osificación y la integración de las estructuras que se someten a ambos procesos.

La mandíbula y el neurocráneo se desarrollan de forma integrada en *A. crinitus*, debido a que presentan una funcionalidad similar: mientras que la mandíbula permite la captura e ingestión de presas (Zavala-Muñoz 2015), el neurocráneo funciona como soporte de estructuras críticas para la alimentación, respiración y función neurológica (Zavala-Muñoz *et al.* 2016). Además, refuerzan el piso craneal (paraesfenoides) evitando que se dañe durante la alimentación (Loffler *et al.* 2008). La osificación también ocurre antes en estas estructuras, siendo la mandíbula la primera en osificarse y el piso del neurocráneo después, patrón que se observó en larvas de *Myxodes viridis* y en la lucioperca *Sander lucioperca* (Percidae) (Loffler *et al.* 2008, Zavala-Muñoz *et al.* 2016).

El desarrollo de la aleta pectoral y el neurocráneo también es integrado, aunque su función es distinta; la aleta pectoral tiene como fin aumentar el oxígeno en las capas límites del cuerpo, facilitando la absorción de oxígeno a través de la piel (Green *et al.* 2011); la integración de estas estructuras podría deberse a que el proceso de desarrollo se da a un tiempo similar, ya que la aleta pectoral mantiene sus estructuras cartilaginosa y el neurocráneo sólo muestra osificación en el paraesfenoides, mientras que las demás estructuras que lo componen mantienen una matriz cartilaginosa.

La mandíbula y la aleta pectoral se desarrollan de forma modular, esto se debe a que ambas presentan función y tiempo de desarrollo distintas. En *E. marginatus*, el desarrollo del tronco y la cabeza ocurren en distintas etapas del desarrollo, los estados tempranos se asocian con cambios en la cabeza y estados más avanzados con cambios en el tronco (Russo *et al.*

2009). En *S. aurata* los mayores cambios se asociaron a las estructuras de la cabeza y el tronco en la ontogenia temprana. Este patrón de crecimiento se produjo porque la energía se asigna para completar los aparatos más esenciales (alimentación y natación) y, por lo tanto, los caracteres morfológicos muestran un crecimiento relativamente rápido (Russo *et al.* 2007). La aleta pectoral en larvas no se utiliza para el nado, como en juveniles y adultos (Green *et al.* 2011), por lo que no tendría la misma prioridad funcional que la mandíbula.

En adultos, la relación morfo-funcional de las estructuras podría darse de otra forma, por ejemplo, en el trombollito *Helcogrammoides cunninghami* (Tripterygiidae), Winkler *et al.* (2017) encontraron una relación significativa entre la mandíbula y la aleta pectoral, atribuyéndole como función la alimentación.

### **Cambios morfológicos y alometría asociada a la variabilidad ambiental costera**

Las condiciones del ambiente también pueden afectar a la morfología larval, además de la ontogenia (Osse *et al.* 1997). La variabilidad en las condiciones oceanográficas, como la temperatura, estratificación de la columna de agua, salinidad, surgencia estacional y el viento, afecta a los organismos, los cuales responden funcionalmente, variando en abundancia y reproducción (Narváez *et al.* 2004, Aldana *et al.* 2017, Díaz-Astudillo *et al.* 2017).

En *A. crinitus* hubo una baja pero significativa influencia del ambiente en la alometría y morfología a lo largo de la ontogenia larval.

Las condiciones ambientales durante el período de muestreo mostraron claras diferencias entre primavera y verano, con temperaturas más bajas en primavera, aumentando

hacia el verano, atribuyéndosele condiciones de afloramiento en primavera y estratificación de la columna de agua en verano. Para la bahía El Quisco, Narváez *et al.* (2004), Tapia *et al.* (2014) y Díaz-Astudillo *et al.* (2017) describen condiciones similares y una alta estacionalidad, asociándolo a condiciones de surgencia con mayor frecuencia en primavera.

La costa de Chile central se caracteriza por una surgencia estacional impulsada por el viento suroeste. Este proceso oceanográfico induce la variabilidad en la disponibilidad alimentaria en los ecosistemas marinos, lo que influye en la estructura y dinámica del ambiente costero (Brandhrost 1963, Aravena *et al.* 2014, Fuentes *et al.* 2017).

La alometría ontogenética en *A. crinitus* fue mayor en condiciones de afloramiento (primavera) que en verano (estratificación). Con morfotipos similares en primavera, mareas de cuadratura, alta intensidad en la magnitud del esfuerzo del viento y baja estratificación de la columna de agua, la morfología más característica fue la mandíbula orientada dorsalmente, ojos y aletas pectorales en posición ventral y el tronco hidrodinámico. Por otra parte, en verano, mareas de sicigia, baja intensidad en la magnitud del esfuerzo del viento y una alta estratificación de la columna de agua, los morfotipos también fueron similares, estos se caracterizaron por tener la mandíbula orientada ventralmente, ojos y aleta pectoral en posición dorsal y el tronco más robusto.

Los impactos de la surgencia muestran que productores primarios e invertebrados marinos aumentan su rendimiento fisiológico, lo que se traduce en una mayor actividad depredadora y crecimiento de macroalgas. Estas variaciones fisiológicas otorgan un marco para comprender como la surgencia y no-surgencia influye en cambios en la ontogenia de los organismos (Menge *et al.* 2003, Aldana *et al.* 2017).

En Chile Central, las mayores abundancias y diversidad del ictioplancton coinciden con el periodo de mayor actividad de surgencia, los cuales van disminuyendo hacia el verano cuando la columna de agua se encuentra estratificada y la concentración de nutrientes es menor; aunque las condiciones de estratificación se consideran un factor determinante en la distribución y supervivencia de huevos y larvas de peces, un incremento de ésta da lugar a un decrecimiento en la abundancia total de huevos y larvas (Hernández-Miranda *et al.* 2003, Díaz-Astudillo *et al.* 2017). La intensidad de la luz solar en estaciones de verano si bien puede aumentar el crecimiento, en el cirujano *Acanthurus chirurgus* (Acanthuridae) se observó lo contrario: la correlación entre crecimiento y radiación solar fue negativa, por lo que altas condiciones de luz pueden afectar negativamente a las larvas de peces. La radiación ultravioleta puede inducir daño directo en el ADN y en las proteínas de huevos y las larvas, causando un crecimiento reducido o la muerte (Zagarese & Williamson 2001, Bergenius *et al.* 2005).

La abundancia de los estados larvarios puede mostrar una asociación positiva con el tipo de hábitat o de desove de los estados adultos, en base a una condición oceanográfica óptima, por el acoplamiento de las futuras cohortes y la presencia de alimento (Hernández-Miranda *et al.* 2003).

Aldana *et al.* (2017) observaron que en el pez *Scartichthys viridis* (Blenniidae) y el gasterópodo *Fissurella* sp. (Fissurellidae) presentaron un peso de gónada mayor en condiciones de surgencia en contraste con condiciones de no-surgencia, pero tamaño y edades similares, esto trae efectos en la funcionalidad. Los autores atribuyen estas diferencias a que, en mayor presencia de alimento, los organismos pueden asignar más energía a la

reproducción. Se debe hacer hincapié en que los autores compararon áreas de surgencia (Quintay) con áreas de no-surgencia (Las Cruces), por lo que las diferencias también podrían deberse a las características locales de cada bahía.

Otros peces marinos como *Maurolicus parvipinnis* (Sternoptychidae) e *Hippoglossina macrops* (Paralichthyidae) sincronizan sus desoves en primavera, donde aprovechan el transporte de aguas superficiales debido a la surgencia, hacia la costa, donde las condiciones de alimentación y retención larval son favorables para el desarrollo de los huevos (Landaeta & Castro 2002, Landaeta *et al.* 2006).

En otro miembro de la familia Labrisomidae, *Calliclinus geniguttatus* Galeano-Chavarria & Landaeta (2017) observaron que las larvas de esta especie presentaron una mayor respuesta de alimentación en condiciones de primavera en la bahía El Quisco (mismo período en que en este estudio se encontraron condiciones de afloramiento) a diferencia de condiciones de verano (estratificación de la columna de agua). Los rangos de tamaño también fueron más amplios en primavera; los autores lo atribuyen a la variabilidad que pudo estar influida por factores como la temperatura y la disponibilidad de alimento.

Se infiere que, si esta conexión positiva está ocurriendo en áreas de surgencia y las mayores alometrías de *A. crinitus* se observaron en condiciones similares, las condiciones de afloramiento podrían ser favorables para el desarrollo de los organismos en su etapa larval pelágica. Debido a que la surgencia influye en la disponibilidad de nutrientes y en la temperatura del agua, donde el aporte de nutrientes puede afectar de forma positiva, en la estructura y la dinámica de las comunidades marinas (Aldana *et al.* 2017).

Pero las condiciones ambientales que asocian a la surgencia costera podrían no estar dando una respuesta positiva en los organismos. El estudio de Lasker (1975) mostró que, en larvas de *Engraulis mordax* (Engraulidae) la alimentación dependía de la concentración, tamaño y especie de las partículas de alimento que se encuentran en el medio ambiente, la concentración podía ser alta, pero si el tamaño o la especie no era la adecuada para la alimentación de *E. mordax* había menos contenido en los estómagos. Por ende, en altos niveles de clorofila, que se usan como un proxy de un alto contenido en nutrientes, no necesariamente el alimento estará disponible y se hará uso de él. Este estudio además observó que intensas condiciones de viento rompen la capa de clorofila, por lo que el alimento se dispersa y los organismos no pueden alimentarse.

Peterman & Bradford (1986) probaron la hipótesis de Lasker (1975) de que la capa superior mixta del océano deber estar estable para que los alimentos se concentren. Ellos observaron que la mortalidad en *E. mordax* se correlacionó negativamente con el viento, además los desoves en temporadas donde la velocidad del viento fue alta se observó una mayor mortalidad de larvas jóvenes.

En condiciones de surgencia, la temperatura del agua es más baja, y la intensidad del viento es mayor (Narváez *et al.* 2006). El 85% de las larvas se encuentran a menos de 50 m de la superficie, la cual es una zona rica en alimento, pero también está más sujeta a la perturbación del viento. Si bien la surgencia impulsada por el viento con aguas ricas en nutrientes puede aumentar la productividad del alimento larval, puede también no compensar el efecto perjudicial del viento (Peterman & Bradford 1986). Un ejemplo de esto se observó



en *S. viridis* y *Fisurella* sp., donde el tamaño fue mayor en condiciones de no surgencia (Aldana *et al.* 2017).

Condiciones favorables de alimentación de larvas de peces pueden darse en distintas masas de aguas o picnoclinas, debido a que los organismos se acumulan por procesos pasivos o activos (Woodson & McManus 2007). Las larvas podrían encontrar mejores condiciones ambientales cuando la columna se encuentra estratificada, pero dependerá de la especie. Esto podría traducirse en un aumento de tamaño, por ejemplo, Boltaña *et al.* (2017) encontraron de forma experimental que en larvas del *Salmo salar* (Salmonidae) que se sometieron a amplios rangos térmicos presentaban tamaños mayores que aquellas que se encontraban en rangos más pequeños o restringidos, acompañado de una cantidad menor de fibras musculares. Por lo que un rango amplio de temperatura tiene efectos en el metabolismo, generando larvas de mayor tamaño.

No todos los ensambles de algas, herbívoros y filtradores muestran mayores abundancias en condiciones de surgencia, incluso la riqueza de especies a nivel de comunidad puede ser mayor en condiciones de no-surgencia; es incorrecto suponer que la surgencia por si sola genera un efecto positivo o negativo en la abundancia o riqueza de los ensambles algales; factores locales o de mayor escala podrían sobreponerse a los efectos de la surgencia; es más factible detectar los efectos de la surgencia en donde los nutrientes son limitantes y donde el aporte externo varíe a lo largo del año (Camus & Andrade 1999).

En este estudio se observó que en primavera hubo un mayor número de mareas de cuadratura asociadas y sicigia en verano. Ambas mareas mostraron morfotipos distintos. Esto se puede deber a que la actividad de los organismos se puede asociar al ciclo mareal, el cual

influye en varios aspectos debido a la alta variabilidad en forma, amplitud y frecuencia que presentan los ciclos mareales (Gibson 1992).

En mareas de sicigias, en zonas de manglares se ha observado una mayor disponibilidad de presas. *Sciades herzbergii* (Ariidae) presentó una mayor abundancia y contenido estomacal asociado a esta marea, por lo que el ciclo de mareas de cuadratura-sicigias regula la accesibilidad intermareal y, por lo tanto, el éxito de búsqueda de los peces; teniendo un mayor control en mareas de sicigias, lo que les permitiría alimentarse mejor (Krumme *et al.* 2008, Lima & Barletta 2016).

La variedad en el patrón de mareas y sus efectos en los hábitats marinos, pueden inducir a una amplia gama de patrones de comportamiento en peces, estos comportamientos están sincronizados con el ciclo de las mareas, ejemplo de estos son, la alimentación, evitación de la depredación y reproducción (Gibson 1992, Hernández-León 2008, Lima & Barletta 2016). Los morfotipos distintos entre mareas de sicigias y cuadraturas en larvas de *A. crinitus* podrían ser respuesta fenotípica a un comportamiento distinto o una mayor alimentación según lo observado por estos autores.

Sin embargo, problemas de condiciones climáticas generaron que durante primavera se realizaran un mayor número de nuestros durante cuadraturas.

En este estudio la variación estacional de la temperatura superficial del agua (5-6 m) fue la variable ambiental que significativamente influyó más en la morfología larval de *A. crinitus*.

Tapia *et al.* (2014) en un estudio en la zona Central de Chile, detectaron que la temperatura del agua fue la variable ambiental que mostró una mayor variación a diferencia del viento. Entonces, si la temperatura muestra la mayor variabilidad oceanográfica, esto podría generar un mayor efecto en los organismos, y potencialmente en *A. crinitus*.

La temperatura no sólo influye directamente en la biología de los organismos, por ejemplo, en el tamaño, crecimiento, diferenciación muscular, etc. sino también en aspectos físicos de la columna de agua, como en la viscosidad y densidad del agua, alterando la flotabilidad de huevos y el comportamiento locomotor en larvas de peces (Blaxter 1992, Osse & van den Boogaart 1995).

Muchas especies presentan rangos óptimos de temperatura para su desarrollo, debido a la influencia de ésta en la duración del desarrollo y en procesos cruciales como la absorción del saco vitelino y el rendimiento en la natación; fuera de este rango la mortalidad y anomalías se incrementan (Bergenius *et al.* 2005).

Loy *et al.* (2001) observaron que en el desarrollo temprano de 2 larvas pertenecientes al género *Diplodus* había diferencias en el patrón de cambio de forma, atribuyéndole estas diferencias a las distintas temperaturas del agua durante el asentamiento, lo que finalmente llevaba a un patrón de alometrías distintos. *D. sargus* se asienta en verano, mientras que *D. vulgaris* se asienta en invierno, demorándose más en alcanzar un estado estable en la curva alométrica.

La influencia de la temperatura del agua si bien fue significativa, fue muy baja en este estudio. Esto puede deberse a que es poco probable que un aumento de temperatura del agua

afecte de forma letal a las poblaciones de peces, debido a que en el ambiente natural los huevos y larvas de distintas especies de peces presentan rangos óptimos de varios grados Celsius (Blaxter 1992). Además, los cambios de temperatura en el mar no suelen ser lo suficientemente intensos como para causar mortalidad por trastorno del desarrollo, ya que las anomalías de temperatura superficial del mar por lo general son del orden de 4°C (Azócar *et al.* 2014).

Distintas respuestas de las especies al comparar condiciones de surgencia (afloramiento para este estudio) con estratificación de la columna de agua, podrían deberse a que las zonas de surgencia representan hábitats físicamente complejos para los peces; los cuales podrían compensarse (Aldana *et al.* 2017).

Estos cambios en el patrón de alometría y cambios de forma en el desarrollo larval de *A. crinitus* podrían ser una respuesta fenotípica a los cambios en las condiciones ambientales *in situ* (temperatura y magnitud del esfuerzo del viento) que generan afloramiento y estratificación de la columna de agua, más las condiciones de mareas (cuadratura y sicigia); como una forma de compensar la variabilidad del ambiente y así poder desarrollarse.

La plasticidad fenotípica es la amplitud máxima que puede tener una característica estudiada bajo al menos dos condiciones ambientales. Diferentes rasgos tendrán distintos grados de plasticidad fenotípica (Eriksson 2000).

La plasticidad se expresa en la morfología o la fisiología de los organismos y pueden variar en magnitud y patrón, por ejemplo, hacia donde se modifican los caracteres, esta

respuesta se da por distintos ambientes o la variación en ciertos factores (Núñez-Farfán *et al.* 2003).

En poblaciones de peces de la familia Characidae, *Hemibrycon boquiose* y *H. rafaelse* pertenecientes a distintas localidades, se observaron diferencias fenotípicas. Las magnitudes en las diferencias fenotípicas se asocian a caracteres merísticos como número de escamas y osteológicos como el número de huesos epineurales (Román-Valencia *et al.* 2009).

Otro ejemplo de plasticidad fenotípica se observó en *H. cunninghami*, según la disponibilidad, tipo de presas y hábitat, los peces exhibían una morfología distinta en las estructuras que utiliza para alimentarse, así modifican su comportamiento alimentario dependiendo de lo que el ambiente les ofrece (Winkler *et al.* 2017).

Para esclarecer y reforzar los resultados encontrados en este estudio, es necesario en primer lugar, estudiar todo el patrón de desarrollo ontogenético desde embrión hasta adulto en *A. crinitus*, para evaluar si se mantiene la misma tendencia de cambios morfológicos en estados más avanzados del desarrollo. Lo anterior es más efectivo realizarlo de forma experimental, con el fin de eliminar cualquier perturbación del ambiente que pueda ocasionar diferencias y así evaluar solo el componente ontogenético. Al mismo tiempo, un estudio similar se debe realizar, pero en el ambiente, para así relacionar el patrón de alometría y cambios morfológicos con la alimentación y la transición del hábitat.

En segundo lugar, es necesario ampliar el tiempo de estudio, con el fin de evaluar si las respuestas fenotípicas asociadas a la variabilidad ambiental se mantienen a lo largo del tiempo y relacionarlo con otros aspectos de la ecología, como la alimentación, reproducción

y crecimiento, para determinar si esta respuesta fenotípica les trae una mayor o menor ventaja dependiendo de las condiciones ambientales o biológicas que gatillen esta respuesta.

Sería también provechoso estudiar si la relación entre funcionalidad y desarrollo (modular o integrado) se da no sólo en las estructuras de la cabeza, sino en todo el cuerpo.

Finalmente es necesario hacer énfasis en que este es el primer estudio que intenta cuantificar la variabilidad ambiental en la alometría y morfometría en larvas, ya que la mayoría de los estudios se enfocan en determinar los patrones de abundancia larval o la relación entre dieta y morfología.

## CONCLUSIONES

Existen distintas tipologías en la curva de cambios de forma asociada a cambios de tamaño, la cual va a depender de la ecología de cada especie.

Las larvas de *Auchenionchus crinitus* muestran un patrón sinusoidal en alometría ontogenética.

El desarrollo integrado de los módulos estructurales neurocráneo-mandíbula y neurocráneo-aleta pectoral y modular de la mandíbula con la aleta pectoral responde a una funcionalidad y velocidad en el desarrollo.

El factor ontogenético en larvas de *A. crinitus* explican el mayor porcentaje de varianza en forma y alometría (99,1%) en comparación a la influencia de las condiciones ambientales (9%).

Dentro del 9% que influyeron las condiciones ambientales en la morfología larval de *A. crinitus*, la variabilidad estacional en la temperatura superficial del agua fue la que tuvo el mayor efecto.

Las diferencias en la morfología en larvas de *A. crinitus* son una respuesta fenotípica a la variabilidad ambiental costera.

## LITERATURA CITADA

**Adams D. 2016.** Evaluating modularity in morphometric data: challenges with the RV coefficient and a new test measure. *7*: 565–572.

**Aldana M, R García-Huidobro, V Pulgar & J Pulgar. 2017.** Upwelling promotes earlier onset and increased rate of gonadal development of four coastal herbivores. *Bulletin of Marine Science* 93(3):000–000.

**Alemán C 2015.** “Crecimiento alométrico del cangrejo rojo (*Ucides occidentalis*) en el Golfo de Guayaquil, basado en la teoría de información”. Tesis de grado, Facultad de Ingeniería Marítima, Ciencias Biológicas, Oceánicas y Recursos Naturales, Escuela Superior Politécnica del Litoral, Ecuador, Guayaquil, 57 pp.

**Azocar C, G Claramunt, F Yañez & M Futagawa. 2014.** Efecto de la temperatura sobre el desarrollo embrionario y larval de *Graus nigra* (Kyphosidae) del norte de Chile. *Revista de Biología Marina y Oceanografía* Vol .49, 1: 111-122.

**Balon E. 1984.** Reflections on Some Decisive Events in the Early Life of Fishes, *Transactions of the American Fisheries Society*, 113: 178-185

**Bergenius M, M McCormick, M Meekan & R Robertson. 2005.** Environmental influences on larval duration, growth and magnitude of settlement of a coral reef fish. *Marine Biology* 147: 291–300.

**Bernal-Duran V & MF Landaeta. 2017.** Feeding variations and shape changes of a temperate reef clingfish during its early ontogeny. *Scientia Marina* 81(2): 205-215.



**Blaxter J. 1992.** The Effect of temperatura on larval fishes. Netherlands Journal of Zoology 2-3: 336-357.

**Boltaña S, N Sanhueza, A Aguilar, C Gallardo-Escarate, G Arriagada, J Valdes, D Soto & R Quiñones. 2017.** Influences of thermal environment on fish growth. Ecology and Evolution 2017 00: 1-12.

**Brandhrost W. 1963.** Condiciones oceanográficas estivales frente a la costa de Chile. Revista de Biología Marina y Oceanografía 3: 45-84.

**Camus P & Y Andrade. 1999.** Diversidad de comunidades intermareales rocosas del norte de Chile y el efecto potencial de la surgencia costera. Revista Chilena de Historia Natural 72: 389-410.

**deBruyn A & J Meeuwig. 2001.** Detecting lunar cycles in marine ecology: periodic regression versus categorical ANOVA. Marine Ecology Progress Series 214: 307–310.

**Díaz-Astudillo M, M Castillo, M Cáceres, G Plaza & M Landaeta. 2017.** Oceanographic and lunar forcing affects nearshore larval fish assemblages from temperate rocky reefs. Marine Biology Research 13(10): 1015-1026.

**Eriksson G .2000.** Genética evolutiva y conservación genética. Investigación agraria. Sistemas y recursos forestales N°2.

**Farré M, V Tuset, F Maynou, L Recasems & A Lombarte. 2016.** Selection of landmarks and semilandmarks in fishes for geometric morphometric analyses: a comparative study bases on analytical methods. Scientia Marina 80(2): 175-186.

**Frederich B, O Coelley & D Lecchini. 2012.** Mismatch between shape changes and ecological shifts during the post-settlement growth of the surgeonfish, *Acanthurus triostegus*. *Frontiers in Zoology* 9: 8.

**Frederich B; A Dominique & P Vandewalle. 2008.** Ontogenetic shape changes in Pomacentridae (Teleostei, Perciformes) and their relationships with feeding strategies: a geometric morphometric approach. *Biological Journal of the Linnean Society* 95: 92–105.

**Fuentes E, R Zuloaga, O Almarza, K Mendez, J Valdés, A Molina & J Pulgar. 2017.** Upwelling-derived oceanographic conditions impact growth performance and growth-related gene expression in intertidal fish. *Comparative Biochemistry and Physiology Parte B.* 214: 12-18.

**Galeano-Chavarria A & MF Landaeta. 2017.** Variación estacional en la ecología trófica de larvas de *Calliclinus geniguttatus* (Teleostei: Labrisomidae) en Chile central. Libro resúmenes 17 Congreso Latinoamericano de Ciencias del Mar.

**Gibson R. 1992.** Tidally-synchronized behaviour in marine fishes. *Rhythms in Fishes* 63–81. New York.

**Gillis JA, DD Randall & NH Shubin. 2009.** Chondrogenesis and homology of the visceral skeleton in the little skate, *Leucoraja erinacea* (Chondrichthyes: Batoidea). *Journal of Morphology* 270: 628-643.

**Green M, R Ho & M Hale. 2011.** Movement and function of the pectoral fins of the larval zebrafish (*Danio rerio*) during slow swimming. *The Journal of Experimental Biology* 214: 3111-3123.

**Hernández-León S. 2008.** Natural variability of fisheries and lunar illumination: a hypothesis. *Fish and Fisheries* 9: 138-154.

**Hernández-Miranda E, A Palma & P Ojeda. 2003.** Larval fish assemblages in nearshore coastal waters off central Chile: temporal and spatial patterns. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 56: 1075–1092

**Klingenberg C. 2009.** Morphometric integration and modularity in configurations of landmarks: tools for evaluating a priori hypotheses. *Evolution & Development* 11(4): 405-421.

**Klingenberg C. 2011.** Morpho J: an integrated software package for geometric morphometrics. *Molecular Ecology Resources* 11: 353–357.

**Klingenberg C. 2014.** Studying morphological integration and modularity at multiple levels: concepts and analysis. *Philosophical Transactions of the Royal Society* 369: 20130249.

**Klingenberg C. 2016.** Size, shape, and form: concepts of allometry in geometric morphometrics. *Development Genes and Evolution* 3: 113-37.

**Koumoundouros G, P Divanach & M Kentouri. 1999.** Ontogeny and allometric plasticity of *Dentex dentex* (Osteichthyes: Sparidae) in rearing conditions. *Marine Biology* 135: 561-572.

**Kováč V. 2002.** Synchrony and Heterochrony in Ontogeny (of Fish). *Journal of Theoretical Biology* 217: 499 - 507.

**Krumme U, M Brenner & U Saint-Paul. 2008.** Spring-neap cycle as a major driver of temporal variations in feeding of intertidal fishes: Evidence from the sea catfish *Sciades herzbergii* (Ariidae) of equatorial west Atlantic mangrove creeks. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 367: 91–99.

**Landaeta MF & LR Castro. 2002.** Spring spawning and early nursery zone of the mesopelagic fish *Maurolicus parvipinnis* at the coastal upwelling zone off Talcahuano, central Chile. *Marine Ecology Progress Series* 226: 179-191.

**Landaeta MF, GA Herrera, M Pedraza, CA Bustos & LR Castro. 2006.** Reproductive tactics and larval development of bigeye flounder, *Hippoglossina macrops*, off central Chile. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 86: 1253-1264.

landmarks: tools for evaluating a priori hypotheses. *Evolution & Development* 11: 405-421.

**Lasker R. 1975.** Field criteria for survival of anchovy larvae: the relation between inshore chlorophyll maximum layers and successful first feeding. *Fishery Bulletin* Vol. 73.

**Lima A & M Barletta. 2016.** Lunar influence on prey availability, diet shifts and niche overlap between Engraulidae larvae in tropical mangrove creeks. *Journal of Fish Biology*. 4: 2133-2152.

**Loffler J, A Ott, H Anheld & H Keckeis. 2008.** Early development of the skull of *Sander lucioperca* (L.) (Teleostei: Percidae) relating to growth and mortality. *Journal of Fish Biology* 72: 233-258.

**Loy A, M Bertelletti, C Costa, L Ferlin & S Cataudella. 2001.** Shape Changes and Growth Trajectories in the Early Stages of Three Species of the Genus *Diplodus* (Perciformes, Sparidae). *Journal of Morphology* 250:24–33.

**Loy A; L Mariani; M Bertelletti & L Tunesi. 1998.** Visualizing Allometry: Geometric Morphometrics in the Study of Shape Changes in the Early Stages of the Two-Banded Sea Bream, *Diplodus vulgaris* (Perciformes, Sparidae). *Journal of Morphology* 237: 137–146

**Menegola E, ML Broccia & E Giavini. 2001.** Atlas of rat fetal skeleton double stained for bone and cartilage. *Teratology* 64:125-133.

**Menge BA, J Lubchenco, MES Bracken, F Chan, MM Foley, TL Freidenburg\*, SD Gaines, G Hudson, C Krenz, H Leslie, DNL Menge, R Russell & MS Webster. 2003.** Coastal oceanography sets the pace of rocky intertidal community dynamics. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 21: 12229–12234.

**Mitteroecker P, P Gunz, S Windhager & K Schaefer. 2013.** A brief review of shape, form, and allometry in geometric morphometrics, with applications to human facial morphology. *Hystrix, the Italian Journal of Mammalogy* 24 (1): 59–66.

**Narváez D, E Poulin, G Leiva, E Hernández, J Castilla & S Navarrete. 2004.** Seasonal and spatial variation of nearshore hydrographic conditions in central Chile. *Continental Shelf Research* 24: 279-292.

**Narváez D, S Navarrete, J Largier & C Vargas. 2006.** Onshore advection of warm water, larval invertebrate settlement, and relaxation of upwelling off central Chile. *Marine Ecology Progress Series* 309: 159-173.

**Núñez-Farfan J, S Careaga, J Fornoni, L Ruiz-Montoya & P Valverde. 2003.** La evolución de la plasticidad fenotípica 1: 16-24.

**Osse JWM & JGM van den Boogaart. 1995.** Fish larvae, development, allometric growth, and the aquatic environment. Marine Science Symposia 201: 21-34.

**Osse JWS, JGM van den Boogaart, GMJ van Snik & L van der Sluys. 1997.** Priorities during early growth of fish larvae. Aquaculture 155: 249 - 258.

**Pelabon C, C Firmat, G Bolstad, K Voje, D Houle, J Cassara, A Le Rouzic & T Hansen. 2014.** Evolution of morphological allometry. Annals of the New York Academy of Sciences 1320: 58–75.

**Pelabon C, G Bolstad, C Egset, J Cheverud, M Pavlicev & G Rosenqvist. 2013.** On the Relationship between Ontogenetic and Static Allometry. The American Naturalist 181: 195-212.

**Peterman R & M Bradford. 1986.** Wind Speed and Mortality Rate of a Marine Fish, the Northern Anchovy (*Engraulis mordax*). Science Vol. 235.

**Román-Valencia C, D Arcila-Mesa<sup>1</sup> & H Hurtado. 2009.** Variación morfológica de los peces *Hemibrycon boquiae* y *Hemibrycon rafaelse* (Characiformes: Characidae) en el Río Cauca, Colombia. Revista de Biología Tropical 3: 541-556.

**Russo T, D Pulcini, E Bruner & S Cataudella. 2009.** Shape and Size Variation: Growth and Development of the Dusky Grouper (*Epinephelus marginatus* Lowe, 1834). Journal of Morphology 270: 83-96.

**Russo T, C Costa & S Cataudella. 2007.** Correspondence between shape and feeding habit changes throughout ontogeny of gilthead sea bream *Sparus aurata* L., 1758. *Journal of Fish Biology* 71: 629-656.

**Sáez S & G Pequeño. 2009.** Updated, illustrated and annotated taxonomic key for fishes of the family Labrisomidae from Chile (Perciformes: Blennioidei). *Gayana* 73(1): 130-140.

**Tapia F, J Largier, M Castillo, E Wieters & S Navarrete. 2014.** Latitudinal Discontinuity in Thermal Conditions along the Nearshore of Central-Northern Chile.

**Toro M, G Manriquez & I Suazo. 2010.** Morfometría geométrica y el estudio de las formas biológicas: de la morfología descriptiva a la morfología cuantitativa. *International Journal of Morphology* 28(4): 977-990.

**Vera-Duarte J & MF Landaeta. 2015.** Diet of labrisomid blenny *Auchenionchus variolosus* (Valenciennes, 1836) (Labrisomidae) during its larval development off central Chile (2012-2013). *Journal of Applied Ichthyology* 32: 46-64.

**Watson W. 1996.** LABRISOMIDAE: Labrisomid kelpfishes. En: H.G. Moser (Editor), *The Early Stages of Fishes in the California Current Region*, CalCOFI Atlas 33. pp. 1151-1163, Allen Press, Inc., Lawrence, Kansas.

**Winkler N, M Paz-Goicoechea, R Lamb & A Pérez-Matus. 2017.** Diet reveals links between morphology and foraging in a cryptic temperate reef fish. *Ecology and Evolution* 1–11.

**Woodson CB & MA McManus. 2007.** Foraging behavior can influence dispersal of marine organisms. *Limnology and Oceanography* 6: 2701–2709.

**Zagarese H & C Williamson . 2001.** The implications of solar UV radiation exposure for fish and fisheries. *Fish and Fisheries* 2: 250–260.

**Zaniolo F, F Borges, H Figueiredo & J Sabino. 2004.** Courtship behavior and spawning of the hairy blenny *Labrisomus nuchipinnis* (Labrisomidae) in southeastern Brazil. *Neotropical Ichthyology* 2(3):163-166.

**Zavala-Muñoz F, Landaeta F, Bernal-Durán V, G Herrera & D Brown. 2016.** Larval development and shape variation of the kelpfish *Myxodes viridis* (Teleostei: Clinidae). *Scientia Marina* 80 (1): 39-49.

**Zavala-Muñoz F. 2015.** ¿Pueden los caracteres larvales ayudar a la identificación? un caso de estudio sobre el género *Myxodes* (Osteichthyes: Clinidae). Tesis de grado, Facultad de Ciencias del Mar y de Recursos Naturales, Universidad de Valparaíso, Chile, Valparaíso, 65 pp.

**Zelditch M, D Swiderski & H Sheets. 2012.** *Geometric Morphometrics for Biologists: A Primer*, 478 pp. Academic Press. San Diego, USA.