

**Análisis morfométrico de estructuras vinculadas a la alimentación
en larvas de *Diogenichtys laternatus* y *Triphoturus mexicanus* aff.
oculeus (Myctophiformes, Myctophidae).**

Luis Rubio Albertoni

**Tesina para optar al grado de
Licenciado en Ciencias Biológicas
opción Ecología
2016**



**Universidad de la República
Facultad de Ciencias**



Análisis morfométrico de estructuras vinculadas a la alimentación en larvas de *Diogenichtys laternatus* y *Triphoturus mexicanus* aff. *oculeus* (Myctophiformes, Myctophidae).

Luis Rubio Albertoni

Director: Dra. Laura Rodríguez-Graña

Co-director: Dr. Marcelo Loureiro

Miembros del tribunal

Dr. Richard Fariña

Dr. Alejandro D'Anatro

Tesina para optar al grado de
Licenciado en Ciencias Biológicas
opción Ecología

Facultad de Ciencias
Universidad de la República
Montevideo, Uruguay

Agosto 2016

AGRADECIMIENTOS/DEDICATORIA

A mis viejos y hermanos por la vida, la personalidad forjada y todo el apoyo que siempre dieron y darán.

A los amigos, no hace falta más.

A Ángel, Malvina, Nathalie y Matías por hacerme el aguante en ese primer año de vuelta a la Facu, sin ellos seguro no prosperaba.

En particular a Angelito, gracias por todo compadre.

A mis tutores por la paciencia y a los aportes que junto con los de los integrantes del tribunal redondearon el trabajo.

A Leti, Emi y Fede que me han hecho creer. Por el amor, la pertenencia y la familia propia, que dieron la base emocional para finalizar y seguir con lo que venga.

ÍNDICE

i. RESUMEN	4
1. INTRODUCCIÓN	6
2. OBJETIVOS E HIPÓTESIS	9
3. MÉTODOS	10
3.1 Obtención de muestras	10
3.2 Aclarado y tinción de ejemplares	10
3.3 Análisis morfométrico	10
3.4 Alometría multivariada	12
3.5 Morfometría geométrica	14
4. RESULTADOS	17
4.1 Aclarado y tinción de ejemplares	17
4.2 Alometría multivariada	19
4.3 Morfometría geométrica	24
5. DISCUSIÓN	27
5.1 Desarrollo osteológico de <i>D. laternatus</i> y <i>T. mexicanusaff. oculus</i> .	27
5.2 Cambios ontogénicos en el crecimiento y la forma de larvas de <i>D. laternatus</i> y <i>T. mexicanusaff. oculus</i> .	28
6. CONCLUSIONES	31
7. BIBLIOGRAFÍA	32

i. RESUMEN

Las larvas de peces presentan características en su historia de vida que difieren de los adultos, con altas tasas de mortalidad que pueden llegar al 99% debido a su alta vulnerabilidad a la depredación y la inanición. En aguas oceánicas y talud de la plataforma continental, el orden Mictofiformes es el más abundante en la capa mesopelágica, cumpliendo un rol fundamental en la exportación de carbono desde la superficie hacia aguas más profundas. Sus larvas también son abundantes en la comunidad del ictioplancton. La familia Myctophidae está compuesta por dos subfamilias (Myctophinae y Lampanictidae) que difieren tanto adultos como sus larvas, en su comportamiento migratorio vertical y preferencia espacial (profundidad). El presente estudio se enfocó en los primeros estadios de dos especies de mictófidos co-ocurrentes en el Pacífico Sur frente al norte de Chile, cada una pertenecientes a diferentes subfamilias: *Diogenichtys laternatus*) y *Triphoturus mexicanusaff. oculus*. A través de lamorfometría larval, este estudio aportó información que contribuye a comprender cómo las larvas de estas especies hacen uso del espacio, compiten por recursos, convirtiéndolas en dos de las especies más abundantes de dicha zona. Para ello se compararon los cambios en la ontogenia del aparato bucal y otras estructuras asociadas a la alimentación en base a dos aproximaciones: alometría multivariada y morfometría geométrica en larvas de *Diogenichtys laternatus* y *Triphoturus mexicanusaff. oculus* (entre 3.2 mm y 10.8mm de largo corporal). Previo a su análisis, las larvas debieron ser aclaradas y teñidas con el fin de visualizar correctamente las estructuras. Los resultados muestran diferencias en el crecimiento de las dos especies, que concuerdan tanto con características anatómicas de cada subfamilia así como en la distribución vertical. Se infiere que *D. laternatus* tendría ya desde estadios muy tempranos mayor capacidad de nado y de captura de presas (adecuado para un ambiente con menor disponibilidad de alimento, más profundo), que *T. mexicanusaff. oculus*. Esta especie tendría una menor capacidad de nado y captura de presas en larvas más pequeñas, (coincidiendo con una distribución más superficial con mayor oferta de alimento), pero aumenta rápidamente el ancho de su boca con el desarrollo para poder suplir la creciente demanda energética a través de la ingesta de

presas de mayor tamaño. La utilización de estas dos técnicas de análisis se mostró adecuada ya que se complementaron, mejorando la comprensión de los resultados.

PALABRAS CLAVE. Larvas, mictófidios, Alometría Multivariada, Morfometría Geométrica, *Diogenichthys laternatus*, *Triphoturus mexicanus*aff. *oculeus*.

1. INTRODUCCIÓN

Los peces presentan en sus ciclos de vida estadios larvales que son morfológicamente distintos a los adultos y/o habitan diferentes ambientes que éstos (Hall & Wake 1999). Esto determina que varias características o parámetros de la historia de vida difieran entre estadios. Por ejemplo la mortalidad natural de los estadios larvales en especies marinas es mayor al 99%, disminuyendo a medida que el desarrollo avanza (Hall & Wake 1999; Fuiman & Werner 2000). Algunas de las principales causas propuestas para esta alta mortalidad son la depredación y la muerte por inanición (Hall & Wake 1999). La forma de alimentación varía durante el desarrollo larval, en los primeros días de vida la larva se alimenta de las reservas contenidas en el saco vitelino (alimentación endógena) y posteriormente de presas (alimentación exógena) (Hall & Wake 1999). La detección y captura de presas son etapas relevantes en el proceso de alimentación exógena, las cuáles se ven influenciadas por la oferta, tipo y calidad de las mismas en el ambiente. Otro factor importante que influye en el éxito de la alimentación es la morfología corporal asociada a cambios en el desarrollo. Debido a que las larvas a medida que crecen consumen presas de mayor tamaño (Gerking 1994, Sabatés & Saiz 2000), necesitarán de la aparición y desarrollo de estructuras que le permitan perseguir, capturar y manipular sus presas (Lagler *et al.* 1977). Dichas estructuras han evolucionado en relación a las características del ambiente y a la captura de alimento (Labropoulou & Eleftheriou 1997). Entre las adaptaciones se destacan variaciones en largo y forma de las aletas (Lasker 1984), el largo mandibular y dentición (Rodríguez *et al.* 2005), o el ancho y posición de la boca (Lukoschek & McCormick 2001); la aparición y tiempo del desarrollo de las estructuras alimentarias también juegan un papel crítico en las tasas de supervivencia en las distintas especies de peces (von Herbing *et al.* 1996).

Los peces del orden Myctophiformes poseen una amplia distribución global, siendo parte de las comunidades mesopelágicas de todos los océanos (Paxton 1972, Hulley 1981, Kinzer & Schulz 1985). En muchas de estas áreas representan la mayor parte de la biomasa

de las capturas de media agua (Paxton 1972, Hulley 1981). También ocupan un importante estatus trófico como consumidores de zooplancton, y debido a sus migraciones verticales son una vía de exportación de Carbono desde los estratos superficiales hacia aguas profundas (Pakhomov *et al.* 1996, Gorelova 1983). La familia Myctophidae incluye aproximadamente 230 a 250 especies (Paxton 1972, 1979) que se agrupan en dos subfamilias; Myctophinae (14 géneros) y Lampanyctinae (18 géneros), las que están caracterizadas morfológicamente por tener ojos elípticos y redondeados respectivamente (Sabatés & Saiz 2000). Esta diferencia en la morfología ocular puede tener un rol adaptativo de acuerdo a su posición en la columna de agua, existiendo evidencias de que los ojos de forma elíptica podrían tener un mayor campo visual que los redondeados (Sabatés & Saiz 2000). Durante el desarrollo, las larvas de mictófididos exhiben variaciones en la tasa de crecimiento y forma en diversas estructuras corporales, por ejemplo en las tasas de crecimiento de la boca y pedúnculo caudal, junto con variaciones en el largo y forma de las aletas (Moser 1984).

En la comunidad mesopelágica del Pacífico Sudoriental, frente a Chile (18°-39°S) coexisten dos especies de mictófididos, que son dominantes (Acuña 1987), en las cuáles se centra este trabajo. *Diogenichtys laternatus* pertenece a la subfamilia Myctophinae, sus larvas ocupan un rango de profundidades entre 0 a 150 m, teniendo migraciones verticales (Sameoto 1981) y *Triphoturus mexicanus aff. oculus* a la subfamilia Lampanyctinae cuyas larvas se concentran en el estrato más superficial (0-50 m) y no realizaría migraciones (Rodríguez-Graña 2003). Estas especies difieren en sus preferencias alimentarias y rangos de tamaños de presas aunque bajo condiciones de buena abundancia de presas, pueden presentar sobreposición trófica (Rodríguez-Graña *et al.* 2005).

La forma de un organismo está determinada por diversos factores como ser las características del hábitat y sus hábitos tróficos. Estos factores pueden cambiar en las distintas etapas de vida del individuo, por lo que la variabilidad en las condiciones que afectan el crecimiento, desarrollo o maduración pueden crear diversas formas corporales

dentro de una misma especie (Walker 1996). Esta variabilidad de formas se puede manifestar en los estadios que experimenta el individuo dentro de una población. En términos morfométricos, las estructuras biológicas tienen dos componentes: tamaño y forma, siendo la forma la más informativa para definir entidades biológicas o realizar agrupaciones de individuos en la naturaleza (Monteiro-Filho *et al.* 2002, Walker 1996, Cadrin 2000, Monteiro & Furtado 1999). Una metodología de abordar estudios sobre cambios morfométricos es mediante la aplicación de técnicas de alometría multivariada (Tzong-Der Tzeng 2004) y morfometría geométrica. La alometría multivariada se basa en la comparación de las tasas de crecimiento de diferentes variables, mientras que la morfometría geométrica estudia cambios en la forma, independientemente del tamaño de los individuos.

Son escasos los estudios que se centren en las diferencias morfológicas entre estadios larvales de especies coexistentes (Labropoulou & Eleftheriou 1997). El conocer estas diferencias morfo-funcionales y abordarlas dentro de un contexto ecológico, permiten una mejor comprensión sobre cómo las especies utilizan el hábitat y los recursos existentes. En ese sentido este estudio amplía los antecedentes descritos para las larvas de *D. laternatus* y *T. mexicanus aff. oculus* (Rodríguez-Graña 2003, Rodríguez-Graña & Castro 2003, Rodríguez-Graña *et al.* 2005) y contribuye a comprender la relación entre morfología corporal, uso del hábitat y ecología trófica en dos especies relevantes en ecosistemas de surgencia (Rodríguez & Castro 2000).

2. OBJETIVOS e HIPÓTESIS

El objetivo general de este estudio fue describir y analizar los cambios en el crecimiento y la forma corporal durante el desarrollo larval de *D. laternatus* y *T. mexicanusaff. oculus*, con énfasis en aquellos caracteres asociados con la alimentación.

Como hipótesis de trabajo se propone:

Existen diferencias morfológicas estructurales que reflejan diferentes mecanismos de alimentación entre estas especies emparentadas lo que les permite minimizar la competencia interespecífica, favoreciendo su co-ocurrencia espacial.

Objetivos específicos:

1. Perfeccionar la técnica de Potthoff (1983) destinada a aclarar y teñir las larvas para identificar estructuras rígidas.
2. Analizar el patrón de crecimiento en estructuras tales como boca, pedúnculo caudal, ojos, cabeza y tronco durante la ontogenia, mediante el análisis de alometría multivariada.
3. Analizar los cambios en la forma durante la ontogenia, utilizando análisis de morfometría geométrica.

3. MÉTODOS

3.1 Obtención de muestras

Se utilizaron larvas de *D. laternatus* y *T. mexicanusaff. oculus* (Fig. 1) obtenidas en el marco del proyecto sectorial FONDECYT 5960002-1996 (Chile). Las muestras se colectaron frente a Antofagasta (23°S), Chile, durante enero y julio de 1997. Todos los ejemplares fueron fijados en formol al 4% y neutralizado con bórax. Mayor información sobre el área de colecta y las características de muestreo puede consultarse en Rodríguez-Graña & Castro (2003).

3.2 Aclarado y tinción de ejemplares

Para visualizar las estructuras corporales rígidas (cartílago y hueso) se modificó la técnica de tinción de Potthoff (1983) que consiste en *i*) aclarado (digestión de las proteínas con tripsina y la acción de una base KOH), *ii*) doble tinción de tejido cartilaginoso y óseo (con colorantes azul de Alcianina y rojo de Alizarina respectivamente). Esta tinción es fundamental para poder visualizar y localizar los marcos anatómicos ("*landmarks*": puntos de referencia a partir de los cuáles se miden las variables morfométricas) utilizados en morfometría geométrica (ver siguiente sección). Se realizaron tres pruebas de tinción para determinar las concentraciones de reactivos y los tiempos de teñido de tejido cartilaginoso y óseo que permitieran una apropiada visualización del cartílago y hueso (Tabla 3).

3.3 Análisis morfométrico

Los cambios morfométricos que se producen durante la ontogenia en larvas de ambas especies se estudiaron utilizando dos aproximaciones: morfometría clásica y geométrica. Se analizaron los cambios y variación en la forma y las tasas de crecimiento en

tronco, cabeza, boca, pedúnculo caudal y ojos a nivel intraespecífico y diferencias interespecíficas en éstas estructuras a tallas similares.

En larvas de peces se definen tres estadios de desarrollo:

Preflexión, con la notocorda recta y la aleta caudal apenas comenzando a formarse en la cara ventral de la notocorda.

Flexión, la notocorda comienza a curvarse, rápido desarrollo de los radios de las aletas, cambios en la forma corporal, habilidad de movimiento y hábitos alimentarios.

Postflexión, la sección de la notocorda de la aleta caudal está en un ángulo de 45° con el eje de la notocorda, los radios de las aletas aún no están completamente desarrollados.

El estadio larval finaliza con el comienzo de la transformación en juvenil

***Diogenichthys laternatus* (Garman, 1899)**



***Triphoturus mexicanus aff. oculus* (Gilbert, 1890)**

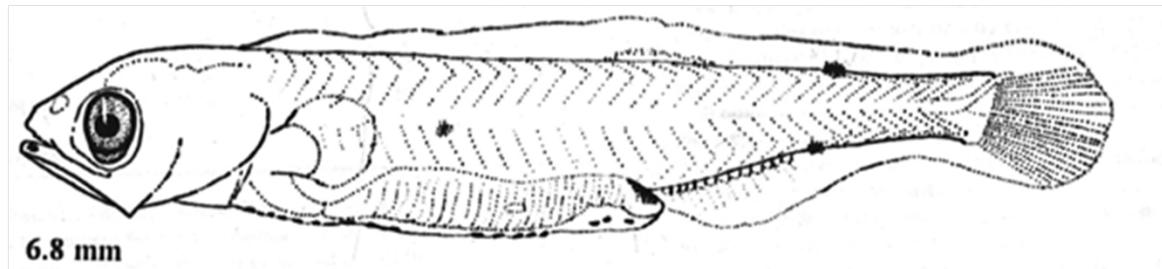


Figura 1. Dibujos esquematizando larvas de *D. laternatus* y *T. mexicanus aff. oculus* entrando al estadio de postflexión (modificado de Rodríguez-Graña 2003 y Rodríguez-Graña et al. 2004).

3.4 Alometría Multivariada

A cada individuo se le tomaron tres fotografías (lateral, dorsal y ventral), con una cámara digital instalada en una lupa binocular Leica (40x). Las fotografías fueron analizadas con el programa para análisis de imágenes “ImagePro”®.

Para el estudio morfométrico se midieron sobre las fotografías nueve longitudes (variables del análisis, figs. 2 y 3). Estas variables fueron elegidas por su vinculación con la alimentación de los individuos y están dirigidas principalmente a captar cambios en el crecimiento de boca, cabeza, ojos, tracto digestivo y robustez (Tabla 1).

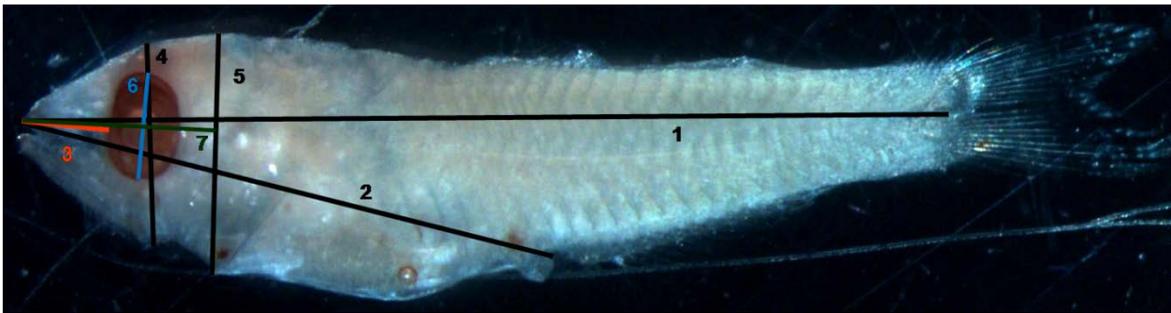


Figura 2. Ejemplar sin teñir de *Diogenichthys laternatus* de 8.5 mm (LN). Los números indican las variables longitudinales obtenidas en las fotos laterales LN (1), LHA (2), LH (3 en color rojo), ACA (4), ACO (5), DO (6 en color azul), LC (7 en color verde). Los acrónimos se detallan en la tabla 1.

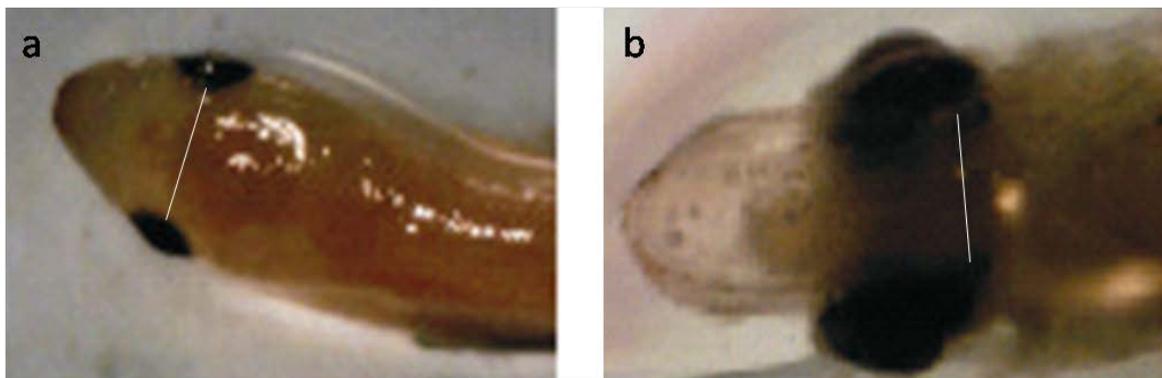


Figura 3. Ejemplar sin teñir de *Diogenichthys laternatus*. A) Foto dorsal donde se mide el ancho de la cabeza. B) Foto ventral donde se mide la apertura de la boca.

Tabla 1. Variables utilizadas para el análisis de alometría multivariada.

Nombre	Acrónimo	Descripción
Largo	LN	Desde el extremo anterior de la mandíbula superior hasta el final de la notocorda en individuos preflexión y hasta el pedúnculo caudal en flexión y postflexión
Hocico-ano	LHA	Desde el extremo de la mandíbula superior hasta el ano
Hocico	LH	Desde el extremo anterior de la mandíbula superior hasta la parte anterior del ojo
Altura de cabeza	ACA	Medida desde la parte superior de la cabeza hasta la mandíbula inferior pasando por la línea media del ojo
Altura corporal	ACO	Desde la parte superior a la inferior del cuerpo pasando por la primera vértebra
Diámetro ocular	DO	Diámetro mayor del ojo
Ancho de cabeza	HW	Ancho de la cabeza inmediatamente atrás de los ojos
Largo de cabeza	LC	Desde el extremo de la mandíbula superior hasta la primera vértebra
Apertura bucal	AB	Medida entre las comisuras de la boca

Para determinar si se presentan cambios morfológicos en las estructuras alimentarias durante el crecimiento, se realizaron regresiones simples pareadas entre el Largo Total y el largo de las variables previamente definidas para cada especie. El análisis visual de los residuales de las regresiones basado en Drapper & Smith 1966, permite inferir la ocurrencia de cambios en el comportamiento de las variables durante la ontogenia. La desviación de los residuales del patrón uniforme esperado puede indicar transiciones y cambios en la forma del crecimiento (Drapper & Smith 1966).

El análisis de alometría multivariada nos permite registrar la tasa relativa de crecimiento de cada variable (Kowalewski *et al.* 1997). Este análisis es una generalización multivariada de la ecuación de alometría:

$$y = ax^b$$

donde x e y son las variables a considerar (e.g. largo corporal y ancho de boca), a es una medida relativa inicial y b es el coeficiente alométrico (Joelicoeur 1963). Los datos son logaritmizados y sujetos a un análisis de componentes principales (rutina

Multivariate Allometry, Past®). El coeficiente alométrico (CA) para cada variable original se calcula dividiendo el componente principal 1 (PC1) de esa variable sobre el PC1 medio de todas las variables. Se estimaron los intervalos de confianza para cada coeficiente alométrico. De esta manera los cambios de cada variable con el desarrollo se clasificaron en 3 categorías: i) las variables que presenten un $CA < 1$ crecerán más lentamente que el promedio del conjunto, ii) las que tengan $CA = 1$ crecerán como el promedio del conjunto, iii) las variables con un $CA > 1$ crecerán más rápido que el promedio del conjunto definido por todas las variables morfométricas.

Debido a que los residuales de las regresiones pareadas indicaron un cambio en el comportamiento de varias variables a los 6 mm de talla (esta talla coincide aproximadamente con el estadio de flexión para las larvas de ambas especies; Figs. 6 y 8), el análisis de alometría multivariada se realizó agrupando los individuos en dos categorías de tamaño para cada especie: individuos $< 6\text{mm}$ e individuos $> 6\text{mm}$. De esta manera cada categoría de talla en cada especie presentó un conjunto de coeficientes alométricos.

3.5 Morfometría geométrica

Cada ejemplar fue fotografiado digitalmente, las fotografías se ingresaron en el programa TPSDIG 1.31 donde se referenciaron 10 *landmarks* (Fig. 4, Tabla 2).

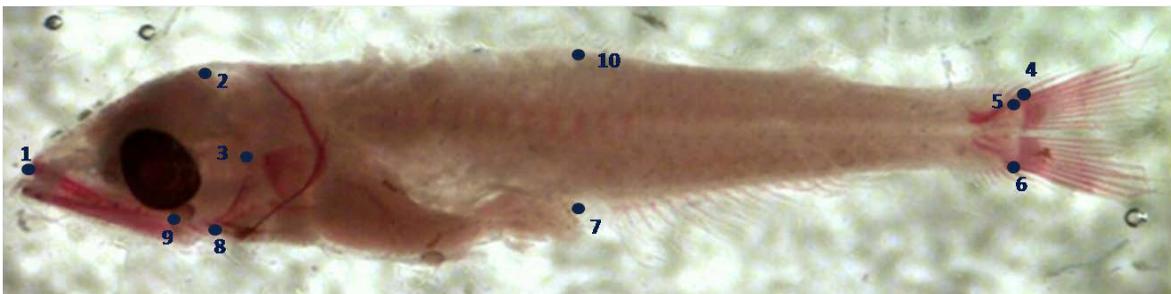


Figura 4. Landmarks ubicados en un ejemplar teñido de *D. laternatus* en estadio postflexión. Nombre y posición de los landmarks: 1) hocico, 2) cráneo, 3) opérculo, 4) pedúnculo caudal I, 5) pedúnculo caudal II, 6) pedúnculo caudal III, 7) ano, 8) opérculo bajo, 9) mandíbula, 10) cuerpo. Descripción en tabla 2.

Tabla 2. Landmarks utilizados para el análisis de morfometría geométrica.

Nombre	Número	Descripción
Hocico	1	Extremo anterior del individuo
Cráneo	2	Extremo posterior del cráneo
Opérculo	3	Inserción del opérculo con el cuerpo
Pedúnculo caudal I	4	Extremo superior del pedúnculo caudal
Pedúnculo caudal II	5	Final de la notocorda o extremo del pedúnculo caudal (según corresponda)
Pedúnculo caudal III	6	Extremo inferior del pedúnculo caudal
Ano	7	Inserción del ano con el cuerpo
Opérculo bajo	8	Parte inferior del opérculo
Mandíbula	9	Punto de unión de la mandíbula superior con la inferior
Cuerpo	10	Extremo superior del cuerpo a la altura de la inserción del ano

En los ejemplares de menor tamaño de *T. mexicanusaff. oculus* los extremos superior e inferior del pedúnculo caudal no están presentes, y tienen un muy escaso desarrollo de tejido blando al final de la notocorda. Es debido a ello que la comparación de la forma del final del cuerpo durante la ontogenia se basó en utilizar los *landmarks* juntos al final de la notocorda hasta que los extremos caudales se diferencien.

Al no contar con aletas diferenciadas en las primeras etapas de desarrollo, la evolución de la forma en la parte media del tronco se basó en ubicar un *landmark* en la inserción del ano y otro asociado a éste en la parte superior del cuerpo. Aunque no se encuentren estructuras duras asociadas, esto proporciona información descriptiva relevante.

El programa TPSRELW 1.24 traslada, reescala y rota las formas definidas, con el fin de evitar que la posición o tamaño de los ejemplares influyan en el análisis. Luego genera

una configuración consenso o media de los individuos estudiados, la que puede utilizarse como referencia para observar los cambios ontogénicos en la forma en cada etapa del desarrollo. Con el programa TPSREGR se realizaron regresiones entre la forma de cada individuo y su longitud.

4. RESULTADOS

4.1 Aclarado y tinción de ejemplares

La técnica de Potthoff (1983) para el aclarado y tinción de larvas se mostró muy agresiva en los individuos disponibles para el estudio debido a su estado de preservación, por lo que se realizaron 3 ensayos con 15 individuos cada uno, modificando o eliminando algunos de los pasos originales con el fin de obtener ejemplares aptos para los estudios a realizar. La última prueba arrojó los mejores resultados de tinción, el protocolo definitivo se basó en esta última (Tabla 3, Fig. 5).

Tabla 3. Protocolo utilizado para el aclarado y tinción de estructuras duras en larvas de *D. laternatus* y *T. mexicanusaff. oculus* (modificado de Potthof 1983).

Tratamiento	Solvente	Original	Prueba1	Prueba2	Prueba3
1)Deshidratación	50% agua destilada, 50% EtOH 95	24h	24h	24h	24h
	100% Alcohol absoluto	24h	24h	24h	24h
2)Tinción de cartílago	70% Alcohol absoluto, 30% Ac. Acético, 30mg de Azul de Alcianina (colorante)	24h	24h	24h	24h
3)Neutralización	Agua destilada saturada en bórax	12h	12h	24h	48h
4)Blanqueo	15 ml 3% H2O2, 85ml 1%KOH	20 min.	20 min.	No usado	No usado
5)Digestión en Tripsina	Agua destilada con Tripsina	Tiempo necesario		48h	24h
6)Tinción ósea	Agua destilada con 1% KOH, rojo de Alizarina (colorante)	24h			24h
7)Preservación	70% agua destilada con 1% KOH, 30% glicerina	48h			48h
	40% agua destilada con 1% KOH, 60% glicerina	72h			72h
	100% glicerina	Conservante final			Conservante final

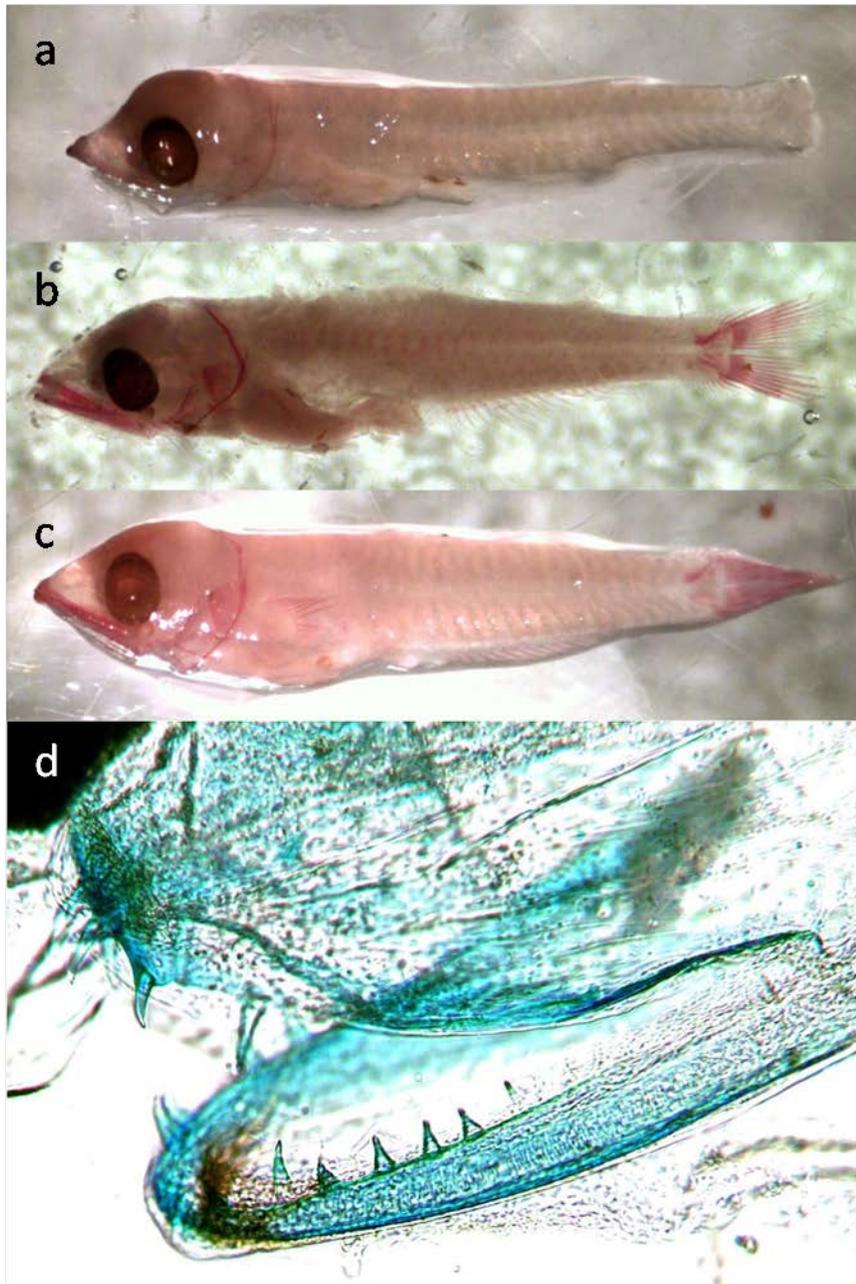


Figura 5. Ejemplo de aplicación de la técnica de Potthoff. Se aprecia la tinción de los huesos en color rojo correspondiente al rojo de alizarina en ejemplares postflexión de a) y c) *T. mexicanusaff. oculus* y b) *D. laternatus*. Detalle de la boca de *D. laternatus* en la que el cartílago se tiñó con azul de Alcianina (d).

4.2 Alometría Multivariada

Para realizar el análisis de alometría multivariada se utilizaron 100 individuos de *D. laternatus* y 70 de *T. mexicanusaff. oculus*. En la tabla 4 se detallan los rangos de talla de las larvas utilizadas.

Tabla 4. Longitudes (en milímetros) de las larvas utilizadas para el estudio de alometría multivariada.

Variable	<i>D. laternatus</i> (N=100)	<i>T. mexicanusaff. Oculus</i> (N=70)
Talla mínima	3.5562	3.2007
Talla máxima	10.8586	10.0702
Media	5.8308	4.9973
Mediana	5.6381	4.5570
Error estándar	0.1516	0.1856
Desvío estándar	1.5159	1.5530

Este análisis mostró diferencias inter-específicas en las tasas de crecimiento de algunas de las variables analizadas, así como diferencias intra-específicas entre los dos rangos de tallas propuestos (individuos < 6 mm y > 6 mm).

Diogenichthys laternatus

El análisis de residuales del largo total respecto al resto de las variables mostró un cambio (aproximadamente a los 6 mm de largo) en la tendencia para el largo del hocico y la longitud hocico-ano, que se corresponde al estadio de flexión (Fig. 6).

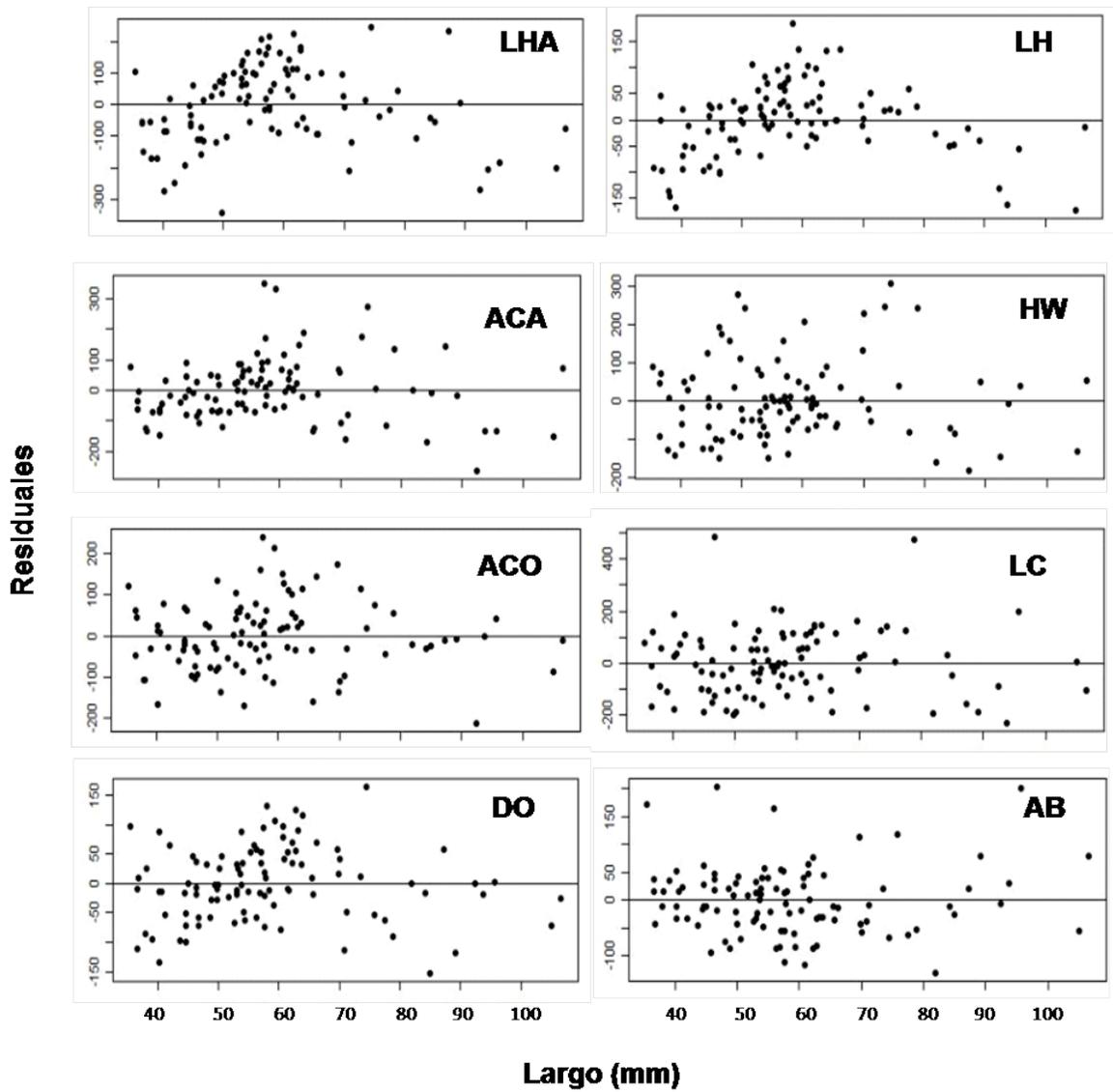


Figura 6. Residuales de las regresiones de largo total respecto a las 8 variables morfométricas definidas para *Diogenichtys laternatus* (ver tabla 1).

En cuanto a las tasas de crecimiento se aprecian diferencias entre los dos grupos de tallas analizados (Fig. 7).

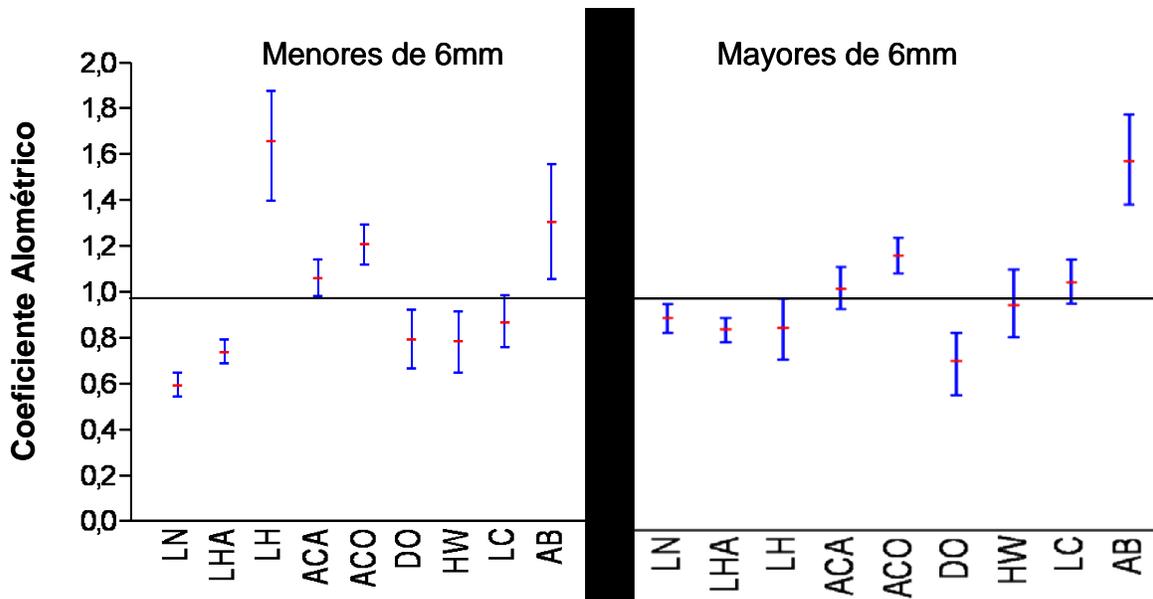


Figura 7. Análisis de alometría multivariada en *D. laternatus*. Individuos menores de 6mm (izquierda) e individuos mayores a 6 mm (derecha). Las barras azules representan el desvío estándar. Los acrónimos se detallan en la figura 6.

En individuos menores a 6mm se observó un crecimiento rápido del hocico que no se observa en los ejemplares mayores. El largo corporal crece por debajo del promedio de las variables en los individuos menores (CA=0,6), pero aumenta su crecimiento en los mayores a 6mm (CA=0,9).

Triphoturus mexicanusaff. oculus

Se observó un cambio en la tendencia de los residuales a los 6 mm de largo (coincide aproximadamente con el estadio de flexión) asociado a las variables: hocico-ano, diámetro del ojo, largo del hocico, altura corporal y altura de la cabeza (Fig. 8).

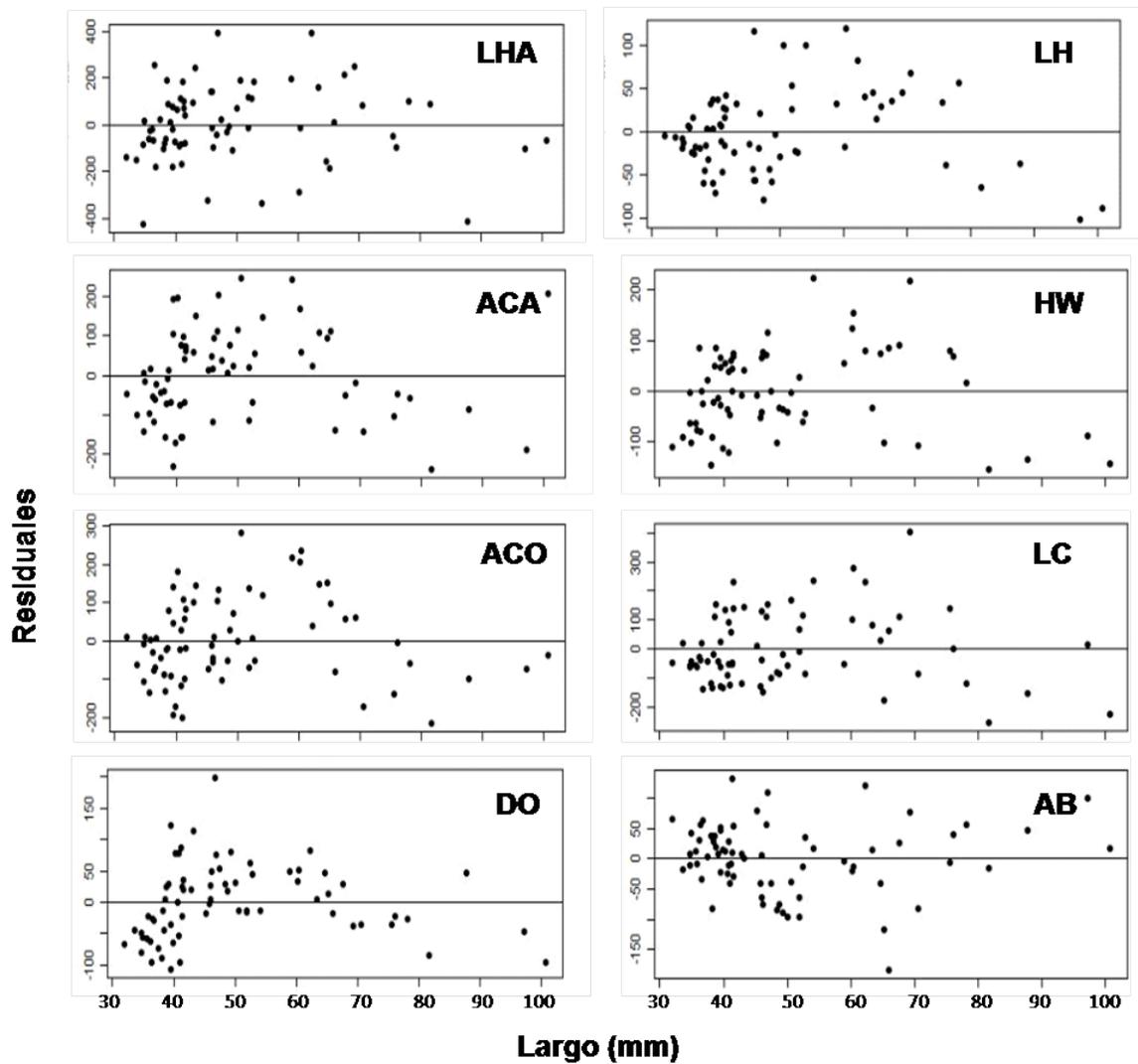


Figura 8. Residuales de las regresiones de largo total respecto a las 8 variables morfométricas definidas para *Triphoturus mexicanusaff. Oculeus* (ver tabla 1).

Las tasas de crecimiento fueron distintas para algunas variables entre los individuos menores y mayores a 6mm (Fig. 9).

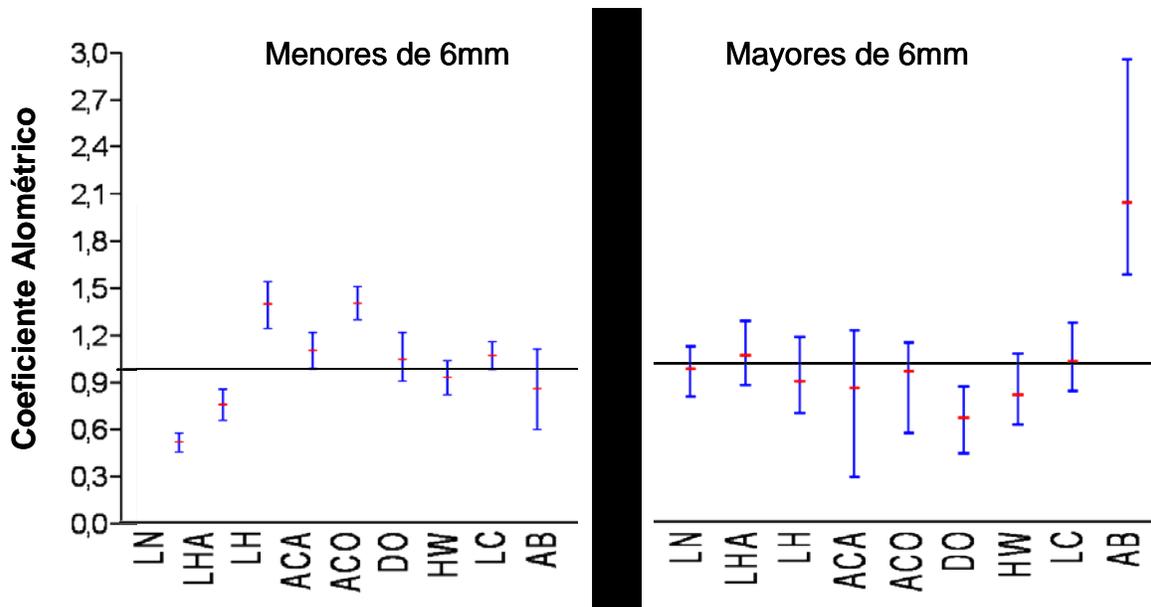


Figura 9. Análisis de alometría multivariada en *T. mexicanusaff. oculus*. Individuos menores de 6mm (izquierda) e individuos mayores a 6 mm (derecha). Las barras azules representan el desvío estándar. Los acrónimos se detallan en la figura 8.

Se observó que el largo del cuerpo (CA=0,5) y la longitud hocico-ano (CA=0,75) crecen lentamente en los individuos menores a 6mm, mientras que en los mayores a este largo su tasa de crecimiento aumenta a ca. 1 en ambas variables. La variable que presentó un mayor cambio entre ambas categorías es el ancho de la boca que en los individuos menores a 6mm presentó un coeficiente alométrico menor a 1 mientras que en los mayores a 6mm lo aumentó a 2.

En cuanto a las diferencias entre especies, se observó que en los individuos menores a 6mm el ancho de la boca crece más rápido en *D. laternatus* que en *T. mexicanusaff. oculus*. Y ésta última presentó un crecimiento más rápido del diámetro ocular.

Para los individuos mayores a 6mm la principal diferencia entre ambas especies se observó en la altura corporal que crece más rápido en *D. laternatus*.

4.3 Morfometría Geométrica

Para este análisis se utilizaron 51 individuos de *D. laternatus* y 30 de *T. mexicanusaff. oculus*, En la tabla 5 se muestran algunas características de los sets de ejemplares utilizados para los análisis de morfometría geométrica.

Tabla 5. Longitudes (en milímetros) de las larvas utilizadas para el estudio de morfometría geométrica.

Variable	<i>D. laternatus</i> (N=51)	<i>T. mexicanusaff. Oculus</i> (N=30)
Talla mínima	3.6734	3.4674
Talla máxima	9.3697	9.7256
Media	5.7918	5.7422
Mediana	5.6352	5.2594
Error estándar	0.1859	0.2778
Desvío estándar	1.3277	1.5215

La comparación de formas consenso mostró que *D. laternatus* presenta un pedúnculo caudal más robusto y una distancia entre el hocico y el ano menor, a la vez que presenta una cabeza y mandíbula inferior más alargada que *T. mexicanusaff. oculus*(Fig. 8). Este último tiene un cuerpo más estilizado con mayor distancia hocico-ano y pedúnculo caudal más débil (Fig. 10).

FORMAS CONSENSO DEL ANÁLISIS DE MORFOMETRÍA GEOMÉTRICA

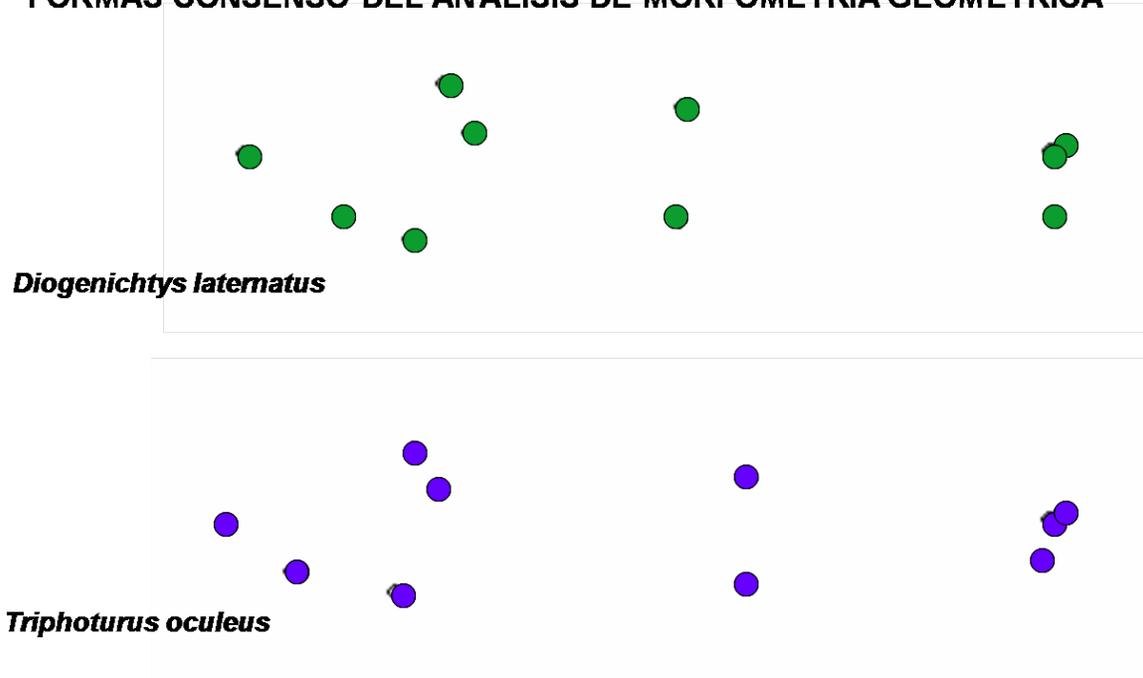


Figura 10. Esquema mostrando las formas consenso para la configuración de puntos utilizada en este estudio.

Diogenichtys laternatus presenta una escasa variación en la forma a lo largo de los estadios larvales (Fig. 11). En el gradiente de tamaños analizado se aprecia un ligero robustecimiento de la cabeza y alargamiento del cuerpo como los únicos cambios apreciables.

Triphoturus mexicanusaff. oculus presenta grandes cambios de forma durante la ontogenia, las larvas menores a 4 mm, no presentan un pedúnculo caudal definido y el extremo posterior del cuerpo termina en forma de uso. Al aumentar su tamaño, el pedúnculo caudal aparece y una vez la larva llega a los 6 mm se produce un desarrollo notable del pedúnculo y de la altura corporal (Fig. 9). La cabeza aparece comprimida en los primeros estadios, llegando a tener en los ejemplares más grandes del espectro de tallas un apreciable desarrollo tanto en altura como largo. Se observa también un cambio en la posición de la mandíbula haciendo que la terminación de la cabeza en los ejemplares más pequeños tenga forma más angulada y en los mayores forma cónica.

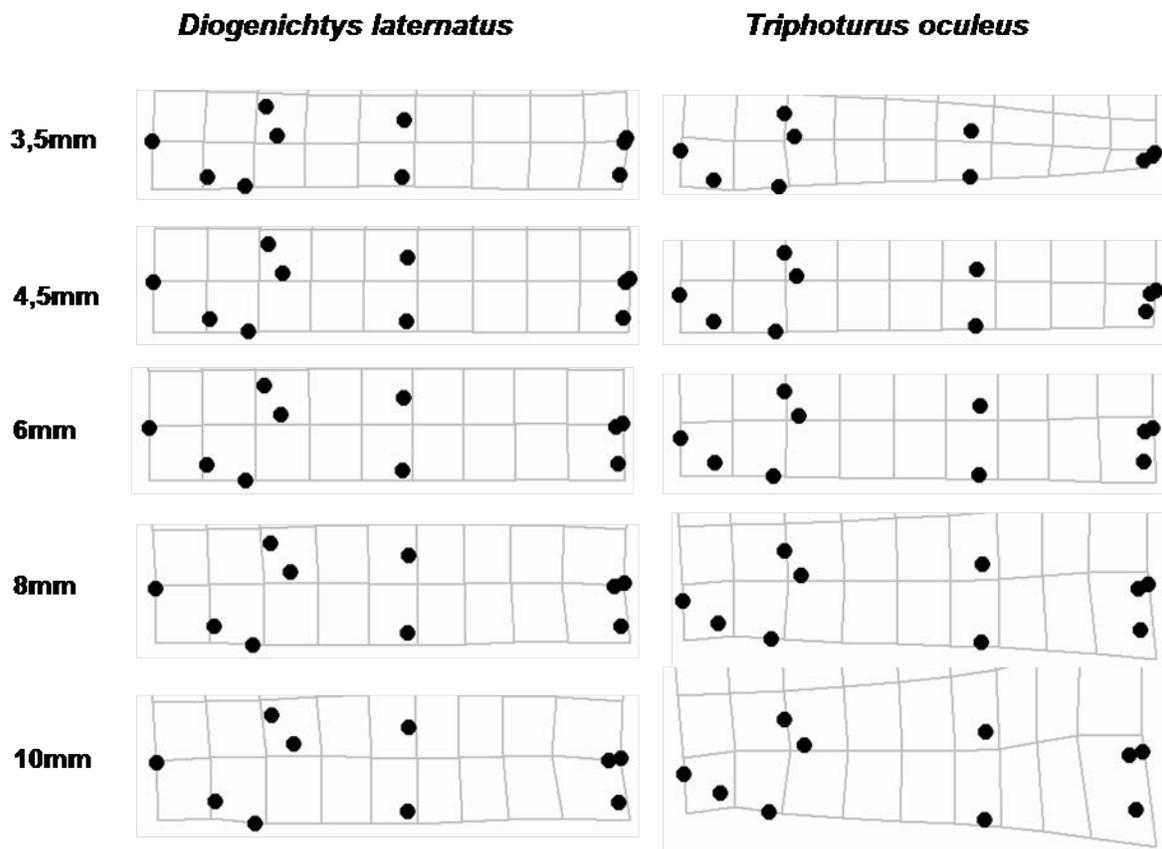


Figura 11. Gradiente de forma de las larvas de *Diogenichtys laternatus* y *Triphoturus mexicanusaff. oculus*. Los puntos corresponden a los *landmarks* utilizados para la morfometría geométrica. La matriz representa la deformación respecto a la forma consenso para las tallas indicadas.

5. DISCUSIÓN

Este estudio mostró la evolución del desarrollo morfológico de estructuras vinculadas con la alimentación en larvas de dos especies de mictófidios que co-ocurren en el ecosistema de surgencia de la Corriente de Humboldt, mediante la aplicación de la técnica de alometría multivariada y morfometría geométrica. Estas diferencias se condicen con evidencias previas que señalan diferencias en el tipo y tamaño de presas que ambas especies explotan en dicho ecosistema, asociados a diferencias en la distribución vertical. Esto haría por un lado un buen aprovechamiento de los recursos disponibles, y por otro un menor solapamiento trófico en sitios o épocas con baja abundancia de presas (Rodríguez-Graña *et al.* 2005).

5.1 Desarrollo osteológico de *D. laternatus* y *T. mexicanus* *aff. oculus*.

Se realizaron modificaciones de la técnica de teñido de peces basado en Potthoff (1983), acorde con el uso de larvas pequeñas y/o preservadas durante períodos muy prolongados. Además se proporcionó un protocolo de fácil aplicación para su uso en investigaciones futuras. La aplicación de la técnica presentó sin embargo algunas dificultades, tales como la destrucción de los individuos, o la falta de tinción de las estructuras duras. Uno de los factores que pueden haber generado inconvenientes en la tinción fue el largo período de almacenamiento en formol que tuvieron las larvas previo a su análisis (aproximadamente seis años). El formaldehído, por su grado de acidez puede deteriorar las estructuras hueso y cartílago evitando la acción de los colorantes. Existe un compromiso entre el poder de aclarado de los individuos y el daño producido por el KOH, que se vio reflejado en la segunda prueba cuando al intentar mejorar el aclarado, todos los individuos se dañaron de forma tal que no pudieron ser utilizados. Cabe destacar que Potthoff (1983) señala en su protocolo que en muchas ocasiones los ejemplares utilizados no se tiñen sin saber cuál es la causa de esto. von Herbing *et al.* (1996) discuten que en ocasiones el hueso teñido con azul de Alcianina no decolora, impidiendo la tinción con rojo de Alizarina. Por otro lado hay evidencias que el tejido óseo no mineralizado

tampoco se tiñería con rojo de Alizarina (Chen-Hsiang 2001). Por tales motivos se ha sugerido realizar paralelamente estudios histológicos para obtener una correcta identificación de los tejidos (von Herbing et al. 1996).

Debido a la fragilidad de los ejemplares y la elevada pérdida de muestras en el proceso de aclarado y tinción, se recomienda en estudios similares, contar con un número de ejemplares que al menos duplique los mínimos necesarios para realizar las pruebas estadísticas, o como alternativa emplear ejemplares recientemente capturados con poco tiempo de preservación en formol, pues los mismos podrían resistir mejor el proceso de aclarado y teñido.

5.2 Cambios ontogénicos en el crecimiento y forma de larvas de *D. laternatus* y *T. mexicanusaff. oculus*

Las técnicas empleadas en este estudio demuestran que son complementarias dado que las variables utilizadas en el análisis de alometría multivariada y los *landmarks* utilizados en morfometría geométrica no son equivalentes. Para algunas variables se observó un cambio alométrico con el método de alometría multivariada pero no se vio un movimiento de *landmarks* que reflejara ese cambio. Esto se debió a que hay estructuras que no son comparables debido al ángulo de la foto, como el ancho de la cabeza (HW) y el ancho de la boca (AB) tomadas con fotografías ventral y dorsal respectivamente. Además el análisis de morfometría geométrica se realiza sólo con fotografías laterales. Por otra parte, el diámetro del ojo (DO) y largo del hocico (LH) tienen como referencia la posición del ojo que no es tenida en cuenta por los *landmarks* en el análisis de morfometría geométrica. La combinación de ambos métodos da una idea completa del crecimiento de las estructuras vinculadas a la alimentación en ambas especies.

En el caso de *D. laternatus* las larvas de menor tamaño presentan dos variables con alometría positiva vinculadas a una mayor eficiencia en la captura de presas: el largo del hocico y el ancho de la boca. Ambas se vinculan con la obtención de alimento, y son clave para depredar sobre presas de mayor tamaño las cuáles tienden a ser energéticamente

mejores (von Herbing *et al.* 1996, Lukoschek&McCormick 2001 von Herbing 2001, Rodríguez-Graña *et al.* 2005). Esto coincide con lo reportado para larvas de *D. laternatus* el cuál depreda sobre un mayor rango de tamaños de presas que *T. mexicanusaff. oculus* (Rodríguez-Graña *et al.* 2005). Por otro lado la altura del cuerpo, que también presenta alometría positiva, podría estar asociada a evitar la depredación (Lasker, 1984); al ser más grande se reduce el número de potenciales depredadores. De este modo, el crecimiento acelerado de estas variables en las primeras etapas de vida puede asociarse con el éxito en la alimentación y la evasión de depredadores. La alometría positiva para el ancho de la boca en larvas mayores de 6 mm, podría estar relacionado a capturar presas de mayor tamaño, cubriendo la creciente demanda de energía, hecho que se verifica en muchas especies donde ocurre un cambio progresivo con el desarrollo en el límite superior del ancho de presas ingerido. También existen evidencias que *D. laternatus* realiza migraciones verticales diurnas (Sameoto 1981, Rodríguez-Graña 2003) por lo que un aumento en el ancho de la boca favorecería la ingesta de presas de mayor tamaño y por tanto cubriría sus requerimientos energéticos durante las migraciones.

Triphoturus mexicanusaff. oculus también presenta una alometría positiva para el largo del hocico y la altura corporal en los individuos menores a 6 mm. Sin embargo, el ancho de la boca no crece rápidamente en las etapas iniciales, lo que sugiere estrategias de crecimiento diferenciales entre las dos especies. Existen evidencias que señalan que esta especie se ubica más cercana a superficie donde la concentración de alimento y de menor tamaño es abundante (Rodríguez-Graña 2003, Rodríguez-Graña *et al.* 2005), por lo que podría no necesitar en esta etapa de su desarrollo un crecimiento rápido en el ancho de boca. Para los individuos mayores a 6 mm la única variable con alometría positiva fue el ancho de la boca. Esto le brindaría la posibilidad de obtener presas de mayor tamaño y por tanto cubrir la demanda energética creciente. También se aprecia un cambio en la alometría para la variable longitud hocico-ano, de negativa en los ejemplares menores a 6 mm a isométrica en los mayores a 6mm. Esto podría asociarse a que presas de mayor tamaño necesiten un mayor tiempo de pasaje por el tubo digestivo para assimilarlas.

D. laternatus muestra pocos cambios en su forma corporal a lo largo de la ontogenia. El importante desarrollo de la cabeza y el pedúnculo caudal desde los primeros estadios del desarrollo, se puede relacionar con la necesidad de tener que explorar un mayor espacio dado que se distribuye a mayores profundidades donde la abundancia de presas sería algo inferior que en superficie (Rodríguez-Graña *et al.* 2005). Esto implica la necesidad de desarrollar las estructuras vinculadas al nado y a la captura de presas. Además, una cabeza más grande podría favorecer el emplazamiento de los ojos de manera de tener un mayor campo visual y detectar presas a mayor distancia (Sabatés & Saiz 2000).

T. mexicanus aff. oculus presenta importantes variaciones en su forma corporal con la ontogenia que podrían reflejar un cambio en la estrategia de obtención de alimento durante el desarrollo. Al encontrarse en una zona de mayor abundancia de presas (Rodríguez-Graña 2003, Rodríguez-Graña *et al.* 2005), requeriría un nado menor en la búsqueda de alimento, pudiendo tener una estrategia más pasiva de captura, dado que prefiere estratos más someros de la columna de agua con mayor abundancia de presas. Esto concuerda con el escaso desarrollo del pedúnculo caudal en las etapas iniciales. El fuerte desarrollo del pedúnculo caudal en los individuos mayores se asociaría a un cambio en la dieta hacia presas de mayor tamaño o y más evasivas, para lo que debe realizar movimientos más rápidos.

6. CONCLUSIONES

Diogenichtys laternatus y *T. mexicanusaff. oculus* presentan diferencias en su estrategia de crecimiento durante la ontogenia. Los métodos de análisis utilizados en este trabajo indican diferencias tanto en los crecimientos relativos de estructuras vinculadas con la alimentación, como en la forma corporal. Estas diferencias están de acuerdo con una alimentación y distribución diferenciada (Rodríguez-Graña & Castro 2003, Rodríguez-Graña et al. 2005), a una distinta morfología ocular de las dos subfamilias (Sabatés& Saiz 2000), y a diferencias en sus preferencias ambientales (Sabatés& Saiz 2000). Se observa a *D. laternatus* más preparado para nadar y capturar presas en un ambiente con menos recursos ya desde una etapa más temprana, mientras que *T. mexicanusaff. oculus* tendría una menor capacidad de desplazamiento en las primeras etapas del desarrollo pero en etapas posteriores, un rápido aumento del ancho de boca le posibilitaría capturar presas de mayor tamaño y por tanto satisfacer el aumento de la demanda energética .

Los resultados del presente trabajo fueron enriquecidos al utilizar dos técnicas de análisis morfométrico complementarias.

Esta metodología es útil para estudios taxonómicos o poblacionales comparativos ya sea entre especies que hacen uso de un mismo hábitat o individuos de la misma especie que crecen bajo condiciones ambientales diferentes, donde se podría observar la capacidad de la especie para adaptarse a distintas condiciones. En aguas uruguayas, por ejemplo, la especie *Micropogonias furnieri* sería ideal para este tipo de estudios comparando larvas del Río de la Plata con larvas de Laguna de Rocha e identificando si se presentan variaciones en el crecimiento de estructuras vinculadas a la alimentación en estos ambientes diferentes.

7. BIBLIOGRAFÍA

- Acuña E. 1987. Distribution of myctophid fishes in the eastern Pacific Ocean off Northern Chile (18°30' to 30°30' S). *Biol. Pesq.* 16:63-78.
- Cadrin SX. 2000. Advances in morphometric identification of fishery stocks. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 10:91-112.
- Chen-Hsiang Liu. 2001. Early osteological development of the yellow tail *Serioladumerili*(Pisces: Carangidae). *Zoological Studies* 40:289-298.
- Drapper N & Smith, H. 1966. *Applied Regression Analysis*. John Wiley and Sons, Incorporated, New York, N.Y.
- Fuiman L A & Werner, R G (Eds.). 2002. *Fishery Science: The Unique Contributions or Early Life Stages*. Blackwell Publishing. Oxford. 325pp.
- Gerking SD. 1994. *Feeding ecology of fishes*. Academic press.
- Gorelova TA. 1983. A quantitative assessment of consumption of zooplankton by epipelagic lanternfishes (family Myctophidae) in the Equatorial Pacific Ocean. *J. Ichthyol.* 23 (3): 106-113.
- Hall B & Wake M eds. 1999. The origin and evolution of larval forms. Academic Press pp 302-365.
- Hulley A. Results of the research cruises of FRV "Walter Herwig" to South America. VIII. Family Myctophidae (Osteichthyes, Myctophiformes). *Arch. Fisch. Wiss.* 31. Beih 1. 1-300. Berlin, Jun 1981.
- Jolicoeur P. 1963. The multivariate generalization of the allometry equation. *Biometrics* 19: 497-499.
- Kinzer JR & Schulz K. 1985. Vertical distribution and feeding patterns of midwater fish on the central Equatorial Atlantic. I. Myctophidae. *Mar. Biol.* 85 : 313-322.
- Kowalewski M, Dyreson E, Marcot JD, Vargas JA, Flessa KW & Hallmann DP. 1997. Phenetic discrimination of biometric simpletons: paleobiological implications of morphospecies in the lingulide brachiopod *Glottidia*. *Paleobiology* 23: 444-469.

- Labropoulou M & Eleftheriou A. 1997. The foraging ecology of two pairs of congeneric demersal fish species: importance of morphological characteristics in prey selection. *Jour. of fish biol.* 50, 324-340.
- Lagler KF, Bardach JE, Miller RR & Passino DRM. 1984. *Ictiología*. A.G.T. Editor, S.A. México. 489 pp.
- Lasker R. ed. 1984. *Marine fish larva: morphology, ecology and relation to fisheries*. Washington Sea Grant Program, Seattle pp. 33-77.
- Lukoschek V & McCormick MI. 2001. Ontogeny of diet changes in a tropical benthic carnivorous fish, *Parupeneus barberinus* (Mullidae) : relationship between foraging behavior, habitat use, jaw size and prey selection. *Mar. biol.* 138: 1099-1113.
- Monteiro-Filho ELLA, Monteiro LR & Furtado S. 2002. Skull shape and size divergence in dolphin of the genus *Sotalia*: a tridimensional morphometric analysis. *Jour. Of mammalogy*, 83(1) : 125-134.
- Monteiro LR & Furtado S. 1999. *Principios de morfometría geométrica*. Editora Holos, Riveraopreto pp. 189.
- Moser HG. 1984. Morphological and functional aspects of marine fish larvae. In : *Marine Fish Larvae : Morphology, Ecology and Relation to Fisheries*. Lasker R. (ed.). p. 90-131.
- Pakhomov EA, Perissinotto R & McQuaid CD. 1996. Prey composition and daily rations of myctophid fishes in the Southern Ocean. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 134: 1-14.
- Paxton JR. 1972. Osteology and relationships of the lanternfishes (Family Myctophidae). *Bull. Nat. Hist. Mus. L. A. City.* 13: 1-81.
- Paxton JR. 1979. Nominal genera and species of lanternfishes (Family Myctophidae). *Bull. Nat. Hist. Mus. L. A. City.* 322: 1-28.
- Potthoff T. 1983. En: *Ontogeny and systematics of fishes*. HG Moser, WJ Richards, DM Cohen, MP Fahay, AW Kendall Jr and SL Richardson (eds.). *ASIH Spec. Publ.*, Allen Press, Lawrence, KS pp. 35-37.

- Rodríguez L & Castro L. 2000. Estudios en ecología de larvas de Mictófidos (Pisces, Myctophidae): una propuesta para nuevas líneas de investigación en la Corriente de Humboldt. *Gayana* 64 (2): 219-233.
- Rodríguez- Graña L. 2003. Alimentación, crecimiento y distribución de larvas de *Diogenichthys laternatus* y *Triphoturus mexicanus* (Pisces, Myctophidae) en un ambiente de surgencia de la Corriente de Humboldt. Tesis para el Programa de Doctorado en Oceanografía Universidad de Concepción, 2003.
- Rodríguez-Graña L & Castro L. 2003. Ichthyoplankton distribution off the Peninsula de Mejillones, Chile (23⁰S, 71⁰W), under variable hydrographic conditions during the austral summer and winter of the 1997 El Niño. *Hydrobiologia* 501: 59-73.
- Rodríguez-Graña L, Herrera G, Herrera L & Castro L. 2004. Divergence of two forms of *Triphoturus* in the eastern Pacific based on mtDNA cytochrome b gene sequences and larval morphology. *J. Fish Biol.* 64: 1455–1461.
- Rodríguez-Graña L, Castro L, Loureiro M, González HE & Calliari D. 2005. Feeding ecology of dominant larval myctophids in an upwelling area of the Humboldt Current. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 290: 119-134.
- Sabatés A & Saiz E. 2000. Intra- and interespecific variability in prey size and niche breadth of myctophiform fish larvae. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* Vol. 201: 261-271.
- Sameoto DD (1981). Distribution and abundance of six species of fish larvae in peruvian waters and their relationships with the physical and biological environment. In: Landa A (ed) Cooperative investigation on the anchovy and its ecosystem between Peru and Canada. Instituto del Mar del Peru and Bedford Institute of Oceanography, Callao, pp 171–179.
- Tzong-Der Tzeng. 2004. Morphological variation between populations of spotted mackerel (*Scomber australasicus*) off Taiwan. *Fisheries Research* 68 (2004) 45-55.
- von Herbing I, Miyake T, Hall B & Boutilier R 1996. Ontogeny of feeding and respiration in larval Atlantic cod *Gadus morhua* (Teleostei, Gadiformes) : II. Function. *Jour. Of Morph.* 227: 37-50.

- von Herbing I 2001. Development of feeding structures in larval fish with different life stories: winter flounder and Atlantic cod. *Jour. Of fish biol.* 59: 767-782.
- Walker JA. 1996. Principal components of body shape variation within an endemic radiation of threespine stickleback. In: Marcus LF, Corti M, Loy A, Naylor GJP and Slice DE. eds. *Advances in Morphometrics. NATO ASI Series A: Life Sciences* 284, pp. 321-334.